

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA QUALIDADE DE OÓCITOS,
PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E NA TAXA DE PRENHEZ EM
TAURINOS, ZEBUINOS E ADAPTADOS**

André Coelho Naves

Orientadora: Prof. Dra. Maria Lucia Gambarini
Meirinhos – EVZ/UFG

GOIÂNIA – GO

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

ANDRÉ COELHO NAVES

3. Título do trabalho

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA QUALIDADE DE OÓCITOS, PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E NA TAXA DE PREENHEZ EM TAURINOS, ZEBUINOS E ADAPTADOS

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Lucia Gambarini, Professor do Magistério Superior**, em 09/06/2020, às 08:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANDRE COELHO NAVES, Discente**, em 21/06/2020, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1374608** e o código CRC **F8CDA7E9**.

ANDRÉ COELHO NAVES

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA QUALIDADE DE OÓCITOS, PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E NA TAXA DE PRENHEZ EM TAURINOS, ZEBUINOS E ADAPTADOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Melhoramento e Reprodução Animal

Orientadora: Prof. Dra. Maria Lucia Gambarini Meirinhos – EVZ/UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Benedito Dias de Oliveira Filho - EVZ/UFG

Prof. Dr. Benner G. Alves – UFG, Regional Jataí

GOIÂNIA - GO

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG

Coelho Naves, André

Influência do Ambiente na Qualidade de oócitos, produção in vitro de embriões e na taxa de prenhez em taurinos, zebuínos e adaptados [manuscrito] / André Coelho Naves. - 2020.

XXXIX, 39 f.

Orientador: Prof. Dr. Maria Lucia Gambarini ; co-orientador Dr. Benedito Dias de Oliveira Filho ; co-orientador Dr. Benner G. Alves .

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2020.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, lista de tabelas.

1. FIV. 2. Embriões. 3. Bos Indicus. 4. Bos Taurus. 5. Estresse Térmico. I. , Maria Lucia Gambarini, orient. II. Título.

CDU 635



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 40 da sessão de Defesa de Tese de **ANDRÉ COELHO NAVES** que confere o título de **Doutor em Zootecnia** pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de concentração em Produção Animal.

Aos **três dias do mês de março de dois mil e vinte** - (03/03/2020) a partir das 14h00min, na Escola de Veterinária e Zootecnia, Departamento de Zootecnia, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “**INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA QUALIDADE DE OÓCITOS, PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES E NA TAXA DE PRENHEZ EM BOS TAURUS, BOS INDICUS E SEUS COMPOSTOS**”. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora **Maria Lucia Gambarini** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Regiani Nascimento Gagno Pôrto**, membro titular interno; **Antônio Dionísio Feitosa Noronha Filho**, membro titular interno, **Dyomar Toledo Lopes – UFJ/Jataí-GO**, membro titular externo; **Guilherme Rocha Lino de Souza – ICB/UFG**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do **trabalho conforme explicitado abaixo**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido o candidato **Aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Orientador e Presidente da Banca Examinadora **Maria Lucia Gambarini**, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA QUALIDADE DE OÓCITOS, PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E NA TAXA DE PRENHEZ EM TAURINOS, ZEBUINOS E ADAPTADOS



Documento assinado eletronicamente por **Maria Lucia Gambarini, Professor do Magistério Superior**, em 03/03/2020, às 17:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Rocha Lino De Souza, Professor do Magistério Superior**, em 03/03/2020, às 17:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Dionísio Feitosa Noronha Filho, Professor do Magistério Superior**, em 03/03/2020, às 17:08,

conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Regiani Nascimento Gagno Porto, Professora do Magistério Superior**, em 03/03/2020, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº](#)

[8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Dyomar Toledo Lopes, Professor do Magistério Superior**, em 03/03/2020, às 17:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de](#)

[outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1184485** e o código CRC **A0D0D4D9**.

Referência: Processo nº 23070.007177/2020-61

SEI nº 1184485

“Tenha sempre como meta muita força e muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá”

“Ayrton Senna da Silva”

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	13
2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Banco de dados	17
3.2. Raças avaliadas	17
3.3. Fertilização <i>in vitro</i>	18
3.4. Temperatura, umidade e THI	19
3.5. Análises estatísticas	20
4. RESULTADOS	20
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO	36
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Efeito do grupo racial e estação do ano sobre a produção média de embriões e taxa de concepção	25
FIGURA 2 – Produção média de COCe embriões de zebuínos, durante os meses do ano no período de 2006-2016	27
FIGURA 3 - Produção média de COCe embriões de taurinos, durante os meses do ano no período de 2006-2016	27
FIGURA 4 - Produção média de COCe embriões de adaptados, durante os meses do ano no período de 2006-2016	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Temperatura, umidade relativa e THI nas diferentes estações do ano, seca (abril-setembro) e chuvas (outubro-março)	21
TABELA 2 - Efeito da estação do ano sobre a produção (média ± epm) de oócitos de doadoras bovinas submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassonografia	21
TABELA 3 - Efeito da estação do ano sobre a produção (média ± epm) de embriões e taxa de concepção de doadoras bovinas submetidas à produção <i>in vitro</i> de embriões	21
TABELA 4 - Análise de ODDs Ration nos grupos bovinos com relação aos CCOs viáveis na estação seca (abril – setembro)	22
TABELA 5 - Análise de ODDs Ration nos grupos bovinos com relação aos CCOs viáveis na estação chuvosa (outubro – março)	22
TABELA 6 - Efeito do grupo racial na produção (média ± epm) de oócitos	23
TABELA 7 - Efeito do grupo racial na produção 20 (média ± epm) de embriões e concepção	23
TABELA 8 - Efeito do grupo racial e estação do ano na produção média total de oócitos e oócitos viáveis	24
TABELA 9 - Efeito do grupo racial e estação do ano sobre a produção média de embriões e taxa de concepção	25
TABELA 10 - Produção média de COC e embriões de zebuínos, taurinos e mestiços durante os meses do ano no período de 2006 a 2016.	26

RESUMO

Esse estudo longitudinal observacional foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a influência da temperatura, umidade e do estresse térmico, sobre a quantidade e qualidade dos oócitos, embriões e a sua relação com a taxa de concepção em diferentes raças das espécies *Bos taurus* e *Bos indicus* e seus compostos adaptados ao clima tropical. Para o estudo da influência do ambiente foi utilizado o índice de temperatura e umidade (ITU). Utilizou-se um banco de dados, constando de 10.489 aspirações foliculares com produção de 210.120 estruturas sendo 168.203 viáveis e 41.917 inviáveis, totalizando a produção de 62.467 embriões e 52.852 estruturas transferidas, 37,14% e 31,43% respectivamente em relação ao total de estruturas viáveis. Para a fertilização *in vitro* dos oócitos aspirados, foram utilizados o sêmen de um total de 641 touros no período compreendido de janeiro de 2006 a dezembro de 2016 analisando as estações de seca e chuva no estado de Goiás. Os resultados apresentaram diferenças ($P < 0,05$) nas características avaliadas com taxa de concepção superior na estação chuvosa $37,6 \pm 0,4$ versus seca $32,4 \pm 0,5$. Com relação a produção de oócitos os zebuínos apresentaram superioridade ($6,6 \pm 0,1$) aos taurinos ($3,6 \pm 0,4$) nas estações estudadas, com os adaptados sendo intermediários ($5,5 \pm 0,2$) entre taurinos e zebuínos. Os resultados das taxas de concepção mostraram uma influência do ambiente na qualidade das receptoras, $37,2 \pm 0,5$ para os zebuínos, $48,1 \pm 3,0$ para os taurinos e $37,8 \pm 1,2$ para os adaptados. A produção de embriões foi superior no período chuvoso em relação ao período da seca ($P < 0,05$). Vacas *Bos indicus* mostraram melhor resposta tanto na relação na quantidade e qualidade de oócitos obtidos quanto na produção de embriões após fertilização *in vitro*, mostrando também a importância da seleção de receptoras para obtenção de melhores resultados quando se utilizar embriões oriundos de animais *Bos taurus*.

Palavras Chaves: FIV, conforto térmico, bovinos,

ABSTRACT

This longitudinal observational study was developed with the objective of evaluating the influence of temperature, humidity and thermal stress, on the quantity and quality of oocytes, embryos and their relationship with the conception rate in different breeds of *Bos taurus* and *Bos indicus* species and its compounds adapted to the tropical climate. The temperature and humidity index (THI) was used to study the influence of the environment. A database was used, consisting of 10,489 follicular aspirations with production of 210,120 structures, 168,203 of which are viable and 41,917 not viable, totaling the production of 62,467 (37.14%) embryos and 52,852 (31.43%) transferred structures. For in vitro fertilization of aspirated oocytes, a total of 641 bulls were used in the period from January 2006 to December 2016, analyzing the dry and rainy seasons in the state of Goiás. The results showed differences ($P < 0.05$) in the evaluated characteristics with superior conception rate in the rainy season 37.6 ± 0.4 versus drought 32.4 ± 0.5 . Regarding the production of oocytes, the Zebu cattle showed superiority (6.6 ± 0.1) to the taurino (3.6 ± 0.4) in the studied stations, with the adapted intermediate ones (5.5 ± 0.2). The results of the conception rates showed an influence of the environment on the quality of the recipients, 37.2 ± 0.5 for the Zebu, 48.1 ± 3.0 for the taurino and 37.8 ± 1.2 for the adapted ones. Embryo production was higher in the rainy period than in the drought period ($P < 0.05$). *Bos indicus* cows showed better response both in relation to the quantity and quality of oocytes obtained and in the production of embryos after in vitro fertilization, also showing the importance of selecting recipients to obtain better results when using embryos from *Bos taurus* animals.

Keywords: IVF, Thermal comfort, Cattle

1. INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas as pesquisas com bovinos focaram no aumento de produtividade e/ou melhora na saúde dos animais. A reprodução sempre foi considerada um dos principais pilares para o aumento da produtividade, e muitos esforços foram feitos nesta área para o desenvolvimento de técnicas que pudessem acelerar os ganhos de produtividade.

Atualmente a técnica de *fertilização in vitro* (FIV) em bovinos, está entre as mais avançadas utilizadas no Brasil. Para se ter uma ideia, a produção de embriões *in vitro* no Brasil de acordo com os últimos dados da literatura, se produziu um volume de 353.539 embriões em 2015 sendo o país responsável por 57,7% (612.729) da quantidade total produzido no mundo nesta neste ano (Viana⁵²).

