

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

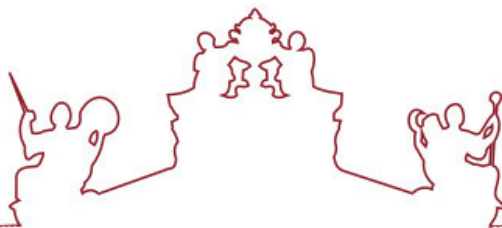
Dissertação

**Influência do stress térmico na performance reprodutiva de
Vacas de Leite em São Miguel: Estudo Retrospectivo**

Bruna Gaspar

Orientador(es) | Elisa Maria Bettencourt
Ciro Meirelles

Évora 2025



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

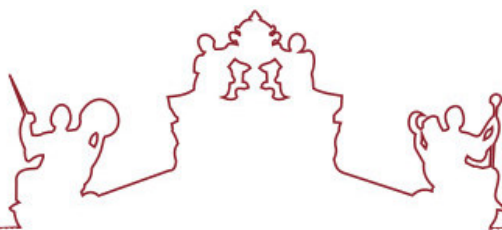
Dissertação

**Influência do stress térmico na performance reprodutiva de
Vacas de Leite em São Miguel: Estudo Retrospectivo**

Bruna Gaspar

Orientador(es) | Elisa Maria Bettencourt
Ciro Meirelles

Évora 2025



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Ricardo Jorge Romão (Universidade de Évora)

Vogais | A. M. F. Pereira (Universidade de Évora) (Arguente)
Elisa Maria Bettencourt (Universidade de Évora) (Orientador)

DEDICATÓRIA

Agradeço ao meu pai por sempre me ter incentivado a seguir os meus sonhos e à minha mãe pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

Este trabalho é dedicado a eles.

AGRADECIMENTOS

A realização desta tese de Mestrado foi um percurso longo que só foi possível com o suporte e amizade de pessoas que me acompanharam nas diferentes etapas e às quais gostaria de agradecer

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores. À Professora Doutora Elisa Bettencourt, que aceitou orientar-me e prestar o auxílio necessário na realização desta dissertação tal como minuciosamente rever e corrigir este trabalho. Ao Doutor Ciro Meirelles por tudo o que me ensinou ao longo do estágio, pelo incentivo na realização de uma dissertação e pelo auxílio na escolha do tema e na recolha dos dados necessários para a realização do trabalho.

Queria agradecer ainda à Associação Agrícola de São Miguel pela oportunidade de realizar o estágio, e a toda a equipa de veterinários, nomeadamente ao Dr. Nuno Mota, ao Dr. Pedro Reis e à Dra. Joana Correia por todo o apoio durante o meu estágio e auxílio na minha aprendizagem.

Agradeço à Cláudia, Luís, Eduardo e Ana pela receção calorosa em São Miguel.

Relativamente à recolha de dados agradeço ainda ao Instituto Português do Mar e da Atmosfera e à Rede Hidrometeorológica dos Açores pela disponibilização dos dados meteorológicos e à Engenheira Beatriz Patrício pela disponibilização dos dados das inseminações realizadas.

Agradeço à Professora Dulce Gomes pela supervisão e auxílio no desenvolvimento do estudo estatístico.

Agradeço à Universidade de Évora pela minha formação e a todos os meus professores pela atenção e disponibilidade em ensinar.

Agradeço ainda à cidade de Évora por todos os amigos que fiz durante este curso e que espero levar para a vida.

Um especial agradecimento aos meus amigos que durante todo este tempo me apoiaram e aturaram, Melissa, Nuno, António, Alice, Miguel, Beatriz, Tomás, Rodrigo, Rita, Maria, Ana, João, Cláudio, Sofia, Sara, Emanuel, João, Inês, Diana e Alexandre.

Influência do stress térmico na performance reprodutiva de vacas de leite em São Miguel: Estudo retrospectivo

RESUMO

Este trabalho foca-se em avaliar de que forma o stress térmico afeta a eficiência reprodutiva das vacas de leite em São Miguel de maneira a fornecer uma perspetiva de melhoria das constantes reprodutivas.

Os dados recolhidos correspondem a 3991 inseminações de 19 explorações, no período de 1 de novembro de 2021 a 30 de outubro de 2022.

O objetivo deste estudo consiste em quantificar a relação entre o stress térmico e taxa de concepção nas vacas de leite.

O índice de temperatura e humidade semanal máximo revelou ser o indicador com uma maior correlação à taxa de concepção, mostrando uma associação negativa moderada (-0,537, significativa no nível 0,01). Não foi possível estabelecer correlação entre o THI e o número de inseminações realizadas por dia. Foi ainda observada uma correlação positiva baixa significativa entre a velocidade do vento e a taxa de concepção.

Palavras-Chave: Acompanhamento reprodutivo, Taxas reprodutivas, THI, Stress térmico

Influence of heat stress on the reproductive performance of dairy cows in São Miguel: Retrospective study

ABSTRACT

This study investigated how heat stress affects the reproductive health of dairy cows in São Miguel, aiming to improve their reproductive efficiency. It was focused on defining the best way to measure heat stress and analyzing the connection between heat stress and key reproductive factors in the cows.

Data from 3991 inseminations across 19 farms, collected between November 1st, 2021, and October 30th, 2022, was analyzed.

The objectives of this study were to quantify the relationship between heat stress and conception rate in dairy cows.

The study found that the maximum weekly THI had the strongest correlation with conception rate, showing a negative association (-0.537, significant at 0.01 level). No correlation was found between THI and the number of inseminations executed per day. Finally, a weak but significant positive correlation was verified between wind speed and the conception rate.

Key Words: Reproductive monitoring, Reproductive rates, Temperature-Humidity Index, Heat stress

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO.....	1
1.2	STRESS TÉRMICO.....	1
1.2.1	<i>Consequências do stress térmico</i>	5
1.3	REPRODUÇÃO	10
1.3.1	<i>Ciclo éstrico</i>	10
1.3.2	<i>Fecundação e desenvolvimento embrionário inicial</i>	13
1.4	INFLUÊNCIA DO STRESS TÉRMICO SOBRE A FUNÇÃO REPRODUTIVA	15
1.4.1	<i>Demonstração de estro</i>	15
1.4.2	<i>Anestro pós-parto prolongado</i>	16
1.4.3	<i>Ativação e recrutamento</i>	17
1.4.4	<i>Seleção e dominância</i>	18
1.4.5	<i>Ovulação e fecundação</i>	19
1.4.6	<i>Efeito do stress térmico sobre o embrião</i>	20
1.5	MEDIDAS PARA DIMINUIÇÃO DOS EFEITOS DO STRESS TÉRMICO.....	21
1.5.1	<i>Instalações</i>	22
1.5.2	<i>Manejo alimentar</i>	22
1.5.3	<i>Tratamentos hormonais</i>	24
2	OBJETIVOS	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	AMOSTRAS.....	25
3.2	CÁLCULO DA TAXA DE CONCEPÇÃO	26
3.3	INFORMAÇÃO METEOROLÓGICA	26
3.4	CÁLCULO DO THI	26
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
4	RESULTADOS	27
4.1	CLASSIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS.....	27
4.2	ANÁLISE DESCRITIVA.....	27

4.3	ANÁLISE DIÁRIA.....	28
4.4	ANÁLISE SEMANAL.....	31
4.5	ANÁLISE MENSAL.....	34
	4.5.1 <i>Análise mensal por concelho</i>	36
5	DISCUSSÃO.....	38
6	CONCLUSÃO.....	41
7	BIBLIOGRAFIA.....	42
8	ANEXOS.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1--Relação esquemática entre a temperatura corporal do animal, a produção de calor e a temperatura ambiental.....	4
Figura 2-Resumo das várias alterações fisiológicas e bioquímicas relacionadas com o stress térmico que ocorrem nos vários sistemas do organismo das vacas de leite.	7
Figura 3-Dinâmica do desenvolvimento folicular ovárico e da secreção de gonadotrofinas durante um ciclo estrico de duas e três ondas foliculares.....	13
Figura 4- Diagrama esquemático para ilustrar as mudanças no conceito durante o transporte pelo oviduto para o lúmen uterino.....	14
Figura 5- Diagrama ilustrativo da relação entre o estado de desenvolvimento do folículo/ovócito e a sua resistência/sensibilidade ao stresse térmico.	18
Figura 6- Diagrama ilustrativo dos efeitos a longo prazo do stresse térmico sazonal no eixo hipotálamo-hipofisário-ovárico e o seu envolvimento na redução da fertilidade de vacas de leite.....	20
Figura 7- Descrição esquemática dos principais impactos do stress térmico na performance reprodutiva.....	15

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização da amostra em termos de número de vacas leiteiras e de inseminações consideradas por exploração e por concelho.....	28
Tabela 2-Testes de normalidade.	29
Tabela 3-Correlação de r _ô de Spearman.....	29
Tabela 4-Comparação das médias (THI máximo).....	31
Tabela 5-Teste t de diferença entre médias. TC- Taxa de concepção	31
Tabela 6-Testes de Normalidade	32
Tabela 7-Correlação de Pearson (TC-Taxa de concepção)	33
Tabela 8-TC em relação a THI maior e menor que 70	33
Tabela 9- Teste t para igualdade de médias.....	34
Tabela 10- Análise descritiva das médias mensais de TC e de TC em função do THI..	37
Tabela 11-Análise descritiva dos valores de THI máximos mensais	37
Tabela 12-Comparação das média.....	57
Tabela 13-Teste T para a igualdade das médias de THIA menor que 70 e maior que 70	58
Tabela 14- TC quando THI ajustado é maior e menor que 72	58
Tabela 15- TC quando THI máximo é maior e menor que 72	59
Tabela 16- Teste das médias de TC quando THIA >72 e <70	59
Tabela 17-Dados semanais	60

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-Dispersão de TC e THI Máximo por dia.....	30
Gráfico 2-Dispersão de TC e THI Ajustado por dia.....	30
Gráfico 3-THI máximo e TC por semana.....	32
Gráfico 4- Diagrama de caixa de bigodes	33
Gráfico 5- Dispersão da taxa de concepção em função do THI máximo semanal.....	34
Gráfico 6-Distribuição mensal do número total de inseminações e do número de inseminações com gestação confirmada.....	35
Gráfico 7- Distribuição mensal da temperatura máxima (°C) e da humidade relativa mínima (%).....	35
Gráfico 8- Distribuição mensal do THI máximo geral e da Taxa de concepção de todas as inseminações (%)	36
Gráfico 9-Distribuição mensal da TC e do THI máximo em Ribeira Grande.....	38
Gráfico 10- Variação Mensal (Lagoa).....	61
Gráfico 11- Variação Mensal Nordeste	62
Gráfico 12-Variação Mensal (Ponta Delgada)	62
Gráfico 14- Variação Mensal (Vila Franca do Campo)	63

LISTA DE ABREVIATURAS

- AASM- Associação Agrícola de São Miguel
- ACTH- Hormona Adrenocorticotrópica
- An- Androstenediona
- CL- Corpo Lúteo
- E₂- Estradiol
- eCG- Gonadotrofina coriônica equina
- EE- Extrato de Éter
- FSH- Hormona estimulante folicular (*follicle-stimulating hormone*)
- FR- Frequência Respiratória
- GnRH- Hormona libertadora de gonadotrofinas (*Gonadotropin-Releasing Hormone*)
- hCG- Gonadotrofina coriônica humana
- HR- Humidade Relativa
- IA- Inseminação Artificial
- IATF-Inseminação Artificial a Tempo Fixo
- IGF-1- Fator de crescimento semelhante à Insulina, tipo 1 (*Insulin-like growth factor1)*
- LH- Hormona Luteinizante (*Luteinizing Hormone*)
- max- Máximo
- min- Mínimo
- NDF- Fibras Detergente Neutras
- P₄- Progesterona
- PGF₂ α - Prostaglandina
- ST- Stress Térmico
- SREA-Serviço Nacional de Estatística dos Açores
- T- Temperatura
- TC-Taxa de concepção

- THI- Índice de Humidade e Temperatura
- THIA- THI Ajustado
- MII- Metáfase II
- Rad-Radiação
- RNA- Ácido Ribonucleico
- RMG- Reconhecimento Materno da Gestação
- TR- Temperatura Retal
- VV- Velocidade do Vento

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A ilha de São Miguel faz parte do arquipélago dos Açores, localizado na bacia do Atlântico Norte. O seu clima é caracterizado, por índices de humidade do ar relativamente altos, na ordem dos 80%, e amenidade térmica, sendo a amplitude térmica relativamente baixa.(De Azevedo, 2015)

Segundo o Serviço Regional de Estatística dos Açores (SREA), em 2021 existiam 92 000 vacas leiteiras no arquipélago dos Açores, e cerca de 67% da produção de leite do arquipélago é atribuída a São Miguel(SREA, 2023), sendo possível inferir que o número de vacas leiteiras na ilha, é cerca de 61 000, e que este número não se alterou significativamente em 2021 e 2022, período em que os dados deste estudo foram recolhidos.

Esta elevada quantidade de vacas leiteiras na ilha, aliada ao facto, de nos últimos anos se estar a verificar um aumento de condições propícias à existência de stress térmico em climas amenos,(Schüller, Burfeind and Heuwieser, 2014; Bezdíček *et al.*, 2021) realçam a relevância deste estudo.

Ao analisar este estudo, deve ter-se em conta o clima próprio da ilha, caracterizado por altas taxas de humidade relativa e temperaturas amenas, que raramente atingem valores especialmente altos, visto que se trata de um clima ameno muito particular, por possuir algumas características tropicais(De Azevedo, 2015).

Relativamente às explorações pecuárias dos Açores, estas caracterizam-se pelo seu tamanho reduzido, normalmente cobrem uma área inferior a 50 hectares, e estão divididas em pequenas parcelas, por onde o gado pastoreia faseadamente(Massot, 2015).

A raça predominante no setor leiteiro açoriano é a Holstein Frísia. A sua alimentação, no geral, consiste em pastoreio complementado com silagem de milho, com a adição de concentrado à dieta no momento da ordenha(Nunes *et al.*, 2023).

1.2 STRESS TÉRMICO

Fisiologicamente, os mamíferos perdem calor principalmente por condução, convecção, radiação e evaporação (Jessen, 2001). Além desta perda de calor sensível os animais recorrem a mecanismos adaptativos. Quando a perda de calor por estas vias é insuficiente para manter a homeostasia, as vacas recorrem às vias evaporativas, sudação e polipneia térmica e posteriormente à redução da taxa metabólica.

Relativamente à perda de calor por radiação, esta vai depender da área de superfície do animal, da temperatura do animal à superfície, e da temperatura ambiente.

A perda de calor por condução acontece por contacto direto, e depende das características do animal e do ambiente em que este se encontra e do gradiente térmico entre as superfícies de contacto. Relativamente às características do animal considera-se o tamanho do pelo, espessura da pelagem e a sua constituição, no que diz respeito à percentagem de gordura subcutânea e de massa muscular, ou seja a sua condutividade térmica. Ao nível das características ambientais considera-se tudo o que tenha contacto direto com o animal, destacando-se o piso onde os animais se encontram, visto que diferentes materiais vão ter diferentes coeficientes de condutividade térmica, que podem facilitar ou dificultar a perda de calor dependendo da sua natureza.

A perda de calor por convecção vai depender do fluxo de ar, ou seja, do vento e de tudo o que possa oferecer resistência ao movimento do ar, nomeadamente o pelo. Também há perda de calor por convecção através da respiração, desde que a temperatura do ar esteja a uma temperatura inferior à do corpo da vaca, no sentido em que o ar inspirado é ajustado à temperatura corporal até chegar à traqueia, ou seja, através do aumento da frequência respiratória (FR) há maior perda de calor.

A perda de calor por evaporação vai depender principalmente da humidade relativa do ar. Há perda de calor por evaporação através da respiração e da sudação. A perda de calor com o aumento da frequência respiratória deve-se principalmente à vaporização de fluidos ao longo do trato respiratório. Esta vaporização é favorecida pela velocidade do ar através da traqueia. A perda de calor por evaporação também depende da capacidade de sudação do animal, podendo ainda depender de atitudes comportamentais que visam a humedecer a superfície do seu corpo. O rácio de perda de calor por evaporação varia dependendo da espécie animal, e em vacas de elevado potencial genético começa a aumentar acentuadamente a partir de 16,6–18,3 °C. (Cossins and Bowler, 1987; Kadzere *et al.*, 2002a; Gomes da Silva and Campos Maia, 2013)

A humidade relativa (HR) desempenha um papel importante na regulação térmica, porque em condições em que esta é elevada, a diferenciação na pressão parcial de vapor é reduzida o que define uma redução de perda de calor por unidade de tempo, tornando a HR num fator de grande importância no aumento do stress térmico (Walters, Ryan and Constable, 2004; Gerson *et al.*, 2014; Sherwood, 2018).

Quando os níveis de stress térmico são elevados, ocorre uma elevada perda de água e eletrólitos, que poderiam levar a processos de desidratação. No entanto em condições normais,

há ingestões compensatórias de água, Nesta situação essa ingestão compensatória origina frequentemente um excesso de água que se concretiza em hemodiluição.

O stress térmico surge como resposta à hipertermia e manifesta-se justamente quando o ambiente térmico a que um animal é sujeito faz com que este saia do estado de homeostasia. Tendo em conta a sensação térmica ambiental, é possível inferir se um animal estará ou não numa situação de stress térmico.

As respostas termorreguladoras não dependem exclusivamente da temperatura ambiente, mas também da humidade do ar, da radiação solar, velocidade do vento e das interações que estas constantes apresentam entre si.(Polsky and von Keyserlingk, 2017; Pereira, Titto and Almeida, 2019)

De forma a mensurar a sensação térmica animal, foi criado o Índice de Humidade e Temperatura (THI), uma unidade de medida, que combina a temperatura e a humidade relativa do ar, para avaliar o efeito do calor e da humidade no conforto térmico dos animais, nomeadamente nos bovinos, sendo a avaliação deste índice, uma das formas mais comumente utilizadas para determinar o stress térmico a que os animais são sujeitos.

O THI é expresso numa escala numérica positiva, e pode ser calculado usando várias fórmulas. A seleção da fórmula mais adequada, depende do ambiente onde é realizado o estudo pois pode ser mais relevante dar ênfase à humidade, à temperatura, ou igualmente a ambas(García-Ispierto *et al.*, 2007).

Tradicionalmente, vacas leiteiras expostas a condições em que os valores de THI são superiores a 72, tendem a estar sob stress térmico. No entanto, há evidências de que se podem encontrar reduções na fertilidade a partir de valores de THI de 70.

Neste estudo, usou-se uma fórmula que dá mais importância à humidade como indicador, visto que, no caso específico de São Miguel, as temperaturas não atingem valores muito altos, mas os valores de humidade são por norma elevados, tornando a humidade a principal responsável pelo stress térmico nesta região.

De forma a melhorar a aproximação do índice à sensação térmica real dos animais, foi criado um índice de humidade e temperatura ajustado, que integra na sua fórmula as variáveis radiação solar (RAD) e velocidade do vento (VV)(Mader, Davis and Brown-Brandl, 2006; Mader, Johnson and Gaughan, 2010).

Outra ferramenta utilizada para mensurar o stress térmico é a zona termoneutra. A zona termoneutra é o intervalo de temperaturas ideais para as vacas Holstein Frísia, em que os custos

fisiológicos são mínimos, e a produtividade máxima é alcançada. O intervalo é delimitado pela temperatura crítica inferior, e pela temperatura crítica superior, existindo duas “zonas” em que as condições ambientais já não são características de conforto térmico, mas ainda não implicam gastos adicionais de energia para manter a homeostasia, como se pode observar na figura 1. Esta situação resulta do facto dos animais através de respostas termorreguladoras proporcionadas por via nervosa, ainda serem capazes de manter a sua temperatura, dentro destes limites de temperaturas ou zonas denominadas de “fresca” e “morna”(Kadzere *et al.*, 2002a).

A partir dos limites críticos inferior e superior para manter a homeotermia é necessário recorrer a processos ativos de perde de calor.

Este conceito não considera a humidade, mas se aplicarmos o conceito da zona termoneutra a valores de THI, poderíamos considerar que existe conforto térmico, em vacas leiteiras de alta produtividade, para valores de THI compreendidos entre 45 e 70, e que a zona termoneutra teria o seu limite critico superior em índices de 72. Dentro do ST, poderíamos ainda considerar que este é relativamente baixo para valores de THI de 72 a 79 e alto quando o THI ultrapassa valores de 79(Kadzere *et al.*, 2002a; Srikandakumar and Johnson, 2004; Krishnan *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2019).

