

NARIAN ROMANELLO

**Efeitos do Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta
nas características termorregulatórias e reprodutivas de touros
Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*)**

São Paulo

2021

NARIAN ROMANELLO

Efeitos do Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta nas características termorregulatórias e reprodutivas de touros Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus x Bos indicus*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Rossetto Garcia

São Paulo
2021

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4132
FMVZ

Romanello, Narian
Efeitos do Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta nas características termorregulatórias e reprodutivas de touros Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*) / Narian Romanello. – 2021.
118 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2021.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rossetto Garcia.

1. Bem-estar. 2. Termorregulação. 3. Sistemas integrados. 4. Pecuária. 5. Qualidade espermática. I. Título.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da qualidade do sêmen de touros bovinos mantidos a campo sob diferentes níveis de desafio térmico.", protocolada sob o CEUA nº 4361040917, sob a responsabilidade de **Alexandre Rossetto Garcia** e equipe; *Narian Romanello; Alberto Carlos de Campos Bernardi; Alexandre Rossetto Garcia; André de Faria Pedrosa; André Furugen Cesar de Andrade; Cintia Righetti Marcondes; Egleu Diomedes Marinho Mendes; José Ricardo Macedo Pezzopane; Manuel Antonio Chagas Jacinto; Rubens Paes de Arruda; Sergio Novita Esteves; Waldomiro Barioni Junior* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 22/11/2017.

We certify that the proposal "Evaluation of semen quality of bovine bulls raised under different levels of thermal challenge.", utilizing 60 Bovines (60 males), protocol number CEUA 4361040917, under the responsibility of **Alexandre Rossetto Garcia** and team; *Narian Romanello; Alberto Carlos de Campos Bernardi; Alexandre Rossetto Garcia; André de Faria Pedrosa; André Furugen Cesar de Andrade; Cintia Righetti Marcondes; Egleu Diomedes Marinho Mendes; José Ricardo Macedo Pezzopane; Manuel Antonio Chagas Jacinto; Rubens Paes de Arruda; Sergio Novita Esteves; Waldomiro Barioni Junior* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 11/22/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **12/2017** a **12/2021** Área: **Reprodução Animal**

Origem:	Animais provenientes de outros projetos		
Espécie:	Bovinos	sexo:	Machos
		idade:	24 a 36 meses
		N:	60
Linhagem:	Taurinas e Zebuínas	Peso:	450 a 550 kg

Resumo: O objetivo desse estudo busca o aprimoramento do conhecimento sobre as características fisiológicas e andrológicas de machos bovinos das raças Canchim e Nelore, mantidos em sistema de Integração Lavoura- Pecuária- Floresta e em sistema convencional sem área sombreada, sendo assim, submetidos a diferentes condições microclimáticas. Serão utilizados 30 touros da raça Canchim (5/8 Charolês x 3/8 Zebu) e 30 touros da raça Nelore (Zebu). Mensalmente, os animais serão avaliados quanto aos parâmetros fisiológicos (frequência respiratória e temperatura retal), hematológicos (hemograma completo), temperaturas da superfície escrotal e concentrações séricas hormonais (cortisol, triiodotironina-T3 e testosterona). Serão realizadas coletas de sangue para avaliar a expressão de proteínas de estresse térmico (Hsp90 e Hsp70). Serão também realizadas as avaliações de integridade de parênquima testicular e qualidade seminal, além do cálculo do Índice de Temperatura e Umidade e do Índice de Conforto de Beneza. Durante as estações de Verão e Inverno, serão avaliadas as características estruturais de pele e pelame. Os dados zootécnicos referentes ao comportamento dos animais serão monitorados durante todo o período experimental, de maneira ininterrupta, através de estações automáticas instaladas dentro dos sistemas de produção. Os dados mensais serão agrupados por estação climática (Primavera, Verão, Outono e Inverno), para monitoramento sazonal e comparação entre estações.

Local do experimento: Fazenda Canchim (unidade experimental da Embrapa Pecuária sudeste, São Carlos-SP).

São Paulo, 22 de novembro de 2017



Profa. Dra. Anneliese de Souza Traidi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária Executiva

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ROMANELLO, Narian

Título: **Efeitos do Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta nas características termorregulatórias e reprodutivas de touros Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus x Bos indicus*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ___/___/_____

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

A meus pais, Laudinei Adilson Romanello e Marilza Ferreira Barboza Romanello, por terem me criado com todo amor e carinho, por me ensinarem o valor das coisas simples, o respeito com o próximo e a honestidade. Por me ensinarem a agradecer mais do que pedir e por não medirem esforços para me ver bem e com saúde. Por me acolherem nos momentos difíceis, que ultimamente foram inúmeros. Por me ampararem quando fui diagnosticada com depressão e com um câncer, tive vontade de tirar a minha própria vida por diversas vezes, se não fossem vocês, eu não estaria mais aqui. Por sempre terem uma palavra de estímulo. Por me protegerem das pessoas ruins. Por serem tudo em minha vida. Por esse amor incondicional...

A minha querida irmã Lana Pietra Romanello, companheira e amiga, pela cumplicidade, incentivo e brincadeiras de sempre...

Dedico!

*Viver não cabe no Lattes.
Mário Emmanuel*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me guiar, iluminar e nunca me desamparar mesmos nos momentos de dificuldades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Rossetto Garcia, pelos longos sete anos de trabalhos que permanecemos juntos, e que nunca mediu esforços para fazermos o melhor trabalho possível. Agradeço por todos os ensinamentos, tanto profissionais quanto os ensinamentos para a vida.

Ao professor Dr. André Furugen Cesar de Andrade, por ter me dado a oportunidade em realizar o processo seletivo de Doutorado pelo Departamento de Reprodução Animal da FMVZ – USP.

Ao professor Dr. Rubens Paes de Arruda, por ter me acolhido durante o período de estágio docência, é sempre rico poder conversar e conviver com o senhor, obrigada por compartilhar tantos ensinamentos e conselhos profissionais e pessoais.

Ao Dr. Felipe Zandonadi Brandão, do Laboratório de Dosagem Hormonal da Universidade Federal Fluminense, pela imprescindível ajuda na realização das dosagens hormonais.

Ao professor Dr. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro pela fundamental contribuição nas análises e pela cordialidade de sempre.

Ao Dr. André de Faria Pedroso pela ajuda no manejo dos animais nas áreas experimentais.

A Dra. Cíntia Hiromi Okino, pela imensa ajuda, por me acolher tão bem em seu laboratório e pelas conversas sempre agradáveis.

Ao Dr. José Ricardo Pezzopane pela contribuição dos dados biometeorológicos do presente estudo.

Ao Felipe Tonato pela ajuda com as organizações dos manejos com os animais e todo suporte com a logística de coleta de dados.

Aos amigos de equipe Andréa (Nega) e Marco (Marquito), agradeço de coração por toda ajuda, empenho e disponibilidade nas coletas deste trabalho, e por me ensinarem a importância do trabalho em equipe. Também agradeço pela amizade, companhia, apoio nos momentos de tristeza, cansaço e estresse, e pelos momentos de descontração, que tornaram minha caminhada mais amena.

A todas as novas amizades que pude fazer durante as disciplinas cursadas na Usp campus de Pirassununga-SP, não citarei nomes para não pecar em esquecer alguém.

A todas as novas amizades que pude fazer durante minha permanência no Alojamento Estudantil da USP campus de São Carlos-SP, muito obrigada pela receptividade e amizade. Especialmente, gostaria de agradecer minha querida amiga Aline (Linha), uma irmã pra mim, a pessoa com quem compartilhei o quarto e a minha vida. Lininha, muito obrigada por todas as doses de amor e carinho que diariamente compartilhávamos.

Aos funcionários da Embrapa Pecuária Sudeste: Adão, Avaré, Thiago, Mineiro, Henrique, Zezão, Euclides, Rafael, Tadeu, Zé, Cosme, Didoné, Maria e Rosa, pela imprescindível ajuda e amizade que fizemos.

A secretária do PPGRA, Harumi Shiraishi, por todos esses anos de ajuda, por estar sempre disposta a auxiliar os alunos com responsabilidade, carinho e cordialidade.

Ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de proporcionar este objetivo.

À Embrapa Pecuária Sudeste pelo apoio e por ceder animais, funcionários e instalações, sem os quais seria impossível a realização do experimento.

Ao Projeto Rede Pecuária de Precisão #01,14,09,001,03,03), à FAPESP-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 2019/04528-6) e à CAPES-Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro para a realização do estudo.

Muito obrigada!