No contexto mundial atual, o Brasil continua como um dos maiores produtores de embriões bovinos produzidos *in vitro*. Em 2017 os EUA registraram maior produção de embriões *in vitro* (PIVE) que o Brasil (421.123 vs 345.528 respectivamente), ainda que o número de embriões efetivamente transferidos ainda seja maior no Brasil (231.424 vs. 343.811, respectivamente). Como os EUA permanecem como maior produtor de embriões bovinos *in vivo* (45,3%, 224.281/495.054), este país lidera o ranking mundial, considerando-se os números totais (*in vivo* e *in vitro*). Ainda assim, o Brasil segue como referência no uso da PIVE, respondendo por 34,8% da produção global (Viana, 2018). Esse cenário demonstra um potencial para aumentos adicionais na produção de embriões no Brasil principalmente associada a adoção de novas tecnologias por uma grande proporção de fazendas leiteiras e de corte com o uso de tecnologias embrionárias para a produção em larga escala de mestiços e eventuais aumentos na atividade internacional de importação e exportação de embriões (Viana⁵²).

2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A técnica de produção de embriões *in vitro* tem encontrado barreiras para atingir níveis satisfatórios, dados não oficiais relatam resultados variando de 40% ao máximo de 60% de taxas de prenhes relativos a técnica de FIV. Dentre muitas barreiras, o estresse térmico é um dos principais fatores que contribui para o baixo resultado da técnica de FIV no Brasil principalmente associado a adoção em rebanhos, principalmente leiteiros, compostos

principalmente por animais puros da raça holandesa. Este é um problema global que leva a grandes perdas econômicas e que afeta por volta de 60% da população bovina mundial (Wolfenson *et al.*⁵⁵).

Com o objetivo de melhorar a eficiência reprodutivas dos rebanhos, vários processos de resfriamento do ambiente no qual os animais são criados, vêm sendo usados para este fim, porém não têm conseguido melhorar de forma significativa a fertilidade de vacas lactantes no verão. Estes resultados negativos, tem se repetido mesmo em propriedades que utilizam equipamentos com sistemas de resfriamento, apresentando ainda, resultados reduzidos quando comparados aos meses de inverno (Hansen²⁰).

O estresse térmico é um dos principais fatores que ocasionam a redução do desenvolvimento e reduzidas taxas de sobrevivência de embriões bovinos. Pesquisas tem demonstrado uma mortalidade nos estágios iniciais na cultura *in vitro* de embriões quando estes sofrem influência de estresse térmico da mesma forma que *in vivo* por um período prolongado (Sugiyama *et al.*⁵¹).

É sabido que o estresse térmico leva a morte de embriões por apoptose a qual pode ser reduzida por expressão de genes relacionados ao estresse. Os animais *Bos indicus* por sua vez, apresentam um aumento da expressão de genes anti estresse que protegem embriões e diminuem apoptoses e aumentam as taxas de sobrevivência (Silva *et al.*⁵⁰) que afetam diretamente nos resultados de prenhez.

Animais *Bos indicus* (BI), *Bos taurus* (BT), e seus cruzados de *Bos indicus/taurus* (BI/BT) vem sendo vistos como uma importante base para a produção de animais de corte em climas tropicais e subtropicais. O interesse de produzir vacas cruzadas de várias raças de menor adaptabilidade ao stress térmico aumenta a importância da produção *in vitro* como estratégia de produção de grandes quantidades de embriões e também na diminuição dos custos segundo Seidel⁴⁴ pois diminui a necessidade do uso de touro puros europeus. Porém são poucos os trabalhos realizados para se estudar os efeitos do estresse nas diferentes espécies quando criadas no clima tropical.

Conforme descrito anteriormente o estresse térmico tem sido um importante fator de influência nos resultados de PIVE. Vários estudos, mostram resultados muito aquém daqueles desejados para a produção eficiente de embriões *in vitro* submetidos ao estresse térmico. Foi relatado em experimentos realizados, que o stress reduziu a capacidade de desenvolvimento dos oócitos, e um período de 2 a 3 ciclos estrais foram necessários para que os danos causados

pelo calor sejam revertidos e os oócitos retornem a condição normal após a tempo exposto ao estresse pelo calor de acordo com Al-Katanani *et al.*². Ainda se observou que estes efeitos em folículos e oócitos que foram danificados pelo estresse térmico, podem se prolongar, e terem repercussão na função ovariana (West⁵³). Em um experimento desenvolvido *in vitro*, a exposição do complexo cúmulus - oócito (COCs) por um período de 12 h nos estágios iniciais de maturação, a uma temperatura de 41°C, diminuíram as taxas de clivagem (Roth e Hansen^{40,41,42}) e a porcentagem de oócitos que se desenvolveram para Blastocistos (Hansen²⁰; Roth e Hansen⁴¹; Ju *et al.*²⁵). Observa-se nos trabalhos que os embriões em estágios iniciais de desenvolvimento de 1 a 8 células são mais susceptíveis a ação de temperaturas elevadas (Hansen²³; Bonilla *et al.*⁹; Sakatani *et al.*⁴⁵).

Os efeitos do estresse térmico sobre a função do oócito e do embrião vêm de ações diretas da temperatura sobre a função celular (Hansen²²), afetando os processos necessários para a maturação do oócito, fertilização e o potencial de desenvolvimento do embrião (Paula-Lopes *et al.*³⁴; Hansen²¹; Moussa *et al.*²⁹). Os mecanismos responsáveis pela redução da competência oocitária ainda não são totalmente compreendidos (Moussa *et al.*²⁸), bem como os fatores envolvidos na resistência térmica ao estresse (Paula-Lopes *et al.*³⁴).

Autores relatam que mesmo que o embrião consiga sobreviver em estágios iniciais de estresse térmico, estes embriões vão mostrar um número reduzido de células totais, especialmente uma redução de células totais do trofoectoderma no estágio de blastocisto. (Sakatani *et al.*^{45,46}). Ainda existem relatos que a exposição ao calor dos embriões nos estágios iniciais, causa ruptura de microfilamentos e microtúbulos, que causam lesões nas organelas, e aumento no volume, com redução no potencial de membrana de mitocôndrias (Rivera *et al.*^{37,38}; Ascari⁶). Além disso, a elevação da temperatura leva a apoptose das células dos embriões no segundo estágio de desenvolvimento (Paula-Lopes e Hansen³³; Fear e Hansen¹⁸).

O estresse térmico reduz o grau de dominância do folículo dominante e como consequência mais folículos de tamanho médio sobreviverão. Quando o potencial de dominância diminui, mais que um folículo dominante pode se desenvolver e isso pode explicar o aparecimento de mais gestações gemelares quando a fertilização ocorre no verão (Bonilla *et al.*⁹). Alguns trabalhos sobre dinâmica folicular foram desenvolvidos e monitorados com o uso de ultrassonografia. Foi observado que a exposição de vacas leiteiras submetidas ao estresse térmico durante o ciclo estral, aumento de 50% na frequência de folículos grande (>10mm) durante a primeira onda folicular e além disso, induziu a depressão do folículo dominante durante a onda folicular associado ao 2-3 dias antes da emergência do

folículo dominante pré ovulatório da segunda onda folicular (Wolfenson *et al.*⁵⁶). Segundo o autor este é um evento fisiologicamente importante pois a emergência do folículo pré-ovulatório antecipadamente resulta na ovulação de folículos mais velhos.

No decorrer da maturação oocitária para que ocorra a fertilização e subsequente desenvolvimento embrionário, ocorrem mudanças no citoplasma e no núcleo (Landin-Alavarenga e Maziero²⁶). Essas mudanças podem ser afetadas pelo estresse térmico levando a uma diminuição na qualidade oocitária (Maya-Soriano *et al.*²⁸), induzindo o envelhecimento precoce do oócito pela aceleração do processo de maturação (Edwards *et al.*¹⁷; Andreu-Vázquez *et al.*⁴).

Estudando os efeitos de estresse térmico no desenvolvimento, na qualidade e na sobrevivência de oócitos em bovinos *Bos taurus* e *Bos indicus*, produzidos *in vitro*, observou-se que oócitos submetidos ao estresse térmico apresentaram uma redução no desenvolvimento a blastocistos em *Bos taurus* em relação ao *Bos indicus*. Foi relatado também uma maior expressão dos genes CDX2 e PLAC8 nos animais *Bos indicus* quando comparados ao *Bos taurus*, genes estes importantes na implantação embrionária e desenvolvimento placentário. Além disso os resultados dos estudos tenderam a diminuir a taxa de gestação nas receptoras que receberam embriões de animais *Bos taurus*, Angus. No trabalho se concluiu que os efeitos do estresse térmico foram dependentes de raças e foram mais evidentes em embriões *Bos taurus* quando comparados com *Bos indicus* (Silva *et al.*⁵⁰).

Outros experimentos, estudando os efeitos do estresse térmico nos embriões bovinos pré-implantados produzidos *in vitro* encontrou-se diversas respostas do estresse térmico desde a maturação oocitária até o desenvolvimento pré-implantação. Entre eles, um dos mais importantes, seria o estresse oxidativo originário da elevação da temperatura, que pode danificar diretamente as organelas ou induzindo a lesões de DNA, alterando a expressão de genes e reduzindo a capacidade de desenvolvimento nos embriões pré-implantados (Sakatani⁴⁴).

O presente trabalho tem como objetivo verificar os efeitos do estresse térmico em bovinos com o uso de um banco de dados de fertilização *in vitro* na qualidade de oócitos e taxas de prenhes em diferentes estações do ano em um período de 10 anos e sua influência quanto a característica genética dos animais sendo ela *Bos taurus* ou *Bos indicus* ou compostos *Bos taurus/Bos indicus* na região do centro oeste mais especificamente no estado de Goiás onde o clima pode ser classificado como quente e subúmido com quatro a cinco meses secos (Nascimento³⁰). Com características monçônicas marcantes, 80% das chuvas

ocorrem de novembro a março, enquanto que de maio a setembro, a umidade relativa do ar permanece abaixo de 70%. As temperaturas mais altas são registradas entre setembro e outubro, e as máximas podem chegar a até 40 °C. As temperaturas mais baixas, por sua vez, são registradas entre os meses de maio e julho, quando as mínimas podem chegar a até 9 °C, dependendo da região do Estado. O tipo de clima tropical se faz presente na maior parte do estado, apresentando como característica os invernos secos e os verões chuvosos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Banco de dados

Foi utilizado para a análise um banco de dados cedidos pela empresa embriotec, especializada em produção *in vitro* de embriões (PIVE), com sede na cidade de Anápolis, do estado de Goiás.