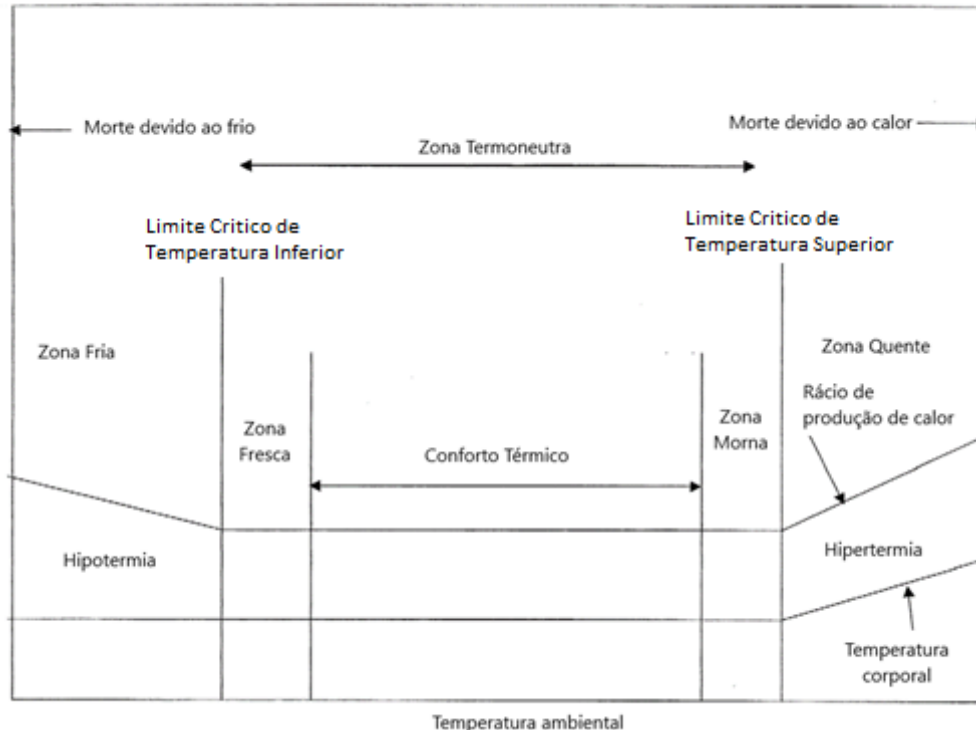


Figura 1-Relação esquemática entre a temperatura corporal do animal, a produção de calor e a temperatura ambiental. (Adaptado de Kadzere *et al.* 2002) (Kadzere *et al.*, 2002b)

Há várias evidências de que os melhores métodos são aqueles que consideram variáveis fisiológicas e comportamentais, e não apenas ambientais, como é o caso destes índices anteriormente referidos (Galán *et al.*, 2018). De entre os indicadores fisiológicos destacam-se, a frequência respiratória (FR) (Luo *et al.*, 2021), cujo aumento está associado a um mecanismo de perda de calor, e a temperatura retal (TR), por se considerar um bom indicador da temperatura interna do animal (Srikandakumar and Johnson, 2004).

De modo a definir o que é o stress térmico em vacas de alta produtividade, consideraram-se intervalos de TR nos quais existe maior e menor conforto. Nas vacas Holstein Frísia, considera-se que se a TR for inferior a 38,8°C, há alto conforto térmico, se a TR se encontrar entre 38,8°C e 39,2°C, há conforto médio, e acima de 39,2°C, o conforto é baixo. (Perissinotto *et al.*, 2009)

O stress térmico vai existir, tanto em condições de baixa sensação térmica, como de alta, sendo que os bovinos e principalmente as vacas de leite de alta produção, estão mais suscetíveis a consequências de temperaturas altas, devido às suas características de elevado metabolismo. (De Rensis, Garcia-Ispierto and López-Gatius, 2015)

1.2.1 Consequências do stress térmico

Relativamente às consequências do stress térmico, é importante referir que estas têm uma natureza multifatorial, tratando-se de um evento que compromete a homeostasia do animal, como podemos observar na figura 2.

Podemos dividir as consequências do stress térmico em fisiológicas, comportamentais, e metabólicas.

A nível comportamental, as vacas vão exibir alterações no seu posicionamento, nomeadamente com o aumento de períodos em estação, (*Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals*, 1981; Kadzere *et al.*, 2002a; Herbut *et al.*, 2021) e diminuição de períodos em decúbito (Kadzere *et al.*, 2002a; Herbut *et al.*, 2021), podendo também aumentar a manifestação de comportamentos agressivos, ou observar-se maior incidência de letargia.

Outro aspeto comportamental que vai ser exibido, é o aumento do consumo de água e diminuição do consumo alimentar, (*Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals*, 1981; Kadzere *et al.*, 2002b; De Rensis, Garcia-Ispierto and López-Gatius, 2015; Herbut *et al.*, 2021). Há redução do apetite principalmente devido a estimulação parassimpática,

que leva a uma resposta do centro de saciedade no hipotálamo e redução da motilidade gastrointestinal. Outras vias para esta redução do apetite são, no hipotálamo, o centro de saciedade e o centro de arrefecimento encontram-se adjacentes, correlacionando-se, e devido à ingestão exacerbada de água, que leva a uma distensão ruminal por excesso de água no rúmen, que vai ativar recetores nervosos diretamente relacionados com o centro do apetite(Herbut *et al.*, 2021). Como agravante, devido à diminuição de períodos de decúbito, o tempo de ruminação vai também diminuir, tal como a própria motilidade retículo-ruminal que está diminuída por causa da reduzida concentração ruminal de ácidos gordos voláteis, resultando numa distensão ruminal ainda mais exacerbada(Kadzere *et al.*, 2002a; Herbut *et al.*, 2021).

Uma das consequências mais relevantes do stress térmico nas vacas de leite, é justamente a diminuição da produção de leite, que acarreta consequências negativas em termos económicos, visto que essa redução pode atingir valores na ordem dos 30%(Tao *et al.*, 2020).

A redução na produção de leite durante o ST, acontece principalmente devido a alterações endócrinas, impactos diretos da temperatura nas células epiteliais mamárias, nomeadamente numa disfunção dos seus canais de potássio, e à menor disponibilidade de nutrientes no sangue, resultante da redução na ingestão de alimentos(Baumgard and Rhoads, 2013).

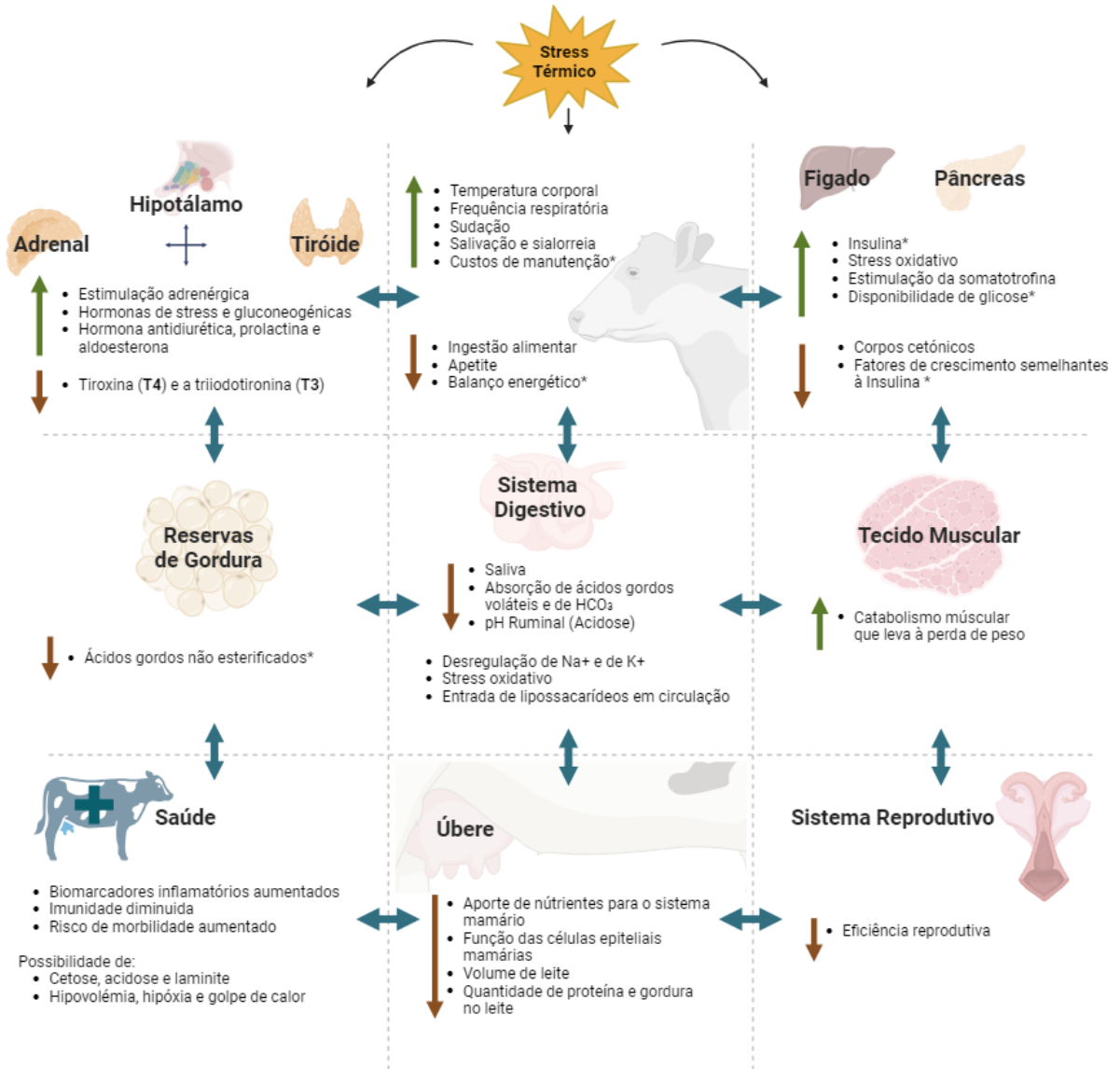
Esta produção vai também ser comprometida pela menor secreção do fator de crescimento, semelhante à insulina do tipo I (IGF-I), um dos principais fatores lactogénicos, que se vai encontrar reduzido porque o ST tem uma ação direta sobre a abundância de recetores hepáticos para a somatotropina, o que vai levar à menor produção de IGF-I (Baumgard and Rhoads, 2013). Há também menor concentração da somatotropina, cuja secreção diminui com valores de THI superiores a cerca de 70, de forma a diminuir a produção metabólica de calor, , visto que esta hormona tem um efeito no metabolismo de vários órgãos e tecidos através de ações diretas no tecido adiposo e fígado, e de efeitos indiretos mediados pelo IGF-I , que potenciam a produção de calor(Mitra, Christison and Johnson, 1972; Oliveira Neto *et al.*, 2001).

A manifestação de stress térmico pode ser dividida em ST agudo e crónico dependendo do tempo de exposição e da intensidade desta. Situações pontuais de THI muito elevado por norma dão origem a ST agudo e situações prolongadas de ST com menor intensidade resultam em ST crónico, ou numa situação de adaptação , a aclimatização, um processo fisiológico de adaptação ao calor.

Situações de ST agudo vão ter uma resposta com base no sistema nervoso, mediada pelo sistema nervoso autónomo, com a produção consequente de cortisol e catecolaminas, que causa

aumento da disponibilidade de glucose que vai sofrer um aumento nesta fase(Kadzere *et al.*, 2002a; Roth, 2020a).

Situações de ST crônico vão ser mediadas maioritariamente pelo sistema endócrino(Roth,



2020a).

Figura 2-Resumo das várias alterações fisiológicas e bioquímicas relacionadas com o stress térmico que ocorrem nos vários sistemas do organismo das vacas de leite. Frases marcadas com "*" indicam alterações típicas de animais em stress térmico. As frases antecedidas por setas vermelhas representam uma diminuição desse fator. e as frases antecedidas por setas verdes representam um aumento do fator. (Adaptado de Sammad *et al.*, 2020(Sammad *et al.*, 2020) com a utilização do programa BioRender.com)

A concentração das hormonas da tiroide também se vai encontrar reduzida, como mecanismo de redução metabólica, para diminuir a produção de calor(Mitra, Christison and Johnson, 1972).

Relativamente ao sistema cardio-respiratório, verifica-se que o aumento da FR está associado a uma respiração polipneica, e conseqüente aumento do consumo de oxigénio(Luo *et al.*, 2021). A frequência cardíaca (FC) aumenta em situações de exposições pontuais ao calor, e diminui em caso de exposições prolongadas(Kadzere *et al.*, 2002a).

Relativamente à sudação, esta é particularmente importante para a perda de calor da espécie bovina, sendo que há duas formas de perdas hídricas pela pele, a transpiração insensível, que corresponde ao processo de difusão passiva de água pela pele sem intervenção das glândulas sudoríparas, ou seja é dependente da temperatura da pele e da humidade seletiva do ar, e a sudação que corresponde à perda ativa de suor pelas glândulas sudoríparas. (Kadzere *et al.*, 2002a). O aumento da taxa de sudação acontece principalmente devido ao funcionamento dos recetores muscarínicos, que numa fase inicial do stress térmico requerem uma ativação funcional. Concomitantemente verifica-se um aumento da circulação sanguínea junto ao folículo piloso que determina também um acréscimo na produção de suor pelas glândulas sudoríparas.

Uma das respostas ao aumento da temperatura, é um aumento da secreção de prolactina, que tem um papel algo paradoxal, visto tratar-se de uma hormona galactopoética, e verificar-se uma redução da produção de leite em situação de stress térmico. Este aumento da concentração sérica de prolactina, pode causar aumento da frequência respiratória (FR) e alterações circulatórias, como o aumento da vasodilatação periférica(Alamer, 2011), que por sua vez causa aumento da perfusão da pele, que está positivamente correlacionado com o aumento da taxa de sudação(Blazquez *et al.*, 1994; Kadzere *et al.*, 2002a). A prolactina pode ainda estar relacionada com o aumento da insulina, que por vezes se verifica em vacas com ST, mesmo que o seu significado ainda seja controverso(Baumgard and Rhoads, 2013; Lacasse *et al.*, 2016).

O equilíbrio ácido-base no sangue de animais que exibem stress térmico, vai encontrar-se alterado, sendo que as vacas poderão sofrer variações significativas de pH ao longo do dia(Schneider *et al.*, 1984).

A respiração dispneica aumenta acentuadamente a perda de CO₂ através da ventilação pulmonar, reduzindo a concentração sanguínea de ácido carbónico, causando uma alcalose respiratória, que leva a diminuição do apetite e do peso do animal tal como problemas reprodutivos(Srikandakumar and Johnson, 2004). Para a compensar, as vacas exibem um aumento na excreção de bicarbonato na urina, levando a uma redução da concentração de bicarbonato no sangue, que resulta numa acidose metabólica durante os períodos mais frio de um dia, normalmente durante a noite. Concentrações séricas de bicarbonato reduzidas comprometem

a sua concentração na saliva, e capacidade tampão ruminal associada, podendo levar a uma acidose ruminal neste período(West, 2003).

A sudorese aumenta à medida que a dependência no arrefecimento evaporativo se acentua, e a micção aumenta devido a um maior consumo de água. As concentrações séricas de sódio e potássio encontram-se reduzidas em vacas com ST, porque há maior perda de sódio na urina e de potássio no suor neste período. A redução da concentração de sódio leva a uma maior absorção de cloro, que tem um efeito negativo sobre a concentração de bicarbonato, aumentando assim o risco de acidose sistêmica compensatória referido anteriormente.(Kadzere *et al.*, 2002a; West, 2003; Das *et al.*, 2016)

Associada à acidose, podem surgir laminites, devido ao maior tempo passado em estação. Podem surgir outras afeções podais, como doença da linha branca, úlceras, solas finas e perfuração da sola características de vacas em stress térmico(Cook, Nordlund and Oetzel, 2004; Das *et al.*, 2016).

Inserida na resposta do organismo ao ST, há ativação exacerbada de moléculas espécies reativas a oxigénio que produzem radicais livres, que por sua vez causam danos moleculares nomeadamente nas mitocôndrias(Li *et al.*, 2023), induzem apoptose celular epitelial e comprometem o sistema imunitário(Guo *et al.*, 2021), tal como a indução de processos inflamatórios cuja incidência aumenta(Li *et al.*, 2023).

Verifica-se o aumento da incidência de cetose clínica ou subclínica em situação de ST, situação que é agravada devido às condições de balanço energético negativo.(Das *et al.*, 2016).

O stress térmico, devido a todos os fatores referidos, vai afetar a função reprodutiva de bovinos indiretamente, sendo um evento que envolve o comprometimento da homeostasia, e diretamente, pois o próprio aumento da temperatura corporal pode afetar vários mecanismos reprodutivos (Roth, 2020b). Podemos considerar que a taxa de concepção (TC) diminui por redução da fertilidade, redução do estro, e/ou sua demonstração, e pela menor sobrevivência embrionária.(Jordan, 2003; Krishnan *et al.*, 2017; Singh, Kumar and Sourya, 2021)

Dois fatores muito importantes a considerar no que diz respeito às consequências do stress térmico sobre a função reprodutiva são, o período consecutivo de calor e a frequência de períodos de calor extremo(Morton *et al.*, 2007).

1.3 REPRODUÇÃO

1.3.1 Ciclo éstrico

O ciclo éstrico bovino tem uma regulação neuroendócrina, que envolve múltiplos fatores de regulação que vão permitir a sequência complexa de desenvolvimento folicular, esteroidogênese e ovulação. Esta regulação vai acontecer principalmente ao nível do hipotálamo, da adeno-hipófise, e do ovário, com a produção e secreção de hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), das gonadotrofinas (hormona estimulante folicular (FSH) e hormona luteinizante (LH)) e dos esteroides gonadais, respetivamente.

O hipotálamo é uma região do cérebro envolvida na regulação do ciclo reprodutivo. A regulação da secreção da GnRH é realizada pelos neurónios *kisspeptin1* que são sensíveis a mudanças nas concentrações hormonais, principalmente desempenhando um papel-chave na modulação da secreção de GnRH, pois quando estimulados promovem a secreção de pulsos de GnRH em maior frequência e amplitude (Cardoso and Williams, 2021).

Existem duas populações distintas destes neurónios no hipotálamo que se distinguem pela sua localização, e pela sua reação a concentrações plasmáticas de estradiol. Enquanto maiores concentrações de estradiol inibem a população de neurónios *kisspeptin1* no Núcleo Arqueado, da mesma forma estimulam os neurónios da Área Preótica/Periventricular. É importante ainda referir que a progesterona (P₄) também tem efeito regulador nestes neurónios, inibindo ambas as populações, tendo um efeito cumulativo ao estrogénio na primeira, e bloqueando a estimulação estrogénica realizada na segunda (Cardoso and Williams, 2021).

A GnRH é secretada pelo hipotálamo de forma pulsátil e é transportada até à hipófise pela circulação portal. Um pulso de GnRH, geralmente, desencadeia um pulso correspondente de LH, a menos que sua amplitude seja muito reduzida. A secreção de FSH também ocorre de forma pulsátil, no entanto, nem sempre se verifica em resposta a um pulso de GnRH.

Diretamente na adeno-hipófise, a secreção de FSH é regulada pelo efeito das hormonas gonadais, sendo influenciada pela ativina, inibina e estradiol, substâncias produzidas localmente pelos folículos no ovário. A ativina vai estimular a secreção da FSH, enquanto concentrações mais elevadas de inibina e estradiol suprimem a secreção a este nível (Cardoso and Williams, 2021).

As gonadotrofinas vão exercer o seu efeito principalmente no ovário, nomeadamente nos folículos, estimulando o seu desenvolvimento e produção esteroidogénica ao longo do ciclo.

O ciclo éstrico caracteriza-se como o intervalo entre dois períodos sucessivos de estro, sendo que o Estro ou Cio se caracteriza por ser um período de recetividade sexual, com significativas alterações hormonais que levam a essas manifestações comportamentais. O período de estro pode durar entre 8 e 30 horas sendo que o pico de LH, que vai conduzir à ovulação, ocorre aproximadamente 24 horas após o início da demonstração de estro(Hartigan, 2004).

O ciclo ovárico da espécie bovina tem a particularidade de ser geralmente constituído por duas ondas de desenvolvimento folicular nas vacas múltíparas, e três em novilhas/nulíparas (representadas na figura 3), sendo que apenas a última onda resulta numa ovulação. (Sartori *et al.*, 2004; Adams and Singh, 2021)

O desenvolvimento folicular pode dividir-se nas fases de recrutamento, seleção e dominância. (Adams, Singh and Baerwald, 2012; M. Seneda *et al.*, 2022).

O termo “recrutamento” tem sido utilizado para descrever vários eventos fisiológicos distintos. De entre eles, a transição dos folículos primordiais de um estado de repouso, na reserva de folículos primordiais, para um estado de crescimento e o aparecimento de folículos antrais durante o ciclo(Jaiswal, Singh and Adams, 2004; Adams, Singh and Baerwald, 2012).

O recrutamento é a fase da foliculogénese que precede as ondas de desenvolvimento folicular. O ovário possui uma reserva de folículos no seu estado primordial, e a partir da puberdade grupos destes folículos vão, de forma cíclica e contínua, sair do seu estado de dormência, e iniciar o seu desenvolvimento(Fortune, 1994). Este desenvolvimento caracteriza-se principalmente, pelo crescimento do ovócito, e pela proliferação e alteração das células da granulosa, que vão passar de escamosas para cuboidais, formando-se os folículos pré-antrais. Posteriormente desenvolvem-se folículos antrais iniciais, que possuem uma cavidade ou antro com líquido no seu interior, e células de uma teca primitiva rodeando a granulosa(Braw-Tal and Yossefi, 1997). Estes folículos são as primeiras estruturas dependentes da FSH, sendo que, até então as estruturas eram responsivas, mas não dependentes desta hormona(Knox, 2005; Candelaria, Rabaglino and Denicol, 2020).

É com o desenvolvimento deste grupo de folículos antrais e com as concentrações crescentes de FSH que se vai iniciar a onda folicular.

Um grupo de oito a 41 folículos aumentam de tamanho, e desenvolvem-se até se iniciar a fase de seleção. A partir daqui apenas os mais avançados no seu desenvolvimento o continuam, os restantes vão degenerar ou entrar em atresia. Esta atresia folicular acontece ao longo de todo

o processo de desenvolvimento folicular, sendo predominante nas fases da seleção e dominância(Sartori *et al.*, 2004).