RESUMO

ROMANELLO, N. **Efeitos do Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta nas características termorregulatórias e reprodutivas de touros Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*).** 2021. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

O trabalho visou estudar os efeitos do sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (CLF) nas características fisiológicas, endócrinas, reprodutivas e sobre a temperatura da superfície corpórea de touros das raças Nelore e Canchim criados em ambiente tropical. Foram utilizados 64 touros, sendo 32 Nelore (*Bos indicus*) e 32 Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*). O experimento foi realizado durante um período que contemplou as estações de Verão I, Outono, Inverno, Primavera e Verão II em dois diferentes sistemas de produção: Sistema a pleno sol (Grupo PS; 16 Nelore e 16 Canchim) e Sistema com arborização (Grupo iLPF; 16 Nelore e 16 Canchim). O experimento seguiu um delineamento fatorial 2x2 (dois genótipos e dois sistemas), com medidas repetidas no tempo. Mensalmente os touros passaram por avaliação de parâmetros fisiológicos (frequência respiratória e temperatura retal), concentração sérica hormonal (cortisol, triiodotironina e testosterona), andrológicos (volume testicular, ecotextura do parênquima testicular, motilidade espermática progressiva, morfologia, integridade de membrana plasmática e fragmentação de cromatina da células espermática) e de temperatura de superfície corpórea (lateral direita, dorso e escroto). Variáveis bioclimatológicas foram monitoradas continuamente (temperatura do ar, temperatura do globo negro, umidade relativa e velocidade do vento) e com esses dados, foram calculados o Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade e Carga Térmica Radiante. Os resultados apresentaram que o sistema iLPF foi eficaz em minimizar os efeitos adversos ambientais sobre as características fisiológicas, endócrinas, reprodutivas e termorregulatórias de touros bovinos de corte.

Palavras-chave: Bem-estar. Termorregulação. Sistemas integrados. Pecuária. Qualidade espermática.

ABSTRACT

ROMANELLO, N. **Effects of the Crop-Livestock-Forest Integration System on the thermoregulatory and reproductive characteristics of Nelore (*Bos indicus*) and Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*) bulls.** 2021. 118 f. Thesis (Doctorate in Science). Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

The aim of study the effects of the Crop-Livestock-Forest Integration (CLF) system on the physiological, endocrine, reproductive characteristics and on the body surface temperature of bulls of the Nelore and Canchim breeds raised in a tropical environment. 64 bulls were used, 32 Nelore (*Bos indicus*) and 32 Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*). The experiment was carried out during a period that included the seasons of Summer I, Autumn, Winter, Spring and Summer II in two different production systems: Full sun system (Group PS; 16 Nelore and 16 Canchim) and System with afforestation (Group iLPF; 16 Nelore and 16 Canchim). The experiment followed a 2x2 factorial design (two genotypes and two systems), with repeated measures over time. Monthly the bulls underwent evaluation of physiological parameters (respiratory rate and rectal temperature), serum hormone concentration (cortisol, triiodothyronine and testosterone), andrological (testicular volume, homogeneity and hyperechogenicity of the testicular parenchyma, progressive sperm motility, sperm vigor, morphology, plasma membrane integrity and sperm cell chromatin fragmentation) and body surface temperature (right side, dorsum and scrotum). Bioclimatological variables were continuously monitored (air temperature, temperature of the black globe, relative humidity and wind speed) and with these data, the Black Globe Temperature Index and Humidity and Radiant Thermal Load were calculated. The results showed that the CLF system was effective in minimizing adverse environmental effects on the physiological, endocrine, reproductive and thermoregulatory characteristics of beef bulls.

Keywords: Welfare. Thermoregulation. Integrated systems. Livestock. Sperm quality.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1- (A) e (B) Mapas dos sistemas de produção em pastagens a pleno sol (PS) (delimitado por linha vermelha) e em Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) (delimitado por linha verde) implantados na Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP, (C) Fotografias com detalhe dos sistemas de pastagens de *Brachiaria brizantha* a pleno sol e (D) com arborização. (Fonte: Arquivos Garcia AR, 2021; Maio AMD, 2019)..... 43
- Figura 2- Valores médios da (A) temperatura do ar (TA), (B) temperatura do globo negro (TGN), (C) umidade relativa (UR), (D) velocidade do vento (VV), (E) Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) e (F) Índice de Carga Térmica Radiante (CTR) registrados entre 08h00 e 16h00 no sistema a pleno sol (PS) e no sistema com arborização (iLPF), em ambiente tropical..... 45
- Figura 3- Imagens ilustrativas da região escrotal de touro bovino em abordagem caudal, geradas com (A) câmera digital integrada no espectro visível; (B) câmera termográfica de infravermelho, Termograma parametrizado para escala de 28,5 a 38,5 °C e paleta iron. (Fonte: Arquivo pessoal)..... 47
- Figura 4- Imagens ultrassonográficas em modo B do parênquima testicular (abordagem longitudinal) realizadas com probe linear de 7,5 MHz, para avaliação do grau de hiperecogenicidade testicular, classificada em escores, (A) Escore 0: ausência de pontos hiperecoicos no parênquima, (B) Escore 1: presença de até cinco pontos hiperecoicos, (C) Escore 2: presença de mais de cinco pontos hiperecoicos próximos ao mediastino e distanciados, (D) Escore 3: presença de mais de cinco pontos hiperecoicos difusos no parênquima testicular, As setas indicam a presença de pontos hiperecoicos (Fonte: Romanello, 2017)..... 49
- Figura 5- Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de testosterona de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), em ambiente tropical..... 58
- Figura 6- Médias (\pm erro padrão) relativas às características de morfologia espermática quanto a (A) Defeitos menores, (B) Defeitos maiores, (C) Defeitos totais e (D) Fragmentação da cromatina, avaliadas em ejaculados de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), em ambiente tropical..... 59

ARTIGO 2

- Figura 1- (a) Fotografia aérea demonstrando a área experimental com os sistemas de produção em pastagens a pleno sol (PS) (delimitado por linha vermelha) e em Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) (delimitado por linha verde) implantados em São Carlos, Brasil. (b) Fotografias com detalhe dos sistemas de pastagens de *Brachiaria brizantha* a pleno sol e (c) com arborização (Fonte: Arquivos Garcia AR, 2021; Maio AMD, 2019)..... 85
- Figura 2- Fotografias realizadas por veículo aéreo não-tripulado demonstrando os sistemas de produção a pleno sol (a,c) e em integração lavoura-pecuária-floresta (b, d) com uso de câmera digital no espectro visível e câmera termográfica por infravermelho, em São Carlos, Brasil. Detalhe para a diferença térmica entre pastagens com ou sem sombreamento (cores laranja/amarela indicam maiores temperaturas; cores lilás/azul indicam temperaturas mais baixas). Termogramas parametrizados para escala automática e paleta iron. (Fonte: Arquivos Garcia AR, 2021; Pezzopane JRM, 2019)..... 86
- Figura 3- Imagens ilustrativas termográficas de touros bovinos. (A) Abordagem lateral para registro a campo do antímero direito do animal em estação, respeitando sua zona de fuga, (B) Abordagem lateral com animal contido em brete para registro do globo ocular esquerdo. Termogramas parametrizados para paleta rainbow e escalas de 15,0 a 45,0 °C e 15,0 a 40,0 °C (Fonte: Arquivo pessoal)..... 89
- Figura 4- Médias (\pm erro padrão) das temperaturas mínima, média e máxima do dorso (MiTD; MeTD; MxTD, °C), temperatura média do tronco (TTro, °C) e temperatura de globo ocular (GLO, °C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), mantidos em sistemas a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), avaliadas das 11h00 às 14h30, ao longo de diferentes estações climáticas em ambiente tropical..... 94
- Figura 5- Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de cortisol de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, em diferentes estações climáticas em ambiente tropical..... 97
- Figura 6- Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de cortisol de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, ao longo de treze meses, em ambiente tropical..... 98
- Figura 7- Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de triiodotironina de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, em diferentes estações climáticas em ambiente tropical..... 99

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1-	Valores médios (\pm erro padrão) da temperatura interna corpórea (TR, °C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (<i>Bos indicus</i>) e Canchim (5/8 <i>Bos taurus</i> x 3/8 <i>Bos indicus</i>) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.....	52
Tabela 2-	Valores médios (\pm erro padrão) dos gradientes térmicos da temperatura da superfície escrotal, de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (<i>Bos indicus</i>) e Canchim (5/8 <i>Bos taurus</i> x 3/8 <i>Bos indicus</i>) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.....	53
Tabela 3-	Valores médios (\pm erro padrão) do volume testicular (cm ³), homogeneidade (0 a 2) e hipercogenidade (0 a 3) do parênquima testicular de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (<i>Bos indicus</i>) e Canchim (5/8 <i>Bos taurus</i> x 3/8 <i>Bos indicus</i>) mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.....	55
Tabela 4-	Valores médios (\pm erro padrão) da homogeneidade do parênquima testicular direito (HOMD e esquerdo (HOME), hipercogenidade do parênquima testicular direito (HIPD) e esquerdo (HIPE) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (<i>Bos indicus</i>) e Canchim (5/8 <i>Bos taurus</i> x 3/8 <i>Bos indicus</i>) mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical, em função da estação climática.....	56

