



IMPACTO DO ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE SOBRE A PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES DE VACAS LEITEIRAS, CRIADAS SOB REGIME INTENSIVO: UMA ANÁLISE BASEADA EM DADOS

IMPACT OF TEMPERATURE AND HUMIDITY INDEX ON THE *IN VITRO* PRODUCTION OF EMBRYOS FROM INTENSIVELY MANAGED DAIRY COWS: A DATA-BASED ANALYSIS

Bárbara Agnes Pereira Gomes¹

Ana Clara Marçal da Silva¹

Mateus Silva Abrances¹

Maria Isabel Vaz de Melo²

Mayara Ferreira Brito²

RESUMO

A produção de alimento tem sido colocada em pauta devido ao aumento da população mundial. Objetivando aumento da eficiência produtiva, as biotecnologias reprodutivas têm papel fundamental uma vez que com elas é possível acelerar os ganhos genéticos dos rebanhos leiteiros. Concomitante a essa mudança populacional, estão havendo mudanças climáticas, o que pode propiciar o estresse térmico. Esse problema afeta, principalmente, vacas leiteiras da raça *Bos taurus*, gerando consequências, desde a produção até a reprodução. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos das variações climáticas, entre as estações de inverno e verão, sobre a produção *in vitro* de embriões de vacas holandesas criadas em regime intensivo na região de Sete Lagoas, Minas Gerais. Para isso foi realizado levantamento de dados das coletas de oócitos, dos anos de 2022 e 2023, com o intuito de analisar as seguintes variáveis: oócitos viáveis, oócitos cultivados, oócitos clivados e embriões, além de caracterizar o comportamento climático do período de análise (temperatura, umidade, precipitação e ITU). A média dos oócitos cultivados foi diferente entre inverno e verão, sendo, 148,21 ($\pm$ 42,21) e 123,84 ($\pm$ 40,51), $p < 0,05$, respectivamente. Porém, a viabilidade oocitária, clivagem e formação de embrião não diferiram entre as estações do ano.

Palavras-chave: PIVE; estresse térmico; holandês; ITU; oócito.

ABSTRACT

The production of food has been brought to the forefront due to the increasing global population. Aimed at increasing production efficiency, reproductive biotechnologies are a fundamental role as they can accelerate the genetic gains of dairy herds. Concurrent with this demographic shift are climate changes, which can generate to thermal stress. This problem affects mainly dairy cows of the *Bos taurus* breed, resulting in consequences from production to reproduction. The objective of this study was to evaluate the effects of climatic variations between winter and summer seasons on the *in vitro* production of embryos from Holstein cows raised intensively in the Sete Lagoas, Minas Gerais. For this purpose, data collection from oocyte collections from the years 2022 and 2023 was collected to analyze the following variables: viable oocytes, cultured oocytes, cleaved oocytes, and embryos, as well as to characterize the climatic behavior during the analysis period (temperature, humidity, precipitation, and THI). The mean of cultured oocytes was different between winter and summer, being 148.21 ($\pm$ 42.21) and 123.84 ($\pm$ 40.51), $p < 0.05$, respectively. However, oocyte viability, cleavage, and embryo formation did not differ between the seasons.

Keywords: IVEP; heat stress; Holstein; THI; oocyte.

1 INTRODUÇÃO

A expectativa é que a população mundial atinja 9,7 bilhões de pessoas até 2050 (ONU, 2022), com base nisso, a produção de alimento se torna uma questão a ser ponderada. Dessa forma, é necessário aumentar a produtividade dos animais, planejando a maior eficiência das cadeias produtivas (LACERDA et al., 2023). Para ajudar nesse processo, as biotecnologias reprodutivas têm sido cada vez mais incorporadas nos sistemas de produção, com o intuito de acelerar os ganhos genéticos entre as gerações, maximizando a produtividade dos descendentes. A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotecnologia consolidada, tanto para as raças taurinas quanto zebuínas, como a técnica *ex situ* que tem maior percentual de embrião produzidos no Brasil (GONÇALVES; VIANA, 2019). Além disso, é necessário pensar nas mudanças climáticas que vêm ocorrendo e que acontecerão com o passar dos anos, o que pode potencializar adversidades nos sistemas de produção, como é o caso do estresse térmico (ROTH, 2017).