A ocorrência da atresia na fase de seleção, depende da receptividade dos folículos à FSH e da ausência de recetores de LH, porque, como foi referido, alguns folículos, desenvolvem-se notoriamente mais que os restantes. Estes vão aumentar significativamente a produção de estrogénios, principalmente estradiol, o que provova um aumento consequente da concentração plasmática desta hormona. O processo de crescimento deste grupo de três a seis folículos antrais de 5 mm ou mais de diâmetro é o que caracteriza a seleção(Fortune, 1993)

Uma elevada concentração plasmática de estradiol interage com os neurónios *kisspeptin* no hipotálamo, especificamente no núcleo arqueado(Uenoyama *et al.*, 2021), alterando o fluxo de secreção de GnRH, o que vai resultar numa diminuição da FSH (Mecanismo de *Feedback* Negativo). Com a diminuição da concentração de FSH plasmática, apenas os folículos mais desenvolvidos vão ter capacidade de dar continuidade ao seu desenvolvimento, produzindo cada vez mais estradiol. Entre eles, existe um folículo dominante que se destaca, não só por ser consideravelmente maior e mais desenvolvido que os restantes, mas também por possuir recetores de LH(Fortune *et al.*, 2001) e maior sensibilidade à FSH, o que lhe permite continuar o seu desenvolvimento com baixas concentrações desta hormona(Santos, 1997). Segundo vários estudos, a dominância dos folículos está definida desde o dia 5 do ciclo. A aquisição de dominância depende muito da constituição do microambiente folicular(Fortune, Rivera and Yang, 2004).

Durante todo este processo existe um Corpo Lúteo (CL) num dos ovários a produzir e secretar progesterona. Na primeira onda folicular a concentração elevada de progesterona inibe a ovulação através da sua ação ao nível do hipotálamo, levando o folículo dominante a regredir enquanto emerge a segunda onda de desenvolvimento folicular(Hartigan, 2004). Na segunda onda de desenvolvimento das múltíparas, ou na terceira das primíparas, a luteólise vai desencadear uma série de fatores que vão levar à ovulação('Cardoso and 'Williams, 2021).

A luteólise é dependente do útero, que produz e segrega prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF_{2\alpha}$). No último terço do ciclo éstrico esta hormona começa a ser produzida, o que desencadeia uma interação entre a $PGF_{2\alpha}$ e a ocitocina, que desencadeia um efeito de retroação positiva bilateral, resultando num pico de $PGF_{2\alpha}$ que tem ação sobre o CL provocando a sua luteólise. (Peterson *et al.*, 1975; Homanics and Silvia, 1988; Kotwica *et al.*, 1999; Skarzynski, Ferreira-Dias and Okuda, 2008)

Com a regressão do CL as concentrações de progesterona decrescem rapidamente, o que permite que a produção crescente de estrogénios altere a secreção de GnRH, através de retroação positiva, levando a uma maior produção de FSH e LH, sendo o aumento da LH mais acentuado devido à maior frequência e amplitude dos pulsos de GnRH. A secreção de LH aumenta resultando num pico hormonal que estimula o folículo dominante a ovular.

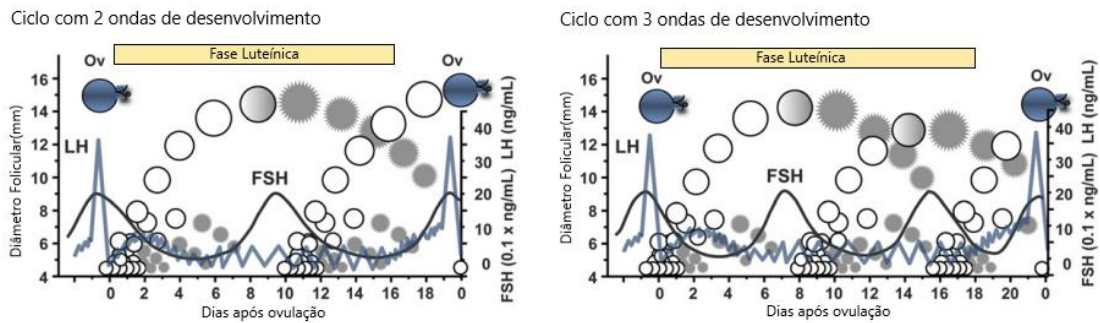


Figura 3-Dinâmica do desenvolvimento folicular ovárico e da secreção de gonadotrofinas durante um ciclo estrico de duas e três ondas foliculares. Os folículos dominantes e subordinados são indicados como círculos abertos (viáveis) ou sombreados (atrésicos). Um aumento nas concentrações circulantes de FSH (linha preta) precede o surgimento de cada onda. Um aumento nas concentrações circulantes de LH (linha cinza) precede a ovulação (Ov). O pico de LH é precedido e sucedido por um período de alta frequência de pulso de LH como resultado de baixas concentrações circulantes de progesterona, período de luteólise e luteogénese, respetivamente. (Adaptado de Adams et al. 2012(Adams, Singh and Baerwald, 2012) e Adams et al. 2006(Adams et al., 2008))

A ovulação consiste na libertação dos conteúdos antrais do folículo, onde se inclui o ovócito, e culmina na formação de um novo CL, a partir das células da granulosa e da teca, que se expandem e passam por um processo de vascularização e luteinização. O desenvolvimento e crescimento do CL é de grande importância para a manutenção de uma possível gestação, visto que o seu tamanho está diretamente relacionado com a quantidade de progesterona produzida(’Cardoso and ’Williams, 2021; Soni et al., 2021).

1.3.2 Fecundação e desenvolvimento embrionário inicial

Após a ovulação, o ovócito conclui a primeira divisão meiótica, sendo que, nesta divisão meiótica, quase todo o citoplasma se desloca para o ovócito secundário e apenas uma quantidade muito reduzida vai para o primeiro corpo polar. O ovócito para então o seu desenvolvimento na metáfase II, a menos que ocorra a fecundação.

A fecundação, através dos estímulos de ativação dos espermatozoides ou ativação partenogénica, leva o ovócito a realizar a segunda fase da meiose, expelindo o corpo polar secundário.(Li et al., 2005)

Efetuada a fecundação, o embrião sofre a primeira divisão celular, sendo que o momento em que esta acontece é considerado um marcador fidedigno de competência embrionária(Somfai *et al.*, 2010).

O embrião vai continuar a sofrer várias divisões celulares até chegar ao estado de mórula. Este processo acontece ao longo do oviduto como podemos observar na figura 4.

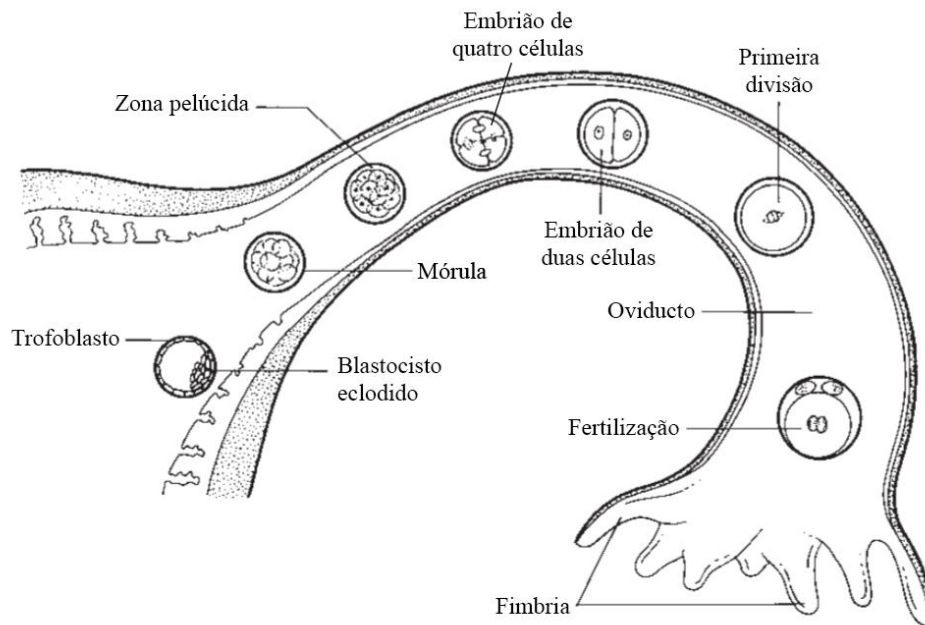


Figura 4- Diagrama esquemático para ilustrar as mudanças no conceito durante o transporte pelo oviduto para o lúmen uterino. (Adaptado de Hartigan *et al.* 2004(Hartigan, 2004))

O embrião entra no útero cerca de 72 horas após a ovulação, no estado de mórula, com oito a 16 células, que se denominam de blastómeros. Por volta do dia 7 a 8 após a ovulação, o embrião forma uma estrutura denominada de blastocisto, que se caracteriza pela cavidade central, delimitada por uma camada de células denominada de trofoblasto e contendo a massa celular interna, que vai dar origem ao feto.

Para que o embrião sobreviva, é necessário que ocorra o reconhecimento materno da gestação (RMG). É esta sinalização, que vai permitir que o corpo lúteo se mantenha e continue a secretar progesterona. Em bovinos, o RMG acontece através da sinalização realizada pelo **interferão τ** , libertado pelo embrião, que vai evitar a luteólise. A sinalização do RMG acontece antes da implantação do embrião por volta do dia 16 de gestação(Hartigan, 2004; Lemley, Camacho and Vonnahme, 2021).

A implantação começa por volta do dia 19 e termina entre os dias 35 e 42 de gestação. A partir daí o feto continua a sua diferenciação e desenvolvimento durante os cerca de 285 dias de gestação(Hartigan, 2004).

1.4 INFLUÊNCIA DO STRESS TÉRMICO SOBRE A FUNÇÃO REPRODUTIVA

O stress térmico desencadeia uma resposta sistêmica no organismo, afetando vários sistemas, entre eles o sistema reprodutivo. Alguns dos principais efeitos negativos na função reprodutiva, incluem a diminuição da taxa de concepção, a diminuição da demonstração do estro, o prolongamento do anestro pós-parto, atrasos na ovulação, maior taxa de reabsorção embrionária, alterações hormonais e redução da qualidade do ovócito, (Wolfenson, Roth and Meidan, 2000; De Rensis and Scaramuzzi, 2003; Singh, Kumar and Sourya, 2021) como podemos observar na figura 5.

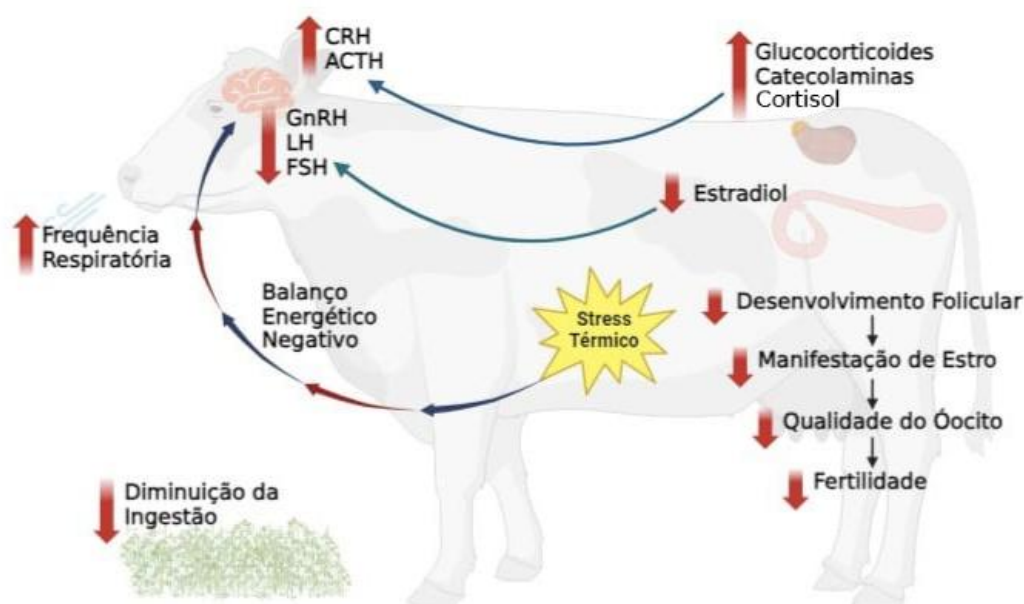


Figura 5- Descrição esquemática dos principais impactos do stress térmico na performance reprodutiva. (Adaptado de De Rensis F et al. 2003 (De Rensis and Scaramuzzi, 2003) e de Krishnan G. et al. 2017 (Krishnan et al., 2017) com a utilização do programa BioRender.com)

1.4.1 Demonstração de estro

Uma das consequências do ST na função reprodutiva vai ser a diminuição da manifestação de cio sendo que a taxa de detecção de cios pode descer para 20% durante períodos de stress térmico. A menor detecção deve-se efetivamente à menor demonstração comportamental que pode ser causada por défices de circulação, alterações hormonais e comportamentais (Hansen, 2021).

Uma das razões pelas quais o ST diminui a demonstração de estro é a diminuição do aporte sanguíneo ao útero pois esta leva a uma menor secreção mucosa e a uma contração uterina reduzida. Esta perfusão uterina insuficiente acontece porque há menor concentração plasmática de estrogênio(Penev *et al.*, 2021) e porque em resposta ao ST existe vasodilatação periférica, o que reduz o aporte sanguíneo aos restantes sistemas.(Schüller, Michaelis and Heuwieser, 2017; Wrzecińska, Czerniawska-Piątkowska and Kowalczyk, 2021)

Além disso com a exposição prolongada a altas sensações térmicas, o Hormona Adrenocorticotrófica (ACTH) e Cortisol vão ser produzidos em resposta ao ST(Abilay, Mitra and Johnson, 1975; Titto *et al.*, 2017). O aumento do ACTH plasmático pode levar à libertação de P₄ pelo córtex adrenal em concentrações que podem ser suficientes para suprimir a demonstração de estro(Allrich, 1994; Yoshida and Nakao, 2005; Palma *et al.*, 2012)

A concentração de E₂ pré-ovulatória, também se vai encontrar diminuída relativamente ao limite fisiológico o que pode reduzir o comportamento de estro('Hansen, 2021) que necessita de uma concentração elevada de E₂ após um período de maiores concentrações de progesterona para ser demonstrado(Bloch *et al.*, 2006; Reith and Hoy, 2017; Perez Marquez *et al.*, 2019).

A nível comportamental, a alteração de posicionamento e aumento de reações agressivas características do ST podem alterar a sua manifestação de estro porque podem influenciar o reflexo de imobilidade que é o sinal de estro mais fidedigno(Herbut *et al.*, 2021). As vacas por vezes numa situação de ST apresentam alguns sinais de letargia que também não favorecem a manifestação do Cio('Hansen, 2021).

1.4.2 Anestro pós-parto prolongado

Outro aspeto comportamental relevante para a função reprodutiva que se vai alterar é a ingestão de alimento, que vai diminuir(Kadzere *et al.*, 2002b; De Rensis, Garcia-Ispierto and López-Gatius, 2015; Herbut *et al.*, 2021), o que pode levar a um prolongamento do anestro pós-parto devido ao balanço energético negativo consequente(Baumgard *et al.*, 2006).

A nível fisiológico, o ST pode causar desequilíbrios de pH e comprometimento do sistema imunitário, que pode diminuir a fertilidade por estar associado a uma maior incidência de situações como metrites, mastites, infeções virais e bacterianas, e condições inflamatórias(Esposito *et al.*, 2014; Min *et al.*, 2016; Oguejiofor *et al.*, 2019). A incidência de qualquer uma destas situações de doença, vai prolongar o anestro pós-parto, e reduzir o número de inseminações diárias e a taxa de concepção.(Das *et al.*, 2016; Jesse *et al.*, 2019)

1.4.3 Recrutamento

Há evidências de que o ST pode afetar a eficácia reprodutiva até cerca de 42 dias depois do período a que as vacas foram expostas a este tipo de stress, sendo que o desenvolvimento de um folículo primordial desde que ele inicia o seu desenvolvimento até chegar a uma fase pré-ovulatória tem a duração de aproximadamente 180 dias(Roth, 2017a).

Os folículos começam por se desenvolver de uma reserva de folículos primordiais, diferenciando-se posteriormente em folículos primários, e de seguida em folículos secundários. Os folículos secundários e os seus precedentes são considerados folículos pré-antrais(Fortune, 2003) e considera-se que não são influenciados pela temperatura.

Após o desenvolvimento do antro, os folículos vão tornar-se suscetíveis ao ST, sendo que, quanto mais desenvolvido for o folículo, mais este vai ser afetado pelo ST, como se encontra esquematizado na Figura 6, este processo relaciona-se com a ação das *heat stress proteins*. Além do efeito direto do ST sobre os folículos é importante referir que a transição de um folículo pré-antral para antral é a primeira fase do desenvolvimento folicular que vai ser responsiva às gonadotrofinas, mesmo não sendo dependente destas, pelo que as concentrações hormonais alteradas podem também afetar o desenvolvimento folicular a partir desta fase. Os folículos antrais no seu estado inicial demoram cerca de 40-43 dias a tornar-se em folículos pré-ovulatórios(Lussier, Matton and Dufour, 1987). Nesta fase os folículos já não são termotolerantes, sendo que já se podem considerar influencias negativas de períodos de THI altos até 42 dias antes da inseminação (Schüller, Burfeind and Heuwieser, 2014).

A viabilidade dos ovócitos vai ser afetada pela diminuição da qualidade e quantidade de RNA, produzido cuja produção é considerável nesta fase, e que pode ser menor devido à exposição do folículo a temperaturas mais elevadas. Há também, menor comunicação entre as células da granulosa com o *cumulus oophorus*, e deste com o ovócito. As altas temperaturas podem ainda causar alterações nas mitocôndrias e no citoesqueleto, que podem comprometer posteriormente a capacidade de divisão do ovócito. Além disto, a temperatura mais elevada vai afetar a capacidade produtora de esteroides da teca e da granulosa. Esta redução pode afetar a produção de FSH e, conseqüentemente, a competência meiótica do ovócito. Há ainda alteração da composição dos fluidos foliculares, ou seja, do microambiente folicular(Khan *et al.*, 2020).

Considera-se que o período de 21 dias antes da inseminação é o mais sensível ao stress térmico.(Schüller, Burfeind and Heuwieser, 2014)

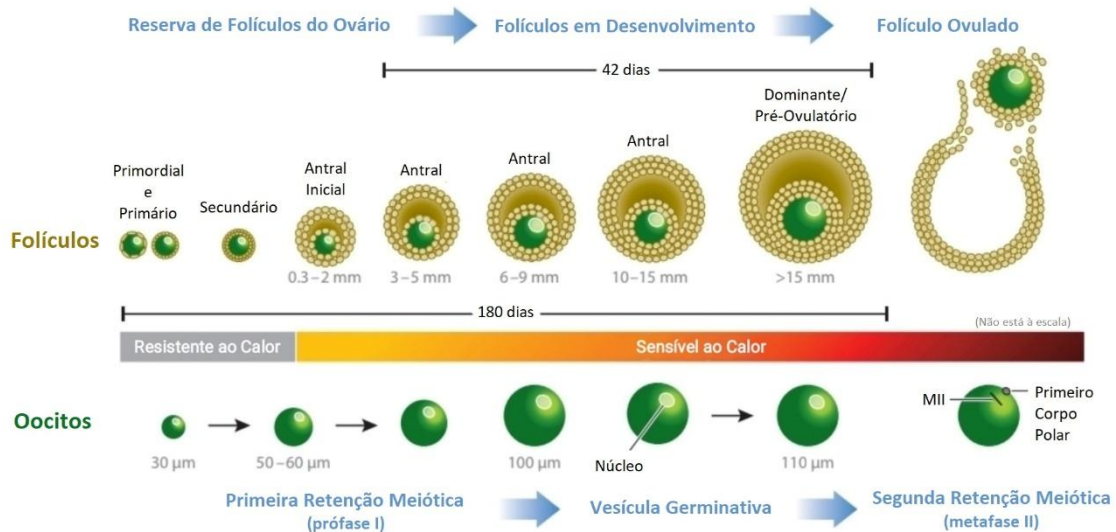


Figura 6- Diagrama ilustrativo da relação entre o estado de desenvolvimento do folículo/ovócito e a sua resistência/sensibilidade ao stress térmico. Os folículos primordiais, primários e secundários são resistentes ao calor, enquanto os folículos antrais em desenvolvimento, incluindo os folículos dominantes e pré-ovulatórios, são sensíveis à exposição ao calor com um efeito proeminente no ovócito que se encontra no estado de desenvolvimento de vesícula germinativa e no ovócito que se encontra na metáfase II (ovulação). (Adaptado de Roth et al. 2017(Roth, 2017b))

1.4.4 Seleção e dominância

O ST inibe o crescimento folicular e a fase de aquisição de dominância (Wilson et al., 1998) no sentido, em que, devido à exposição do tecido folicular a altas temperaturas, as células da granulosa tornam-se menos reativas à influência das gonadotrofinas e produzem menos estradiol. A diminuição da concentração plasmática de estradiol leva a uma diminuição da produção de LH e maior produção de FSH devido à atenuação do efeito de *feedback* negativo. Além disso a própria sensibilidade dos recetores à LH, fica comprometida pelo aumento da temperatura interna. Este conjunto de fatores torna a aquisição de dominância insuficiente, e faz com que a seleção nem sempre ocorra eficazmente.

Com uma maior concentração de FSH, há aumento da quantidade de folículos de tamanho médio e pode acontecer a insurgência de um segundo folículo com características de dominante. Isto pode resultar num segundo folículo muito desenvolvido na altura da ovulação, que vai continuar a produzir estradiol e comprometer a possível gestação, ou em dois folículos anovulatórios.

Em suma, o ST vai fazer com que exista uma dominância mais débil, principalmente porque vai fazer com que as concentrações de estradiol e de androstenediona sejam mais

reduzidas e haja um aumento da concentração de progesterona nesta fase(Bridges, Brusie and Fortune, 2005).

1.4.5 Ovulação e fecundação

Há várias formas do ST afetar a ovulação, já que em vários momentos da formação folicular, a exposição ao ST pode tornar os folículos incapazes de ovular ou induzir a sua apoptose.

A nível hormonal, o maior nível de FSH verificado, aliado à baixa concentração plasmática e baixa resposta ao LH, vai atrasar a ovulação, dando origem a ciclos mais longos que a média, e à ovulação de estruturas envelhecidas e menos férteis.