ARTIGO 2

Tabela 1-	Valores médios (\pm erro padrão) da temperatura do ar (TA, °C), temperatura do globo negro (TGN, °C), umidade relativa (UR, %), velocidade do vento (VV, m/s), Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) e a Carga Térmica Radiante (CTR, W/m ²), registrados entre 8h00 e 16h00 durante o período experimental em sistemas a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.....	93
Tabela 2-	Valores médios (\pm erro padrão) da frequência respiratória (FR, movimentos/minuto) e temperatura interna corpórea (TR, °C) de touros bovinos (n=64) mantidos em sistemas a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), avaliadas das 11h00 às 14h30, em ambiente tropical.....	95
Tabela 3-	Valores médios (\pm erro padrão) da frequência respiratória (FR, movimentos/minuto) e temperatura interna corpórea (TR, °C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (<i>Bos indicus</i>) e Canchim (5/8 <i>Bos taurus</i> x 3/8 <i>Bos indicus</i>), avaliadas das 11h00 às 14h30, em ambiente tropical.....	96

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

iLPF – Sistema de integração lavoura-pecuária-floresta

PS – Sistema a pleno sol

TA – Temperatura do ar

TGN– Temperatura do globo negro

UR – Umidade relativa

VV – Velocidade do vento

ITGU – Índice de temperatura de globo negro e umidade

CTR – Carga térmica radiante

TFUN – Funículo espermático

TPTV – Temperatura do polo testicular ventral

TCE – Temperatura da cauda do epidídimo

TES – Temperatura escrotal

Grad1 – Gradiente de temperatura obtido pela subtração da temperatura retal – temperatura de polo testicular dorsal

Grad2 – Gradiente de temperatura obtido pela subtração da temperatura retal – temperatura de polo testicular ventral

Grad3 – Gradiente de temperatura obtido pela subtração da temperatura retal – temperatura da cauda do epidídimo

Grad4 – Gradiente de temperatura obtido pela subtração da temperatura do polo testicular dorsal – temperatura de polo testicular ventral

HOMD – Homogeneidade do parênquima do testículo direito

HOME – Homogeneidade do parênquima do testículo esquerdo

HIPD – Hipercogenicidade do parênquima do testículo direito

HIPE – Hipercogenicidade do parênquima do testículo esquerdo

MiTD – Temperatura mínima do dorso

MeTD – Temperatura média do dorso

MxTD – Temperatura máxima do dorso

TTro – Temperatura média do tronco

GLO – Temperatura de globo ocular

FR – Frequência respiratória

TR – Temperatura interna corpórea

T3 – Triiodotironina

LISTA DE SÍMBOLOS

± - símbolo utilizado entre as unidades estatísticas de média e desvio padrão

< - símbolo matemático que indica valores inferiores

% - porcentagem, unidade de razão na base 100

10⁶ - milhões

X - vezes

° - grau

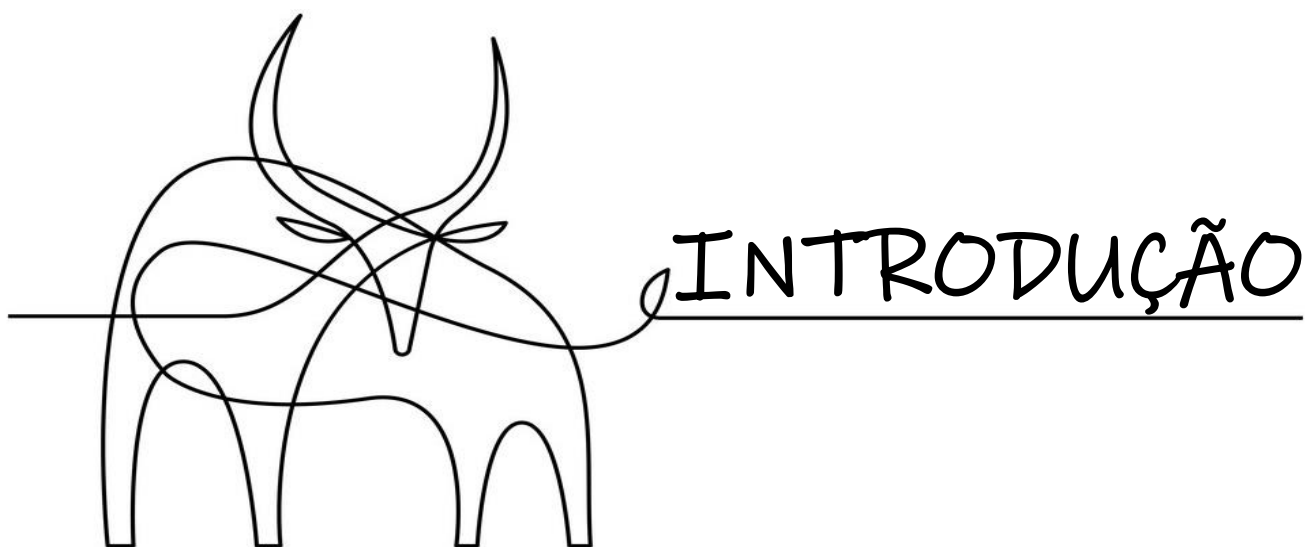
' - minuto

" - segundo

® - símbolo utilizado para demonstrar uma marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3 REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1 EFEITOS DO SISTEMA DE PRODUÇÃO INTEGRADO NA PECUÁRIA.....	23
3.2 MONITORAMENTO DO CONFORTO TÉRMICO E BEM-ESTAR ANIMAL...	24
3.3 EFEITOS PREJUDICIAIS DO CALOR EM VARIÁVEIS REPRODUTIVAS.....	26
3.4 FATORES ENDÓCRINOS DA REPRODUÇÃO MASCULINA.....	27
REFERÊNCIAS.....	28
4 ARTIGO 1 - Diferenças das características reprodutivas de touros Nelore (Bos indicus) e Canchim (Bos taurus x Bos indicus) mantidos em sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta e sistema a pleno sol em ambiente tropical	38
RESUMO.....	38
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
RESULTADOS.....	52
DISCUSSÃO.....	60
CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	67
5 ARTIGO 2 – O Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) promove maior conforto térmico em bovinos de corte mantidos em clima tropical	79
RESUMO.....	79
INTRODUÇÃO.....	81
MATERIAL E MÉTODOS.....	82
RESULTADOS.....	92
DISCUSSÃO.....	100
CONCLUSÃO.....	107
CONCLUSÃO GERAL.....	108
REFERÊNCIAS.....	109



1 INTRODUÇÃO

As alterações climáticas são notadas mundialmente, e suas consequências adversas vêm sendo cada vez mais agressivas, principalmente em países localizados na zona intertropical do planeta. Esses efeitos prejudicam seriamente a agricultura e a pecuária, sendo que o rebanho bovino é considerado uma das espécies que mais sofrem com as intempéries ambientais (ABDUREHMAN, 2019). A severidade do estresse térmico calórico aumenta com o passar dos anos, principalmente devido ao acelerado avanço do aquecimento global, sendo que em países de clima árido, subtropical e tropical essas intensas mudanças das variáveis ambientais são notadas de forma mais expressiva (BELHADJ et al., 2016). Os bovinos acabam sofrendo diretamente esses efeitos adversos do ambiente, prejudicando sua saúde, produtividade e reprodução (HENRY et al., 2018).

O crescimento recorrente do interesse na diversificação das atividades agropecuárias em propriedades rurais indica a necessidade de implementação de sistemas que sejam mais produtivos, sustentáveis e rentáveis (MORAES et al., 2014). Atualmente, a maioria dos sistemas de produção pecuária é concentrada na monocultura, com forrageiras de baixa qualidade, sendo estas de baixa produção e pequena capacidade em realizar o sequestro efetivo de carbono da atmosfera (PONTES et al., 2018). Sabendo dessas questões, há um aumento significativo da demanda na implementação de sistemas como o de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF, ou CLF, do inglês *crop-livestock-forest*), o qual é considerado uma ferramenta moderna, que tem o intuito de contribuir para a garantia e segurança alimentar em âmbito mundial e a otimização do uso da terra (SALTON et al., 2014). Adicionalmente, outro atributo extremamente importante da implementação desse tipo de sistema é a melhora no bem-estar animal, pois estes propiciam um ambiente térmico confortável aos bovinos (YATES et al., 2007; LEMES et al., 2021).

A domesticação dos bovinos proporcionou uma grande difusão da espécie em todo o mundo, resultando na formação de inúmeras raças dispersas em variados ambientes (AJMONEMARSAN et al., 2010). O comportamento das características produtivas e reprodutivas de diferentes genótipos bovinos em diversas condições ambientais é muito importante para a escolha de animais que possam expressar ao

máximo seu potencial, otimizando programas de cruzamento e conservação genética (HOFFMANN, 2010).