A coleta de oócitos *in vivo* para a PIVE pode ser feita por meio de laparotomia, laparoscopia, ambas via flanco, laparoscopia vaginal e pela técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU), sendo essa a melhor opção para a recuperação das células reprodutivas. Durante todo o processo de maturação *in vitro*, o oócito está em estágio de vesícula germinativa e as alterações nesse momento envolvem mudanças no citoplasma e

no núcleo do oócito, para que seja possível ocorrer a fecundação e se desenvolver até o estágio de blastocisto. O período de maturação varia de 18 a 24 horas. O meio de cultivo dessas células, mais difundido, é composto por soro fetal bovino, aminoácidos, bicarbonato de sódio, FSH, LH, estradiol-17 β , piruvato de sódio, lactato, vitaminas e antibióticos. Associado ao meio de cultura, é preciso também de uma estufa, para que seja mantida a atmosfera gasosa e temperatura controlada e adequada. No momento de fecundação *in vitro*, que varia de 18 a 22 horas, o meio utilizado deve ser um promotor da capacitação espermática e que permita a motilidade progressiva, além de promover o metabolismo dos oócitos e células dos *cumulus*. Após a maturação e fecundação, há a formação do zigoto, que passa por várias clivagens até formar o blastocisto, durante a etapa conhecida por cultivo *in vitro*, que demanda de 7 a 9 dias. (MELLO et., 2016),

O estresse térmico (ET) pode ser definido como uma condição na qual um animal não consegue dissipar calor, produzido ou absorvido pelo organismo, em quantidade adequada para manter o equilíbrio térmico corporal, impactando negativamente no bem-estar, na produtividade e na reprodução dos animais (FELTES et al., 2024). Esse problema é de grande relevância na pecuária leiteira, pois há influência da sazonalidade das regiões tropicais, como o Brasil, além da tendência global ser o aumento gradual da temperatura, tornando-se um obstáculo ainda mais frequente (COELHO e PAULA-LOPES, 2023).

O ET é causado, além da temperatura e umidade, pela velocidade do vento e radiação solar, impactando na fisiologia, bem-estar e saúde animal (LACETERA, 2019). Para mensurar o índice de conforto térmico animal, o índice de temperatura e umidade (ITU) tem sido um dos principais indicadores utilizados para fazer essa análise, porém há discussão sobre os valores ideais para as vacas leiteiras. O Serviço Nacional de Meteorologia de Livestock (1976) estima que ITU até 74 é considerado ambiente seguro, entre 75 e 78 é sinal de alerta, entre 79 e 83 é perigoso e acima de 84 representa estresse térmico severo para os animais. Rosenberg et al (1983) afirmam que há mudanças produtivas e comportamentais quando ITU está superior a 72. Bohmanova et al (2007) e Collier et al (2012) ressaltam que as alterações na frequência respiratória, no comportamento e perdas na produção ocorrem a partir de ITU maior que 65.

As vacas leiteiras da raça *Bos taurus taurus* têm maior susceptibilidade ao aumento da temperatura (HANSEN, 2009), o que amplia as complicações reprodutivas causadas pelo estresse ao calor. Entre essas consequências, pode-se citar: limitação da função do endométrio, comprometimento do fluxo sanguíneo para o útero e placenta e alteração da função hipotálamo-hipófise-ovário (COELHO e PAULA-LOPES, 2023). Essa alteração

hormonal pode comprometer o desenvolvimento folicular e oocitário (MOURA e PAULA-LOPES, 2020), diminuindo as taxas de fertilização e prenhez dos rebanhos acometidos. O ET induz diversas alterações na dinâmica oocitária, sendo elas: menor proporção de oócitos em estágio germinativo que desenvolveram até o estágio de blastocisto, modificação da transcrição do RNAm materno presente na célula reprodutiva, comprometimento induzido da maturação oocitária, diferente distribuição mitocondrial no oócito (ROTH, 2017).

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos das variações climáticas, entre as estações de inverno e verão, sobre a produção *in vitro* de embriões de vacas holandesas criadas em regime intensivo na região de Sete Lagoas, Minas Gerais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Levantamento de dados

Os dados utilizados nessa pesquisa foram fornecidos por empresa comercial de produção de embriões (PIVE) referentes à propriedade rural localizada na cidade de Sete Lagoas, Minas Gerais, sendo uma região caracterizada por clima tropical de altitude.

Foram incluídos dados coletados nos anos de 2022 e 2023, divididos entre estações do ano: verão (janeiro, fevereiro e março) e inverno (julho, agosto e setembro). Todos os dados foram provenientes da mesma propriedade e os processos de produção *in vitro* realizados pelo mesmo laboratório, com processo de produção padronizado. Os touros utilizados nas rotinas de PIVE são selecionados de acordo com critérios genéticos de produção e todos são de comprovada fertilidade e eficiência na produção de embriões.