Devido ao menor aporte energético, derivado da menor ingestão alimentar verificada em períodos de ST, é produzida menos insulina e IGF-I, que atuam de forma sinérgica com a LH na estimulação do crescimento folicular, e em resposta a um balanço energético negativo comprometem esse crescimento e a ovulação consequente. Este efeito é agravado porque está associado a uma concentração de LH reduzida.(Evans and Zeng, 2017)

Relativamente ao ST no momento da ovulação, ou imediatamente antes, ele representa elevada importância visto que os ovários precisam de se encontrar a uma temperatura inferior à temperatura corporal basal da vaca(Hunter *et al.*, 1997). Valores de THI muito altos no momento da ovulação muitas vezes podem provocar insucesso de Ias devido ao aumento da temperatura interna da vaca.(Gwazdauskas, Thatcher and Wilcox, 1973).

A temperatura vaginal é muito sensível a aumentos de THI, manifestando uma correlação significativa com este indicador(López-Gatius and Hunter, 2017, 2020; Kaufman, Saxton and Rius, 2018). Deste modo, a fecundação pode ser comprometida pela possibilidade da exposição do sémen a altas temperaturas do útero, o que pode comprometer a sobrevivência embrionária ou a sua capacidade de fertilização(Hansen *et al.*, 2001).

É ainda importante referir que, durante a maioria das fases da foliculogénese, a exposição dos ovócitos a altas temperaturas, faz com que as características intrínsecas da sua membrana se alterem no que diz respeito à sua composição em ácidos gordos e em lípidos da fase de transição, o que os pode tornar os ovócitos ou consequentes embriões incapazes de se desenvolver corretamente, como está ilustrado na figura 7.

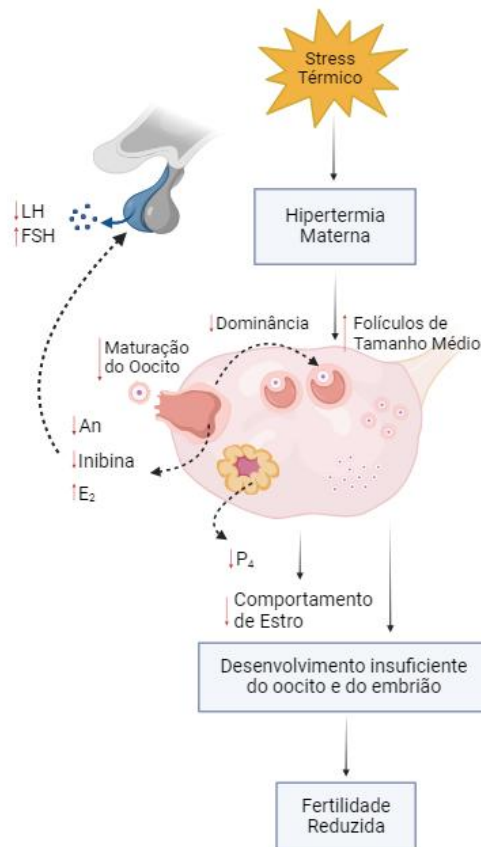


Figura 7- Diagrama ilustrativo dos efeitos a longo prazo do stress térmico sazonal no eixo hipotálamo-hipofisário-ovário e o seu envolvimento na redução da fertilidade de vacas de leite. A redução na secreção de LH está associada à redução na secreção de estradiol folicular (E2). A redução na dominância do folículo pré-ovulatório é refletida na redução das concentrações de androstenediona (An) e (E2) e está associada à redução do comportamento de estro. O aumento no número de folículos de tamanho médio (6-9 mm de diâmetro) deve-se provavelmente à redução na dominância e está associado à redução na inibina e ao aumento das concentrações de FSH. A redução do desenvolvimento do ovócito e do embrião está associada à interrupção da maturação nuclear e citoplasmática. A redução na concentração de progesterona plasmática (P₄) está relacionada com o comprometimento da função do corpo lúteo (CL). A redução na fertilidade em vacas sujeitas a stress térmico é presumivelmente resultado de efeitos aditivos. (Adaptado de Wolfenson et al. 2019(Wolfenson and Roth, 2019) com a utilização de BioRender.com)

1.4.6 Efeito do stress térmico sobre o embrião

A sobrevivência embrionária diminui com o ST devido a ovócitos que já foram comprometidos ao longo do seu desenvolvimento devido a constrangimentos na ovulação, a concentrações hormonais insuficientes para sustentar o embrião ou à sujeição do embrião a altas temperaturas internas se o ST ocorrer após a fecundação.

Relativamente a embriões provenientes de ovócitos que ficaram comprometidos devido a alterações de síntese proteica, de citoesqueleto e de maturação nuclear, há estudos que relatam menor capacidade de divisão celular embrionária, e de desenvolvimento menos acentuado do blastocisto em vacas Holstein Frisia(Torres-Júnior *et al.*, 2008)

O ST pode ter efeito retardador na ovulação, o que pode comprometer a sobrevivência embrionária, visto que a qualidade do embrião diminui porque os folículos ovulatórios vão ser mais velhos.

Devido às alterações no perfil hormonal, o ambiente uterino não vai ser o adequado, o que pode comprometer a sobrevivência embrionária(Wiebold, 1988; Esposito *et al.*, 2014).

O aumento de temperatura numa fase inicial da vida embrionária pode ter um forte impacto negativo sobre o embrião. Isto porque após a primeira divisão mitótica, obtém-se um embrião de duas células, que vai ser particularmente sensível ao choque térmico, que pode causar alterações, principalmente no seu citoesqueleto e mitocôndrias(Rivera *et al.*, 2004).

Quando exposto a temperaturas até 41°C, o embrião consegue recuperar a sua função, mas quando exposto a temperaturas na ordem dos 43°C, tornam-se irremediavelmente inviabilizados(Rivera *et al.*, 2004), sendo a intensidade e o tempo que o animal é exposto ao stress térmico bastante relevantes no que diz respeito à sobrevivência embrionária. Se não ocorrerem alterações irremediáveis, o embrião vai continuar a sua divisão celular e pode recuperar totalmente(Sakatani *et al.*, 2012).

Além do choque térmico direto do zigoto, há mais fatores que podem contribuir para a morte embrionária, tais como, o envolvimento genético na morte embrionária, que pode surgir como resultado da expressão de genes letais no início do desenvolvimento ou devido a defeitos estruturais, à esteroidogénese ovárica inadequada tal como o suporte luteotrófico após a fertilização ou ainda hormonas de stress que afetam a função hipotálamo-hipófise ou ovárica.

Outra causa possível para a morte embrionária é a alteração das condições uterinas e do oviducto, já referidas, cuja origem é principalmente endócrina(Wiebold, 1988).

1.5 MEDIDAS PARA DIMINUIÇÃO DOS EFEITOS DO STRESS TÉRMICO

Há várias abordagens que podem ser consideradas para colmatar uma situação de decréscimo de desempenho reprodutivo devido à ocorrência de stress térmico, nomeadamente através de estratégias de arrefecimento, de ajustes na alimentação e de tratamentos hormonais.

Nenhum destes métodos é capaz de reverter os efeitos nefastos do Stress Térmico sob a reprodução, mas com a sua adoção, especialmente se utilizados em complementaridade, é possível melhorar o desempenho reprodutivo das explorações, prevenindo o stress térmico e diminuindo os seus efeitos (Negrón-Pérez, Fausnacht and Rhoads, 2019; Roth, 2022).

1.5.1 Instalações

A implementação de estratégias de arrefecimento é o principal método para diminuir as consequências do ST, visto que pode evitar que este afete os animais (Roth, 2022).

No caso de vacas leiteiras estabuladas, as condições do alojamento são cruciais para garantir o arrefecimento dos animais e reduzir significativamente os impactos negativos do ST nas vacas leiteiras. Nesse sentido está descrita a instalação de ventiladores, nebulizadores e métodos de arrefecimento evaporativo nas instalações, pois estes reduzem significativamente a incidência de ST (Cardoso *et al.*, 2018; Toledo, Dahl and De Vries, 2022). Além disso na própria construção do alojamento, é possível, com a utilização de telhados com uma superfície refletora de radiação de ondas curtas e utilização de materiais com maior isolamento térmico, ou seja menos transmissividade, contribuir para a diminuição do THI dentro das instalações da exploração (Narwaria *et al.*, 2017).

No caso de explorações com vacas exclusivamente em pastagem, o fornecimento de sombra revela-se essencial para a redução da radiação de ondas curtas incidentes o que reduz a incidência de ST. O acesso a uma fonte de água é essencial em ambas as situações. (Ingraham, Stanley and Wagner, 1979; Armstrong, 1994; Van Laer *et al.*, 2015).

1.5.2 Maneio alimentar

Sob condições de ST, as vacas de leite demonstram marcada redução da ingestão alimentar e necessidades de manutenção acrescidas, como já foi referido anteriormente, porque a digestão alimentar leva a acréscimo energético, devido ao seu efeito dinâmico específico, e uma das causas para a diminuição da ingestão é, justamente, a redução de energia libertada pelos processos digestivos e de absorção (Min *et al.*, 2019).

No sentido de aliviar os efeitos negativos do stress térmico, não só a nível reprodutivo, mas também produtivo, têm sido estudadas várias estratégias nutricionais. Estas incluem ajustes dietéticos, principalmente ao nível da fibra e da gordura, a utilização de aditivos, que podem ser microbianos, minerais, vitamínicos, soluções tampão de iões metálicos, extratos de plantas, aminoácidos e outros componentes com propriedades atenuantes do stress, (Min *et al.*, 2019) e alterações na quantidade e horário das refeições.

O aumento da matéria gorda na dieta em cerca de 3% é altamente recomendado, porque a gordura ao ser digerida gera menos calor comparativamente aos carboidratos, o que permite reduzir a TR e, conseqüentemente, da FR, e melhorar a resposta imunitária humoral (Min *et al.*,

2019) e ainda favorece o aumento da concentração de ácidos gordos não estratificados. Uma das opções de ingredientes indicados para fazer o suplemento de gordura são os ácidos gordos (Sammad *et al.*, 2020).

A degradação das fibras de detergente neutras (NDF) acarreta o maior ganho de calor relativamente a qualquer outro macronutriente da dieta das vacas de leite. A substituição de NDF na dieta por extrato de éter (EE), apresenta-se como uma boa opção porque a digestão deste representa um aumento de calor bastante reduzido. Esta alteração de quantidades deve ser feita com critério para não provocar acidoses ou reduzida digestibilidade da fibra que pode acontecer se a quantidade de fibra for muito reduzida ou a quantidade de EE muito elevada, respetivamente (Cargile and Tracy, 2021).

Uma outra opção é substituir as forragens de má qualidade com outra NDF com maior digestibilidade e palatabilidade, como é o caso da beterraba (Min *et al.*, 2019).

Acrescentar grãos de fermentação lenta, como por exemplo milho partido, também pode ser uma opção, já que há algumas evidências de que reduzem o calor proveniente da fermentação (Gonzalez-Rivas *et al.*, 2018).

Há várias opções a nível vitamínico que têm métodos de funcionamento diversos na melhoria da TC sob efeito de ST como a suplementação em vitamina E e Folato.

No âmbito da suplementação mineral, está descrito o crómio e selénio, sendo que sob períodos de ST as vacas vão apresentar carências em Crómio e a sua adição na dieta favorece o consumo alimentar e ganho de peso.

A nível de aditivos microbianos, pode utilizar-se culturas de leveduras, nomeadamente de *Saccharomyces Cerevisiae* que causa melhoria da função gástrica, do sistema imunitário e redução da TR. Também está descrita a ação benéfica de probióticos pois levam a uma maior eficiência digestiva e menor produção de calor. (inoculantes de bactérias vivas) (Du *et al.*, 2022).

Os aminoácidos descritos como tendo efeitos benéficos na reprodução das vacas sujeitas a ST são a betaína e metionina (Min *et al.*, 2019).

Relativamente aos hábitos alimentares, que podem favorecer os animais numa situação de Stress Térmico é aconselhável fornecer o alimento durante o período com o THI menor, visto que a ingestão de matéria seca é maior nessas alturas (Toledo, Dahl and De Vries, 2022).

1.5.3 Tratamentos hormonais

Existem vários tratamentos hormonais disponíveis para mitigar os danos do ST. Estes podem basear-se na aceleração da remoção de folículos comprometidos, em evitar a luteólise e dessa forma, garantir a sobrevivência embrionária, evitar a luteólise ou sincronizar a ovulação através de protocolos diferenciados e desta forma melhorar a detecção de estro.

O ST pode ter consequências no sucesso reprodutivo no Outono, isto porque há um efeito de arrastamento do ST de verão, causando lesões nos folículos. Ao acelerar o processo de renovação folicular através da remoção dos folículos comprometidos é possível melhorar a concepção outonal após períodos de ST (Roth *et al.*, 2001).

Para obter este efeito pode aumentar-se o número de ondas foliculares e de folículos por onda, com a utilização de protocolos de sincronização de crescimento folicular com PGF_{2α} e GnRH. Está descrita que a indução de três ondas consecutivas de nove dias aumenta a taxa de concepção outonal, sendo que, este tratamento não manifesta a mesma eficácia para todos os animais, devendo ficar reservado para vacas primíparas, com baixa condição corporal, e com baixa contagem de células somáticas (Roth *et al.*, 2009).

Também é possível aumentar o número de folículos por onda, promovendo a ativação folicular através da administração de FSH. Este tratamento não só aumenta a quantidade de folículos por onda folicular, como também aumenta a concentração de insulina no fluido folicular, o que leva a uma maior proliferação e capacidade de esteroidogênese das células da teca, à promoção da maturação citoplasmática e à melhoria do microambiente folicular, o que consequentemente origina maior capacitação do embrião (Roth *et al.*, 2002; Friedman *et al.*, 2010; Roth, 2019).

No âmbito de garantir a manutenção do corpo lúteo em funcionamento, e a sobrevivência embrionária, pode administrar-se P₄ por via intravaginal, com dispositivo CIDR, no dia 3 após IA. Este tratamento potencia o desenvolvimento embrionário, e através do maior tamanho do trofoblasto, acaba por aumentar a secreção de interferão τ , garantindo o reconhecimento materno da gestação (Mann, Fray and Lamming, 2006).

O tratamento com somatotropina bovina, também se revelou eficaz a melhorar a viabilidade dos embriões, melhorando a sua capacidade de divisão celular (Roth *et al.*, 2002; Friedman *et al.*, 2010).

Foi estudada a possibilidade promissora de fazer tratamentos cumulativos do tratamento com progesterona e da imunização contra a inibina, permitindo aumentar a TC (Chen *et al.*, 2022).

O uso de gonadotrofina coriônica humana (hCG) e de gonadotrofina coriônica equina (eCG) em tratamentos de inseminação artificial a tempo fixo (IATF), em substituição da GnRH, também demonstrou aumentar a taxa de sucesso destes programas em situação de ST.

Por último, mas com elevada relevância na melhoria da TC no período de maior calor, está o tratamento com melatonina no período de secagem, que apresenta diversas vantagens desde a melhoria do ambiente uterino, à melhoria da qualidade do ovócito (Garcia-Ispierto, Abdelfatah and López-Gatius, 2013).

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo consistiram em:

Quantificar a relação entre o stress térmico e a taxa de concepção, nas vacas de leite em São Miguel.

Mensurar a diferença nas taxas de concepção em situações de THI superior e inferior a 70, ou seja, com e sem ST se considerarmos o THI como indicador deste.

Averiguar possíveis diferenças regionais, no que diz respeito aos valores de THI, de taxas de concepção e da sua relação nos seis concelhos da ilha, consoante as suas diferenças térmicas regionais.

Apurar qual o índice de medição de sensação térmica mais adequado para a situação específica de São Miguel.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS

Foram recolhidos dados relativos às IAs, e respetivas confirmações de gestação de 19 explorações inscritas no contraste leiteiro e que realizavam o controlo reprodutivo regular através da Associação Agrícola de São Miguel. As confirmações de gestação foram efetuadas pelo médico veterinário e/ou confirmadas por parto.

No total foram analisadas 3986 inseminações do período de 1 de novembro de 2021 a 30 de outubro de 2022.

A amostra populacional foi composta por 2625 vacas de leite, de 19 explorações da ilha de São Miguel.

Foram consideradas as vacas leiteiras com inseminações realizadas no período de 1 de novembro de 2021 a 31 de outubro 2022, sendo 196 de duas explorações do concelho da

Lagoa, 295 de três explorações do concelho do Nordeste, 761 de seis explorações do concelho de Ponta Delgada, 109 de uma exploração do concelho da Povoação, 987 de cinco explorações do concelho da Ribeira Grande e 277 de uma exploração do concelho de Vila Franca do Campo. (tabela 1)

Todas as IAs foram efetuadas por inseminadores ou médicos veterinários, 8 a 12 horas após a deteção do cio. Não foram considerados como fatores de variação, a taxa de sucesso de cada inseminador, a fertilidade do sémen utilizado, nem o efeito do touro.

3.2 CÁLCULO DA TAXA DE CONCEPÇÃO

A taxa de concepção é definida como a percentagem das vacas de uma exploração que ficam gestantes, em relação ao número total de serviços efetuados. Neste trabalho foi considerada a taxa de concepção por dia, por semana e por mês. (Cook, 2009)

A fórmula utilizada para estabelecer a taxa de concepção foi:

$$TC = \frac{\text{Número de Inseminações}}{\text{Número de gestações}} \times 100$$

3.3 INFORMAÇÃO METEOROLÓGICA

A informação relativa à temperatura, humidade, velocidade do vento (m/s) e energia radiante (W/m²) diária foi recolhida a partir das estações meteorológicas próximas dos locais de estudo. Foram consideradas as estações meteorológicas “Chã da Macela”, “Lagoa das Furnas”, “Lombo”, “Santana” e “Sete Cidades” pertencentes à Rede Hidrometeorológica dos Açores (*Rede Hidrometeorológica dos Açores*, no date) e a Estação Meteorológica “Nordeste” pertencente ao IPMA.

3.4 CÁLCULO DO THI

As fórmulas utilizadas foram:

$$THI_{max} = (0,8 \times T_{max} + \frac{HR_{min} \%}{100} \times (T_{max} \text{ } ^\circ\text{C} - 14,4) + 46,4)$$

(García-Ispuerto *et al.*, 2007)

$$\text{THI Ajustado} = \text{THI} + 4.51 - (1.992 \times \text{VV}) + (0.0068 \times \text{Rad})$$

(Mader, Davis and Brown-Brandl, 2006)

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizado o programa *IBM SPSS Statistics* para *Windows*, versão 24.

Fez-se o cálculo da estatística descritiva, tanto de tendência central (média), como de dispersão (desvio padrão e coeficiente de variação) nos diferentes indicadores, tendo-se ainda averiguado a mediana em alguns casos

Aplicaram-se testes de normalidade, nomeadamente o Shapiro-Wilk e o Kolmogorov-Smirnov, correlações de Pearson e Spearman, testes t para comparação das médias, com verificação da homogeneidade de variâncias através do teste de Levene. Foi elaborado um modelo de regressão linear e gráficos relacionando variáveis para melhor compreensão dos resultados obtidos.

A significância considerada foi de 0.05.

4 RESULTADOS

4.1 CLASSIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS

As variáveis estudadas neste trabalho têm carácter quantitativo, sendo elas a taxa de concepção diária, semanal e mensal, o THI máximo diário, semanal e mensal, o THI médio diário, o THI médio ajustado, a velocidade do vento e a radiação.

4.2 ANÁLISE DESCRITIVA

Relativamente às inseminações, a sua distribuição geográfica na está descrita na tabela 1.

Caracterização da amostra

	ID Exploração	IA		Animais	
		(n)	total(n)	(n)	total(n)
Lagoa	A	155	348	71	196
	B	193		125	
Nordeste	C	83	501	47	295
	D	193		91	
	E	225		157	
Ponta Delgada	F	120	1284	97	761
	G	272		153	
	H	193		136	
	I	230		168	
	J	138		92	
	L	76		51	
	M	255		164	
Povoação	N	160	160	109	109
Ribeira Grande	O	235	1270	355	987
	P	211		189	
	Q	34		20	
	R	100		68	
	S	690		355	
Vila Franca do Campo	T	423	423	277	277
Total:			3986		2625

Tabela 1- Caracterização da amostra em termos de número de vacas leiteiras e de inseminações consideradas por exploração e por concelho. IA-Inseminação Artificial; ID Exploração-Identificação da exploração

4.3 ANÁLISE DIÁRIA

Na análise diária, foram considerados todos os dias, do período de 1 de novembro de 2021 a 31 de outubro de 2022, visto que entre todas as explorações foram realizadas IAs em todos os dias.

Nesta análise, foram considerados os valores de TC diária, de THI médio, máximo, ajustado e máximo ajustado diários. Foram verificadas ainda as variáveis meteorológicas da velocidade do vento e radiação isoladamente.

Foram avaliados os pressupostos de normalidade através do teste Shapiro-Wilk para estas variáveis, como demonstrado na tabela 2, e apenas a TC diária apresenta normalidade, pelo que se utilizou a correlação de *Spearman*.

Testes de Normalidade

	Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.
TC(%)	0,993	365	0,083
THImed	0,955	365	0,000
THIA	0,956	365	0,000
THImax	0,953	365	0,000
THImaxA	0,981	365	0,000
RAD(w/m ²)	0,976	365	0,000
VV(m/s)	0,952	365	0,000

Tabela 2-Testes de normalidade. (TC-Taxa de concepção; THIA- Índice de temperatura e humidade ajustado; THImaxA- Índice de temperatura e humidade ajustado máximo; THIA- Índice de temperatura e humidade médio; VV-Velocidade do Vento; Rad-Radiação)

Como podemos verificar na tabela 3, todos os índices de humidade e temperatura avaliados apresentam uma correlação negativa significativa com a taxa de concepção, sendo que o THI máximo e o ajustado apresentam correlações fracas e o THI médio e o máximo ajustado apresentam correlações muito fracas. Relativamente à radiação, esta não apresenta uma correlação estatisticamente significativa com o THI, e a velocidade do vento apresenta uma correlação positiva muito fraca estatisticamente significativa.