Diversos estudos já realizados, indicam a interferência negativa do estresse térmico sobre os parâmetros reprodutivos de touros bovinos, porém ainda há escassez de estudos que avaliem os efeitos do sistema de produção de integração lavoura-pecuária-floresta sobre as variáveis reprodutivas de touros bovinos de corte neles mantidos. Por isso, para a execução do presente trabalho foi levantada as seguintes hipóteses: (i) As diferenças microclimáticas observadas nos sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta são capazes de causar alterações no metabolismo relacionado à termólise, nas características hormonais e nos parâmetros reprodutivos de touros bovinos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*) mantidos em ambiente tropical. (ii) O sistema de integração Lavoura-Pecuária-Floresta favorece o microclima do ambiente e confere maior conforto térmico aos animais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade seminal e capacidade termorregulatória de touros bovinos de diferentes grupos genéticos, mantidos a pasto em diferentes condições microclimáticas, ao longo de um ciclo climático de um ano. Com isso, pretende-se gerar informações sobre os efeitos do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta como uma ferramenta que possa contribuir para maior eficiência do manejo reprodutivo de touros de corte, além de contribuir com o processo de identificação e seleção de animais mais adaptados ao ambiente tropical.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar a influência das diferentes condições microclimáticas ocorrentes nos sistemas de produção de pastagens não-sombreadas e de pastagem em sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta sobre os parâmetros seminais, níveis hormonais e estrutura do parênquima testicular de touros Nelore e Canchim.

b) Avaliar a resposta termorregulatória de touros Nelore e Canchim, durante diferentes estações climáticas por meio do monitoramento do conforto térmico e variáveis fisiológicas relacionadas à termólise.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 EFEITOS DO SISTEMA DE PRODUÇÃO INTEGRADO NA PECUÁRIA

Os países localizados na zona tropical do planeta são considerados os maiores produtores de alimentos do mundo. Porém, com essa característica geográfica, o desafio climático é bastante expressivo, tanto para agricultura quanto para a pecuária (DOMICIANO et al., 2016). Nesse sentido, a fim de buscar ferramentas para minimizar os impactos negativos das intempéries ambientais, os sistemas de produção integrados vêm se tornando cada vez mais utilizados, principalmente em regiões de clima tropical. Dentre estes, destaca-se o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta, o qual pode constituir uma alternativa mais rentável e sustentável para a pecuária de corte (GAMARRA et al., 2017).

No início dos estudos, o conceito do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta foi designado para melhorar os solos das pastagens degradadas. Porém, ao longo do tempo, foi perceptível a influência benéfica sobre os animais que eram mantidos nesses sistemas, como, maior ganho de peso, maior conforto térmico e melhorias diretas no bem-estar animal (BROOM et al., 2013). Segundo relatos de SALLA et al. (2009), o sombreamento dos sistemas integrados de produção oferece uma redução importante na incidência de radiação solar direta nos animais e, conseqüentemente, reduziria também a temperatura corpórea e facilitaria a termorregulação, contribuindo para a produtividade e bem-estar dos bovinos. Trabalhos anteriores relataram uma redução de 30% na incidência de radiação solar direta sobre os animais mantidos em sistema integrado, devido ao componente arbóreo instituído, fazendo com que haja um ambiente termicamente mais confortável e favorecendo o aumento da procura de alimentos dos animais, podendo observar um acréscimo no tempo em que os bovinos procuram seus alimentos no ato de pastejar (KARVATTE JUNIOR et al., 2016). SILVA et al. (2020) observaram que o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta oferece no mínimo 8 vezes mais sombreamento que um sistema apenas de integração lavoura-pecuária, e foi

demonstrado a enorme eficiência do sistema com sombreamento em promover uma condição microclimática excelente aos animais, sendo comprovada com menores valores encontrados quando calculado o índice de temperatura umidade e globo negro.

Apesar de ser uma estratégia muito importante para otimizar e incrementar diversos aspectos da pecuária de corte, deve ser utilizada com rigor e critérios importantes, pois as densidades de árvores quando manejadas de forma inadequada, podem influenciar negativamente em todo o sistema de produção. OLIVEIRA et al. (2004) demonstraram que uma exagerada densidade de árvores ($357 \text{ árvores ha}^{-1}$) no sistema de integração lavoura-pecuária-floresta promoveram menor ganho de peso por hectare de animais da raça Nelore, quando comparados a um sistema de integração com uma menor densidade do componente arbóreo ($227 \text{ árvores ha}^{-1}$).

Outra característica de importância e relevância mundial é a capacidade do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta em mitigar a emissão dos gases poluentes, fazendo a remoção eficiente do gás carbônico da atmosfera e sendo capaz de realizar estoque de biomassa (FIGUEIREDO et al., 2017). Os sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta ainda demandam diversos estudos que possam explorar de forma minuciosa cada componente, no intuito de se obter cada vez mais informações que possam contribuir para a sustentabilidade ambiental, agricultura, pecuária e para a rentabilidade do sistema como um todo (SOUZA et al., 2017; PONTES et al., 2018).

1.2 MONITORAMENTO DO CONFORTO TÉRMICO E BEM-ESTAR ANIMAL

As alterações nos padrões climáticos que ocorrem em âmbito mundial afetam diretamente a produção animal. Sendo assim, é extremamente importante a realização de estudos sobre os efeitos adversos que as intempéries ambientais imprimem na pecuária global. Variáveis ambientais como, elevada temperatura do ar, alta radiação solar e umidade relativa causam desconforto térmico nos animais, levando a inúmeras respostas fisiológicas do organismo, a fim de buscar a manutenção da homeotermia, e, como consequência, impactam de forma negativa na produção e reprodução de bovinos (BELASCO et al., 2015; MADER e GRIFFIN, 2015).

Historicamente, foi definido que a chamada zona de termoneutralidade de um animal ocorre quando o animal está submetido a uma determinada condição de

temperatura ambiental em que pode expressar ao máximo sua produção e reprodução, sem prejuízos a sua saúde clínica geral (AMES, 1980). Já o termo utilizado como estresse, caracteriza-se quando um organismo não consegue responder de modo adequado às ameaças ou agente estressor. Como consequência dessa falta de reação, pode levar ao comprometimento de seu desenvolvimento, função imunológica, ganho de peso entre outras inúmeras sequelas (RANDALL, 2010). O animal, em resposta ao estresse causado pelas condições climáticas, ativa seus mecanismos fisiológicos de termólise, visando à manutenção homeotérmica, e, como consequência, são afetados negativamente a ingestão de matéria seca, o ganho de peso, o crescimento, assim como, o bem-estar e o comportamento desses animais (LACETERA et al., 2003; AVENDANO et al., 2006; HANSEN, 2009; GIRO et al., 2019).

O Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (BGHI) foi desenvolvido como um índice de conforto térmico, baseado na avaliação da temperatura do ambiente obtida através da captação por um globo negro e também da umidade relativa do ar (BUFFINGTON et al., 1981). Os valores obtidos através dos cálculos para BGHI oferecem informações importantes que são capazes de avaliar em quais condições os bovinos se encontram com relação a algum tipo de alteração no conforto térmico desses animais. O cálculo do BGHI e de outros índices que permitem a avaliação do conforto térmico dos animais faz-se necessário para o monitoramento preciso das variáveis ambientais e, para tal, existem diversos modelos de estações meteorológicas que podem ser facilmente instaladas nas propriedades rurais (BAÊTA e SOUZA, 2010).

Por sua vez, a utilização da termografia infravermelha vem se tornando cada vez mais recorrente na Medicina Veterinária, pois é capaz de avaliar a temperatura de superfície dos animais (PANTOJA et al., 2017), e pode auxiliar tanto no tratamento de determinadas enfermidades quanto na identificação de ambientes que sejam desafiadores para os animais devido as variáveis bioclimatológicas (MACMANUS et al., 2016; ROMANELLO et al., 2018). Considerada uma técnica não invasiva, é caracterizada por realizar a captura da radiação térmica emitida pelos tecidos que recobrem a superfície animal e convertê-la em termogramas (imagens termográficas). Com isso, é possível executar um mapeamento da temperatura superficial de diversas regiões anatômicas do indivíduo (STEWART et al., 2005; MOURA et al., 2019). Estudos que utilizam essa ferramenta deverão ser cada vez mais frequentes, pois trata-se de uma técnica interessante que serve de grande valia na caracterização do estresse

térmico dos animais de inúmeras espécies e que pode auxiliar nas tomadas de decisões mais certas e adequadas com relação ao manejo ambiental, que deve ser instituído para minimizar as adversidades climáticas que afetam os animais (CASTRO-PÉREZ et al., 2020).

No Brasil, a identificação da necessidade de adequação dos sistemas de produção na pecuária atual torna a utilização de sistemas integrados de produção uma opção sustentável, rentável e que beneficia o bem-estar do componente animal (BALBINO et al., 2011). Cerca de 68 milhões de hectares de terras brasileiras são estimadas como áreas aptas para a utilização de sistemas integrados de lavoura-pecuária e floresta, o que significa que há uma imensa área disponível para ser utilizada, sem a necessidade de amplificação de novas áreas agrícolas (EMBRAPA, 2011). Assim, há uma crescente demanda por estudos que possam avaliar de modo minucioso os reais benefícios da utilização dos sistemas integrados sobre o desempenho animal, com objetivo de observar as respostas fisiológicas e produtivas de bovinos mantidos nesse tipo de sistema de produção.