Os dados incluídos na pesquisa foram: número de doadoras coletadas por estação, número de oócitos viáveis submetidos à maturação *in vitro* (oócitos viáveis), número de oócitos viáveis após a maturação e submetidos à fertilização *in vitro* (oócitos cultivados), número de zigotos que iniciaram o processo de clivagem durante o cultivo *in vitro* (zigotos clivados) e número de embriões viáveis para transferência de embriões obtidos após a PIVE.

2.2 Caracterização da propriedade e animais

Trata-se de propriedade rural com sistema intensivo de produção de leite, do tipo Compost Barn. As instalações contam com sistema de resfriamento (ventilação e aspersão de água), tanto na linha de cocho quanto na sala de espera da ordenha. A dieta para as vacas é a

base de silagem de milho, polpa cítrica, caroço de algodão pré-secado e grão úmido de milho. São realizadas 3 ordenhas diárias e o rebanho da propriedade tem média de produção de 36 litros de leite diária.

Todas as fêmeas incluídas no estudo são da raça holandesa (preto e branca e vermelho e branca), tendo sido aspiradas novilhas, primíparas e múltiparas. A escolha das doadoras é baseada na avaliação do genoma, considerando as seguintes informações: produção de leite, índice total de desempenho (TPI), taxa de prenhez das filhas (DPR) e vida produtiva. Ao longo dos períodos selecionados para esse estudo, algumas doadoras foram coletadas mais de uma vez, com intervalo mínimo de 21 dias.

Os oócitos para a PIVE foram obtidos por aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) realizada por técnicos especialistas. Não foi feito protocolo hormonal nas vacas antes da aspiração e optou-se por coletar animais com prenhez de até 3 meses. Após a obtenção, os oócitos eram classificados quanto à qualidade morfológica (DEMÉTRIO et al., 2020). Aqueles considerados viáveis foram colocados em meio de maturação *in vitro* e transportados em incubadora portátil, com controle de CO₂.

No período considerado para esse estudo foram realizadas 755 coletas, em 47 datas distintas.

2.3 Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos foram obtidos no site Instituto Nacional de Meteorologia da Agricultura e Pecuária (INMET), da estação meteorológica mais próxima da propriedade com as seguintes coordenadas: latitude -19,45527777, longitude -44,17333332 e altitude 719, localizada em Sete Lagoas, Minas Gerais. Os dados para o presente trabalho foram precipitação total por hora (mm), temperatura máxima por hora (°C), temperatura mínima por hora (°C), umidade relativa do ar por hora (%) e temperatura do bulbo seco (°C). Para identificar a temperatura média do dia, temperatura média do bulbo seco, umidade relativa diária e precipitação média diária, foram usados os valores fornecidos. Para a temperatura média e temperatura do bulbo seco, foi calculado a média das temperaturas máxima e mínima por hora, após isso, foi feita a média diária, considerando os valores de temperatura média por hora. Já para umidade e precipitação diárias, foi feita somente a média dos valores fornecidos por hora, encontrando a média diária. Para todas as variáveis, foram determinadas as médias mensais.

A partir dos dados de temperatura do bulbo seco média diária e umidade relativa do ar média, foi feito o cálculo do índice de Temperatura e Umidade (ITU), para avaliação do conforto térmico das vacas, para cada data, fórmula utilizada foi a seguinte: $[(1.8 \times \text{TBS} + 32) - (0.55 - (0.0055 \times \text{UR}) \times 112 (1.8 \times \text{TBS} - 26))]$, TBS = temperatura do bulbo seco (°C) e UR= umidade relativa do ar (%).

Todos os cálculos foram realizados por meio de planilhas no programa Microsoft “Excel”. Os dados foram analisados para cada dia de OPU.

2.4 Análise estatística

Foi realizada estatística descritiva para cada uma das características analisadas: temperatura média diária, precipitação pluviométrica acumulada diária, umidade relativa do ar média diária, ITU diário, número de doadoras, número de oócitos viáveis, número de oócitos cultivados, número de zigotos clivados e número de embriões viáveis.

As variáveis de temperatura média diária, umidade média diária, precipitação acumulada e ITU foram comparadas pelo teste U de Man Whitney. Para avaliar o efeito da estação sobre o número de oócitos viáveis e número de embriões viáveis foi utilizado o teste de *Tukey*. Já para as variáveis que não seguiram distribuição normal, número de doadoras, oócitos maturados cultivados e zigotos clivados, foi realizado o teste U de *Man Whitney*. O nível de significância foi de 5% para todos os testes.

3 RESULTADOS

A análise descritiva das variáveis climáticas está representada na Tabela 01, considerando a estação do ano (verão e inverno), na forma de média, desvio padrão e valor de p. Foi caracterizado o período de verão como quente e úmido, com ITU médio indicando ambiente estressante, e o inverno mais frio e seco, com ITU dentro da margem de alerta.