O banco de dados analisado foi composto de um número de 10.489 aspirações foliculares que geraram um número de 210.120 oócitos sendo 168.203 viáveis e 41.917 inviáveis, totalizando a produção de 62.467 (37,14%) embriões e 52.852 (84,61%) embriões transferidos.

3.2. Raças avaliadas

Para a *fertilização in vitro* dos oócitos aspirados, foram utilizados um total de 641 touros no período compreendido de janeiro de 2006 a dezembro de 2016 analisando as estações do ano compreendidas como seca e chuva. As raças que fizeram parte das análises do presente trabalho como *Bos Indicus* foram Nelore, Tabapuã, Brahman, Guzerá, Gir e Sindi, entre as raças *Bos Taurus* foram as Holandêza, Jersey, Aberdeen Angus, Pardo Suíço e Simental e as raças adaptadas foram Senepol, Brangus, Blonel, Girolando, Canchim, LongHorn, Braford, DroughtMaster e Brangus. Todas as fêmeas das raças citadas foram utilizadas como doadoras e para fertilização dos oócitos touros de mesma raça, para produção

de embriões. Todos os animais estiveram sob manejo e condições físico, clínico e sanitário de igual condições durante o período estudado

3.3. Fertilização *in vitro*

O processo de *FIV* foi feito com punções foliculares realizadas por técnicos previamente treinados, utilizando-se um aparelho de ultra-sonografia equipado com transdutor setorial intravaginal de 5/7,5 MHz e um dispositivo guia para punção folicular. Folículos com diâmetro superior a 3mm foram identificados, mensurados e puncionados utilizando-se agulhas 19G e uma pressão de vácuo de 80mmHg, correspondendo a um fluxo de 14ml de água/min. O líquido folicular foi inicialmente recuperado em tubos plásticos de 50ml (Falcon), contendo 15ml de DPBS acrescido de 10% de soro fetal bovino (SFB) e 100UI de heparina sódica 4/ml, sendo posteriormente os oócitos separados em um filtro de coleta de embriões com malha de 80 μ (Millipore). Os complexos *cumulus*-oócito recuperados foram transferidos para placas de cultivo contendo PBS (Whittingam⁵⁴) acrescido de 10% de SFB a 37°C e avaliados, em um microscópio estereoscópio com aumento final de 50 \times .

Os complexos *cumulus*-oócito (COC's) colhidos foram separados em quatro categorias, de acordo com as características baseadas na compactação e transparência das células do *cumulus* e homogeneidade e transparência do ooplasma, utilizando o sistema de classificação descrito por Leibfried e First²⁷ de I a IV. Considera-se COC viáveis os de classificação I a III, sendo os COCs de classe IV descartados.

Após a seleção e classificação dos oócitos, estes foram maturados em laboratório para posterior fecundação. A maturação nuclear do oócito compreende a progressão do estágio diplóteno prófase I até a fase de metáfase II. O período de maturação *in vitro* varia de 18 a 24 horas em atmosfera controlada contendo 5% de CO₂ em ar e umidade saturada. Os oócitos foram submetidos à maturação *in vitro* em meio TCM-199 acrescido de 10% de soro de vaca em cio e 20 μ g/ml de FSH, por 22 horas, em estufa incubadora à 39°C com 5% de CO₂ e 95% de umidade. Após a maturação, todos os oócitos foram fertilizados com sêmen congelado, de um touro previamente selecionado. Para separação de espermatozoides vivos e mortos foi utilizado o método de *swim up*. A fecundação *in vitro* foi realizada em gotas de 100 μ l de meio Fert-Talp acrescido de 10 μ g/ml de heparina, cobertas com óleo mineral, com concentração

espermática de $2,0 \times 10^6$ espermatozoides/ml por um período aproximado de 22 horas (Parrish *et al.*³²). A transferência dos embriões considerados aptos, foi realizada por via transcervical, após sincronização das receptoras com a idade do embrião. Antes de transferir os embriões, foi avaliado o lado e qualidade do corpo lúteo da receptora, confirmando assim a ovulação. A deposição do embrião foi feita no terço médio-final do corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo. Após 30 dias da transferência foi feita a avaliação para o diagnóstico de gestação através da ultrassonografia.

3.4. Temperatura, umidade e índice de temperatura e umidade (ITU)

Para análise da influência do ambiente sobre os animais foi utilizado a equação de ITU $= (0,8 \times TA + [(UR/100) \times (TA - 14,4)] + 46,4)$, onde TA = Temperatura ambiente e UR = Umidade relativa do ar. O índice de temperatura e umidade, ou índice de conforto térmico combina ou tem como base dois fatores, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar (Armstrong⁵). Para análise dos dados foi compreendido como período chuvoso os meses entre outubro a março e o período de seca entre os meses de abril a setembro. Os valores de umidade do ar em graus celsius e a temperatura em porcentagem foram coletados das estações oficiais de medição do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizadas no estado de Goiás nas proximidades do local onde foi realizado a aspiração folicular durante todo o período analisado. Esta região está compreendida em um raio de 350 Km de distância do laboratório de fertilização em Anápolis localizada a latitude de -16.3287 , longitude de -48.9534 a $16^{\circ}19'43''$ sul e $48^{\circ}57'12''$ oeste, numa altitude de 1000 metros.

oócitos viáveis ($P < 0,05$). Na Tabela 3 estão os resultados do efeito da estação do ano na produção média de embriões, embriões viáveis e taxa de concepção sobre os oócitos aspirados e fertilizados nos diferentes períodos analisados. Os resultados mostram que ocorreu diferenças significativas entre os períodos analisados na produção total de embriões, embriões viáveis e taxas de concepção ($P < 0,05$).

Tabela 1 - Temperatura, umidade relativa e ITU nas diferentes estações do ano, seca (abril - setembro) e chuvas (outubro - março).

Estação	Temperatura	Umidade Relativa	ITU
Seca	$24,07 \pm 0,03^A$	$74,55 \pm 0,20^A$	$73,0 \pm 0,05^A$
Chuva	$24,39 \pm 0,04^B$	$59,50 \pm 0,29^B$	$71,8 \pm 0,06^B$

^{A,B} Letras diferentes na coluna indicam significância ($P < 0,05$)

Tabela 2 - Efeito da estação do ano sobre a produção (média \pm epm) de oócitos de doadoras bovinas submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassonografia.

Estação	Total de oócitos (n)	Oócitos Viáveis (n)	Oócitos Viáveis (%)
Seca	$20,5 \pm 0,2^A$	$16,3 \pm 0,2^A$	$77,5 \pm 0,2^A$
Chuva	$22,9 \pm 0,2^B$	$18,4 \pm 0,2^B$	$78,4 \pm 0,2^B$

^{A,B} Letras diferentes na coluna indicam significância ($P < 0,05$).

Tabela 3 - Efeito da estação do ano sobre a produção (média \pm epm) de embriões e taxa de concepção de doadoras bovinas submetidas à produção *in vitro* de embriões.

Estação	Embriões (n)	Embriões Viáveis (%)	Concepção (%)
Seca	$6,3 \pm 0,1^A$	$41,8 \pm 0,5^A$	$32,4 \pm 0,5^A$
Chuva	$7,1 \pm 0,1^B$	$41,8 \pm 0,4^A$	$37,6 \pm 0,4^B$

^{A,B} Letras diferentes na coluna indicam significância ($P < 0,05$).

Nas Tabela 4 e 5, estão os resultados comparativo entre as diferentes espécies de bovinos (taurino, zebuino e adaptados) com relação à produção de oócitos viáveis e as probabilidades de Odds, OR Ration (IC-95%), durante a estação seca e chuvosa. Os resultados mostram uma probabilidade de 2,2 vezes maior dos Zebuínos de produzir CCO viáveis na estação seca em relação aos taurinos, 1,7 vezes maior dos adaptados de produzirem CCO viáveis em relação aos taurinos e uma probabilidade 1,3 vezes maior dos adaptados em relação aos zebuínos. Na estação chuvosa, os adaptados apresentaram uma probabilidade ou

chance de 1,3 vezes maior de produzirem CCO viáveis em relação aos taurinos e zebuínos de produzirem oócitos viáveis, e os zebuínos uma probabilidade de 1,8 vezes maior em relação aos taurinos.

Tabela 4 - Análise de Odds Ratio (OR) nos grupos bovinos com relação aos CCOs viáveis na estação seca (abril – setembro).

Genótipos	CCO Viáveis		
Zebuíno -	81,1 (45515/56129)		
Taurino -	65,3 (2202/3371)		
Adaptado -	76,9 (6297/8188)		
Comparações	Odds Ratio	95% C.I	P - Value
Adaptados vs. <i>Taurino</i>	1,7	1,6 – 1,9	0.0001
Adaptados vs. <i>Zebuíno</i>	1,3	1,2 – 1,3	0.0001
Zebuíno vs. <i>Taurino</i>	2,2	2,1 – 2.4	0.0001

95% C.I, intervalo de confiança

Tabela 5 - Análise de Odds Ratio (OR) nos grupos bovinos com relação aos CCOs viáveis na estação chuvosa (outubro – março).

Genótipos	CCO Viáveis		
Zebuíno -	81,0 (97667/120528)		
Taurino -	69,8 (1743/2495)		
Adaptado -	76,1 (14782/19412)		
Comparações	Odds Ratio	95% C.I	P - Value
Adaptados vs. <i>Taurino</i>	1,3	1,2 – 1,5	0.0001
Adaptados vs. <i>Zebuíno</i>	1,3	1,2 – 1,3	0.0001
Zebuíno vs. <i>Taurino</i>	1,8	1,6 – 2.0	0.0001

95% C.I, intervalo de confiança

A tabela 6 descreve os resultados do efeito do grupo racial na produção total de oócitos, oócitos viáveis, e na porcentagem de oócitos viáveis. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre todas as espécies raciais com uma superioridade dos zebuínos e adaptados em relação aos taurinos ($P < 0,05$). Quanto a tabela 7, descreve os resultados do efeito do grupo racial com relação a quantidade de embriões viáveis, o percentual e a taxa de concepção de cada um. Os resultados encontrados demonstraram uma diferença significativa

entre todas as espécies raciais com uma superioridade das espécies zebuínas e adaptados em relação aos taurinos na quantidade de embriões viáveis. Percentualmente os zebuínos foram superiores aos adaptados e taurinos, porém a taxa de concepção foi superior nos taurinos. ($P < 0,05$).