Correlações

			THImax	THImaxA	THImed	THIA	VV(m/s)	Rad(w/m ²)
rô de Spearman	TC	Coeficiente de Correlação	-0,303	-0,291	-0,299	-0,308	0,153	-0,080
		Sig. (bilateral)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,125
		N	365	365	365	365	365	365

Tabela 3-Correlação de rô de Spearman (TC-Taxa de concepção; THIA- Índice de temperatura e humidade ajustado; THImaxA- Índice de temperatura e humidade ajustado máximo; THIA- Índice de temperatura e humidade médio; VV-Velocidade do Vento; Rad-Radiação)

Através da análise do gráfico 1 e 2 que dizem respeito às dispersões da TC e do THI máximo e THI ajustado, respetivamente, tendo em conta que são os índices com correlação maior, podemos observar visualmente que existe uma grande variabilidade de valores de TC quando o THI é menor, e que quando este sobe há uma tendência para a TC diminuir.

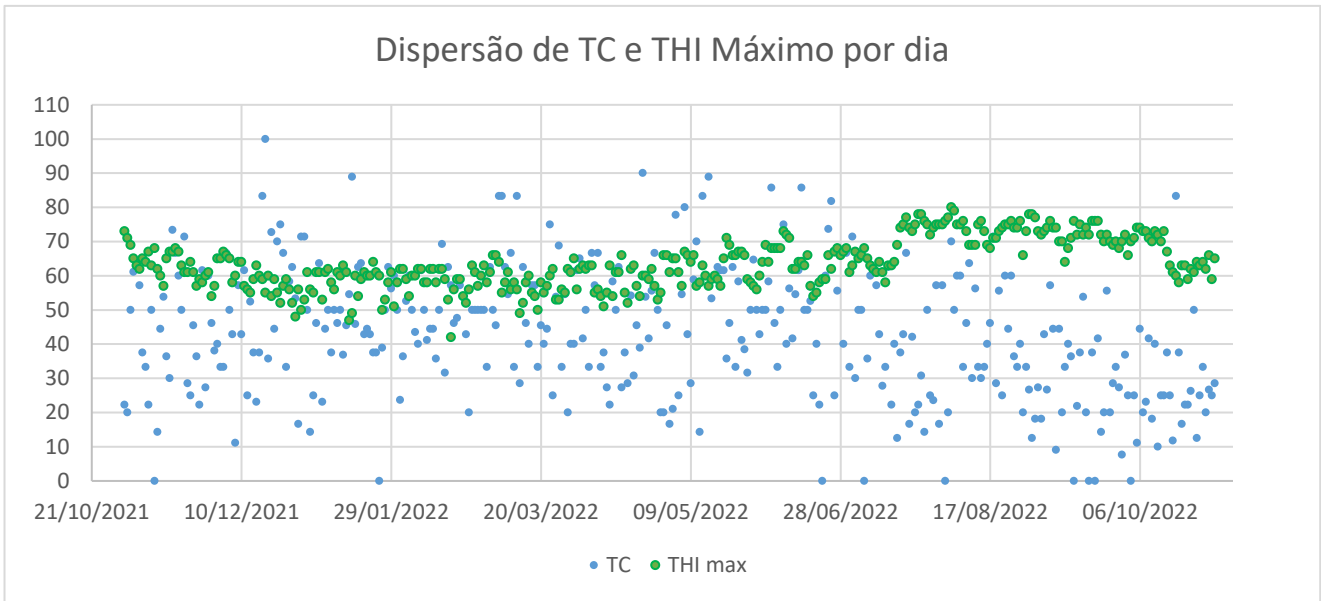


Gráfico 1-Dispersão de TC (%) e THI Máximo por dia

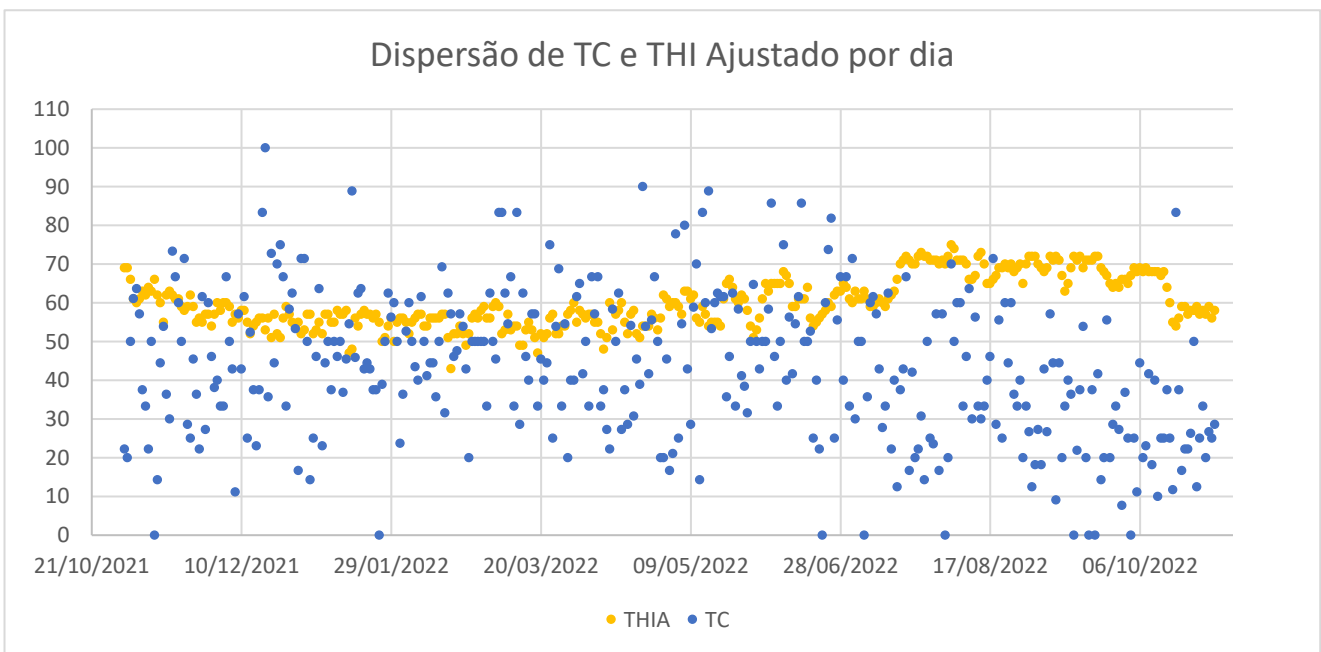


Gráfico 2-Dispersão de TC(%) e THI Ajustado por dia

Relativamente à comparação das médias de valores de THI ajustado e máximo de valores superiores a 70 e 72, verificaram-se análises semelhantes. O THI máximo maior ou menor que 70, apresentou maior relevância, pelo que as tabelas 4 e 5 serão analisadas em detalhe, sendo que as tabelas 14-19 estão contempladas nos anexos.

Na tabela 4 podemos observar que a média da TC, quando o THI máximo é superior a 70, é de 33,72%, e quando é inferior, é de 46,69%. Os desvios padrão são relativamente elevados, mas as medianas não diferem muito das médias, pelo que o valor das médias pode ser considerado relevante.

Comparação das médias

	THI máximo	N	Média	Desvio Padrão	Mediana agrupada	Mediana
TC (%)	<70	268	46,69 ± 1.12	18,35	47,41	46,89
	>70	97	33,72± 1.76	17,39	32,81	33,33
	Total	365	43,24± 0.99	18,96	43,25	42,86

Tabela 4-Comparação das médias (THI máximo)

Como se pode observar na tabela 5 o teste t para a igualdade das médias foi realizado assumindo a igualdade de variâncias, sendo que se cumprem os pressupostos para igualdade de variâncias, pois segundo o teste de Levene, não há evidência suficiente para rejeitar a hipótese nula de que as variâncias das duas populações são iguais (Sig.>0.05).

Relativamente à análise do teste t, podemos concluir que existe diferença significativa entre as médias (Sig. < 0,05), sendo que a média da TC, quando THI máximo é maior que 70, é menor do que quando é menor que 70. Esta diferença negativa é em média 12,97%, encontrando-se com 95% de intervalo de confiança entre os 8,75 e 17,19%.

Teste t de diferença entre médias

THI máximo		Teste de Levene para igualdade de variâncias		T	gl	Sig. (bilateral)	Diferença média	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
		F	Sig.					Inferior	Superior
TC (%)	Variâncias iguais assumidas	0,215	0,643	-6,047	363	0,000	-12,97± 2.14	-17,19	-8,75

Tabela 5-Teste t de diferença entre médias. TC- Taxa de concepção

4.4 ANÁLISE SEMANAL

Para este estudo consideraram-se as semanas 44 a 52 de 2021 e de 1 a 43 de 2022, tendo o dia 31 de outubro sido contabilizado como sendo da semana 43 para que todos os dias fossem incluídos. A análise foi feita com recurso ao THI máximo e foram contabilizadas todas as inseminações e os dados das 8 estações meteorológicas, cujo resumo se pode observar na tabela 20 em anexo.

Das 52 semanas, 12 apresentaram THI máximo superior a 70 e 40 apresentaram THI máximo inferior a 70.

No gráfico 3 podemos observar os valores da Taxa de concepção e do THI máximo ao longo do tempo, sendo visível uma diminuição da taxa de concepção quando o THI atinge níveis superiores a 70, a partir da semana 28.

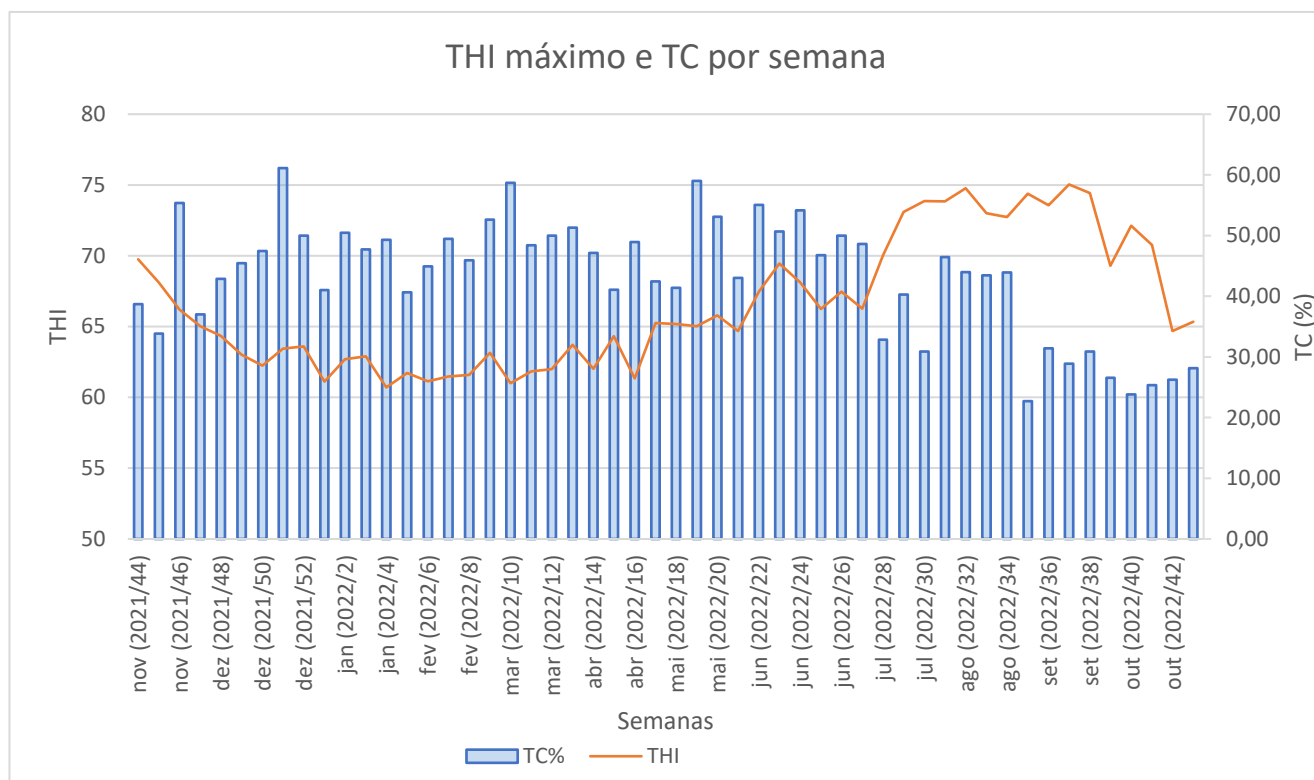


Gráfico 3-THI máximo e TC por semana

A TC semanal apresenta normalidade enquanto o THI máximo semanal não apresenta tanto pelo teste de Shapiro-Wilk como pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (tabela 6) . Neste caso, como podemos observar na caixa de bigodes do gráfico, não existem outliers e os 52 dados não são demasiado enviesados, de modo que os testes de médias não vão ser afetados por esta falta de normalidade

Testes de Normalidade

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
THI max	0,168	52	0,001	0,892	52	0,000
TC (%)	0,110	52	0,170	0,952	52	0,035

a. Correlação de Significância de Lilliefors

Tabela 6-Testes de Normalidade. THI_{max}- Índice de humidade e temperatura máximo; TC-Taxa de concepção

Caixa de Bigodes THI máximo semanal

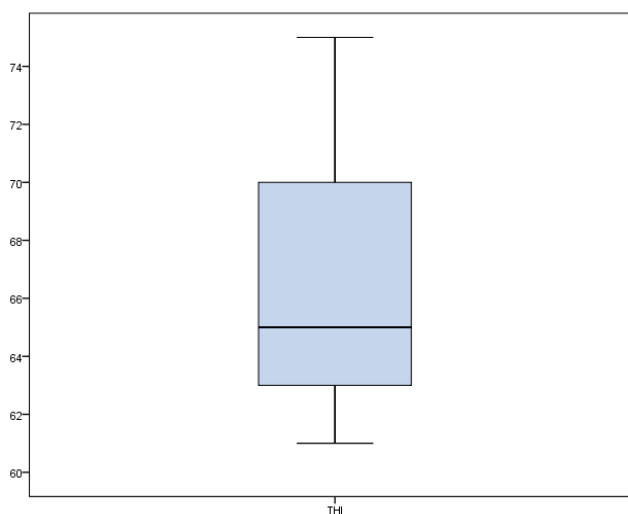


Gráfico 4- Diagrama de caixa de bigodes

Na correlação de *Pearson* da tabela 7, pode-se observar que a relação entre a taxa de concepção e o THI máximo semanal é negativa moderada com o valor de -0,537 e significativa com um intervalo de confiança de 95%.

Correlações

		THI
TC	Correlação de Pearson	-0,537
	Sig. (bilateral)	0,000
	N	52

Tabela 7-Correlação de Pearson (TC-Taxa de concepção)

Relativamente à comparação entre médias, os valores são semelhantes aos observados na análise diária como se pode observar nas tabelas 8 e 9. Os pressupostos de variâncias iguais assumidas comprovam-se com um valor de Sig. superior a 0,005. A diferença média entre as médias é de 11.61%.

TC em relação a THI maior e menor que 70

	THI máximo	N	Média	Desvio Padrão
TC	<70	40	45,94±1,32	8,37
	>70	12	34,33±2,52	8,72

Tabela 8-TC em relação a THI maior e menor que 70

Teste de amostras independentes

THI máximo semanal		Teste de Levene para igualdade de variâncias		teste-t para Igualdade de Médias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferença média	Erro padrão da diferença	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
TC	Variâncias iguais assumidas	0,640	0,428	4,17	50,00	0,00	11,61	2,78	6,02	17,19
	Variâncias iguais não assumidas			4,08	17,53	0,00	11,61	2,85	5,62	17,60

Tabela 9- Teste t para igualdade de médias

A relação entre a Taxa de concepção e o THI máximo semanal não é muito linear como se pode observar no gráfico 5, verificando-se uma diminuição da TC com o aumento do THI.

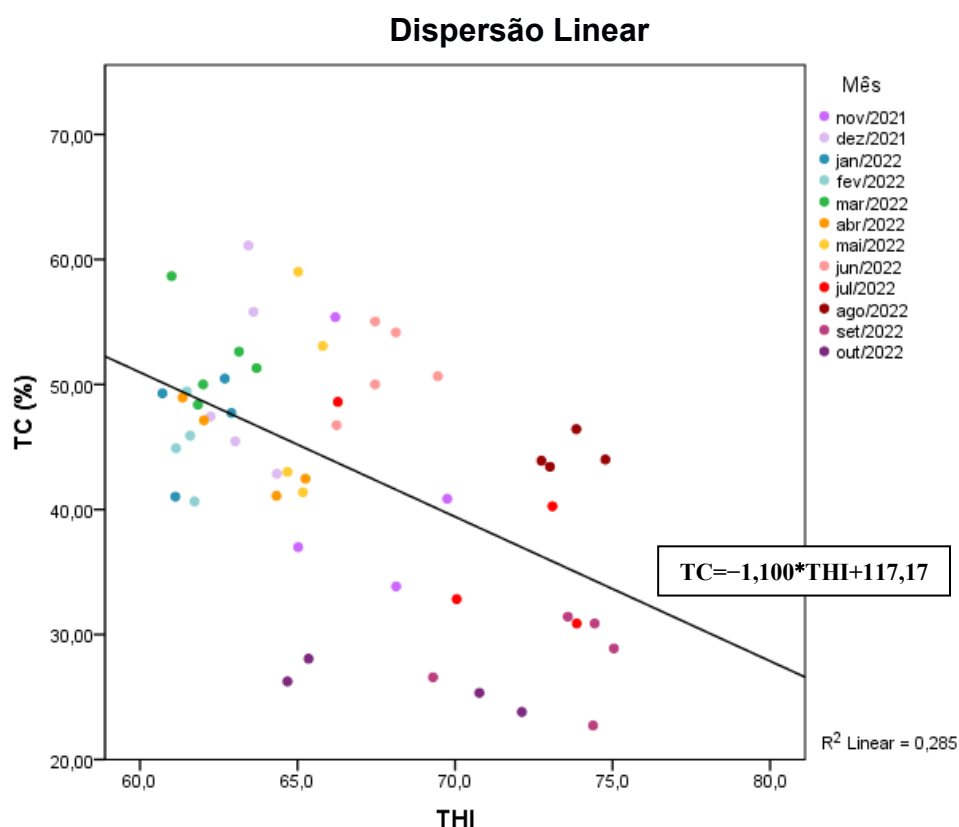


Gráfico 5- Dispersão da taxa de concepção em função do THI máximo semanal.

4.5 ANÁLISE MENSAL

Relativamente à distribuição mensal das inseminações realizadas e de inseminações com sucesso, que podemos observar no gráfico 1 conseguimos observar que os meses com maior

número de inseminações realizadas foram janeiro e fevereiro com 369 IAs e o mês com maior número de inseminações com sucesso foi junho com 181 IAs, sendo que o mês com menor número de IAs realizadas foi março e o mês com menor número de IAs confirmadas foi outubro.

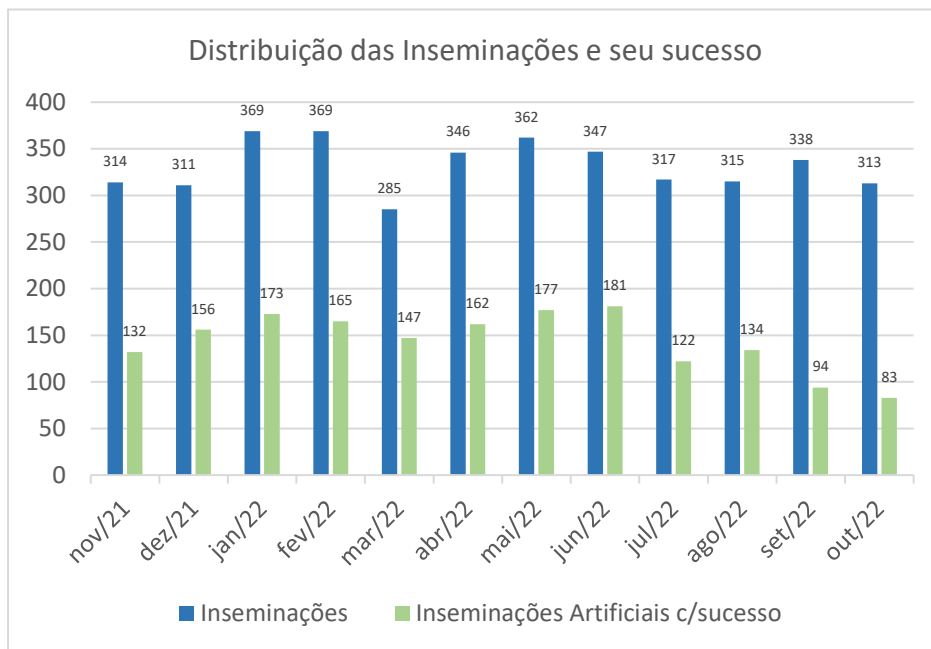


Gráfico 6-Distribuição mensal do número total de inseminações e do número de inseminações com gestação confirmada

Relativamente aos dados de humidade relativa mínima e de temperatura máxima que se encontram no gráfico 7. podemos observar que a temperatura máxima se encontra entre os 15 e os 30° C, sendo máxima entre julho e setembro e mínima entre janeiro e fevereiro e que a humidade relativa mínima se encontra entre os 45 e os 60%, apresentando um ligeiro decréscimo em abril e junho.