1.3 EFEITOS PREJUDICIAIS DO CALOR EM CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS

Animais em estresse calórico crônico sofrem inúmeras alterações em sua fisiologia endócrina e metabólica, como redução na secreção de hormônios hipofisários, alterando, assim, o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos (LITTLEJOHN et al., 2014). Estudos relatam que o estresse térmico interfere na produção e secreção de hormônios em fêmeas e machos bovinos, sendo capaz de realizar bloqueio da atividade do estradiol e impedir a manifestação do comportamento sexual normal (BADINGA et al., 1971; RONCHI et al., 2001). Animais submetidos ao estresse térmico calórico têm sua fertilidade reduzida de modo multifatorial. Primeiramente, o aumento exacerbado da temperatura corporal ocasiona injúrias nos tecidos que compõem o trato reprodutivo das fêmeas bovinas, comprometendo a atividade folicular ovariana e também reduz a qualidade e viabilidade oocitária, reduzindo a taxa de fecundação e aumentando a taxa de perdas embrionárias (HANSEN, 2004; ROTH, 2008; BURNS et al., 2010).

Nos machos, a pele do escroto é geralmente desprovida de gordura subcutânea e é composta por grande quantidade de glândulas sudoríparas adrenérgicas. A

musculatura escrotal é capaz de alterar a área superficial do escroto, permitindo a aproximação dos testículos com o corpo do animal. Como mecanismo de termorregulação, internamente ao escroto, há o plexo pampiniforme, composto por uma vasta rede de vasos sanguíneos responsáveis pela refrigeração do sangue arterial que irriga os testículos. Uma exposição testicular a altas temperaturas e umidade, mesmo por curto período, é suficiente para provocar aumento significativo no número de espermatozoides anormais em animais domésticos (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Machos que frequentemente permanecem expostos à temperatura ambiente superior a 30°C estão propensos a desenvolverem alterações comportamentais, gonadais e sistêmicas. Falhas na termorregulação e aumento da temperatura ambiente podem ocasionar elevação da temperatura escrotal e gonadal. Sob essas condições, o testículo sofre alterações morfofuncionais que acarretam na queda da produtividade e da qualidade espermática. Ocorrem mutações no DNA, aumento de defeitos morfológicos das células espermáticas, diminuição da produção de gametas e redução de células móveis, podendo causar baixa fertilidade ou até infertilidade do animal (BEDFORD, 2004; HUANG et al., 2000).

1.4 FATORES ENDÓCRINOS DA REPRODUÇÃO EM MACHOS

Sabe-se que na maioria dos mamíferos, a espermatogênese depende do funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário-testicular, o qual envolve ações hormonais e seus mecanismos de retroalimentação. O controle endócrino deste eixo é composto por mudanças dinâmicas nos padrões de secreção dos hormônios hipotalâmicos (o hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH), hipofisários (hormônio folículo estimulante – FSH e hormônio luteinizante – LH), hormônios testiculares (os andrógenos) e da inibina. Quando ocorre supressão das gonadotrofinas em um animal adulto, a produção espermática é anulada (MCLACHLAN et al., 1996). Contudo, também há uma série de outros hormônios envolvidos na espermatogênese, como o hormônio do crescimento (GH), a prolactina e a insulina, que apresentam efeitos em diferentes tipos celulares, inclusive nos testículos (MATSUMOTO, 1989).

Resumidamente, quando o hipotálamo é estimulado, este libera o hormônio GnRH que se comporta de forma pulsátil e estimula a produção e secreção das

gonadotrofinas hipofisárias, que são o FSH e o LH. O FSH se liga às células de Sertoli para promover a liberação de inibina, ativina, ABP (proteína carreadora de andrógenos) e também exerce ação sinérgica à testosterona. Já o LH possui a função de estimular as células de Leydig a produzirem testosterona. Esses e outros fatores estão relacionados à ocorrência da espermatogênese (MATSUMOTO, 1989).

O desempenho reprodutivo de machos bovinos depende das melhorias constantes das técnicas de manejo dentro da pecuária, porém, é de suma importância o conhecimento da fisiologia do desenvolvimento testicular e de todos os outros fatores que levam a espermatogênese normal (MOURA et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2011; COSTA et al., 2015). A produção espermática é dependente de inúmeros fatores, dentre estes a idade, estado nutricional, genética, ambiente e alimentação, sendo variáveis que, ao sofrerem alterações, podem influenciar tanto na produção quanto na qualidade do sêmen produzido pelo animal (SANTOS et al., 2008; CHACUR et al., 2013; CUNHA et al., 2015).

REFERÊNCIAS

ABDUREHMAN A. Physiological and anatomical adaptation characteristics of Borana cattle to pastoralist lowland environments. **Asian Journal of Biological Sciences**, v.12, p. 364–372, 2019.

AJMONE-MARSAN, P.; GARCIA, J. F.; AND LENSTRA, J. A. On the origin of cattle: How aurochs became cattle and colonized the world. **Evolutionary Anthropology**, v.19, p. 148–157, 2010. doi: 10.1002/evan.20267

AMES, D. Thermal Environment Affects Production Efficiency of Livestock. **BioScience**, v.30, p.457–460, 1980.

AVENDANO, R.L.; ALVAREZ, V.F.D.; CORREA, C.A.; SAUCEDO, Q.J.S.; ROBINSON, P.H.; FADEL, J.G. Effect of cooling Holstein cows during the dry period on postpartum performance under heat stress conditions. **Livestock Production Science**, v.105, p.198-206, 2006.

BADINGA, L.; THATCHER, W.W.; DIAZ, T.; DROST, M.; WOLFENSON, D. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows: **Theriogenology**, v.39, p.797-810, 1971.

BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. *Ambiência em Edificações Rurais: Conforto Animal*. 2 ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010, 269p.

BALBINO, L.C.; CORDEIRO, L.A.M.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; MORAES, A.; MARTÍNEZ, G.B.; ALVARENGA, R.C.; KICHEL, A.N.; FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P.; FRANCHINI, J.C.; GALERANI, P.R. Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.10, p. 1-12, 2011.

BAUMGARD, L. H.; RHOADS, R. P. Ruminant production and metabolic responses to heat stress. **Journal of Animal Science**, v.90, p.1855-1865, 2012.

CASTRO-PÉREZ B.I.; ESTRADA-ANGULO A.; RÍOS-RINCÓN F.G.; NÚÑEZ-BENÍTEZ V.H.; RIVERA-MÉNDEZ C.R.; URÍAS-ESTRADA J.D.; ZINN R.A.; BARRERAS A.; PLASCENCIA A. The influence of shade allocation or total shade plus overhead fan on growth performance, efficiency of dietary energy utilization, and carcass characteristics of feedlot cattle under tropical ambient conditions. **Journal of Animal Science**, v.33, p.1034-1041, 2020. doi: 10.5713/ajas.19.0112.

BEDFORD, J. M. Enigmas of mammalian gamete form and function. **Biological Reviews**, v.79, p.429-460, 2004.

BELASCO, E.J.; CHENG, Y.; SCHROEDER, T.C. The impact of extreme weather on cattle feeding profits. **Journal of Agricultural and Resource Economics**, v.40, p.285–305, 2015.

BROOM, D. M.; GALINDO, F. A; MURGUEITIO, E. Sustainable, efficient livestock production with high biodiversity and good welfare for animals. Proceedings of the Royal Society B: **Biological Sciences**, v.280, p.1471–2954, 2013.

UFFINGTON D.E.; COLAZZO-AROCHO A.; CATON G.H.; CATON G.H.; PITT D.; THATCHER W.W. COLLIER R.J. Black globe humidity comfort index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transactions of the ASAE**, v. 24, p. 711-714, 1981.

BURNS, B.M.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R.G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf – Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.1-22, 2010.

CHACUR, M. G. M. et al. Seasonal effects on semen and testosterone in zebu and taurine bulls. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, p.1110, 2013.

COSTA, D. F. et al. Influência do estresse calórico na fisiologia hormonal de bovinos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 11, n. 2, p. 33-38, 2015.

CUNHA, M. S. et al. Degeneração testicular em machos: dos animais ao homem. **Revista Investigação**, v. 14, n. 6, p. 54-61, 2015.

CURTIS A.K.; SCHARF B.; EICHEN P.A.; SPIERS D.E. Relationships between ambient conditions, thermal status, and feed intake of cattle during summer heat stress with access to shade. **Journal of Thermal Biology**, v.63, p.104–111, 2017.

DOMICIANO, L.F.; MOMBACH, M.A.; CARVALHO, P.; SILVA, N.M.F.; PEREIRA, D.H.; CABRAL, L.S.; LOPES, L.B.; PEDREIRA, B.C. Performance and behaviour of Nellore steers on integrated systems. **Animal Production Science**, v.58, p.920–929, 2016. <https://doi.org/10.1071/AN16351>.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Marco referencial Integração Lavoura-Pecuária e Floresta. Embrapa: Brasília, 132p, 2011.

FIGUEIREDO, E.B.; JAYASUNDARA, S.; BORDONAL, R.O.; REIS, R.A.; WAGNER-RIDDLE, C.; LA SCALA, N. Greenhouse gas balance and carbon footprint of beef cattle in three contrasting pasture-management systems in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v.142, p.420–431, 2017. [dx.doi.org/ 0.1016/j.jclepro.2016.03.132](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.03.132)

GAMARRA, É.; MORAIS, M.; ALMEIDA, R.; AGUIAR, P.N.; PEREIRA, M.; OLIVEIRA, C. Beef cattle production in established integrated systems. **Journal Semina Ciências Agrárias**, v.38, p.3241–3252, 2017. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3241>.