Tabela 6 - Efeito do grupo racial na produção (média \pm epm) de oócitos

Grupo racial	Total de Oócitos (n)	Oócitos viáveis (n)	Oócitos viáveis (%)
Zebuíno	22,1 \pm 0,1 ^A	17,9 \pm 0,1 ^A	79,1 \pm 0,1 ^A
Taurino	12,4 \pm 0,3 ^B	8,3 \pm 0,2 ^B	66,5 \pm 0,9 ^B
Adaptado	23,4 \pm 0,5 ^C	17,8 \pm 0,4 ^C	75,4 \pm 0,4 ^C

^{A,B} Letras diferentes na coluna indicam significância ($P < 0,05$).

Tabela 7 - Efeito do grupo racial na produção (média \pm epm) de embriões e concepção

Grupo racial	Embriões Viáveis (n)	Embriões viáveis (%)	Concepção (%)
Zebuíno	6,96 \pm 0,07 ^A	42,6 \pm 0,3 ^A	34,7 \pm 0,3 ^A
Taurino	3,53 \pm 0,17 ^B	42,2 \pm 1,6 ^B	46,9 \pm 2,3 ^B
Adaptado	6,16 \pm 0,17 ^C	36,6 \pm 0,8 ^C	35,2 \pm 1,0 ^C

^{A,B} Letras diferentes na coluna indicam significância ($P < 0,05$).

Na tabela 8, estão os resultados dos efeitos do grupo racial versus estação do ano com relação ao total de oócitos produzidos e quantidade de oócitos viáveis. O total de oócitos na estação seca para zebuínos e para adaptado, difere para animais taurinos ($P < 0,05$) no período da seca, mas no período chuvoso ocorreu diferença entre todas as espécies com menor número para a espécie taurina. Para produção de ovócitos viáveis na estação seca foi encontrada diferença ($P < 0,05$) para zebuínos e adaptados em relação aos taurinos com maior produção de oócitos para zebuínos e adaptados em relação aos taurinos. Para a estação de chuvas a produção de oócitos viáveis diferiu entre as espécies ($P < 0,05$). Comparando percentualmente as relações no período da seca, os zebuínos e adaptados foram superiores aos taurinos e no período chuvoso ocorreu diferença entre todos, com superioridade para os zebuínos e adaptados em relação aos taurinos. Analisando os resultados entre as estações, os resultados mostraram diferenças para os zebuínos e adaptados com uma maior produção de oócitos e oócitos viáveis no período chuvoso comparado com o período seco ($P < 0,05$). Entretanto para os taurinos não foi observado diferença entre as estações ($P < 0,05$).

Tabela 8 - Efeito do grupo racial e estação do ano na produção média total de oócitos e oócitos viáveis

EFEITO GRUPO RACIAL X ESTAÇÃO				
	Seca		Chuvoso	
	Total oócito (n)	Oócitos Viáveis (n)	Total oócito (n)	Oócitos Viáveis (n)
ZEBUÍNO	21,1 ± 0,2 ^{Aa}	17,0 ± 0,2 ^{Aa} (78,9% ± 0,2 ^{Aa})	22,9 ± 0,2 ^{Ab}	18,6 ± 0,2 ^{Ab} (79,4 % ± 0,2 ^{Aa})
TAURINO	12,4 ± 0,9 ^{Ba}	8,1 ± 0,8 ^{Ba} (64,9% ± 0,9 ^{Ba})	12,5 ± 1,3 ^{Ba}	8,8 ± 1,1 ^{Ba} (69,8 % ± 1,3 ^{Bb})
ADAPTADO	21,0 ± 0,7 ^{Aa}	16,1 ± 0,6 ^{Aa} (75,6% ± 0,7 ^{Ca})	25,1 ± 0,6 ^{Cb}	19,1 ± 0,5 ^{Ab} (74,5% ± 0,6 ^{Ca})

a,b dentro do mesma raça e parâmetro avaliado e entre estações (P<0,05)

A, B, C na coluna (P<0,05)

Na Tabela 9 os resultados das análises mostram os efeitos do grupo racial com relação a influência das estações do ano na produção de embriões, embriões viáveis e na taxa de concepção. Os resultados apresentados com relação a produção de embriões no período da seca mostram diferença entre todas as espécies, com superioridade para zebuína em relação aos adaptados e este em relação aos taurinos respectivamente (P<0,05). Com relação a porcentagem não foi observado diferença entre taurinos e zebuínos, porém ocorreu uma diferença significativa das duas espécies em relação aos adaptados com uma porcentagem menor. Com relação a concepção ocorreu diferença entre zebuínos e adaptados com relação aos taurinos, este tendo uma taxa de concepção maior que as duas espécies (zebuínos e adaptados). Com relação ao período chuvoso os resultados mostram diferença entre todas as raças com relação a produção de embriões viáveis com superioridade para a espécie zebuína logo em seguida os adaptados e por último os taurinos (P<0,05). Com relação a porcentagem de embriões no período chuvoso zebuínos e taurinos não apresentaram diferença, entretanto os adaptados apresentaram diferença significativa com valor menor quando comparado com as outras duas espécies (taurina e zebuína). Com relação a taxa de concepção no período das chuvas a espécie taurina foi superior as raças zebuínas e adaptadas com diferença, e estas duas também não apresentaram diferença, com a raça zebuína apresentando menor taxa de concepção. A Tabela 9 ainda apresenta a comparação entre as estações onde a raça zebuína apresentou melhor desempenho no período das chuvas com maior produção de embriões e maior concepção com exceção a porcentagem de embriões viáveis. A espécie taurina, não apresentou diferença entre as duas estações seca e chuvas em todas as características

analisadas ($P < 0,05$). Com relação ao grupo genético adaptado as análises mostraram diferenças entre os períodos de chuva e seca nas características de produção de embriões viáveis e taxa de concepção, estas sendo melhor no período das chuvas em relação a seca ($P < 0,05$). A Figura 1 mostra graficamente os resultados descritos anteriormente.

Tabela 9 - Efeito do grupo racial e estação do ano sobre a produção média de embriões e taxa de concepção

EFEITO GRUPO RACIAL X ESTAÇÃO						
	Seca			Chuva		
	Embriões Viáveis (n)	% Embriões Viáveis	% Concepção	Embriões Viáveis (n)	% Embriões Viáveis	% Concepção
ZEBUÍNO	6,6 ± 0,1 ^{Aa}	42,6 ± 0,5 ^{Aa}	31,8 ± 0,5 ^{Aa}	7,2 ± 0,1 ^{Ab}	42,5 ± 0,5 ^{Aa}	37,2 ± 0,5 ^{Ab}
TAURINO	3,6 ± 0,4 ^{Ba}	43,4 ± 2,1 ^{Aa}	46,1 ± 2,3 ^{Ba}	3,3 ± 0,5 ^{Ba}	40,1 ± 2,9 ^{ABa}	48,1 ± 3,0 ^{Ba}
ADAPTADO	5,5 ± 0,2 ^{Ca}	35,1 ± 1,5 ^{Ba}	31,4 ± 1,5 ^{Aa}	6,6 ± 0,2 ^{Cb}	37,5 ± 1,2 ^{Ba}	37,8 ± 1,2 ^{Ab}

a, b dentro do mesmo grupo racial e parâmetro avaliado e entre estações ($P < 0,05$)

A, B, C na coluna ($P < 0,05$)

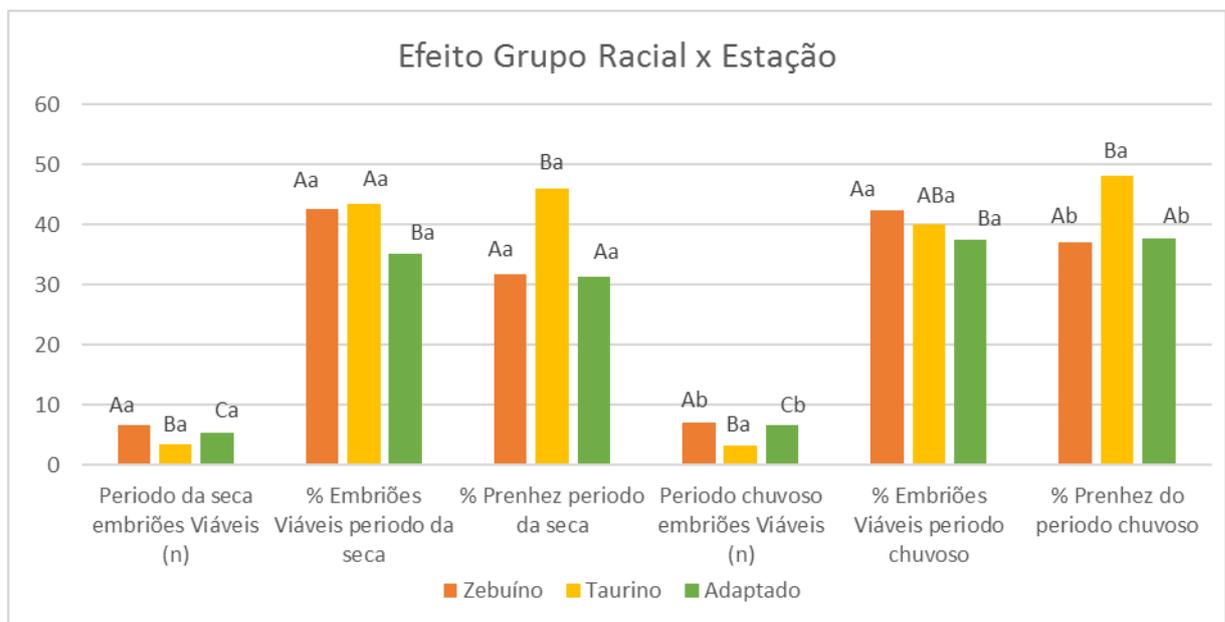


FIGURA 1 - Efeito do grupo racial e estação do ano sobre a produção média de embriões e taxa de concepção

A tabela 10 nos mostra os resultados das análises em relação a produção de embriões, complexo - cúmulos - oócitos nas diferentes raças durante os meses do ano dentro do período estudados, de 2006 a 2016. Os resultados revelaram uma diferença significativa ($P < 0,05$) com uma superioridade dos zebuínos e adaptados em relação aos taurinos durante todo o ano, porém, com melhor desempenho, mesmo que pequeno, para os taurinos em relação aos outros meses do ano no período de seca onde as temperaturas são mais baixas. Com relação as figuras 2, 3 e 4 os resultados demonstraram uma maior produção de CCO e embriões concentrada no período chuvoso em relação ao período da seca para as espécies zebuínas e adaptados, porém para os taurinos, uma menor magnitude apresentando uma grande produção durante o mês de junho do período seco.