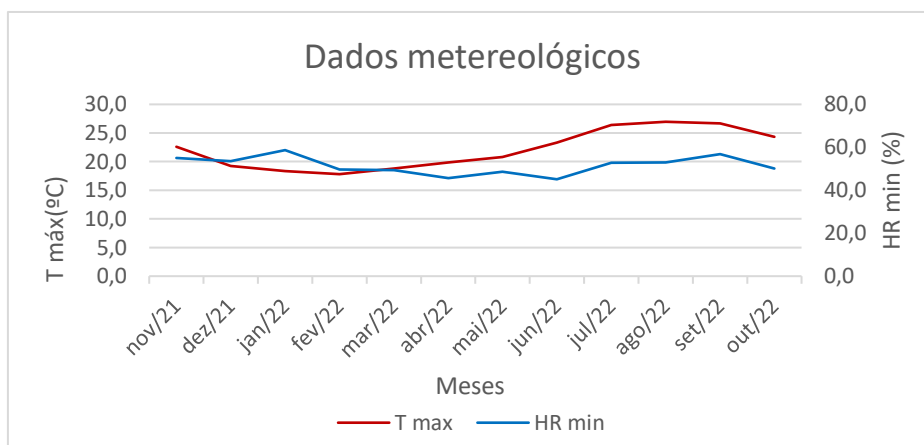


Gráfico 7- Distribuição mensal da temperatura máxima (°C) e da humidade relativa mínima (%)

Relativamente aos dados de THI máximo e TC mensal, conseguimos observar no gráfico 8 que a taxa de concepção é mais alta quando o THI é menor e que apresenta um decréscimo significativo quando o THI ultrapassa valores de 70.

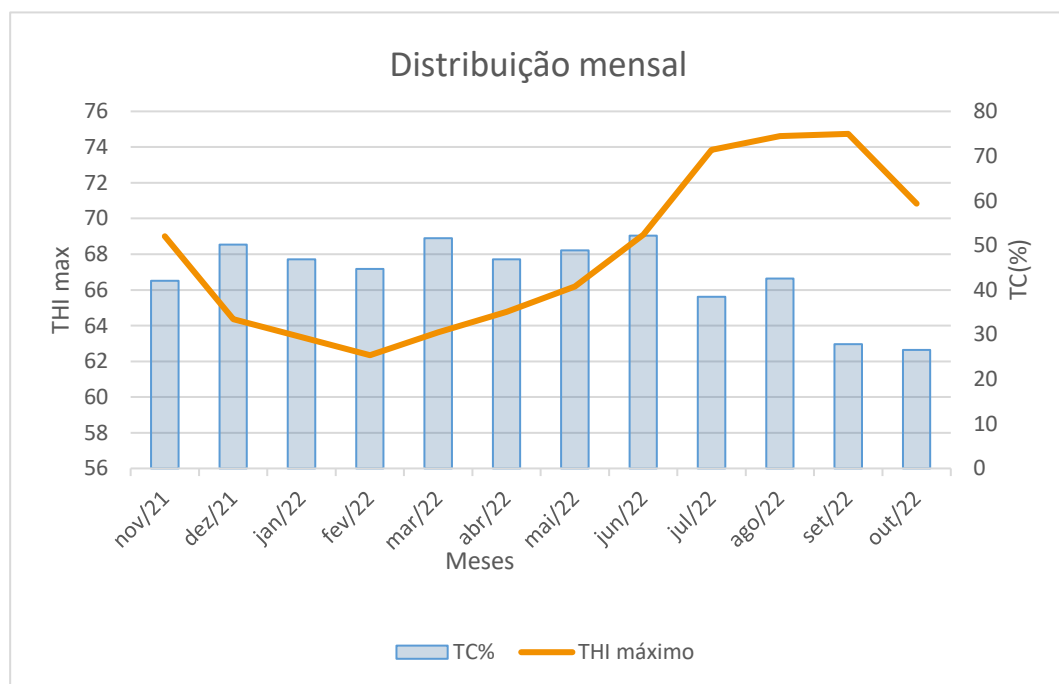


Gráfico 8- Distribuição mensal do THI máximo geral e da Taxa de concepção de todas as inseminações (%)

4.5.1 Análise mensal por concelho

A análise descritiva dos valores dos 6 concelhos encontra-se na tabela 10. Podemos observar que existe uma grande heterogeneidade entre o número de explorações e o número de IAs por concelho na tabela 10, pelo que os valores não têm todos o mesmo significado.

ANÁLISE DESCRITIVA

Grupos:		TC (%)	LTC (%)	NTC (%)	PDTC (%)	PVTC (%)	RGTC (%)	VFCTC (%)
THI max <70	N	8	8	8	8	8	6	9
	Média	47,83	49,23	28,05	59,66	59,66	56,85	40,49
	Desvio Padrão	3,63	14,58	7,43	18,32	18,32	8,95	10,76
	Mediana	47,89	46,90	26,21	64,35	64,35	54,79	37,50
	Amplitude	10,76	50,48	20,00	50,83	50,83	26,50	29,03
	Mínimo	41,40	30,77	20,00	29,17	29,17	46,15	26,53
	Máximo	52,16	81,25	40,00	80,00	80,00	72,65	55,56
THI max >70	N	4	4	4	4	4	6	3
	Média	33,84	36,11	25,45	52,50	52,50	38,62	45,29
	Desvio Padrão	7,90	13,13	8,82	35,71	35,71	12,30	4,35
	Mediana	33,15	35,72	24,81	67,50	67,50	37,94	44,44
	Amplitude	16,02	31,34	20,17	75,00	75,00	35,83	8,57
	Mínimo	26,52	20,83	16,00	0,00	0,00	19,09	41,43
	Máximo	42,54	52,17	36,17	75,00	75,00	54,92	50,00
Total	N	12	12	12	12	12	12	12
	Média	43,17	44,86	27,18	57,27	57,27	47,74	41,69
	Desvio Padrão	8,54	14,97	7,62	23,95	23,95	13,99	9,61
	Mediana	45,77	45,84	26,21	65,19	65,19	50,40	42,94
	Amplitude	25,64	60,42	24,00	80,00	80,00	53,56	29,03
	Mínimo	26,52	20,83	16,00	0,00	0,00	19,09	26,53
	Máximo	52,16	81,25	40,00	80,00	80,00	72,65	55,56

Tabela 10- Análise descritiva das médias mensais de TC e de TC em função do THI. LTC, NTC, PDTC, RGTC, PVTC, VFCTC e TC significam, respetivamente, Taxa de concepção de Lagoa, Nordeste, Ponta Delgada, Ribeira Grande, Povoação, Vila Franca do Campo e Geral.

Na tabela 11 podemos observar a análise descritiva dos valores de THI máximo dos vários concelhos e o geral que a maior média é a de Ribeira Grande e a menor a de Vila Franca do Campo, tendo sido em Ponta Delgada onde se verificou o THI máximo superior.

Estatística

		LTHI	NTHI	PDTHI	PVTHI	RGTHI	VFCTHI	THI
N	Válido	12	12	12	12	12	12	12
	Omisso	1	1	1	1	1	1	1
Média		67,58	68,21	68,54	67,67	69,04	64,80	68,07
Mediana		67,00	66,75	68,05	66,70	68,52	64,70	67,60
Desvio Padrão		4,660	4,639	4,562	5,117	4,616	4,883	4,602
Variância		21,720	21,521	20,808	26,188	21,303	23,842	21,182
Mínimo		61	63	63	62	63	59	62
Máximo		75	77	75	75	75	72	75

Tabela 11-Análise descritiva dos valores de THI máximos mensais. LTHI, NTHI, PDTHI, RGTHI, PVTHI, VFCTHI e THI significam, respetivamente, valores de THI máximo de Lagoa, Nordeste, Ponta Delgada, Ribeira Grande, Povoação, Vila Franca do Campo e Geral.

Como se pode observar na tabela 13, em anexo, praticamente todas as variáveis apresentaram normalidade, excetuando a taxa de concepção da Povoação, pelo que se realizaram correlações de *Pearson*, presentes na tabela 14 em anexo, sendo que as correlações de *Spearman* respetivas, se encontram em anexo na tabela 21 e apresentam valores semelhantes.

Na tabela 14 podemos observar que apenas a correlação entre a Taxa de concepção e THI máximo geral e de Ribeira Grande, apresentam uma correlação significativa estatisticamente, sendo que a correlação de Ribeira Grande é elevada e a geral é moderada, ligeiramente maior àquela que se verifica a nível semanal.

Para efeitos de análise visual, foram elaborados gráficos com a distribuição mensal do THI e TC por região que se podem observar nos gráficos 11 a 15 em anexo e no gráfico 9 referente a Ribeira Grande.

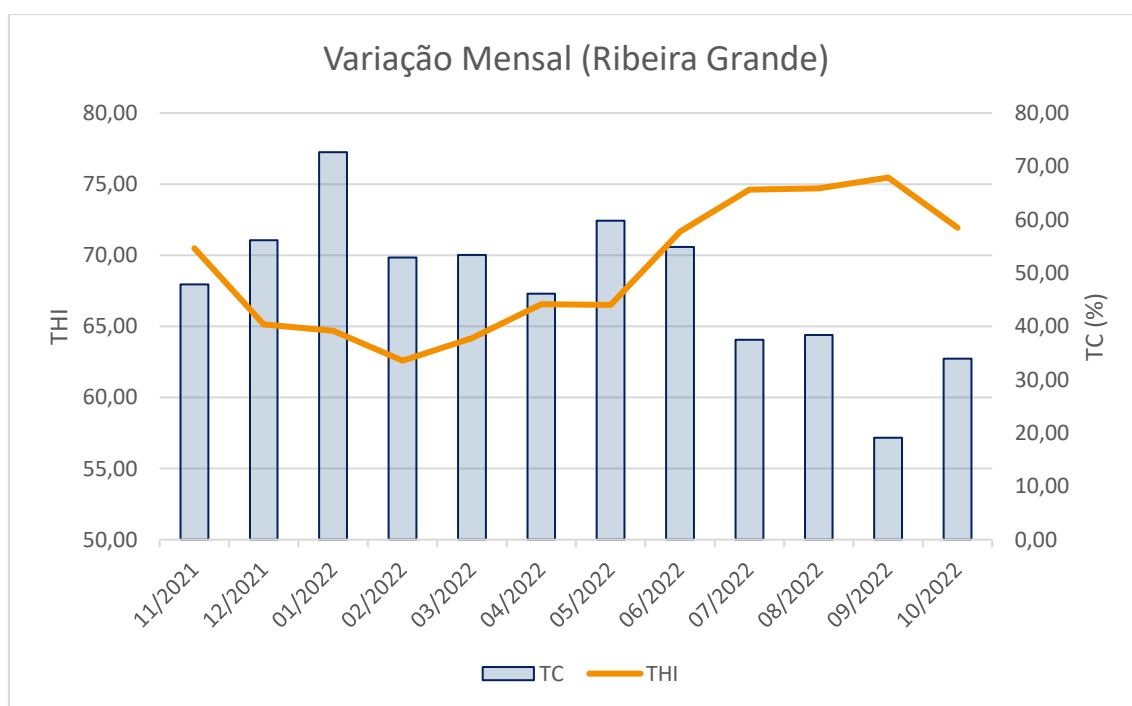


Gráfico 9-Distribuição mensal da TC e do THI máximo em Ribeira Grande

5 DISCUSSÃO

Este estudo quantificou o impacto do stress térmico sob a taxa de concepção e fertilidade no dia da inseminação, em vacas de leite em São Miguel, tendo-se usado o THI como quantificador de Stress térmico.

Foram analisadas as inseminações realizadas no período de 1 de novembro a 31 de outubro, em 19 explorações de 6 concelhos, sendo que a distribuição de animais e de explorações

por concelho não foi homogénea visto que a seleção das explorações foi condicionada pela realização de controlo reprodutivo pela AASM. A maioria dos animais era Holstein Frísia, não sendo a totalidade. O sémen utilizado e os inseminadores não foram considerados como variável no estudo.

Foi realizada uma análise do THI diário para avaliar de que forma o ST no dia da inseminação influencia o sucesso da mesma, tendo-se obtido uma correlação negativa de 0,308 para o THI ajustado e de 0,303 para o THI máximo, demonstrando que não existe uma diferença significativa na utilização destes dois indicadores, revelando ambos o mesmo. Esta correlação é fraca, mas deve-se ter em conta que para valores menores que 70 de THI, as vacas mantêm-se em homeostasia, não sendo afetadas pelo THI de forma proporcional.

Obteve-se uma taxa de concepção mensal média de 43,17%, o que não difere muito de valores documentados em outros estudos para vacas Holstein Frisia (Ingraham, Gillette and Wagner, 1974; Yusuf *et al.*, 2016). Relativamente ao teste t de comparação das médias, observa-se uma diferença média absoluta entre médias de TC quando THI é menor e maior que 70 de $(12,97 \pm 2.14) \%$, pelo que podemos inferir que uma inseminação realizada em stress térmico tem cerca de menos 12,97% de probabilidade de ter sucesso. Esta diferença pode acarretar perdas económicas significativas (Kim and Jeong, 2019).

De forma a minimizar estes efeitos, há várias medidas que podem ser implementadas.

O papel do médico veterinário passa por aconselhar o produtor, devendo ter em conta a situação da exploração e os objetivos do produtor, sendo essencial uma boa comunicação (Klopfenstein, 2021). Estes métodos podem ser aplicados de modo a aumentar a taxa de concepção com sucesso, mas deve-se ter em conta o seu custo-benefício e a sua aplicabilidade na exploração em causa.

Na realidade dos Açores, torna-se pouco viável o aumento do período de espera voluntário de modo a concentrar as inseminações no Inverno ou no Outono, porque além da TC ainda se encontrar reduzida no Outono, sendo que o THI máximo de outubro manteve-se superior a 70 e que a taxa de concepção mais baixa verificada foi de 26,3 ou seja, este aumento do período de espera voluntário em algumas situações teria de ser até novembro o que pode não ser economicamente sustentável, sendo que a época de partos na Primavera pode ter vantagens económicas em relação à época de partos de Outono (Souto, Meneses and Bruce, 2011).

Relativamente a melhorias nas instalações, é uma possibilidade para explorações nas quais os animais se encontrem estabulados, o que não representa todas as explorações (Massot,

2015). Como foi referido deve ter-se em conta a sensação térmica na construção de novos pavilhões que idealmente são arejados, utilizando materiais de construção adequados e adotando mecanismos de arrefecimento como ventoinhas e aspersores.

Para explorações em sistemas extensivos ou semiextensivos, é importante garantir a existência de sombras (Armstrong, 1994) e de qualidade das pastagens.

Relativamente às pastagens, é de notar que estas perdem qualidade no verão (Nunes *et al.*, 2023) sendo que a redução da taxa de concepção nesta altura também se pode dever à nutrição desadequada visto que um balanço energético negativo tem um forte impacto na taxa de concepção.

Tendo em conta a redução da ingestão alimentar e a qualidade mais reduzida das pastagens torna-se fundamental a gestão nutricional adequada em meses em que o THI é por norma mais elevado.

A nível de alterações na dieta, recomenda-se o aumento da percentagem de gordura, a substituição de alguma da percentagem de forragens e pastagens por NDF com menos ganho de calor como é o caso da beterraba cuja cultura é feita nos Açores (Massot, 2015). Relativamente aos suplementos minerais destaca-se a importância do Selénio, (Vanegas, Reynolds and Atwill, 2004) visto que o solo dos açores, devido às suas características vulcânicas e de baixo pH associadas não é propenso à disponibilização de selénio nas pastagens (RODRIGUES and LINHARES, 2020) e com a agravante do ST vai sofrer uma maior redução.

Há uma miríade de tratamentos hormonais já referidos, destacando-se a utilização do CIDR, após a ovulação, que aumenta a TC em 20% (Friedman *et al.*, 2012) e de melatonina que apresentou muito bons resultados na melhoria da TC no verão e outono e que pode ser administrada na alimentação, facilitando o tratamento (Garcia-Isperto, Abdelfatah and López-Gatius, 2013).

Este estudo teve algumas limitações, como a heterogeneidade do número de animais por exploração e do número de explorações por concelho, tornando a avaliação da variabilidade regional menos fiável. Outra limitação foi não ser utilizado nenhum método mais preciso de medição do ST do que o THI, visto que se tratava de um estudo retrospectivo e não terem sido consideradas mais informações reprodutivas, como a prevalência de quistos ou outros problemas específicos que pudessem estar a causar a falha reprodutiva ou a ser causados pelo stress térmico. A sua maior limitação ainda foi a não caracterização da vaca e das IAs, ou seja, a caracterização

da vaca em termos de idade, condição corporal e estado de produção (primípara ou múltipara) e o número de IAs efetuadas por vacas para obtenção de gestação.

6 CONCLUSÃO

O stress térmico afeta as vacas de leite, de forma agravada devido às suas características de alto metabolismo, de fraca condutância, baixa superfície específica e fraca capacidade de perda de calor evaporativo. As consequências do ST têm natureza multifatorial afetando o comportamento, estado geral, produção e reprodução dos animais.

As consequências a nível reprodutivo das quais podem advir prejuízos económicos significativos, acontecem principalmente, devido à menor demonstração de estro, incapacitação dos ovócitos, constrangimentos na ovulação e comprometimento do embrião, sendo que períodos do stress térmico podem afetar vacas que se encontrem em vários períodos do ciclo éstrico ou durante a gestação.

Na ilha de São Miguel, devido a elevadas taxas de humidade que dificultam a perda de calor latente, existe stress térmico principalmente nos meses de julho a setembro.

A taxa de concepção mensal é em média 43.17%, e quando o THI é superior a 70 é de 33,48%.

O THI no dia da inseminação tem relevância no sucesso da Inseminação, mas esse não é o período com maior correlação com a TC, sendo que, o THI máximo semanal representa maior relevância pois a correlação entre o THI e a TC é maior em termos absolutos.

Há várias medidas que podem ser tomadas de forma a minimizar estas consequências que podem ser de carácter nutritivo, hormonal ou de manejo, sendo que, uma utilização ponderada e conjugada destas medidas, apresenta uma maior redução do impacto do ST.

Para estudos futuros recomenda-se a recolha de mais dados como o número de inseminações efetuado e informação sobre a classificação das vacas em primíparas ou múltiparas, tal como a TC na primeira inseminação, a produção de leite à data da IA e acumulada. A utilização de outros indicadores de medição de sensação térmica, como a temperatura de globo negro e de bolbo húmido ou meios mais precisos, como temperatura retal ou vaginal e frequência respiratória(Perissinotto *et al.*, 2009; Kaufman, Saxton and Ríus, 2018), também é aconselhada.

Abilay, T.A., Mitra, R. and Johnson, H.D. (1975) 'Plasma cortisol and total progestin levels in Holstein steers during acute exposure to high environmental temperature (42 C) conditions.', *Journal of animal science*, 41(1). Available at: <https://doi.org/10.2527/jas1975.411113x>.

Adams, G.P. *et al.* (2008) 'Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle', *Theriogenology*, 69(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.026>.

Adams, G.P. and Singh, J. (2021) 'Ovarian Follicular and Luteal Dynamics in Cattle', in *Bovine Reproduction*. Wiley, pp. 292–323. Available at: <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch25>.

Adams, G.P., Singh, J. and Baerwald, A.R. (2012) 'Large animal models for the study of ovarian follicular dynamics in women', *Theriogenology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.04.010>.

Alamer, M. (2011) 'The Role of Prolactin in Thermoregulation and Water Balance During Heat Stress in Domestic Ruminants', *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(12), pp. 1153–1169. Available at: <https://doi.org/10.3923/ajava.2011.1153.1169>.

Allrich, R.D. (1994) 'Endocrine and Neural Control of Estrus in Dairy Cows', *Journal of Dairy Science*, 77(9), pp. 2738–2744. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77216-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77216-7).

Armstrong, D. V. (1994) 'Heat Stress Interaction with Shade and Cooling', *Journal of Dairy Science*, 77(7). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77149-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77149-6).

De Azevedo, E.B. (2015) 'O Clima dos Açores (monografia) CLIMAAT-Clima e Meteorologia dos Arquipélagos Atlânticos'. Available at: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2075.1200>.

Baumgard, L.H. *et al.* (2006) 'Effects of Heat Stress on Nutritional Requirements of Lactating Dairy Cattle', in *5th Annual Arizona Dairy Production Conference ?*

Baumgard, L.H. and Rhoads, R.P. (2013) 'Effects of Heat Stress on Postabsorptive Metabolism and Energetics', *Annual Review of Animal Biosciences*, 1(1), pp. 311–337. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103644>.

Bezdiček, J. *et al.* (2021) 'Negative impact of heat stress on reproduction in cows: Animal husbandry and biotechnological viewpoints: A review', *Czech Journal of Animal Science*, 66(8), pp. 293–301. Available at: <https://doi.org/10.17221/44/2021-CJAS>.

Blazquez, N.B. *et al.* (1994) 'Rate of discharge and morphology of sweat glands in the perineal, lumbodorsal and scrotal skin of cattle', *Research in Veterinary Science*, 57(3). Available at: [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(94\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0034-5288(94)90118-X).

Bloch, A. *et al.* (2006) 'Endocrine Alterations Associated with Extended Time Interval Between Estrus and Ovulation in High-Yield Dairy Cows', *Journal of Dairy Science*, 89(12), pp. 4694–4702. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72520-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72520-6).

Braw-Tal, R. and Yossefi, S. (1997) 'Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary', *Journal of Reproduction and Fertility*, 109(1). Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1090165>.

Bridges, P.J., Brusie, M.A. and Fortune, J.E. (2005) 'Elevated temperature (heat stress) in vitro reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles', *Domestic Animal Endocrinology*, 29(3), pp. 508–522. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.017>.

Candelaria, J.I., Rabaglino, M.B. and Denicol, A.C. (2020) 'Ovarian preantral follicles are responsive to FSH as early as the primary stage of development', *Journal of Endocrinology*, 247(2). Available at: <https://doi.org/10.1530/JOE-20-0126>.