Tabela 01: Média das variáveis temperatura, umidade, precipitação e ITU, para as estações de verão e inverno, considerando os anos de 2022 e 2023.

Variáveis	Verão	Desvio Padrão	Inverno	Desvio Padrão	p-valor
Temperatura	23,17 ^a	0,99	20,31 ^b	3,24	<0,001
Umidade	74,16 ^a	7,85	60,28 ^b	8,53	<0,001
Precipitação	0,177	0,35	0,11	0,26	0,588
ITU	78,23 ^a	2,47	70,16 ^b	7,86	<0,001

*Na mesma linha, valores com letras sobrescritas diferentes (a,b) são estaticamente diferentes (p<0,05)

Os gráficos abaixo apresentam a média de temperatura mensal (Figura 01), a média de umidade mensal (Figura 02), a média de ITU mensal (Figura 03), nos dois anos, 2022 e 2023, sendo possível observar a variação desses indicadores durante o período analisado.

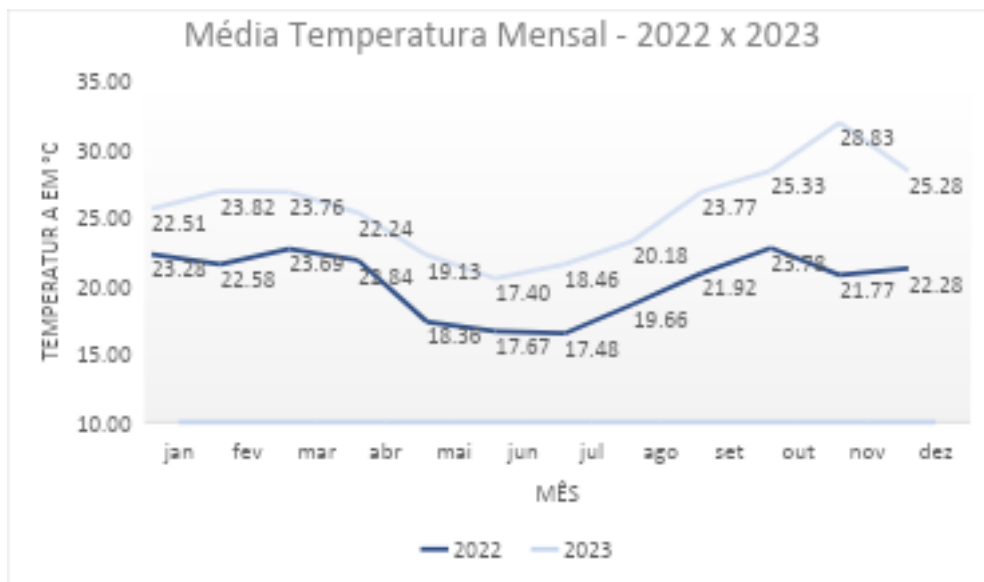


Figura 01: Média da temperatura mensal comparando os anos de 2022 e 2023, na região de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

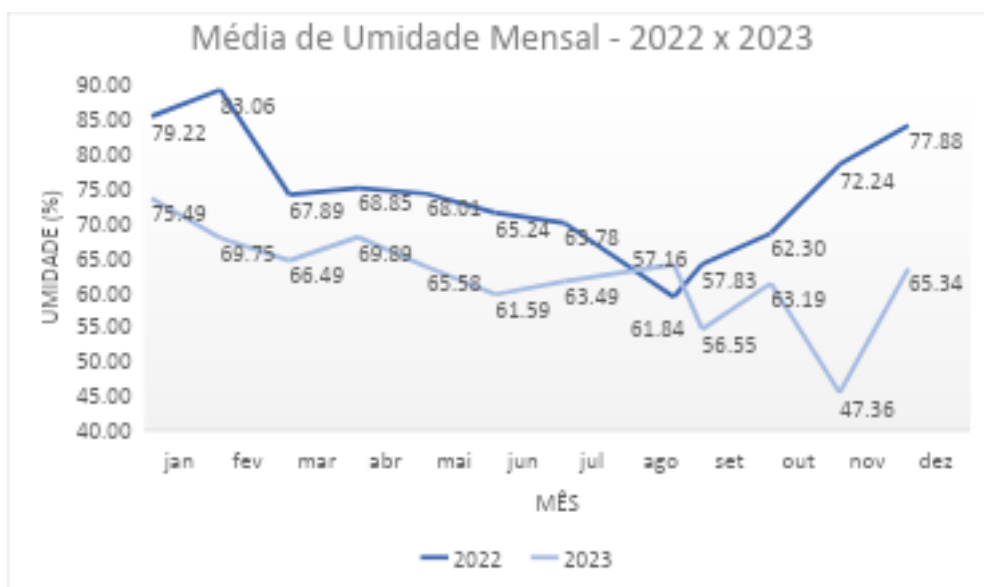


Figura 02: Média da umidade mensal comparando os anos de 2022 e 2023, na região de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.