Tabela 10 - Produção média de COC e embriões de zebuínos, taurinos e mestiços durante os meses do ano no período de 2006 a 2016.

	ZEBUÍNOS		TAURINOS		MESTIÇOS	
	CCO	EMBRIÕES	CCO	EMBRIÕES	CCO	EMBRIÕES
Janeiro	18,9± 0,4	6,4± 0,2	9,1± 1,0	2,7± 0,3	21,3± 1,3	5,4± 0,4
Fevereiro	20,4± 0,5	6,6± 0,2	8,3± 0,9	2,2± 0,5	20,6± 1,5	6,6± 0,6
Março	19,0± 0,4	6,1± 0,1	13,3± 1,8	3,6± 0,7	19,6± 1,0	5,4± 0,4
Abril	18,2± 0,4	6,0± 0,1	8,7± 0,9	1,3± 0,2	17,1± 1,1	5,2± 0,5
Mai	16,4± 0,5	4,9± 0,2	6,9± 0,9	1,9± 0,3	15,1± 0,9	3,5± 0,3
Junho	17,2± 0,4	5,8± 0,2	15,7± 2,5	5,0± 1,3	15,8± 1,5	4,8± 0,4
Julho	16,6± 0,6	5,3± 0,2	8,0± 0,5	2,6± 0,3	15,1± 1,4	3,3± 0,6
Agosto	15,5± 0,6	5,2± 0,2	7,4± 0,8	2,4± 0,4	18,4± 1,7	3,3± 0,5
Setembro	16,7± 0,7	5,3± 0,2	7,4± 0,8	1,7± 0,2	15,7± 2,4	4,3± 0,6
Outubro	15,1± 0,7	4,7± 0,2	8,9± 1,2	2,1± 0,4	15,3± 2,0	4,0± 0,6
Novembro	15,8± 0,5	5,5± 0,2	6,3± 0,8	1,9± 0,4	19,0± 1,6	5,6± 0,6
Dezembro	19,3± 0,5	7,0± 0,2	8,7± 0,9	1,7± 0,3	18,0± 1,1	4,8± 0,4

(Média ±EPM)

(*CCO-Viáveis)

(* Embriões-Viáveis)

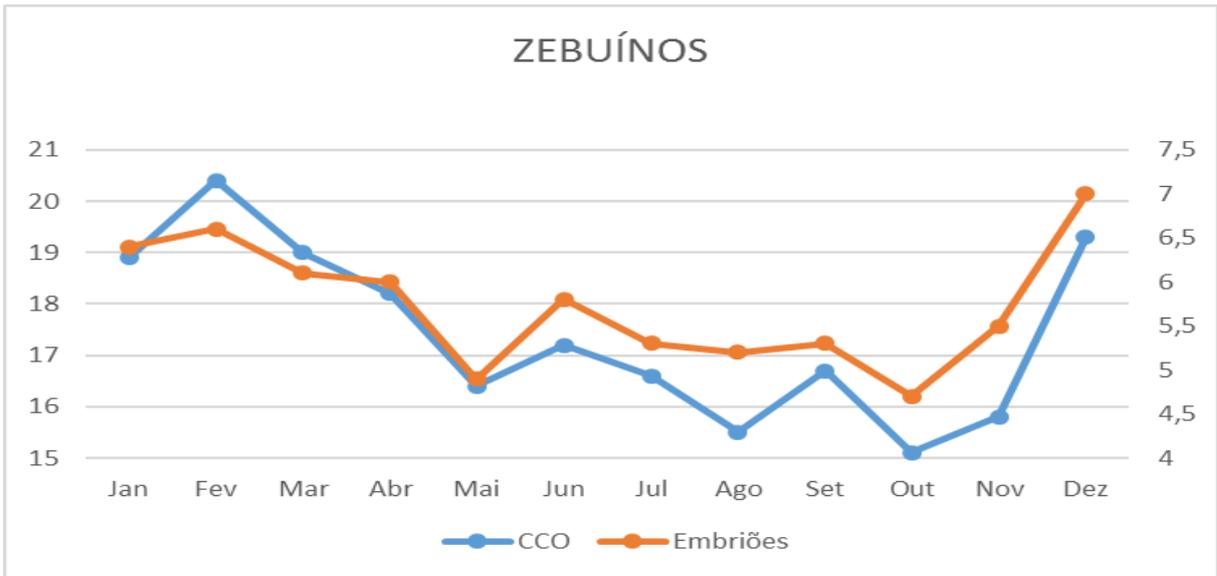


FIGURA 2 - Produção média de COC e embriões de zebuínos, durante os meses do ano no período de 2006 a 2016.

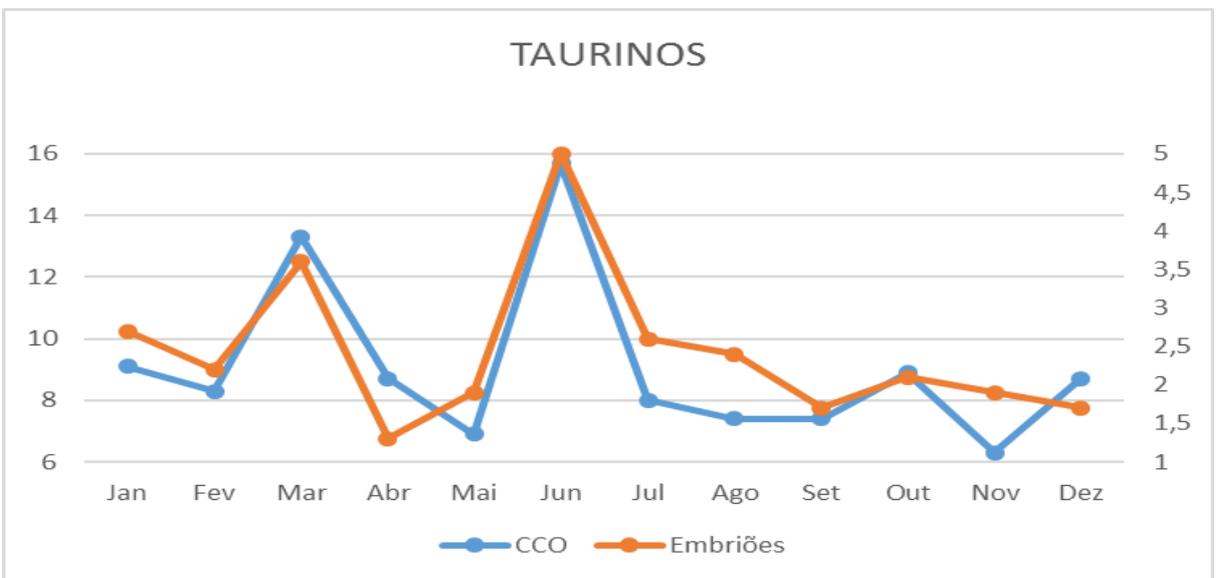


FIGURA 3 - Produção média de COC e embriões de taurinos, durante os meses do ano no período de 2006 a 2016.

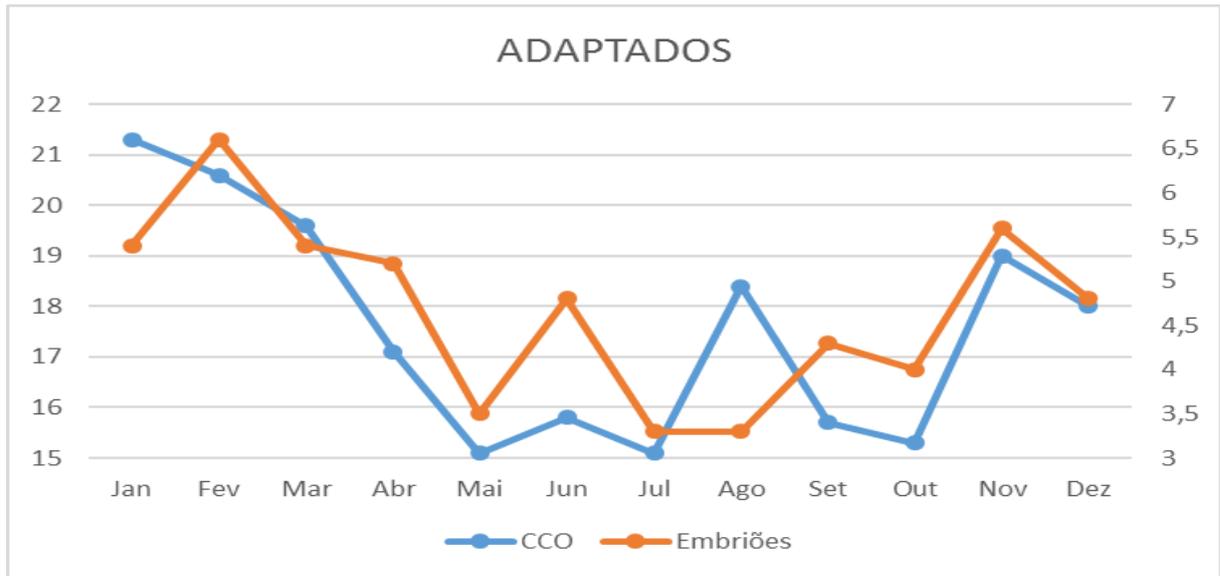


FIGURA 4 - Produção média de COC e embriões de Adaptados, durante os meses do ano no período de 2006 a 2016.

5. DISCUSSÃO

A Tabela 1 demonstra o efeito da temperatura e umidade sobre o ITU, mostrando que ocorreram diferenças de ITU nas estações de seca e no período chuvoso. Estas diferenças, baseadas na literatura, podem influenciar nas respostas fisiológicas dos animais sejam elas ligadas a sobrevivência, para sua adaptação ao meio ambiente em busca de um conforto térmico. Podemos citar como exemplo a diminuição da ingestão de alimentos, alterações comportamentais e diminuição e aumento nas secreções hormonais ligados a reprodução, estas, muitas das vezes, inibida para que outras mais importantes para sua sobrevivência sobre saiam e garantam a sobrevivência dos animais como de sua cria.