GIRO A.; PEZZOPANE J.R.M.; BARIONI JUNIOR W.; PEDROSO A.F.; LEMES A.P.; BOTTA D.; ROMANELLO N.; BARRETO A.N.; GARCIA A.R. Behavior and body surface temperature of beef cattle in integrated crop-livestock systems with or without tree shading. **Science of the Total Environment**, v.684, p.587-596, 2019. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.377

GUIMARÃES, J. D. Seleção e manejo reprodutivo de touros zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 379-388, 2011.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reprodução animal. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004, 513p.

HAHN, G.L. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, Supp. 2, p.10-20, 1999.

HANSEN, P. J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. **Philosophical Transactions of Royal Society of London, Series B, Biological Sciences**, v.364, p.3341-3350, 2009.

HANSEN, P.J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.349-360, 2004.

HENRY, B. K.; ECKARD, R. J.; BEAUCHEMIN, K. A. Review: Adaptation of ruminant livestock production systems to climate changes. **Animal**, v.12, p.445–456, 2018. doi: 10.1017/S1751731118001301

HOFFMANN, I. Climate change and the characterization, breeding and conservation of animal genetic resources. **Animal Genetics**, v.41, p.32–46, 2010. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02043.x

HUANG, S. Y.; KUO, Y. H.; LEE, Y. P.; TSOU, H. L.; LIN, E. C.; JU, C. C.; LEE, W. C. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boars. **Animal Reproduction Science**, v.63, p.231-240, 2000.

KARVATTE, N.; KLOSOWSKI, E.S.; DE ALMEIDA, R.G.; MESQUITA, E.E.; DE OLIVEIRA, C.C.; AND ALVES, F.V. Shading effect on microclimate and thermal comfort indexes in integrated crop-livestock-forest systems in the Brazilian Midwest. **International Journal of Biometeorology**, v.60, p.1933–1941, 2016.

LEMES, A.P., GARCIA, A.R., PEZZOPANE, J.R.M. et al. Silvopastoral system is an alternative to improve animal welfare and productive performance in meat production systems. **Scientific Reports**, v.11, p.14092, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93609-7>

LITTLEJOHN, M. D.; HENTY, K. M.; TIPLADY, K.; JOHNSON, T.; HARLAND, C.; LOPDELL, T. Functionally reciprocal mutations of the prolactin signalling pathway define hairy and slick cattle. **Nature Communications**, v.5, p.5861, 2014. doi: 10.1038/ncomms6861

MADER, T.L.; GRIFFIN, D. Management of Cattle Exposed to Adverse Environmental Conditions. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.31, 2p.47–258, 2015.

MATSUMOTO, A. Hormonal control of spermatogenesis. In: BURGER, H.; DE KRETZER, D. (Ed.). *The Testis*. 2. ed. Nova Iorque: Raven Press, 1989, p. 181-196.

MCLACHLAN, R. I.; WREFORD, N. G.; O'DONNELL, L.; KRETZER, D. M.; ROBERTSON, D. M. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. **Journal of Endocrinology**, v.148, n.1, p. 1-9, 1996.

MCMANUS, C.; TANURE, C. B.; PERIPOLLI, V.; SEIXAS, L.; FISCHER, V.; GABBI, A. M.; COSTA, J. B. G. Infrared thermography in animal production: an overview. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.123, p.10-16, 2016

MORAES, A.; CARVALHO, F.P.C.; ANGHINONI, I.; LUSTOSA, S.B.C.A.; COSTA, S.E.V.G.; KUNRATH, T.R. Integrated crop-livestock systems in the Brazilian subtropics. **European Journal of Agronomy**, v.57, p.4–9, 2014.

MOURA, A. A. A.; RODRIGUES, G. C.; MARTINS FILHO, R. Desenvolvimento ponderal e testicular, concentrações periféricas de testosterona e características de abate em touros da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 934-943, 2002.

MOURA ABB, BRANDÃO FZ, ESTEVES SN, NUNES DE SOUZA G, FONSECA JFD, PANTOJA MHA, ROMANELLO N, BOTTA D, GIRO A, GARCIA AR. Differences in the thermal sensitivity and seminal quality of distinct ovine genotypes raised in tropical conditions. **Theriogenology**. v.1, p.123:123-131, 2019 Doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.09.037

MWAI, O.; HANOTTE, O.; KWON, Y.-J.; CHO, S. Invited Review - African Indigenous Cattle: Unique Genetic Resources in a Rapidly Changing World. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.28, 911–921, 2015. doi: 10.5713/ajas.15.0002r

NASKAR, S.; GOWANE, G. R.; CHOPRA, A. Strategies to Improve Livestock Genetic Resources to Counter Climate Change Impact. In *Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation Adapt. Mitigat*, v.332, p.441–475, 2015. doi: 10.1007/978-81-322-2265-1_25

OLIVEIRA, C.C.; VILLELA, S.D.; DE ALMEIDA, R.G.; ALVES, F.V.; BEHLINGNETO, A.; MARTINS, P.G. Performance of Nelore heifers, forage mass, and structural and nutritional characteristics of *Brachiaria brizantha* grass in integrated production systems. **Tropical Animal Health Production**, v.46, p.167–172, 2014.

PANTOJA MHA, ESTEVES SN, JACINTO MAC, PEZZOPANE JRM, PAZ CCP, SILVA JARD, LOURENÇO JUNIOR JB, BRANDÃO FZ, MOURA ABB, ROMANELLO N, BOTTA D, GARCIA AR. Thermoregulation of male sheep of indigenous or exotic breeds in a tropical environment. **Journal Thermal Biology**. v.69, p. 302-310, 2017. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.09.002.

PONTES, L.S.; BARRO, R.S.; SAVIAN, J.V.; BERNDT, A.; MOLETTA, J.L.; PORFÍRIO, S.V.; BAYER, C.; CARVALHO, P.C.F. Performance and methane emissions by beef heifer grazing in temperate pastures and in integrated crop-livestock systems: the effect of shade and nitrogen fertilization. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.253, p.90–97, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.009>.

RANDALL, M. The Physiology of Stress: and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. DUJS Online - The Dartmouth Undergraduate. **Journal of Science**. Fall 2010.

ROMANELLO N, LOURENÇO JUNIOR JB, BARIONI JUNIOR W, BRANDÃO FZ, MARCONDES CR, PEZZOPANE JRM, PANTOJA MHA, BOTTA D, GIRO A, MOURA ABB, BARRETO AN, GARCIA AR. Thermoregulatory responses and reproductive traits in composite beef bulls raised in a tropical climate. **International Journal Biometeorology**.v.62(9), p.1575-1586, 2018. Doi:10.1007/s00484-018-1557-8

RONCHI, B.; STRADAIOLI, G.; VERINI SUPPLIZI, A.; BERNABUCCI, U.; LACETERA, N.; ACCORSI, P. A.; NARDONE, A. AND SEREN, E. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. **Livestock Production Science**, v.68, p. 231-241, 2001.

ROTH, Z. Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43 (Suppl. 2), p.238-244, 2008.

Salla, L.E., Pires, M.F.A., Moraes, D.F., Dias, M., Oliveira, P., and Cunha Santos, B. Efeito da disponibilidade de sombra sobre o conforto térmico de novilhas leiteiras, **Cadernos de Agroecologia**, p.4, 2009.

SALTON, J.C.; MERCANTE, F.M.; TOMAZIA, M.; ZANATTA, J.A.; CONCENÇO, G.; SILVA, W.M.; RETORE, M. Integrated crop-livestock system in tropical Brazil: toward a sustainable production system. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.190, p.70–79, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.09.023>.

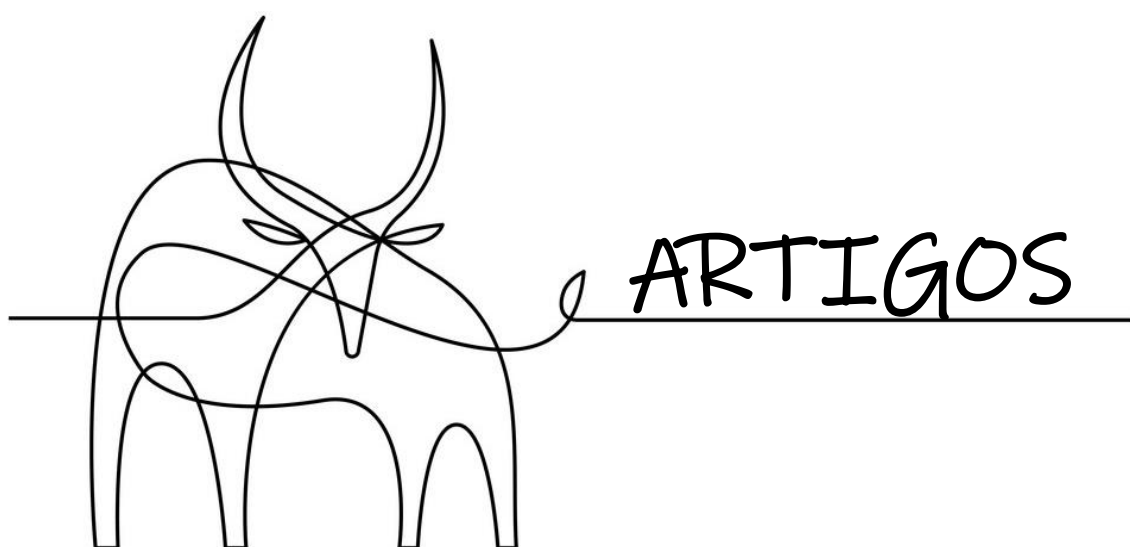
SANTOS, M. D. et al. Testes morphology and sperm quality of Nelore bulls fed a gossypol-enriched diet. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 134-139, 2008.