Figura 03: Média de ITU mensal comparando os anos de 2022 e 2023, na região de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil

A análise das variáveis relacionadas à PIVE está representada na Tabela 02 considerando a estação do ano (verão e inverno), na forma de média, desvio padrão e valor de p. Somente foi observado o efeito da estação do ano sobre o número de oócitos cultivados, tendo sido obtido melhor resposta à maturação *in vitro* nos oócitos coletados durante o inverno.

Tabela 02: Média das doadoras, oócitos viáveis, oócitos cultivados, oócitos clivados e embriões produzidos, para as estações de verão e inverno, considerando os anos de 2022 e

Variáveis	Estação do ano				p-valor
	Verão	Desvio padrão	Inverno	Desvio padrão	
Doadoras	16,68	4,78	15,39	3,62	0,254
Oócitos viáveis	122,12	38,92	141,7	36,82	0,081
Oócitos cultivados	123,84 ^a	40,51	148,21 ^b	42,21	0,034
Zigotos clivados	103,76	36,83	102,91	49,75	0,392
Embriões	38,72	15,1	41,96	16,65	0,484

*Na mesma linha, valores com letras sobscritas diferentes (a,b) são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$)

2023.

Doadoras, oócitos viáveis, oócitos clivados e embriões não apresentaram diferença estatística entre as estações.

4 DISCUSSÃO

O estresse térmico (ET) é um fator que afeta a produtividade e a fertilidade de vacas leiteiras, uma vez que altera mecanismos endócrinos, reprodutivos, imunes e metabólicos, sendo um problema de alta complexidade e múltiplas interações (DOVOLOU et al., 2023). A secreção prolongada do cortisol, causada pelo ET, ocasiona alteração do sistema imunológico e dos processos inflamatórios, resultando em estímulo de secreção das interleucinas 6 (IL6) e interleucinas 10 (IL10), e inibindo a secreção de interleucina 12 (IL12) (VAN GOOL et al., 1990; ELENKOV et al., 1996). Esse fato gera imunossupressão, predispondo o desenvolvimento de doenças (BAGATH et al., 2019). Outras alterações ocasionadas pelo estresse são queda da concentração de glicose e ácidos graxos não esterificados no plasma, aumento no nitrogênio e ureia, pelo catabolismo de aminoácidos e maior concentração de insulina plasmática (MIETKIEWSKA et al., 2022).

No âmbito reprodutivo, são observadas redução na concentração de androstenediona e estradiol, supressão da liberação pulsátil do hormônio luteinizante (LH) e do pico pré-ovulatório de LH (MAYA-SORIANO et al., 2013) quando sob condições de estresse. Além disso, no ambiente ovariano, são detectadas baixa concentração de esteroides no fluido de folículos grandes, diminuição de viabilidade das células da granulosa e atividade aromatase comprometida (MATTA et al., 2009). Essas mudanças podem interromper a cascata ovulatória e a maturação do oócito, prejudicando a competência do oócito para fertilização e desenvolvimento do embrião, tornando-o menos viável (ROTH et al., 2017).

O ambiente onde as vacas estão inseridas tem grande influência sobre os seus desempenhos, pois afeta os mecanismos de transferência de calor e, conseqüentemente, a regulação do balanço térmico entre o animal e o meio (RODRIGUES et al., 2010). Nesse contexto, as vacas dependem cada vez mais de estratégias para aliviar a ação dos estressores térmicos. Com esse intuito, o aprimoramento dos sistemas de confinamento visa diminuir as conseqüências do ET e, como conseqüência, aumentar a produtividade, melhorar a qualidade do leite, garantir saúde do rebanho e proporcionar condições de bem-estar. Para que esse objetivo seja alcançado, é preciso que haja controle do ambiente térmico interno, utilizando de sistema de ventilação e resfriamento evaporativo, e, assim, evitando a heterogeneidade climática do ambiente, que influencia na termorregulação dos animais (FRIGERI et al., 2023).