Os Resultados da tabela 2 sobre a qualidade dos oócitos que se tornarão embriões para serem transferidos a receptoras aptas a receber estes embriões, encontram-se embasados em trabalhos da literatura que descrevem que o estresse térmico tem efeito na qualidade oocitária, pois acarretam alterações na dinâmica de desenvolvimento do oócito que incluem rupturas dos componentes do citoesqueleto como também alterações nas funções mitocondriais. O estresse térmico não só afeta esta dinâmica como também funções das células do cumulus e também na produção de hormonal. Estas alterações afetam, por exemplo, a síntese de proteína e como consequência a maturação oocitária e no desenvolvimento futuro das estruturas

(Sakatani M⁴⁴). O maior valor do ITU que ocorreu na estação da seca, quando comparado com o das chuvas, tem um efeito deletério sobre os animais quando falamos na produção e qualidade de oócitos, influenciando no número de oócitos viáveis. Trabalhos como o de De Rensis,¹⁵ e Wolfenson D,⁵⁶ citam que o estresse térmico atrasa a seleção folicular e aumenta a duração das ondas foliculares afetando a qualidade dos oócitos e a esteroidogênese folicular, consequência de alterações nas secreções hormonais, como por exemplo de estradiol; corroborando com os resultados encontrados, levando a diminuição do número de oócitos totais e o número de oócitos viáveis na seca, que pode levar a uma queda nos índices de concepção pela sua baixa qualidade.

Os resultados da tabela 3, nos mostra uma superioridade na produção de embriões e taxa de concepção durante o período chuvoso, o que é de se esperar pois neste período o valor de ITU é menor e os animais doadores sofreram um menor estresse térmico e assim tem uma capacidade de produção de mais embriões. Entretanto a quantidade de embriões viáveis não mostrou diferenças entre as duas estações, muito provavelmente por parte destes oócitos que no período chuvoso foram fecundados, ainda sofreram efeitos de estresse sofrido no período anterior a sua coleta e assim ainda sofrerem os danos que levaram a uma baixa capacidade de desenvolvimento. Ainda os resultados mostraram uma maior taxa de concepção no período chuvoso, onde estes resultados encontram embasamento na literatura, pois as receptoras neste período, provavelmente têm um ambiente uterino com melhor capacidade de fixação e desenvolvimento dos embriões implantados, levando a um aumento da taxa de sobrevivência destes embriões e além disso os embriões implantados viáveis já estão em uma fase avançada de desenvolvimento com uma capacidade maior de sobrevivência (Roth³⁹). Dash¹⁴, em seu trabalho observou que durante o stress térmico o ambiente uterino é comprometido. Ocorre uma diminuição no fluxo sanguíneo no útero e a temperatura se eleva. Essas mudanças aumentam as de perdas embrionárias precoces e baixo dos embriões. Em seu trabalho cita que a exposição das fêmeas entre 0-3 dias da gestação ou 0-7 dia da gestação reduz a capacidade de sobrevivência do embrião.

Os resultados de trabalhos sobre a qualidade de oócitos, tem demonstrado a influência do estresse térmico na diminuição da dominância do folículo primordial da primeira onda folicular. Essa diminuição faz com que ocorra a emergência do folículo pré-ovulatório da segunda onda previamente entre 2-3 dias (Wolfenson *et al.*⁵⁶). Estes acontecimentos de acordo com a literatura, pode resultar na emergência de folículos velhos que em parte pode ter efeito na qualidade de oócitos que se tornaram viáveis. O trabalho de Sakatani⁴⁴, relata que o

stress térmico não afeta somente a função celular, mas também leva à rupturas de DNA ou funções das organelas celulares pela indução do stress oxidativo. Além disso, o estado nutricional dos animais influenciado pela baixa disponibilidade de alimentos (seca) para as doadoras criadas a pasto pode ter uma influência na qualidade dos embriões obtidos através dos oócitos viáveis, porém de baixa qualidade afetados pelo estresse térmico. Estes resultados encontram-se baseados em dados da literatura em que Chrenek *et al.*¹², encontraram diferenças significativas na proporção de oócitos de qualidade em animais de ECC 1 e 2 (43,60; 57,60%) respectivamente quando comparados com animais de ECC 3(60,9%) numa escala de 1 a 5. No quadro ainda pode ser observado uma taxa de prenhes mais baixa nos animais com o valor de ITU superior na época da seca. Resultado semelhantes encontra-se na literatura em que taxas de ITU de 73 ou superiores resultaram numa queda nas taxas de concepção de até 29,4% para 12,1% revelando os efeitos deletérios do stress térmico (Dash¹⁴) Estes valores em números de prenhes pode estar ligado diretamente à condição das receptoras dos embriões transferidos. Trabalhos na literatura citam que animais primíparas tem um desempenho melhor que múltíparas como receptoras de embriões assim levando uma taxa de prenhez mais significativa, consequência também da condição corporal destas receptoras (Pinto *et al.*³⁶).

De acordo com o exposto na tabela 4 e 5, os resultados, de Odds Ration (OR) da estação seca e chuvosa, os resultados encontram embasamento na literatura, pois os animais zebuínos e adaptados encontram uma capacidade maior de suportar o estresse térmico e as adversidades do ambiente que os taurinos que, para sua sobrevivência, necessita de alterações do ambiente para poderem expressar o máximo de sua capacidade genética. É compreendido que o estresse térmico leva a alterações sobre o eixo hipotálamo - hipófise e os ovários, determinando modificações na secreção hormonal e levando um declínio na fertilidade dos animais sob este efeito.

Durante o período de estresse térmico, o eixo hipófise – hipotálamo é afetado, levando a uma cascata de eventos principalmente com relação a secreção de gonadotrofinas, que acarreta principalmente, a um declínio da secreção de GNRH o que resulta em uma alteração da atividade ovariana (De Rensis *et al.*¹⁵). Além disso, os resultados obtidos pelo presente trabalho, tem base na literatura relatando que animais zebuínos tem baixa taxa metabólica com uma grande capacidade de perder calor para o meio, os quais são umas das razões para explicar a sua grande capacidade de termorregulação durante os stress calórico causado pelo ambiente (Dikmen e Hansen¹⁶). Em seu trabalho, Carvalho *et al.*¹¹ comparando vacas ½

sangue holandês com $\frac{3}{4}$ de sangue holandês, medindo sua temperatura interna durante o dia e noite, encontrou resultados demonstrando uma capacidade maior dos animais mestiços com maior grau de sangue zebu de se adaptarem ao ambiente de stress térmico quando comparado com animais de maior grau de sangue taurino. Os trabalhos da literatura concluem de uma maneira geral, que os animais com algum grau de sangue zebuino, tem uma capacidade superior aos taurinos de suportarem melhor o calor, e assim obterem melhores respostas para as características produtivas e reprodutivas.

Os resultados demonstrados nas tabelas 6 e 7 estão de acordo com os resultados de trabalhos feitos por autores como o de Silva *et al.*⁴⁶, que trabalhando com animais Nelore e Jersey encontram resultados onde os embriões *Bos taurus* (Jersey) foram mais sensíveis ao stress térmico que animais *Bos indicus* (Nelore). A porcentagem de embriões clivados que se desenvolveram a blastocistos na raça Jersey foi menor que na raça Nelore, relatando que este último não foi afetado pelo stress térmico quando os oócitos foram cultivados em uma temperatura de 41°C por 12 horas. Além disso Silva *et al.*⁵⁰, comparando embriões das raças Nelore e Angus, a taxa de clivagem foi de 72% para nelore e 56% para angus, demonstrando uma maior resistência ao estresse térmico de embriões *Bos indicus* em relação a embriões *Bos taurus*. Em seu trabalho os embriões de uma maneira geral, que sofrem o stress térmico têm menores taxas de desenvolvimento para blastocistos, e além disso apresentam baixa qualidade. De acordo com esses resultados se concluiu que embriões de *Bos indicus* (Nelore) são menos afetados pelo stress térmico que embriões de *Bos taurus* (Jersey e Angus).

Em outro trabalho, Camargo *et al.*¹⁰, comparando a capacidade de desenvolvimento de oócitos obtidos de *Bos taurus* (Holandês) e *Bos indicus* (Gyr) verificaram que oócitos dos animais Gyr tiveram uma maior tolerância ao stress térmico e uma melhor capacidade de desenvolvimento que embriões de animais holandeses. Porém quando se transferiu embriões de qualidade I para as receptoras não foi observado diferenças estatística nas taxas de prenhez e parto entre os animais que receberam embriões de animais *Bos indicus* ou animais *Bos taurus*. Esta tolerância dos embriões coletados de animais *Bos indicus* ainda não está bem esclarecido. Algumas hipóteses são sugeridas, porém ainda não se tem uma conclusão precisa sobre este fato. Sabe-se que os animais *Bos indicus* pela sua composição fenotípica, pelagem mais clara, pelame escuro, maior tamanho e quantidade de glândula sudoríparas pelo corpo tem uma influência bastante acentuada no controle da temperatura corpórea das vacas, o que pode se refletir na qualidade dos oócitos produzidos por esta espécie. Além disso sabe-se que animais em condições de stress térmico tem uma produção maior de Hsp 70 (Heat shock

protein) e Camargo *et al.*¹⁰, em suas análises encontrou uma maior proporção de Hsp70.1 mRNA em oócitos imaturos de animais Holandeses quando comparados com animais Gyr. Estes resultados demonstram uma menor capacidade de tolerância dos animais holandeses ao stress térmico o que afeta a qualidade dos oócitos produzidos. Sakatani⁴¹ cita ainda, em seu trabalho, efeitos do stress térmico na produção de embriões. Foi verificado que embriões em estágios iniciais de desenvolvimento entre uma e oito células são mais susceptíveis a elevadas temperaturas que estágios mais avançados como mórula e blastocistos. Essa elevada temperatura induz a apoptose, além de rupturas de componentes do citoesqueleto e alterações na transcrição maternal. Além dessas alterações o estresse calórico ainda afeta a função celular em relação a matriz metallopeptidase. O resultado apresentado na taxa de concepção, em que os animais taurinos apresentaram uma taxa maior que zebuínos, pode estar ligado a qualidade da receptora já que para a transferência somente foram transferidos oócitos de qualidade grau I, o que pode ter levado a diferença em relação aos zebuínos.