Cardoso, C.S. *et al.* (2018) 'Hot and bothered: Public attitudes towards heat stress and outdoor access for dairy cows', *PLOS ONE*, 13(10), p. e0205352. Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0205352>.

'Cardoso, R.C.' and 'Williams, G.L.' (2021) 'Neuroendocrine Control of Estrus and Ovulation', in R.M. Hopper (ed.) *Bovine Reproduction*. Second Edition. Auburn, AL, USA: Wiley Blackwell, pp. 269–291.

- Cargile, B. and Tracy, D. (2021) 'Interaction of Nutrition and Reproduction in the Dairy Cow', in *Bovine Reproduction*. Wiley, pp. 389–398. Available at: <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch32>.
- Chen, F. *et al.* (2022) 'Rectifying cow infertility under heat stress by immunization against inhibin and supplementation of progesterone', *Domestic Animal Endocrinology*, 80, p. 106726. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2022.106726>.
- Cook, J. (2009) 'Understanding conception rates in dairy herds', *In Practice*, 31(6), pp. 262–266. Available at: <https://doi.org/10.1136/inpract.31.6.262>.
- Cook, N.B., Nordlund, K. V. and Oetzel, G.R. (2004) 'Environmental influences on claw horn lesions associated with laminitis and subacute ruminal acidosis in dairy cows', *Journal of Dairy Science*, 87(SUPPL. 1). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70059-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70059-4).
- Cossins, A.R. and Bowler, K. (1987) *Temperature Biology of Animals, Temperature Biology of Animals*. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-94-009-3127-5>.
- Das, R. *et al.* (2016) 'Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review', *Veterinary World*. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.260-268>.
- Du, D. *et al.* (2022) 'Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* Cultures on Performance and Immune Performance of Dairy Cows During Heat Stress', *Frontiers in Veterinary Science*, 9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.851184>.
- Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals* (1981) *Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Academies Press. Available at: <https://doi.org/10.17226/4963>.
- 'Efficient Water Spraying Mechanic Design for Eliminating Heat Stress on Biogas Energy Based Dairy Cattle' (2018) *Journal of Innovation and Applied Technology*, 4(1). Available at: <https://doi.org/10.21776/ub.jiat.004.01.15>.
- Esposito, G. *et al.* (2014) 'Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows', *Animal Reproduction Science*, 144(3–4), pp. 60–71. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2013.11.007>.

Evans, A.C.O. and Zeng, S. (2017) 'Causes, prevention and management of infertility in dairy cows', in. Available at: <https://doi.org/10.19103/as.2016.0006.20>.

Fortune, J.E. (1993) 'Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility?', *Animal Reproduction Science*, 33(1–4). Available at: [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90110-D](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90110-D).

Fortune, J.E. (1994) 'Ovarian follicular growth and development in mammals', in *Biology of Reproduction*. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod50.2.225>.

Fortune, J.E. *et al.* (2001) 'Differentiation of Dominant Versus Subordinate Follicles in Cattle¹', *Biology of Reproduction*, 65(3), pp. 648–654. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.3.648>.

Fortune, J.E. (2003) 'The early stages of follicular development: Activation of primordial follicles and growth of preantral follicles', *Animal Reproduction Science*, 78(3–4). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00088-5).

Fortune, J.E., Rivera, G.M. and Yang, M.Y. (2004) 'Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle', in *Animal Reproduction Science*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.031>.

Friedman, E. *et al.* (2010) 'Effects of low-dose follicle-stimulating hormone administration on follicular dynamics and preovulatory follicle characteristics in dairy cows during the summer', *Domestic Animal Endocrinology*, 39(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.02.008>.

Friedman, E. *et al.* (2012) 'Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer', *Journal of Dairy Science*, 95(6). Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5017>.

Galán, E. *et al.* (2018) 'A systematic review of non-productivity-related animal-based indicators of heat stress resilience in dairy cattle', *PLOS ONE*, 13(11), p. e0206520. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206520>.

- García-Ispierto, I. *et al.* (2007) 'Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain', *Theriogenology*, 67(8), pp. 1379–1385. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.02.009>.
- García-Ispierto, I., Abdelfatah, A. and López-Gatiús, F. (2013) 'Melatonin treatment at dry-off improves reproductive performance postpartum in high-producing dairy cows under heat stress conditions', *Reproduction in Domestic Animals*, 48(4). Available at: <https://doi.org/10.1111/rda.12128>.
- Gerson, A.R. *et al.* (2014) 'The impact of humidity on evaporative cooling in small desert birds exposed to high air temperatures', *Physiological and Biochemical Zoology*, 87(6). Available at: <https://doi.org/10.1086/678956>.
- Gomes da Silva, R. and Campos Maia, A.S. (2013) *Principles of animal biometeorology, Principles of Animal Biometeorology*. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5733-2>.
- Gonzalez-Rivas, P.A. *et al.* (2018) 'Effect of feeding slowly fermentable grains on productive variables and amelioration of heat stress in lactating dairy cows in a sub-tropical summer', *Tropical Animal Health and Production*, 50(8), pp. 1763–1769. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1616-5>.
- Guo, Z. *et al.* (2021) 'Impacts of heat stress-induced oxidative stress on the milk protein biosynthesis of dairy cows', *Animals*. Available at: <https://doi.org/10.3390/ani11030726>.
- Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W.W. and Wilcox, C.J. (1973) 'Physiological, Environmental, and Hormonal Factors at Insemination Which May Affect Conception', *Journal of Dairy Science*, 56(7). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(73\)85270-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(73)85270-1).
- Hansen, P.J. *et al.* (2001) 'Adverse impact of heat stress on embryo production: Causes and strategies for mitigation', in *Theriogenology*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00448-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00448-9).
- 'Hansen, P.J.' (2021) 'Compromised Pregnancy Success Caused by Heat Stress', in R.M. Hopper (ed.) *Bovine Reproduction*. Second Edition. Wiley Blackwell, pp. 814–829.

Hartigan, P.J. (2004) *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle, 2nd Edition*. Second. Edited by A.H. Andrews et al. Blackwell Publishing Company.

Herbut, P. *et al.* (2021) 'The effects of heat stress on the behaviour of dairy cows-A review', *Annals of Animal Science*. Available at: <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0116>.

Homanics, G.E. and Silvia, W.J. (1988) 'Effects of Progesterone and Estradiol-17 β on Uterine Secretion of Prostaglandin F2 α in Response to Oxytocin in Ovariectomized Ewes1', *Biology of Reproduction*, 38(4), pp. 804–811. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod38.4.804>.

Hunter, R.H.F. *et al.* (1997) 'Graafian follicles are cooler than neighbouring ovarian tissues and deep rectal temperatures', *Human Reproduction*, 12(1). Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/12.1.95>.

Ingraham, R.H., Gillette, D.D. and Wagner, W.D. (1974) 'Relationship of Temperature and Humidity to Conception Rate of Holstein Cows in Subtropical Climate', *Journal of Dairy Science*, 57(4). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(74\)84917-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(74)84917-9).

Ingraham, R.H., Stanley, R.W. and Wagner, W.C. (1979) 'Seasonal effects of tropical climate on shaded and nonshaded cows as measured by rectal temperature, adrenal cortex hormones, thyroid hormone, and milk production.', *American Journal of Veterinary Research*, 40(12).

Jaiswal, R.S., Singh, J. and Adams, G.P. (2004) 'Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary', *Biology of Reproduction*, 71(4). Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.030726>.

Jesse, F.F.A. *et al.* (2019) 'Review on clinical management involving post-partum diseases in ruminants', *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.7.574.582>.

Jessen, C. (2001) 'Physics of Heat Exchange with the Environment', in *Temperature Regulation in Humans and Other Mammals*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 37–46. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-642-59461-8_6.

Jordan, E.R. (2003) 'Effects of Heat Stress on Reproduction', *Journal of Dairy Science*, 86(SUPPL. 1), pp. E104–E114. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74043-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74043-0).

Kadzere, C.T. *et al.* (2002a) 'Heat stress in lactating dairy cows: A review', *Livestock Production Science*, 77(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00330-X).

Kadzere, C.T. *et al.* (2002b) 'Heat stress in lactating dairy cows: A review', *Livestock Production Science*, 77(1). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00330-X).

Kaufman, J.D., Saxton, A.M. and Ríus, A.G. (2018) 'Short communication: Relationships among temperature-humidity index with rectal, udder surface, and vaginal temperatures in lactating dairy cows experiencing heat stress', *Journal of Dairy Science*, 101(7), pp. 6424–6429. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13799>.

Khan, A. *et al.* (2020) 'Cellular and Molecular Adaptation of Bovine Granulosa Cells and Oocytes under Heat Stress', *Animals*, 10(1), p. 110. Available at: <https://doi.org/10.3390/ani10010110>.

Kim, I.H. and Jeong, J.K. (2019) 'Risk factors limiting first service conception rate in dairy cows and their economic impact', *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(4). Available at: <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0296>.

Klopfenstein, J.J. (2021) 'Dairy Herd Health for Optimal Reproduction', in *Bovine Reproduction*. Wiley, pp. 517–525. Available at: <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch42>.

Knox, R. V. (2005) 'Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig', in *Domestic Animal Endocrinology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.025>.

Kotwica, J. *et al.* (1999) 'Oxytocin modulates the pulsatile secretion of prostaglandin F_{2α} in initiated luteolysis in cattle', *Research in Veterinary Science*, 66(1). Available at: <https://doi.org/10.1053/rvsc.1998.0230>.

Krishnan, G. *et al.* (2017) 'Mitigation of the Heat Stress Impact in Livestock Reproduction', in *Theriogenology*. Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.69091>.

- Lacasse, P. *et al.* (2016) ‘New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants’, *Journal of Dairy Science*, 99(1), pp. 864–874. Available at: <https://doi.org/10.3168/JDS.2015-10035>.
- Van Laer, E. *et al.* (2015) ‘Effect of summer conditions and shade on the production and metabolism of Holstein dairy cows on pasture in temperate climate’, *Animal*, 9(9). Available at: <https://doi.org/10.1017/S1751731115000816>.
- Lemley, C.O., Camacho, L.E. and Vonnahme, K.A. (2021) ‘Maternal Recognition and Physiology of Pregnancy’, in *Bovine Reproduction*. Wiley, pp. 324–338. Available at: <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch26>.
- Li, G. *et al.* (2023) ‘Transcriptomic regulations of heat stress response in the liver of lactating dairy cows’, *BMC Genomics*, 24(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09484-1>.
- Li, G.P. *et al.* (2005) ‘Asymmetric division of spindle microtubules and microfilaments during bovine meiosis from metaphase I to metaphase III’, *Molecular Reproduction and Development*, 71(2). Available at: <https://doi.org/10.1002/mrd.20255>.
- Liu, J. *et al.* (2019) ‘Effects of heat stress on body temperature, milk production, and reproduction in dairy cows: A novel idea for monitoring and evaluation of heat stress — A review’, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(9). Available at: <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0743>.
- López-Gatius, F. and Hunter, R.H.F. (2017) ‘Clinical relevance of pre-ovulatory follicular temperature in heat-stressed lactating dairy cows’, *Reproduction in Domestic Animals*, 52(3). Available at: <https://doi.org/10.1111/rda.12916>.
- López-Gatius, F. and Hunter, R.H.F. (2020) ‘Local cooling of the ovary and its implications for heat stress effects on reproduction’, *Theriogenology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.03.029>.
- Luo, H. *et al.* (2021) ‘Genetic parameters for rectal temperature, respiration rate, and drooling score in Holstein cattle and their relationships with various fertility, production, body conformation, and health traits’, *Journal of Dairy Science*, 104(4). Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19192>.

- Lussier, J.G., Matton, P. and Dufour, J.J. (1987) 'Growth rates of follicles in the ovary of the cow', *Journal of Reproduction and Fertility*, 81(2). Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0810301>.
- M. Seneda, M. *et al.* (2022) 'Folliculogenesis, Fertility and Biotechnology in Dairy Cattle', in *New Advances in the Dairy Industry*. Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.101243>.
- Mader, T.L., Davis, M.S. and Brown-Brandl, T. (2006) 'Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle', *Journal of Animal Science*, 84(3). Available at: <https://doi.org/10.2527/2006.843712x>.
- Mader, T.L., Johnson, L.J. and Gaughan, J.B. (2010) 'A comprehensive index for assessing environmental stress in animals', *Journal of Animal Science*, 88(6). Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2586>.
- Mann, G.E., Fray, M.D. and Lamming, G.E. (2006) 'Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow', *Veterinary Journal*, 171(3). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.12.005>.
- Massot, A. (2015) *The agriculture of the Azores Islands (COMAGRI delegation)*. Available at: <https://doi.org/10.2861/697489>.
- Min, L. *et al.* (2016) 'Plasma-based proteomics reveals immune response, complement and coagulation cascades pathway shifts in heat-stressed lactating dairy cows', *Journal of Proteomics*, 146, pp. 99–108. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2016.06.008>.
- Min, L. *et al.* (2019) 'Nutritional strategies for alleviating the detrimental effects of heat stress in dairy cows: a review', *International Journal of Biometeorology*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00484-019-01744-8>.
- Mitra, R., Christison, G.I. and Johnson, H.D. (1972) 'Effect of Prolonged Thermal Exposure on Growth Hormone (GH) Secretion in Cattle', *Journal of Animal Science*, 34(5), pp. 776–779. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas1972.345776x>.

- Morton, J.M. *et al.* (2007) ‘Effects of Environmental Heat on Conception Rates in Lactating Dairy Cows: Critical Periods of Exposure’, *Journal of Dairy Science*, 90(5), pp. 2271–2278. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2006-574>.
- Narwaria, U.S. *et al.* (2017) ‘Amelioration of Thermal Stress using Modified Roof in Dairy Animals under Tropics: A Review’, *Journal of Animal Research*, 7(5), p. 801. Available at: <https://doi.org/10.5958/2277-940X.2017.00124.3>.
- Negrón-Pérez, V.M., Fausnacht, D.W. and Rhoads, M.L. (2019) ‘Invited review: Management strategies capable of improving the reproductive performance of heat-stressed dairy cattle’, *Journal of Dairy Science*, 102(12). Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16718>.
- Nunes, H.P.B. *et al.* (2023) ‘Seasonal Effect of Grass Nutritional Value on Enteric Methane Emission in Islands Pasture Systems’, *Animals*, 13(17). Available at: <https://doi.org/10.3390/ani13172766>.
- Oguejiofor, C.F. *et al.* (2019) ‘Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle’, *Animal Health Research Reviews*, 20(1), pp. 72–85. Available at: <https://doi.org/10.1017/S1466252319000057>.
- Oliveira Neto, J.B. de *et al.* (2001) ‘Indicadores de estresse térmico e utilização da somatotropina bovina (bST) em vacas leiteiras mestiças (Bos taurus x Bos indicus) no semi-árido do Nordeste’, *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(2), pp. 360–367. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000200010>.
- Palma, G.A. *et al.* (2012) ‘Biology and biotechnology of follicle development’, *The Scientific World Journal*. Available at: <https://doi.org/10.1100/2012/938138>.
- Penev, T. *et al.* (2021) ‘Influence of heat stress on reproductive performance in dairy cows and opportunities to reduce its effects – a review’, *Agricultural Science and Technology* [Preprint], (Volume 13, Issue 1). Available at: <https://doi.org/10.15547/ast.2021.01.001>.
- Pereira, A., Titto, E. and Almeida, J. (2019) *Adaptação dos Ruminantes aos Climas Quentes*. 1ª. Editora e Livraria Appris Ltda.

Perez Marquez, H. *et al.* (2019) ‘Infrared thermography and behavioral biometrics associated with estrus indicators and ovulation in estrus-synchronized dairy cows housed in tiestalls’. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15221>.

Perissinotto, M. *et al.* (2009) ‘Conforto térmico de bovinos leiteiros confinados em clima subtropical e mediterrâneo pela análise de parâmetros fisiológicos utilizando a teoria dos conjuntos fuzzy’, *Ciência Rural*, 39(5). Available at: <https://doi.org/10.1590/s0103-84782009005000094>.

Peterson, A.J. *et al.* (1975) ‘Hormonal changes around bovine luteolysis’, *Prostaglandins*, 10(6). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0090-6980\(75\)80015-3](https://doi.org/10.1016/S0090-6980(75)80015-3).

Polsky, L. and von Keyserlingk, M.A.G. (2017) ‘Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare’, *Journal of Dairy Science*, 100(11). Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12651>.

Rede Hidrometeorológica dos Açores (no date). Available at: <https://redehidro.ambiente.azores.gov.pt/#> (Accessed: 10 October 2023).

Reith, S. and Hoy, S. (2017) ‘Review: Behavioral signs of estrus and the potential of fully automated systems for detection of estrus in dairy cattle’. Available at: <https://doi.org/10.1017/S1751731117001975>.

De Rensis, F., Garcia-Ispuerto, I. and López-Gatius, F. (2015) ‘Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows’, *Theriogenology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.04.021>.

De Rensis, F. and Scaramuzzi, R.J. (2003) ‘Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - A review’, *Theriogenology*, 60(6). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00126-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00126-2).

Rivera, R.M. *et al.* (2004) ‘Reorganization of microfilaments and microtubules by thermal stress in two-cell bovine embryos’, *Biology of Reproduction*, 70(6). Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.024901>.

- RODRIGUES, A. and LINHARES, D. (2020) ‘ Biodisponibilidade ambiental de Iodo e Selênio em ambiente vulcânico: solo, erva de pastagem e leite da ilha de São Miguel, Açores: Lactis +, Relatório Final’, *Documento técnico-científico 003/IVAR/CIVISA/2020*. [Preprint].
- Roth, Z. *et al.* (2001) ‘Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows’, *Reproduction*, 122(5), pp. 737–744. Available at: <https://doi.org/10.1530/rep.0.1220737>.
- Roth, Z. *et al.* (2002) ‘Effect of treatment with follicle-stimulating hormone or bovine somatotropin on the quality of oocytes aspirated in the autumn from previously heat-stressed cows’, *Journal of Dairy Science*, 85(6). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74207-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74207-0).
- Roth, Z. *et al.* (2009) ‘16 INDUCTION OF FOLLICULAR TURNOVER TO IMPROVE FERTILITY IN DAIRY COWS EXPOSED TO SUMMER HEAT STRESS’, *Reproduction, Fertility and Development*, 21(1), p. 108. Available at: <https://doi.org/10.1071/RDv21n1Ab16>.
- Roth, Z. (2017a) ‘Effect of Heat Stress on Reproduction in Dairy Cows: Insights into the Cellular and Molecular Responses of the Oocyte’, *Annual review of animal biosciences*, 5, pp. 151–170. Available at: <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ANIMAL-022516-022849>.
- Roth, Z. (2017b) ‘Effect of Heat Stress on Reproduction in Dairy Cows: Insights into the Cellular and Molecular Responses of the Oocyte’, *Annual Review of Animal Biosciences*. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022516-022849>.
- Roth, Z. (2019) ‘Effects of heat stress on ovarian functions and embryonic development: mechanism and potential strategies to alleviate these effects in dairy cows’, *Bioscientifica Proceedings* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.8.015>.
- Roth, Z. (2020a) ‘Influence of heat stress on reproduction in dairy cows—physiological and practical aspects’, *Journal of Animal Science*, 98(Supplement_1), pp. S80–S87. Available at: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa139>.
- Roth, Z. (2020b) ‘Reproductive physiology and endocrinology responses of cows exposed to environmental heat stress - Experiences from the past and lessons for the present’, *Theriogenology*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.040>.

- Roth, Z. (2022) ‘Cooling is the predominant strategy to alleviate the effects of heat stress on dairy cows’, *Reproduction in Domestic Animals*. Available at: <https://doi.org/10.1111/rda.13765>.
- Sakatani, M. *et al.* (2012) ‘Consequences of physiological heat shock beginning at the zygote stage on embryonic development and expression of stress response genes in cattle’, *Journal of Dairy Science*, 95(6). Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4986>.
- Sammad, A. *et al.* (2020) ‘Nutritional physiology and biochemistry of dairy cattle under the influence of heat stress: Consequences and opportunities’, *Animals*. Available at: <https://doi.org/10.3390/ani10050793>.
- Santos, R. (1997) ‘Ovarian dynamics and follicular growth: a review’, *Veterinária Notícias, Uberlândia*, 3(1), pp. 159–167.
- Sartori, R. *et al.* (2004) ‘Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows’, *Journal of Dairy Science*, 87(4). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73235-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73235-X).
- Schneider, P.L. *et al.* (1984) ‘Influence of Dietary Sodium and Potassium Bicarbonate and Total Potassium on Heat-Stressed Lactating Dairy Cows’, *Journal of Dairy Science*, 67(11), pp. 2546–2553. Available at: [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(84\)81611-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(84)81611-2).
- Schüller, L.K., Burfeind, O. and Heuwieser, W. (2014) ‘Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices’, *Theriogenology*, 81(8), pp. 1050–1057. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.029>.
- Schüller, L.K., Michaelis, I. and Heuwieser, W. (2017) ‘Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows’, *Theriogenology*, 102. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.004>.
- Sherwood, S.C. (2018) ‘How Important Is Humidity in Heat Stress?’, *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 123(21). Available at: <https://doi.org/10.1029/2018JD028969>.
- Singh, S.P., Kumar, A. and Sourya, N. (2021) ‘Effects of heat stress on animal reproduction’, *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 8(2), pp. 16–20. Available at: <https://doi.org/10.22271/23940522.2021.v8.i2a.806>.
- Skarzynski, D.J., Ferreira-Dias, G. and Okuda, K. (2008) ‘Regulation of Luteal Function and Corpus Luteum Regression in Cows: Hormonal Control, Immune Mechanisms and Intercellular Communication’, *Reproduction in Domestic Animals*, 43(SUPPL.2). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01143.x>.
- Somfai, T. *et al.* (2010) ‘Relationship between the length of cell cycles, cleavage pattern and developmental competence in bovine embryos generated by in vitro fertilization or parthenogenesis’, *Journal of Reproduction and Development*, 56(2). Available at: <https://doi.org/10.1262/jrd.09-097A>.
- Soni, T. *et al.* (2021) ‘A study on changes in ovarian luteal tissue and uterine haemodynamics during oestrous cycle in dairy cows’, *Exploratory Animal and Medical Research*, 11(1), p. 38. Available at: <https://doi.org/10.52635/EAMR/11.1.38-42>.
- Souto, L.F., Meneses, J.F. and Bruce, J.M. (2011) ‘Prediction of the energy balance and milk production of grazing cows in the Azores for autumn and spring calving’, *Biosystems Engineering*, 110(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.07.001>.