A instalação do tipo Compost Barn visa aumentar o conforto das vacas, melhorar a longevidade e moderar os custos iniciais de instalação (DAMASCENO et al., 2020). Da Silva et al (2020) afirmam que essa instalação foi eficiente em estabelecer conforto térmico para as

vacas, na região de semiárido, identificando processo de transferência de calor por convecção da temperatura da cama para a temperatura ambiente, e, para que isso aconteça, é necessário manejar a cama duas vezes ao dia. A partir desses relatos, compreende-se que esse tipo de confinamento, quando bem manejado, pode amenizar as consequências do ET. Nesse experimento, as vacas holandesas foram mantidas em galpão de Compost Barn, com sistemas de resfriamento durante todo o período avaliado. Isso pode explicar a ausência de efeito significativo das estações de coleta sobre as variáveis de número de oócitos viáveis obtidos (verão: $112,12 \pm 38,92$, inverno: $141,7 \pm 36,82$), número de zigotos clivados após fertilização *in vitro* (verão: $103,76 \pm 36,83$, inverno $102,91 \pm 49,75$) e número de embriões viáveis obtidos (verão $38,72 \pm 15,1$, inverno $41,96 \pm 16,65$). O sistema de criação parece ter sido eficiente para mitigar alguns dos efeitos do ET mesmo em condições de ITU $78,23 \pm 2,47$, observadas no período de verão, já que o uso de ventilação concomitante a aspersão de água gera a evaporação da água, facilitando a troca de calor das vacas com o ambiente (BERMAN, 2005).

O estresse térmico impacta tanto na oogênese como na embriogênese (MIETKIEWSKA et al., 2022). Em estudo desenvolvido, no sul do Brasil, por Berling et al (2022), a diferença estatística de produção de embriões totais, comparando o grupo controle com os animais submetidos ao estresse pelo calor (temperatura acima de 15°C), foi encontrada somente para o grupo que sofreu o estresse 30 dias antes da aspiração folicular, para os outros três grupos (estresse térmico no momento da coleta, 60 e 90 dias antes) não tiveram diferença estatística. No presente estudo, as variáveis bioclimáticas foram avaliadas nos dias das sessões de aspiração folicular/obtenção de oócitos.

Nesse trabalho, foi observado efeito da estação de coleta sobre a obtenção de mais oócitos cultivados *in vitro* no inverno do que no verão, sendo, respectivamente, $148,21 (\pm 42,21)$ e $123,84 (\pm 40,51)$. Isso demonstra que houve melhor resposta dos oócitos, coletados em clima ameno e de menor ITU, ao processo de maturação *in vitro*, que depende essencialmente da qualidade citoplasmática e nuclear do oócito bem como das células do *cumulus oophorus* que o acompanham (VARAGO et al., 2008). Lee et al (2023) mostrou que oócitos de vacas holandesas expostas ao estresse térmico produziram mais espécies reativas de oxigênio (ROS). O desequilíbrio entre a produção de ROS e os antioxidantes ocasiona defeitos citoplasmáticos e segregação cromossômica anormal, o que pode induzir danos ao DNA e apoptose. No trabalho de Lee et al (2023), as vacas holandesas foram consideradas em ET quando o ITU foi acima de 75, e isso afetou a taxa de concepção (*in vivo*). Comparativamente, no presente estudo, durante o verão as vacas foram expostas a ambiente com ITU médio de $78,23 \pm 2,47$.

No início da clivagem, o embrião bovino mostra-se mais sensível a estressores, incluindo o calor, quando seu genoma está inativo (SATRAPA et al., 2013). A resistência ao choque térmico ocorre próximo ao momento em que há ativação do genoma, momento em que o embrião contém de 8 a 16 células (HANSEN, 1999). Essa termotolerância é atingida quando há a produção de proteínas de choque térmico, induzindo a resistência celular aos estressores (EALY et al., 1993). A constante exposição de zigotos a altas temperaturas, em ambiente *in vitro*, gerou menor taxa de blastocisto, já em embriões no estágio de 8 células, os efeitos da temperatura dependem da duração do estresse térmico e da gravidade (MIETKIEWSKA et al., 2022).

Em trabalho realizado por Silva et al (2013), comparou-se a porcentagem de oócitos que clivaram *in vitro* de vacas Nelore, Angus e Jersey. Foi observado o aumento da porcentagem de blastômeros apoptóticos em embriões cultivados, em estufa, a 41°C em relação aos cultivados a 38,5°C ($p < 0,05$). Dessa forma, os embriões submetidos ao ET tiveram taxas menores de desenvolvimento até a fase de blastocisto e qualidade reduzida, sendo os embriões Nelore os menos afetados. Já em outro estudo realizado por Silva et al (2006), no Reino Unido, foram obtidos os oócitos, por meio de ovários coletados em abatedouros de novilhas de até 30 meses de idade, com o objetivo de avaliar a média de produção dos blastocistos, após a maturação *in vitro* e o cultivo de embriões a partir desses oócitos imaturos. Como resultado, não houve diferença entre a taxa de clivagem entre as estações de outono (setembro e novembro) e primavera (março e maio), mas a proporção de oócitos clivados que se desenvolveram até blastocisto foi duas vezes maior no outono do que na primavera ($p < 0,05$), sendo um efeito consistente entre os anos analisados. De forma similar, no presente estudo, o número de zigotos clivados não apresentou diferença entre as médias das estações (verão $103,76 \pm 36,83$ e inverno $102,91 \pm 49,76$). Também não foi observada diferença no número de embriões produzidos a partir de oócitos coletados no verão e inverno ($38,72 \pm 15,1$ verão X $41,96 \pm 16,65$ inverno).