Na tabela 8 os resultados mostram as diferenças na produção total de oócitos e ovócitos viáveis, quando comparamos o grupo racial e a influência da estação do ano na produção das estruturas. Os resultados encontram embasamento na literatura com relatos de maior adaptação dessa espécie zebuína que a espécie taurina, por características fisiológicas e fenotípicas que conseguem lhe dar uma superioridade em relação aos animais taurinos no ambiente tropical. A espécie adaptada, se mostrou superior na estação chuvosa com maior número de oócitos produzidos e oócitos viáveis, porém sem diferença em relação a porcentagem de ovócitos viáveis, pois este grupo em seus cruzamentos absorve característica que lhe dão habilidade de sobreviver em ambientes adversos com um maior ITU quando comparado com os animais taurinos. Com relação ao efeito entre raças, nas análises, foram encontradas diferenças, mostrando mais uma vez uma superioridade da espécie zebuína e mestiça quando comparado com a espécie taurina. Os resultados estão de acordo com a literatura, onde há relatos que, a influência do estresse calórico nos animais mais sensíveis (taurina), levam a problemas reprodutivos os quais diminuem a competência dos oócitos a se desenvolverem e se tornarem viáveis a fim de serem fecundados e se tornarem embriões. Em sua revisão sobre a influência do estresse térmico na dinâmica folicular Roth e Wolfenson⁴³, relataram trabalhos que demonstram uma baixa concentração de estrógeno no líquido folicular obtidos de grandes folículos sob estresse térmico levando a uma redução da viabilidade das células da granulosa e diminuição da atividade da enzima aromatase durante o período de calor. Além disso uma supressão da liberação pulsátil de LH e da onda pré-ovulatória tem

sido observado em estações quentes o que afeta a qualidade dos oócitos e ainda a fertilidade dos animais. Com uma série de efeitos adversos em consequência do estresse térmico (Paes *et al.*³¹) relatou em seu estudo uma baixa produção de estradiol pelo COCs (*cumulus-oocyte complex*) ocasionando a uma cascata de eventos que influenciam na maturação oocitária que leva a uma diminuição na competência do oócito para fertilização e desenvolvimento até embrião. Em seu experimento, Sakatani⁴⁴ relatou que a vesícula geminal e *complexo cumulus oócito* exposto a altas temperaturas mostram uma maturação nuclear e citoplasmática oocitária prejudicada levando um aumento de formação anormal fusiforme e uma diminuição da competência de desenvolvimento após fertilização *in vitro* (FIV). De acordo com os relatos da literatura observamos que o ITU de $71,80 \pm 0,06$ no período de chuvas possivelmente obteve uma maior influência na porcentagem de ovócitos viáveis quando comparados com o ITU de $73,08 \pm 0,05$ do período seco na espécie taurina quando comparada com espécie zebuína e mestiços. Alves *et al.*³, encontrou em seu trabalho que o estresse calórico tem uma correlação positiva com oócitos degenerados pois em seu estudo observou uma correlação positiva entre ITU e alterações no fluido folicular de oócitos, e inversa com reação concentração sérica de glicose, sódio e potássio o que afetou o desenvolvimento oocitário e aumentando a degeneração, e também na qualidade e tamanho dos oócitos aspirados durante período de estresse térmico em vacas girolandas,

Na tabela 9 e figura 1, os resultados apresentados mostram que o número de embriões produzido pelo grupo genético zebuíno foi maior numericamente que taurino e mestiços respectivamente tanto na época da seca como no período chuvoso respectivamente. Quando falamos com relação a porcentagem de concepção os resultados demonstram um melhor resultado na época das chuvas que no período da seca em todas as espécies analisadas, zebuínos, taurino e adaptados. De acordo com o ITU observado no período de $73,8 \pm 0,05$ na estação da seca e $71,80 \pm 0,06$ na estação chuvosa os resultados mostram uma maior capacidade de adaptação do grupo zebuíno em relação aos taurinos e adaptados. Outro fator que deve ser levando em consideração nas análises em relação a porcentagem de concepção seria a influência das receptoras, ou seja, qual seria a característica racial das receptoras utilizadas. Estes animais sendo mais azebuadas ou mais taurinas poderiam influenciar nos resultados, pois de acordo com os estudos sabe-se que o estresse térmico tem influência sobre a fixação do embrião e na manutenção da gestação onde pode ocorrer aborto e perdas embrionárias.

Em seu trabalho Costa *et al.*¹³, encontraram diferenças em taxas de prenhes quando comparado graus de sangue girolando ($1/2$ Holstein $1/2$ Gyr vs. $3/4$ Holstein $1/4$ Gyr) em diferentes estações (chuva e seca) demonstrando que animais com maior grau de sangue europeu obtiveram menores taxas de prenhes necessitando de mais inseminações para se tornarem concepção quando comparado com o grupo de menor grau de sangue europeu no período de maior ITU estudado. Abdalla *et al.*¹ estudando os fatores que leva a perdas embrionárias mais tardias e morte embrionária em estágios iniciais em rebanhos encontrou menores chances em animais cruzados que animais holandeses puros, porém não encontrou diferenças significativas de perdas em ITU < 75. Entretanto, Dash *et al.*¹⁴ em sua revisão sobre stress térmico, descreveu que a taxa de concepção e taxa de prenhes em gado de leite começa a ocorrer uma diminuição a partir do ITU de 72, diferente de animais bubalinos que se inicia em ITU de 75. O autor ainda cita que estratégias para minimizar o impacto do stress térmico devem ser tomadas como modificação da nutrição com uso de alimentos que atinjam as necessidades fisiológicas e produtivas dos animais, porém com uma menor produção de calor, modificação do ambiente que proporcione um maior conforto térmico para os animais e ainda a utilização de protocolos que possam melhorar a fertilidade dos animais como a inseminação a tempo fixo (IATF) e também a possibilidade de identificação de genes associados a tolerância ao calor. Os animais zebuínos se mostram mais adaptados a condições climáticas mais adversas, com características que levam os animais a terem uma maior condição de produção de embriões viáveis. Essas características podemos citar como cor da pele e da pelagem, espessura da pele, aspectos e medulação dos pelos e características das glândulas sudoríparas onde os bovinos das raças europeias e zebuínas possuem distribuídas pela superfície cutânea, mas a densidade e o volume das mesmas é variável conforme a região corporal o que confere aos Zebuínos uma capacidade de começarem a transpirar em temperaturas de pele e retal mais baixas (Pereira³⁵).

De acordo com a tabela 10, figuras 2,3 e 4 foi observado uma variação durante o ano na produção de embriões, esta, dependendo da estação do ano. Pelas análises os meses que foram obtidos maiores produções principalmente para zebuínos e adaptados foram de novembro a abril e os piores meses foram de maio a outubro. De acordo com os dados e o período analisado vale lembrar que a estação seca se estendeu de abril a setembro como ITU de $73,08 \pm 0,05$ e o período de chuvas de outubro a março com ITU de $71,80 \pm 0,06$.

Os resultados encontram-se de acordo com trabalhos da literatura, em que o stress térmico sofrido pelos animais e com consequências ao desenvolvimento dos oócitos se

estendem por um período maior que somente aquele o qual o estresse térmico foi sentido. Roth e Wolfenson⁴³ relataram em sua revisão que os estudos têm demonstrado que folículos antrais recentes de 0,5 a 1,0 mm de diâmetro já são sensíveis térmico e que os estudos encontrados relatam que um período aproximadamente de 2 meses é requerido para que os animais que sofreram estresse, retorne à fertilidade normal diminuída pela alteração causada pelo calor no organismo. Estes achados explicam porque o stress sofrido em determinado período se prolongue levando seus efeitos além do período de calor. Trabalhos tem demonstrados que os efeitos em animais tanto *Bos indicus* como *Bos taurus*, os oócitos coletados diminuem sua competência para se desenvolverem a embriões que terão reflexo na eficiência e qualidade dos trabalhos desenvolvidos em *Fertilização in Vitro* (FIV). Outros efeitos são citados na literatura causando diminuição da qualidade dos oócitos e diminuição no seu desenvolvimento para embriões. Estes efeitos podem estar relacionados com os resultados do trabalho e com maior magnitude nos animais taurinos que são mais susceptíveis ao estresse térmico que os animais zebuínos e adaptados conforme descrito anteriormente. Em seu experimento, Paes³¹ encontrou o efeito também do estresse térmico no desenvolvimento de COC's e como consequência diminuição da capacidade de desenvolvimento a embriões. Em outro trabalho Bezerra *et al.*⁷ estudando efeitos das estações do ano na produção de embriões a partir de oócitos coletados do verão e inverno não verificou diferença entre as médias de ovócitos recuperados na estação seca e chuvosa, entretanto as médias de ovócitos fecundados *in vitro* apresentaram diferença quando se comparou o período seco e chuvoso. Ferrazza¹⁹ relatou em seu experimento vários efeitos do estresse térmico em animais taurinos, especificamente vacas holandesas e encontrou várias alterações que acomete os animais e a severidade destas alterações do tempo de exposição, estas alterações por vários trabalhos na literatura tem efeito direto na reprodução e conseqüentemente na produção de embriões e nas taxas de concepção em produções *in vitro*.

As figuras 2, 3 e 4 observando que a produção de embriões e CCO de zebuínos e adaptados começam a aumentar nos meses de novembro pois de acordo com a literatura, (Nascimento³⁰) se inicia o período chuvoso e se observa um ITU menor o qual geram um índice de conforto melhor para os animais, levando a uma melhora das suas funções fisiológicas especificamente reprodutivas e como consequência uma melhora da qualidade das estruturas produzidas. Pelos resultados observamos que a maior produção para zebuínos e adaptados ocorreu nos meses de dezembro e janeiro, o que vem de encontro com a literatura em que o retorno a capacidade fisiológica fértil normal dos animais necessária é de

aproximadamente 2 meses ou em torno de 2 ciclos estrais (Roth e Wolfenson⁴³), já os animais taurinos não apresentaram uma variação em meses específicos, acredita-se que os animais dentro do período estudado e da região de acordo com a literatura por terem uma zona de contorto térmico (ZCT) entre 0° e 16°C (Pereira³⁵), não conseguiram de uma forma geral produzir estruturas concentradas em um específico período do ano.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os dados encontrados no presente trabalho, podemos concluir que existe influência da temperatura e umidade no desempenho da técnica de fertilização *in vitro* em bovinos o que afeta a qualidade dos oócitos produzidos, com consequências nas taxas de concepção nas diferentes espécies zebuínas, taurinas e adaptadas.

Ações para se tentar diminuir o efeito destes fatores devem ser testados e estudados para que se possa diminuir os efeitos sobre os animais e para se conseguir melhorar os índices que se tem alcançado até o presente momento.

Os resultados mostraram uma superioridade dos animais com sangue zebuíno sobre os taurinos, reafirmando as características genéticas de adaptabilidade desta espécie em situações de estresse térmico

Maiores estudos são necessários para se entender as diferenças a nível molecular, para compreender essas alterações e assim podemos tomar medidas para incrementos dos resultados em FIV.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdalla H; Elghafghuf A; Elsohaby I; Nasr MAF. Maternal and non-maternal *factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows Theriogenology*. 2017; 100: 16-23.
2. Al-Katanani YM; Paula-Lopes FF; Hansen PJ. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *J Dairy Sci.*, 2002; 85: 390–396,2002.