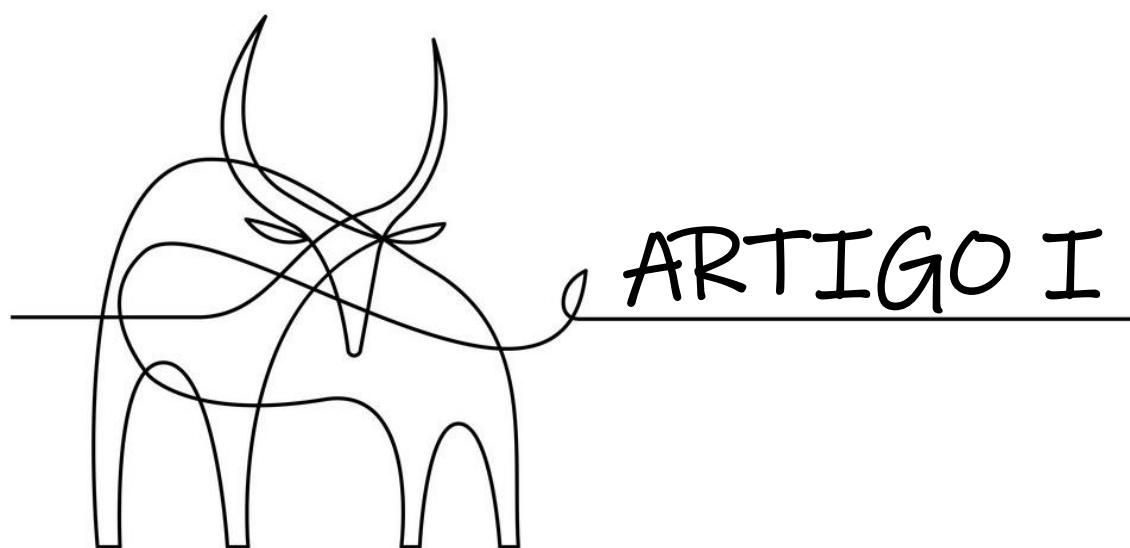
SOUZA, L.A.S.; MATARAZZO, S.V.; CARNEVALLI, R.A.; TOLEDO, L.M. Physiological and behavioral responses of dairy heifers in an integrated-crop-livestock-forestry system. **African Journal of Agricultural Research**, v.12, p.1278–1285, 2017. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11918>.

STEWART, M.; WEBSTER, J.R.; SCHAEFER, A.L.; COOK, N.J.; SCOTT, S.L. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. **Animal Welfare**, v.14, p.319-325, 2005.

LEITE DA SILVA, W.A.; POEHLAND, R.; CARVALHO DE OLIVEIRA, C. Shading effect on physiological parameters and in vitro embryo production of tropical adapted Nelore heifers in integrated crop-livestock-forest systems. **Tropical Animal Health Production**, v.52, 2273–2281, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02244-3>

YATES, C.; DORWARD, P.; HEMERY, G.; COOK, P. The economic viability and potential of a novel poultry agroforestry system. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.69, p.13–28, 2007. <https://doi.org/10.1007/s10457-006-9015-8>





ARTIGO I - Diferenças das características reprodutivas de touros Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus x Bos indicus*) mantidos em sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta e sistema a pleno sol em ambiente tropical

**Artigo a ser submetido ao Periódico Andrology (Online ISSN:2047-2927), Qualis A2 em Medicina Veterinária e JCR 3,842*

Resumo

Estratégias de manejo com o a intenção de minimizar os efeitos adversos das intempéries ambientais sobre a eficiência reprodutiva de touros bovinos de corte têm se tornado cada vez mais importante. O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade termorregulatória escrotal, a integridade do parênquima testicular e a qualidade seminal de touros bovinos mantidos em diferentes sistemas de pastejo. Foram utilizados 64 touros bovinos ($24 \pm 1,3$ meses; $412 \pm 22,6$ kg), 32 animais da raça Nelore (*Bos indicus*) e 32 da raça Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*). Os tratamentos eram: Sistema a pleno sol (PS) e Sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF). O período experimental foi de treze meses. Mensalmente os touros passaram por avaliação de parâmetros fisiológicos, hormonais e andrológicos. Variáveis bioclimatológicas foram monitoradas continuamente. O volume testicular direito foi menor nos animais mantidos em PS ($247,5 \pm 5,7$, cm³) do que iLPF ($259 \pm 5,7$, cm³). A homogeneidade do parênquima testicular esquerdo (HOMD, 0 a 2) e a hipercogenidade do parênquima direito (HIPD, 0 a 3) apresentaram valores mais elevados no PS ($0,7 \pm 0,04$, HOMD; $1,4 \pm 0,09$, HIPD) comparado ao iLPF ($0,6 \pm 0,04$, HOME $1,3 \pm 0,09$, HIPE). As temperaturas de superfície foram maiores em animais da raça Canchim do que Nelore, nas regiões de funículo espermático ($36,3 \pm 0,1$ vs $35,9 \pm 0,1$ °C, $P < 0,05$) e polo testicular dorsal ($34,8 \pm 0,1$ vs $34,5 \pm 0,1$ °C, $P < 0,05$) e no gradiente térmico Retal - Cauda do Epidídimo (Grad3) ($9,0 \pm 0,1$ vs $7,7 \pm 0,1$ °C, $P < 0,05$), respectivamente. Os defeitos maiores das células espermáticas foram mais expressivos no Canchim do que no Nelore, no verão I ($9,2 \pm 0,8$ vs $7,2 \pm 0,8$, %), outono ($11,2 \pm 0,8$ vs $7,3 \pm 0,8$, %), inverno ($9,4 \pm 0,8$ vs $4,8$, %) e primavera ($5,5 \pm 0,8$ vs $3,3$, %), respectivamente. Os resultados apresentaram que o sistema iLPF foi eficaz em minimizar os efeitos adversos ambientais sobre a eficiência reprodutiva de touros bovinos de corte.

Palavras-chave: Andrologia animal, touro, termorregulação, sistemas integrados, termografia infravermelha, qualidade espermática.

Abstract

Management strategies with the intention of minimizing the adverse effects of environmental storms on the reproductive efficiency of beef bulls have become increasingly important. The aim of this study was to evaluate the scrotal thermoregulatory capacity, testicular parenchyma integrity and seminal quality of bovine bulls kept in different grazing systems. The experiment had 64 bovine bulls (24 ± 1.3 months; 412 ± 22.6), 32 Nellore (*Bos indicus*) and 32 Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*). The treatments were: Full sun system (Full Sunlight - FS) and Shaded crop-livestock-forest integration system (Crop-Livestock-Forestry – CLF). The experimental period was thirteen months. The bulls were monthly measured for physiological, hormonal and andrological parameters. Bioclimatological variables were continuously monitored. The right testicular volume was smaller in animals kept in FS (247.5 ± 5.7 , cm³) than in CLF (259 ± 5.7 , cm³). The homogeneity of the left testicular parenchyma (LHM, 0 to 2) and the hyperechogenicity of the right parenchyma (RHY, 0 to 3) had higher values in the FS (0.7 ± 0.04 , LHM; 1.4 ± 0.09 , RHY) compared to CLF (0.6 ± 0.04 , LHM 1.3 ± 0.09 , RHY). Surface temperatures were higher in Canchim than Nellore animals, in the spermatic cord (36.3 ± 0.1 vs 35.9 ± 0.1 °C, $P < 0.05$) and dorsal testicular pole (34.8 ± 0.1 vs 34.5 ± 0.1 °C, $P < 0.05$) and in the Rectal Thermal Gradient - Epididymis Tail (Grad3) (9.0 ± 0.1 vs 7.7 ± 0.1 °C, $P < 0.05$), respectively. Major sperm cell defects were more expressive in Canchim than in Nellore, in summer I (9.2 ± 0.8 vs 7.2 ± 0.8 %), autumn (11.2 ± 0.8 vs 7.0 ± 0.8 %), winter (9.4 ± 0.8 vs 4.8 %) and spring (5.5 ± 0.8 vs 3.3 %), respectively. The results showed that the CLF system was effective in minimizing the adverse environmental effects on the reproductive efficiency of beef bulls.