Al-Katanani et al (2002) conduziram dois experimentos, sendo que no primeiro os oócitos foram coletados de vacas holandesas em abatedouros (nos meses de abril a setembro e outubro a março). No segundo foram realizadas as coletas de novilhas holandesas 42 dias antes do abate, esses animais foram separados em três grupos: que sofreram estresse térmico, os resfriados em sistema Free-Stall e os que foram coletados no inverno. Dessa forma, os autores encontraram que a proporção de embriões clivados, oriundos dos ovários das vacas, que se desenvolveram até o estágio de blastocisto no dia 8 após a fertilização foi menor durante a estação quente quando comparado a estação fria. Já para o grupo de novilhas, foi

encontrada que a proporção de embriões clivados até o estágio de blastocisto teve diferença entre o inverno e o verão, mas não houve diferença entre os grupos de novilhas estressadas e as resfriadas. Eles concluíram que o resfriamento das novilhas 42 dias antes do abate não foi suficiente para amenizar os efeitos do ET, o que afetou qualidade dos oócitos.

Roth (2017) afirma que uma forma para combater os efeitos do ET (danos ao DNA e estresse oxidativo), caso haja, pode ser feito através do uso de agentes antiapoptóticos e antioxidantes, porém ainda não é uma alternativa implementada na prática. Para além, o autor acredita que é preciso explorar as respostas celulares e moleculares do oócito a temperatura elevada, para possibilitar o desenvolvimento de novas estratégias para mitigar os efeitos do estresse térmico na fertilidade. Dessa forma, é importante destacar a necessidade de realização de estudos mais abrangentes e controlados para compreender melhor os efeitos do estresse térmico na produção de embrião de vacas leiteiras.

5 CONCLUSÃO

O uso da PIVE nos sistemas de produção de leite, é essencial para acelerar o processo de melhoramento genético. Portanto, são relevantes os estudos que busquem identificar fatores que possam prejudicar os resultados da técnica, como o estresse térmico. Foram identificados, nesse estudo, algumas variáveis que sofreram influência e outras não, mesmo sob condições de ITU consideradas críticas, o que aponta para a importância da implementação de sistemas de produção que reduzam os efeitos esperados do estresse por calor.

Agradecimentos

As autoras agradecem a fazenda e laboratório por disponibilizarem os dados necessários, além de reconhecer o apoio e colaboração de nossos colegas da PUC Minas, do Departamento de Medicina Veterinária.

REFERÊNCIAS

AL-KATANANI, Y. M. et al. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 2, p. 390-396, 2002.

- BAGATH, M. et al. The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. **Research in veterinary science**, v. 126, p. 94-102, 2019.
- BERLING, Francieli; CASTRO, Fernanda Cavallari de; OLIVEIRA, Ana Carolina dos Santos. Influence of heat stress on *in vitro* oocyte and embryo production in high-yielding Holstein cows. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 23, p. e-71852E, 2022.
- BERMAN, Amiel. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. **Journal of animal science**, v. 83, n. 6, p. 1377-1384, 2005.
- BOHMANOVA, Jarmila; MISZTAL, Ignacy; COLE, John 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.
- COELHO, Paula Sabrina Arruda; PAULA-LOPES, Fabíola Freitas; UNIFESP, Campus Diadema. Efeitos imediatos, tardios e transgeracionais do estresse térmico em gametas. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 47, n. 2, p. 311-326, 2023.
- COLLIER, Robert J. et al. Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance. Department of Animal Sciences University of Arizona, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2012.
- DAMASCENO, Flávio Alves et al. Instalações Compost Barn. In: Compost Barn como uma alternativa para a pecuária leiteira. Gulliver Editora Ltda, Divinópolis, 2020. p. 35-51.
- DA SILVA, Marcos Vinícius et al. Spatial variability and exploratory inference of abiotic factors in barn compost confinement for cattle in the semiarid. **Journal of Thermal Biology**, v. 94, p. 102782, 2020.
- DEMÉTRIO, Daniela Garcia Borges et al. Como podemos melhorar a produção de embriões e os resultados da gravidez de embriões holandeses produzidos *in vitro*? (12 anos de resultados práticos em uma fazenda leiteira na Califórnia). **Reprodução animal**, v. 17, pág. e20200053, 2020.
- DEMÉTRIO, Eleni et al. Heat Stress: A Serious Disruptor of the Reproductive Physiology of Dairy Cows. **Animals**, v. 13, n. 11, p. 1846, 2023.
- EALY, Alan D.; DROST, Maarten; HANSEN, Peter 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.
- ELENKOV, Ilia J. et al. Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications. **Proceedings of the Association of American Physicians**, v. 108, n. 5, p. 374-381, 1996.