- SREA (no date) *Estatísticas Pecuária SREA, Acedido a 11/01/2023*. Available at: https://srea.azores.gov.pt/Conteudos/Relatorios/lista_relatorios.aspx?idc=6194&idsc=6707&lang_id=1 (Accessed: 11 January 2023).
- Srikandakumar, A. and Johnson, E.H. (2004) 'Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian milking Zebu cows', *Tropical Animal Health and Production*, 36(7). Available at: <https://doi.org/10.1023/B:TROP.0000042868.76914.a9>.
- Tao, S. *et al.* (2020) 'Impact of heat stress on lactational performance of dairy cows', *Theriogenology*, 150, pp. 437–444. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.048>.
- Titto, C.G. *et al.* (2017) 'Heat stress and ACTH administration on cortisol and insulin-like growth factor I (IGF-I) levels in lactating Holstein cows', *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1091326>.
- Toledo, I.M., Dahl, G.E. and De Vries, A. (2022) 'Dairy cattle management and housing for warm environments', *Livestock Science*, 255, p. 104802. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104802>.
- Torres-Júnior, J.R. de S. *et al.* (2008) 'Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle', *Theriogenology*, 69(2), pp. 155–166. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.06.023>.
- Uenoyama, Y. *et al.* (2021) 'Kisspeptin neurons and estrogen–estrogen receptor α signaling: Unraveling the mystery of steroid feedback system regulating mammalian reproduction', *International Journal of Molecular Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22179229>.
- Vanegas, J.A., Reynolds, J. and Atwill, E.R. (2004) 'Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows', *Journal of Dairy Science*, 87(11). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73505-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73505-5).
- Walters, T.J., Ryan, K.L. and Constable, S.H. (2004) 'Thermoregulation by rhesus monkeys at different absolute humidities', *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 174(6). Available at: <https://doi.org/10.1007/s00360-004-0434-4>.
- West, J.W. (2003) 'Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle', *Journal of Dairy Science*, 86(6), pp. 2131–2144. Available at: [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(03)73803-X).
- Wiebold, J.L. (1988) 'Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows', *Journal of Reproduction and Fertility*, 84(2). Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0840393>.
- Wilson, S.J. *et al.* (1998) 'Effects of Controlled Heat Stress on Ovarian Function of Dairy Cattle. 1. Lactating Cows', *Journal of Dairy Science*, 81(8). Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75788-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75788-1).
- Wolfenson, D. and Roth, Z. (2019) 'Impact of heat stress on cow reproduction and fertility', *Animal Frontiers*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1093/af/vfy027>.
- Wolfenson, D., Roth, Z. and Meidan, R. (2000) 'Impaired reproduction in heat-stressed cattle: Basic and applied aspects', in *Animal Reproduction Science*. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00102-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00102-0).
- Wrzecińska, M., Czerniawska-Piątkowska, E. and Kowalczyk, A. (2021) 'The impact of stress and selected environmental factors on cows' reproduction', *Journal of Applied Animal Research*, 49(1), pp. 318–323. Available at: <https://doi.org/10.1080/09712119.2021.1960842>.

Yoshida, C. and Nakao, T. (2005) 'Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows', *Journal of Reproduction and Development*, 51(1). Available at: <https://doi.org/10.1262/jrd.51.99>.

Yusuf, M. *et al.* (2016) 'Risk factors influencing conception rate in holstein heifers before artificial insemination or embryo transfer', *Media Peternakan*, 39(3). Available at: <https://doi.org/10.5398/medpet.2016.39.3.148>.

8 ANEXOS

	THI Ajustado	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão da Média
TC	>70	46	33,70	18,83	2,78
	<70	319	44,62	18,61	1,04

Tabela 12-Comparação das média

	Testes de Normalidade		
	Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.
LTHI	,930	12	0,384
LTC	,910	12	0,215
NTHI	,885	12	0,101
NTC	,951	12	0,649
PDTHI	,892	12	0,125
PDTC	,950	12	0,643
RGTHI	,906	12	0,189
RGTC	,972	12	0,930
PVTHI	,878	12	0,083
PVTC	,837	12	0,026
VFCTHI	,914	12	0,238
VFCTC	,955	12	0,706
THI	,895	12	0,135
TC	,865	12	0,057

Tabela 13-Testes de Normalidade

Correlações de Pearson		
LTHI		
LTC	Correlação de Pearson	-0,151
	Sig. (bilateral)	0,641
	N	12
NTHI		
NTC	Correlação de Pearson	-0,247
	Sig. (bilateral)	0,439
	N	12
PDTHI		
PDTC	Correlação de Pearson	-0,126
	Sig. (bilateral)	0,698
	N	12
RGTHI		
RGTC	Correlação de Pearson	-0,766
	Sig. (bilateral)	0,004
	N	12
PVTHI		
PVTC	Correlação de Pearson	0,213
	Sig. (bilateral)	0,506
	N	12
VFCTHI		
VFCTC	Correlação de Pearson	-0,166
	Sig. (bilateral)	0,606
	N	12
THI		
TC	Correlação de Pearson	-0,658*
	Sig. (bilateral)	0,020
	N	12

A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral).

A correlação é significativa no nível 0,05 (bilateral).

Tabela 14-Correlações de Pearson

Teste das médias de TC quando THIA >70 e <70

THI Ajustado		Teste de Levene para igualdade de variâncias				teste-t para Igualdade de Médias				
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferença média	Erro padrão da diferença	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
									Inferior	Superior
TC (%)	Variâncias iguais assumidas	,053	,817	-3,713	363	,000	-10,91539	2,93984	-16,69664	-5,13413
	Variâncias iguais não assumidas			-3,680	58,405	,001	-10,91539	2,96590	-16,85140	-4,97937

Tabela 13-Teste T para a igualdade das médias de THIA menor que 70 e maior que 70

	THI Ajustado	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão da Média
TC	>72	19	31,05	20,77	4,77
	<72	346	43,91	18,66	1,00

Tabela 14- TC quando THI ajustado é maior e menor que 72

Teste das médias de TC quando THIA >70 e <70

THI Ajustado		Teste de Levene para igualdade de variâncias				teste-t para Igualdade de Médias				
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferença média	Erro padrão da diferença	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
									Inferior	Superior
TC (%)	Variâncias iguais assumidas	0,36	0,55	-2,91	363,00	0,00	-12,86	4,42	-21,56	-4,16
	Variâncias iguais não assumidas			-2,64	19,63	0,02	-12,86	4,87	-23,03	-2,69

Tabela 17- Teste das médias de TC quando THIA >70 e <70

	THI Máximo	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão da Média
TC	>72	73	33,20	17,82	2,09
	<72	292	45,75	18,43	1,08

Tabela 15- TC quando THI máximo é maior e menor que 72

Teste das médias de TC quando THIA >72 e <72

THI Máximo		Teste de Levene para igualdade de variâncias		teste-t para Igualdade de Médias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferença média	Erro padrão da diferença	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
								Inferior	Superior	
TC (%)	Variâncias iguais assumidas	0,050	0,823	-5,24	363,00	0,00	-12,55	2,40	-17,26	-7,84
	Variâncias iguais não assumidas			-5,34	113,65	0,00	-12,55	2,35	-17,20	-7,90

Tabela 16- Teste das médias de TC quando THIA >72 e <70

	Semana	IA	DG+	Tmax	HRmin (%)	THI	TC (%)
<i>Novembro</i>	2021/44	93	36	22,60	64,26	70	38,71
	2021/45	65	22	21,26	68,79	68	33,85
	2021/46	65	36	20,50	55,73	66	55,38
	2021/47	73	27	19,57	57,29	65	36,99
<i>Dezembro</i>	2021/48	70	30	19,00	59,73	64	42,86
	2021/49	66	30	18,12	56,93	63	45,45
	2021/50	78	37	17,57	56,61	62	47,44
	2021/51	72	44	18,37	59,14	63	61,11
	2021/52	60	30	18,41	61,86	64	50,00
<i>Janeiro</i>	2022/1	78	32	16,67	60,76	61	41,03
	2022/2	105	53	17,72	63,65	63	50,48
	2022/3	88	42	17,99	58,86	63	47,73
	2022/4	71	35	16,37	61,30	61	49,30
<i>Fevereiro</i>	2022/5	123	50	17,14	59,24	62	40,65
	2022/6	98	44	16,69	60,30	61	44,90
	2022/7	91	45	17,02	56,06	61	49,45
	2022/8	61	28	17,18	52,09	62	45,90
<i>Março</i>	2022/9	57	30	18,14	59,60	63	52,63
	2022/10	75	44	16,74	51,56	61	58,67
	2022/11	62	30	17,27	56,83	62	48,39
	2022/12	66	33	17,46	53,51	62	50,00
	2022/13	76	39	18,56	59,23	64	51,32
<i>Abril</i>	2022/14	70	33	17,66	45,96	62	47,14
	2022/15	73	30	19,15	55,07	64	41,10
	2022/16	96	47	17,04	49,60	61	48,96
	2022/17	73	31	19,76	56,87	65	42,47
<i>Mai</i>	2022/18	87	36	19,53	61,33	65	41,38
	2022/19	61	36	19,79	51,65	65	59,02
	2022/20	81	43	20,39	51,52	66	53,09
	2022/21	93	40	19,61	49,74	65	43,01
<i>Junho</i>	2022/22	109	60	21,44	55,60	67	55,05
	2022/23	75	38	23,05	53,29	69	50,67
	2022/24	72	39	21,88	56,34	68	54,17
	2022/25	77	36	20,31	60,96	66	46,75
	2022/26	76	38	22,02	45,16	67	50,00
<i>Julho</i>	2022/27	72	35	20,61	54,54	66	48,61
	2022/28	67	22	23,08	59,72	70	32,84
	2022/29	77	31	25,22	60,15	73	40,26
	2022/30	68	21	26,34	53,49	74	30,88
<i>Agosto</i>	2022/31	56	26	26,13	55,79	74	46,43
	2022/32	75	33	26,36	60,91	75	44,00
	2022/33	76	33	25,49	56,06	73	43,42
	2022/34	82	36	25,34	55,49	73	43,90
<i>Setembro</i>	2022/35	88	20	26,00	61,94	74	22,73
	2022/36	70	22	25,29	63,87	74	31,43
	2022/37	90	26	26,02	67,31	75	28,89
	2022/38	68	21	25,90	63,49	74	30,88
	2022/39	79	21	22,68	57,55	69	26,58
<i>Outubro</i>	2022/40	63	15	24,11	66,31	72	23,81
	2022/41	75	19	23,99	54,01	71	25,33
	2022/42	80	21	19,54	51,49	65	26,25
	2022/43	64	18	19,99	52,81	65	28,13

Tabela 17-Dados semanais

Correlações ρ de Spearman

		LTHI	
LTC	Coefficiente de Correlação		-0,035
	Sig. (bilateral)		0,913
	N		12
		NTHI	
NTC	Coefficiente de Correlação		-0,277
	Sig. (bilateral)		0,383
	N		12
		PDTHI	
PDTC	Coefficiente de Correlação		-0,130
	Sig. (bilateral)		0,688
	N		12
		RGTHI	
RGTC	Coefficiente de Correlação		-0,734
	Sig. (bilateral)		0,007
	N		12
		PVTHI	
PVTC	Coefficiente de Correlação		0,408
	Sig. (bilateral)		0,187
	N		12
		VFCTHI	
VFCTC	Coefficiente de Correlação		-0,270
	Sig. (bilateral)		0,397
	N		12
		THI	
TC	Coefficiente de Correlação		-0,566
	Sig. (bilateral)		0,055
	N		12

A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral).

A correlação é significativa no nível 0,05 (bilateral).

Tabela 21- Correlação de Spearman

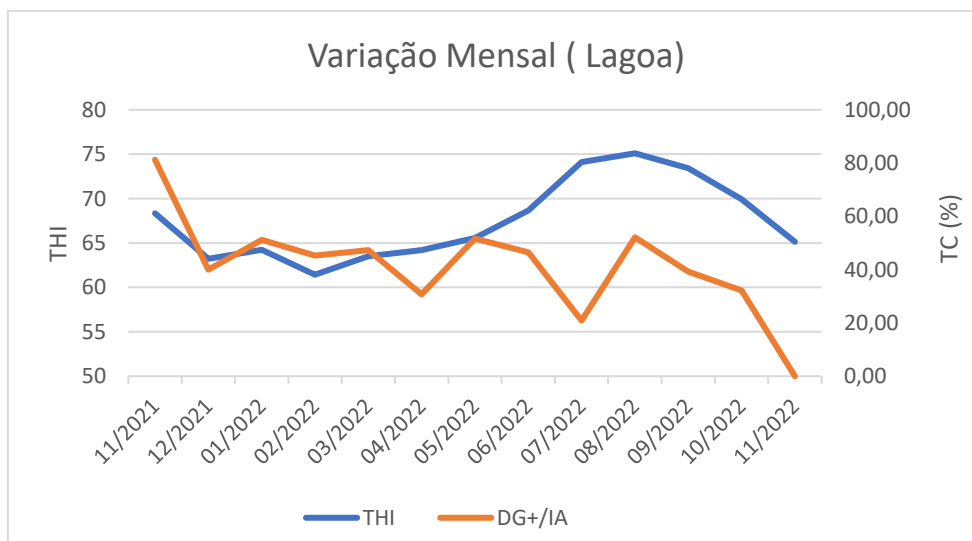


Gráfico 10- Variação Mensal (Lagoa)

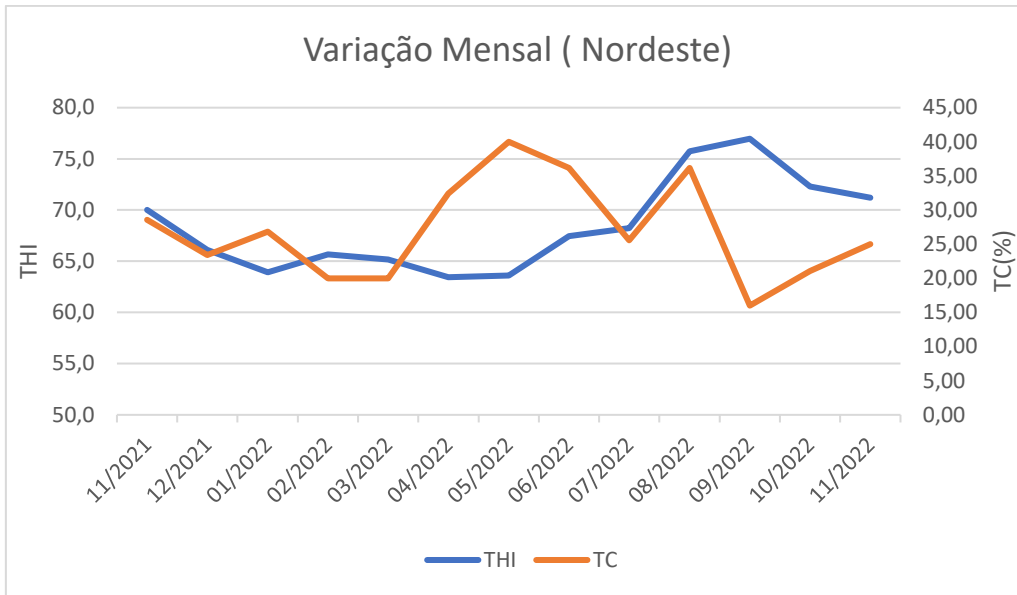


Gráfico 11- Variação Mensal Nordeste

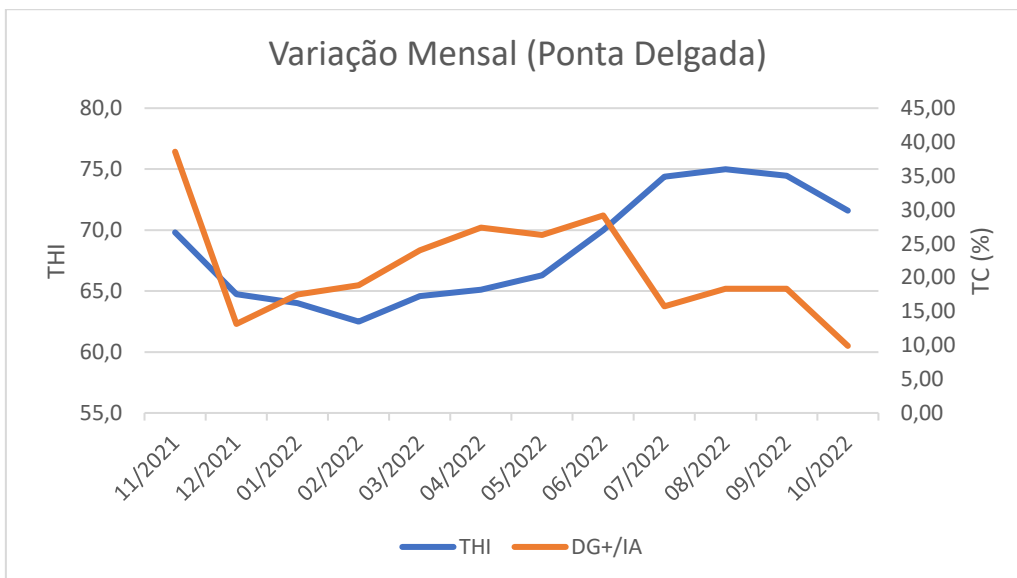


Gráfico 12-Variação Mensal (Ponta Delgada)

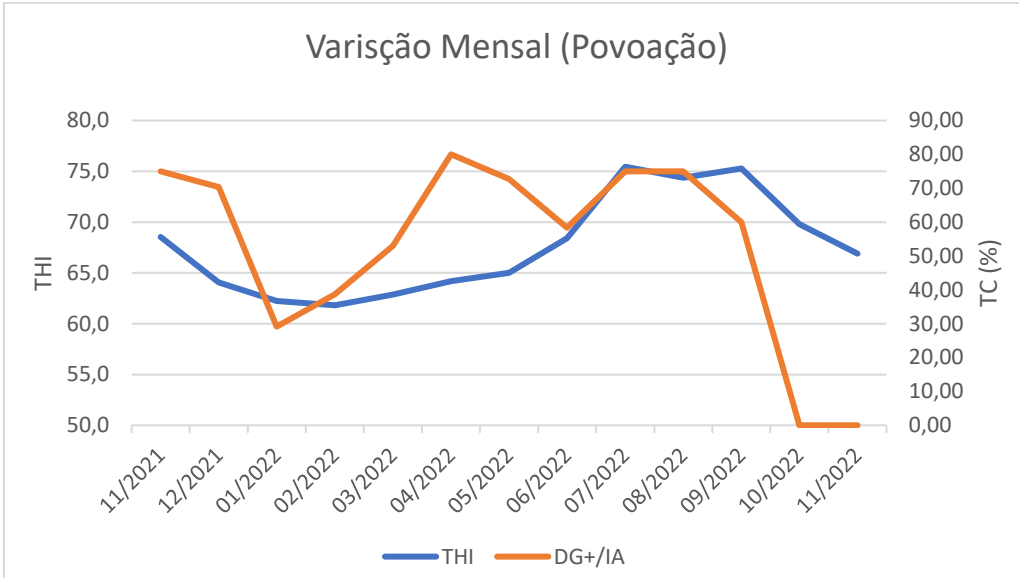


Gráfico 13- Variação Mensal (Povoação)

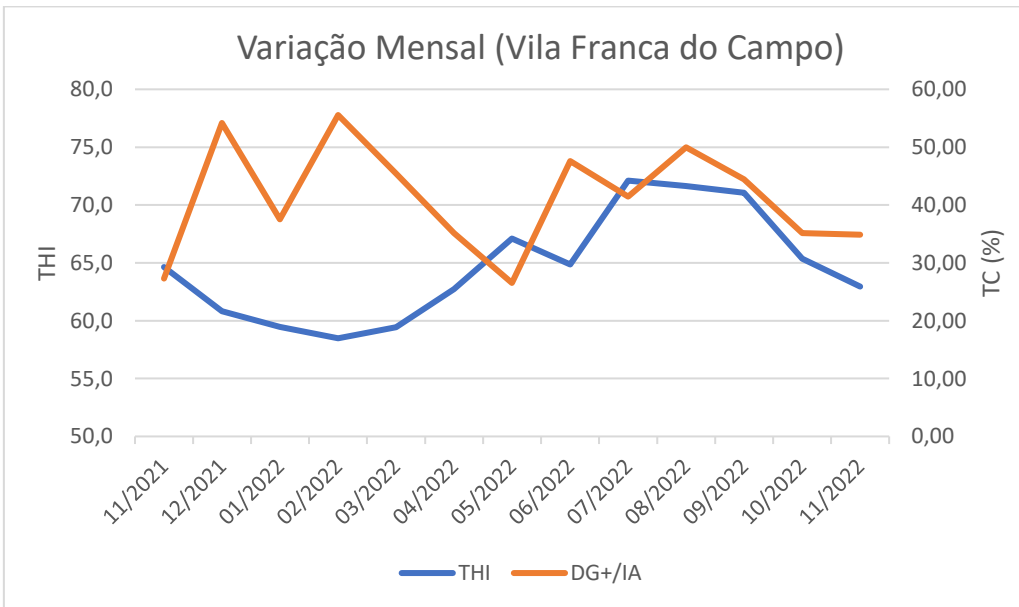


Gráfico 14- Variação Mensal (Vila Franca do Campo)