3. Alves BG; Alves KA; Lúcio AC *et al.* Ovarian activity and oocyte quality associated with the biochemical profile of serum and follicular fluid from Girolando dairy cows postpartum. *Anim Reprod Sci.* 2014; 146 (3-4): 117–125.
4. Andreu-Vázquez C; López-Gatiús F; García-Ispuerto I *et al.* Does heat stress provoke the loss of a continuous layer of cortical granules beneath the plasma membrane during oocyte maturation? *Zygote.* 2010; 18: 293–299.
5. Armstrong DV. Environmental modifications to reduce heat stress. *Dairyman.* 1994; 75(4): 24-28.
6. Ascari IJ. *Adição do fator de crescimento semelhante à insulina-I ou melatonina ao meio de maturação de oócitos bovinos submetidos ao choque térmico.* 2016. 119f. [Tese]. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2016.
7. Bezerra, FQG; Silva, JCF; Silva, PGC Produção in vitro de embriões ovinos a partir de oócitos coletados durante os períodos seco e chuvoso. *Med Vet.* 2014; 8(3):17-23.
8. Bohmanova JL; Misztal I; Cole JB Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J Dairy Sci.* 2007; 90(4):1947-1956.
9. Bonilla AQS; Oliveira LJ; Ozawa, M. *et al* Developmental changes in thermoprotective actions of insulin-like growth factor-1 on the preimplantation bovine embryo. *Mol Cell Endocrinol.* 2011; 332: 170-179.
10. Camargo LSA; Viana JHM; Ramos AA *et al.* Developmental competence and expression of the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos Taurus* dairy cows in a tropical environment *Theriogenology.* 2007; 68: 626-632.
11. Carvalho AC; Salim AK; Cruz PG. *et al.* Relationship between thermal comfort indices and internal temperature of grazing lactating Holstein × Gyr cows in western Amazonia. *Acta Amaz.* 2018; 48:191–196.
12. Chrenek P; Kubovičová e; Olexikova L. *et al.* Effect of body condition and season on yield and quality of in vitro produced bovine embryos. *Zygote.* 2015; 23: 893–899.
13. Costa ANL; Feitosa JV; Montezuma Jr. PA *et al.* Rectal temperatures, respiratory rates, production, and reproduction performances of crossbred Girolando cows under heat stress in northeastern Brazil. *Int J Biometeorol.* 2015; 59: 1647–1653.
14. Dash S; Chakravarty AK; Singh A *et al.* Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: a review. *Vet. World.* 2016; 9 (3): 235-244.

15. De Rensis F; Lopez-Gatiús F; García-Ispuerto I *et al.* Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. *Theriogenology*. 2017; 91:145-153.
16. Dikmen SL; Hansen PJ. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *J Dairy Sci*. 2009; 92(1):109-16.
17. Edwards JL; Saxton AM; Lawrence JL. *et al.* Exposure to a physiologically relevant elevated temperature hastens in vitro maturation in bovine oocytes. *J Dairy Sci*. 2005; 88:4326–4333.
18. Fear JM; Hansen PJ. Developmental changes in expression of genes involved in regulation of apoptosis in the bovine preimplantation embryo. *Biol Reprod*. 2011; 84: 43–45.
19. Ferrazza RA; Garcia HDM; Aristizábal VHV *et al.* Thermoregulatory responses of Holstein cows exposed to experimentally induced heat stress. *J Therml Biol* 2017; 66:68–80.
20. Hansen PJ Effects of environment of bovine reproduction. In: Youngquist RS (Ed.). *Current therapy in large animal theriogenology*. Philadelphia, PA: W.B. Saunders, 1997. p.403–415.
21. Hansen PJ. Cellular and molecular basis of therapies to ameliorate effects of heat stress on embryonic development in cattle. *Anim Reprod*. 2013; 10: 322-333.
22. Hansen PJ. Genetic variation in resistance of the preimplantation bovine embryo to heat shock. *Reprod Fertil Dev*. 2014; 27: 22–30.
23. Hansen PJ. To be or not to be determinants of embryonic survival following heat shock. *Theriogenology*. 2007; Suppl 1: p.S40–S48.
24. Holloway A. Estratégias de manejo para minimizar os efeitos negativos do estresse calórico na produção e reprodução em vacas leiteiras. In: Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos ,15.,2011,Uberlândia, MG. *Apostila....* Botucatu, SP: Conapec Jr./Unesp, 2011. 8p.
25. Ju JC; Jiang, S; Tseng JK. *et al.* Heat shock reduces developmental competence and alters spindle configuration of bovine oocytes. *Theriogenology*. 2005; 64:1677-1689.
26. Landim-Alvarenga FC; Maziero RRD.; Control of oocyte maturation. *Anim Reprod Sci*. 2014; 11:150-158.

27. Leibfried L; First N L. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. *J. Anim Sci* 1979; 48:76-86.
28. Maya-Soriano MJ; López-Gatius F; Andreu-Vázquez C; López-Béjar M. Bovine oocytes show a higher tolerance to heat shock in the warm compared with the cold season of the year. *Theriogenology*. 2013; 79:299–305.
29. Moussa M; Shu J; Zhan XH; Zeng F. Maternal control of oocyte quality in cattle a review. *Anim Reprod Sci*. 2015; 155:11-27.
30. Nascimento MALS. Geomorfologia do estado de Goiás. *Bol Goiano Geog*. 1991; 12(1).
31. Paes, VM; Vieira, LA; Correia, HHV *et al*. Effect of heat stress on the survival and development of *in vitro* cultured bovine preantral follicles and on *in vitro* maturation of cumulus–oocyte complex *Theriogenology*. 2016; 86:994-1003.
32. Parrish JJ; Susko-Parrish JL; Leibfriedrutledge ML *et al*. Bovine *in vitro* fertilization with frozen-thawed semen. *Theriogenolog* 1986; 25:591–600.
33. Paula-Lopes FF; Hansen PJ. Heat shock-induced apoptosis in preimplantation bovine embryos is a developmentally regulated phenomenon. *Biol Reprod*. 2002; 66:1169–1177.
34. Paula-Lopes FF; Lima RS; Satrapa R; Barros CM. Physiology and Endocrinology Symposium: influence of cattle genotype (*Bos indicus* vs. *Bos taurus*) on oocyte and preimplantation embryo resistance to increased temperature. *J Anim Sci* 2013; 91:1143-1152.
35. Pereira JCC. *Fundamentos de bioclimatologia aplicados a produção animal*. Belo Horizonte : FEPMVZ, 2005. 195p.
36. Pinto TL; Nogueira MBR; Sales JNS *et al*. Factors affecting pregnancy rates after ovum pick up-derived embryo transfer in lactating holstein recipients under tropical conditions. *Ciênc. Agrotecnol*. 2015; 39(5) 498-505.
37. Rivera RM; Kelley KL; Erdos GW; Hansen P.J. Alterations in ultrastructural morphology of two-cell bovine embryos produced *in vitro* and *in vivo* following a physiologically relevant heat shock. *Biol Reprod*. 2003; 69:2068–2077.
38. Rivera RM; Kelley KL; Erdos GW; Hansen PJ. Reorganization of microfilaments and microtubules by thermal stress in two-cell bovine embryos. *Biol Reprod*. 2004; 70:1852–1862.
39. Roth Z. Effect of heat stress on reproduction in dairy cows: insights into the cellular and molecular responses of the oocyte. *Ann Rev Anim Biosci* 2017; 5:151–70.

40. Roth Z; Hansen PJ. Disruption of nuclear maturation and rearrangement of cytoskeletal elements in bovine oocytes exposed to heat shock during maturation. *Biol Reprod.* 2005; 129:235–244.
41. Roth, Z; Hansen PJ. Involvement of apoptosis in disruption of developmental competence of bovine oocytes by heat shock during maturation. *Biol. Reprod.* 2004a; 71:1898-1906.
42. Roth, Z; Hansen PJ. Sphingosine 1-phosphate protects bovine oocytes from heat shock during maturation. *Biol. Reprod.* 2004b; 71:2072-2078.
43. Roth, Z; Wolfenson, D. Comparing the effects of heat stress and mastitis on ovarian function in lactating cows: basic and applied aspects. *Dom Anim Endocrinol.* 2016; 56:S218–S227.
44. Sakatani M. Effects of heat stress on bovine preimplantation embryos produced in vitro. *J Reprod Dev.* 2017; 63(4):347-352.
45. Sakatani M; Alvarez NV; Takahashi, M; Hansen, PJ Consequences of physiological heat shock beginning at the zygote stage on embryonic development and expression of stress response genes in cattle. *J Dairy Sci.* 2012; 95:3080-3091.
46. Sakatani M; Suda I; Oki T *et al.* Effects of purple sweet potato anthocyanins on development and intracellular redox status of bovine preimplantation embryos exposed to heat shock. *J Reprod Dev.* 2007; 53:605-614.
47. Sartori R; Prata AB; Figueiredo ACS *et al* Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. *Anim. Reprod* 2016; 13(3):300-312
48. Seidel GE. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. *Theriogenology.* 2003; 59(2):585–598.
49. Silanikove N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 2000; 67:1-18.
50. Silva CF; Sartorelli ES; Castilho AC *et al.* Effects of heat stress on development, quality and survival of *Bos indicus* and *Bos taurus* embryos produced in vitro. *Theriogenology.* 2013; 79:351-357.
51. Sugiyama S; MCGowan M; Phillips N. *et al.* Effects of increased ambient temperature during IVM and/or IVF on the in vitro development of bovine zygotes. *Reprod Domest Anim.* 2007; 42:271-274.

52. Viana, JHM; Figueiredo ACS; Siqueira LGB. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future In: Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), 31, 2017, Cabo de Santo Agostinho, PE, Brazil. *Anim Reprod* 2017; 14(3):76-481.
53. West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2003; 86:2131–2144.
54. Whittingam DG. Culture of mouse ova. *J. Reprod. Fertil.* 1971; 14:.7-21.
55. Wolfenson D; Roth Z; Meidan R. Impaired reproduction in heatstressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci.* 2000; 60-61:535–47.
56. Wolfenson D; Thatcher WW; Badinga L. *et al.* Effect of heat stress on follicular development during these trous cycle in lactating dairy cattle. *Biol Reprod.* 1995; 52:1106-1013.