- FELTES, Giovani Luis et al. Impact of heat stress on genetic evaluation of oocyte and embryo production in Gir dairy cattle. *Tropical Animal Health and Production*, v. 56, n. 1, p. 7, 2024.
- FRIGERI, Karen Dal'Magro et al. Effects of heat stress in dairy cows raised in the confined system: A scientometric review. **Animals**, v. 13, n. 3, p. 350, 2023.
- GONÇALVES, Rômany Louise Ribeiro; VIANA, João Henrique Moreira. Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo. 2019.
- HANSEN, Peter J. Possible roles for heat shock protein 70 and glutathione in protection of the mammalian preimplantation embryo from heat shock. **Annual Review of Biomedical Sciences**, v. 1, p. 5-29, 1999.
- INMET, Instituto Nacional de Meteorologia, Estação do ano. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>>. Acesso em 15 de março de 2023.
- LACETERA, Nicola. Impact of climate change on animal health and welfare. **Animal Frontiers**, v. 9, n. 1, p. 26-31, 2019.
- LEE, Jihwan et al. Effects of heat stress on conception in Holstein and Jersey cattle and oocyte maturation *in vitro*. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 65, n. 2, p. 324, 2023.
- MATTA, S. G. C. et al. Effect of inhibition of synthesis of inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide by aminoguanidine on the *in vitro* maturation of oocyte-cumulus complexes of cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 111, n. 2-4, p. 189-201, 2009.
- MAYA-SORIANO, M. J.; TABERNER, E.; LÓPEZ-BÉJAR, M. Retinol improves *in vitro* oocyte nuclear maturation under heat stress in heifers. **Zygote**, v. 21, n. 4, p. 377-384, 2013.
- MIETKIEWSKA, Klaudia; KORDOWITZKI, Pawel; PAREEK, Chandra S. Effects of heat stress on bovine oocytes and early embryonic development—an update. **Cells**, v. 11, n. 24, p. 4073, 2022.
- MELLO, Raquel Rodrigues Costa et al. Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. **Rev. bras. reprod. anim**, p. 6458-64, 2016.
- MOURA, Marcelo T.; PAULA-LOPES, Fabíola F. Thermoprotective molecules to improve oocyte competence under elevated temperature. **Theriogenology**, v. 156, p. 262-271, 2020.
- RODRIGUES, Alberio Lopes; DE SOUZA, Bonifácio Benício; PEREIRA FILHO, José Moraes. Influência do sombreamento e dos sistemas de resfriamento no conforto térmico de vacas leiteiras. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 6, n. 2, p. 14-22, 2010.
- ROSENBERG, Norman J.; BLAD, Blaine L.; VERMA, Shashi B. Microclimate: the biological environment. John Wiley & Sons, 1983.

- ROTH, Zvi. Effect of heat stress on reproduction in dairy cows: insights into the cellular and molecular responses of the oocyte. **Annual review of animal biosciences**, v. 5, p. 151-170, 2017.
- SATRAPA, R. A. et al. Differential Expression of IGF Family Members in Heat-Stressed Embryos Produced *In vitro* from OPU-Derived Oocytes of Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) Cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, n. 6, p. 1043-1048, 2013.
- SILVA, C. C.; ROSA, H. J. D.; KNIGHT, P. G. Seasonal variations in the developmental competence of bovine oocytes matured *in vitro*. **Veterinary record**, v. 158, n. 14, p. 473-475, 2006.
- SILVA, C. F. et al. Effects of heat stress on development, quality and survival of *Bos indicus* and *Bos taurus* embryos produced *in vitro*. **Theriogenology**, v. 79, n. 2, p. 351-357, 2013.
- VARAGO, Fabiana Cristina; MENDONÇA, Luiza Fernandes; LAGARES, Monique de Albuquerque. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 2, p. 100-109, abr./jun. 2008.
- VAN GOOL, Jacobus et al. The relation among stress, adrenalin, interleukin 6 and acute phase proteins in the rat. **Clinical immunology and immunopathology**, v. 57, n. 2, p. 200-210, 1990.