Keywords: Animal andrology, bull, thermoregulation, integrated systems, infrared thermography, semen quality.

Introdução

Estimativas apontam que até 2050 a demanda global por alimentos aumentará 46%, com mudanças na estrutura do requerimento, que ampliará em 95% a exigência por calorias advindas de produtos de origem animal (Gouel e Guimbard, 2017). Nesse cenário, prevê-se que os países emergentes possam responder por grande parcela da produção mundial de proteína de origem animal (FAO, 2020). Porém, um dos entraves para maior produtividade animal em países localizados na zona intertropical, região geográfica onde se localiza a maioria dos países em desenvolvimento, é o desafio climático. Primariamente, altos índices de temperatura e umidade do ar constituem um fator limitante para a produção de alimentos, por impactarem negativamente nos índices reprodutivos dos rebanhos destinados a produção de leite ou carne (Lees et al., 2019; Abbas et al., 2020).

Bovinos de raças zebuínas se destacam positivamente quanto a resistência parasitária e adaptabilidade às diversas condições ambientais (Bhat et al., 2016). Por isso, a realização de cruzamentos entre animais zebuínos e taurinos é uma prática amplamente realizada em todo o mundo, no intuito de se obter animais mais adaptados a diversos ambientes e com elevado desempenho zootécnico, o que é possível mediante os efeitos genéticos aditivos da heterose (Leal et al., 2018; Cundiff, 1970). Porém, é importante desmistificar a invulnerabilidade dos animais zebuínos ou seus cruzamentos em relação a ambientes com alta temperatura e umidade (Felton-Taylor et al., 2020), pois estas são variáveis que comprometem diretamente sua eficiência produtiva (Carvajal et al., 2021). Adicionalmente, são escassos os conhecimentos a respeito dos mecanismos de termotolerância desses animais (Onasanya et al., 2020), em especial quando se considera o efeito da radiação de ondas curtas incidentes no meio ambiente e as respostas reprodutivas específicas quanto à termorregulação escrotal e integridade física e funcional das gônadas.

Sabe-se que animais submetidos ao estresse calórico tornam-se mais suscetíveis a desenvolverem alterações em suas funções fisiológicas (Sejian et al., 2018). Nos animais homeotérmicos, como os bovinos, a manutenção do equilíbrio interno com o ambiente externo está diretamente relacionada a sua capacidade de acionar mecanismos termorregulatórios de modo satisfatório (Renaudeau et al., 2011). Quando estes mecanismos não são eficientes, há comprometimento do desempenho zootécnico (Gaughan et al., 2010). Nos touros, a elevação da temperatura ambiente também pode

causar alterações gonadais (Setchell, 1998). Em situações de hipertermia, quando a termorregulação testicular não ocorre de modo apropriado, o metabolismo testicular aumenta e há redução do aporte sanguíneo local. Isso leva à hipóxia celular e, conseqüentemente, ao estabelecimento de um quadro patológico de degeneração testicular (Velickovic et al., 2014; Alves et al., 2016; Gonçalves et al., 2021), com efeitos negativos evidentes na espermatogênese e na qualidade seminal (Garcia, 2017).

Recentemente, estudos que investigam estratégias de manejo no intuito de minimizar o efeito do aumento de temperatura ambiente sobre a eficiência da pecuária de corte têm se tornado mais relevantes (Summer et al., 2019). Nesse contexto, o sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) tem sido apresentado como alternativa para integração dos componentes do sistema produtivo, visando atingir patamares cada vez mais elevados de enriquecimento ambiental, qualidade do produto final e competitividade (Broom et al., 2013; Pezzopane et al., 2019). Inicialmente projetado para a recuperação de solos e pastagens degradadas, o sistema iLPF também se destaca ao melhorar as condições de microclima, minimizando o calor e a radiação solar direta sobre os animais por meio do sombreamento natural ofertado pelo componente arbóreo (Giro et al., 2019). Contudo, apesar dos recentes estudos sobre os potenciais efeitos benéficos sobre o bem-estar e o conforto térmico dos animais (Karvatte Junior et al., 2016; Lemes et al., 2021), são escassas as informações científicas sobre o efeito desses modelos mais sustentáveis de produção sobre as características reprodutivas de touros neles mantidos.

Adicionalmente, do ponto de vista global, desde o período pré-industrial, a temperatura média do ar tem aumentado consideravelmente mais que a temperatura da superfície de continentes e oceanos (IPCC, 2021). Essas mudanças têm aumentado a frequência e a intensidade de eventos climáticos extremos, como severas ondas de calor (Rogers et al., 2021), o que tem impactado na segurança alimentar e contribuído para a desertificação e degradação de muitas regiões (IPCC, 2021). Sendo assim, a adoção de estratégias de manejo ambiental, como a inserção do componente arbóreo nos sistemas de produção, para mitigar os impactos de eventos extremos na reprodução animal torna-se essencial. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade termorregulatória escrotal, a integridade do parênquima testicular e a qualidade seminal de touros bovinos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*), quando mantidos em sistema de pastejo rotacionado intensivo com ou sem a presença

de sombreamento ofertado por componente arbóreo, em região de clima tropical. Com isso, pretende-se ampliar informações sobre estratégias de manejo reprodutivo capazes de contribuir para a maior eficiência e seleção de touros bovinos mais adaptados ao ambiente tropical.

Material e Métodos

Local, caracterização climática e período

O experimento foi conduzido na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP, Brasil (21°57'42''S, 47°50'28''W, altitude 860 m). O tipo climático local é Cwa, tropical de altitude, conforme classificação de Köppen-Geiger (Kottek et al, 2006), com quatro estações climáticas definidas: Verão (dezembro a março), Outono (março a junho), Inverno (junho a setembro) e Primavera (setembro a dezembro). O verão é caracterizado pelos altos índices de temperatura do ar, umidade relativa e pluviosidade, enquanto o inverno é a estação de menores temperaturas, umidade e pluviosidade (Embrapa, 2021). O outono e primavera são considerados estações transicionais entre verão e inverno quanto às características biometeorológicas. O período experimental perdurou treze meses, de janeiro de 2018 a janeiro de 2019, contemplando um total de cinco estações climáticas consecutivas, denominadas no delineamento experimental como Verão I, Outono, Inverno, Primavera e Verão II.

Bioética

O experimento foi conduzido em conformidade com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (Brasil, 2016). Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais Experimentais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (protocolo CEUA nº 4361040917). Os resultados foram reportados de acordo com o The ARRIVE Guidelines (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) (Kilkenny et al., 2010).

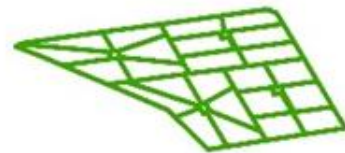
Caracterização dos Sistemas de Produção e Tratamentos

A área experimental era composta por dois diferentes sistemas de produção (Figura 1), os quais correspondem aos tratamentos, a saber: I) Sistema a pleno sol (PS): sistema de pastagens com área de 12 ha, para pastejo rotacionado intensivo de

Brachiaria brizantha (cv Piatã), sem presença significativa de árvores nem elementos de sombreamento artificial. II) Sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF): sistema idêntico ao anterior em área e tipo de forragem, com diferencial de possuir árvores de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) dispostas em linhas simples, no sentido leste-oeste, com espaçamento de 15 metros entre linhas e 4 metros entre plantas (165 árvores/ha). As árvores determinam área de sombreamento útil de 30%. Em ambos os sistemas, a rotação dos animais nos piquetes ocorreu a cada 6 dias, com tempo de descanso da pastagem de 30 dias, perfazendo ciclos de pastejo de 36 dias. O sistema com arborização foi implantado em abril de 2011, momento no qual as árvores foram organizadas em fileiras únicas, com espaçamento de 15 metros entre linhas e 2 metros entre árvores na linha, caracterizando densidade de 333 árvores/ha. Com o crescimento natural das árvores, a fim de manter o equilíbrio com os demais componentes do sistema, em junho de 2016 foi realizada remoção de 50% das árvores dentro de cada subsistema, aumentando o espaçamento entre árvores para 4 metros e determinando a densidade arbórea utilizada no presente experimento (165 árvores/ha).



ILPF



Pleno Sol



B



Figura 1. (A) e (B) Mapas dos sistemas de produção em pastagens a pleno sol (PS) (delimitado por linha vermelha) e em Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) (delimitado por linha verde) implantados na Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP, (C) Fotografias com detalhe dos sistemas de pastagens de *Brachiaria brizantha* a pleno sol e (D) com arborização. (Fonte: Arquivos Garcia AR, 2021; Maio AMD, 2019).

Variáveis meteorológicas

A caracterização microclimática foi obtida de modo ininterrupto por meio de estações meteorológicas automáticas, uma instalada na área do sistema PS, e outra na área sombreada do sistema iLPF, com o intuito de registrar suas peculiaridades microclimáticas. Os registros foram realizados a cada quinze segundos, com saídas de dados programadas a cada cinco minutos, originando 113.760 registros em cada estação meteorológica e 46.657 registros por equipamento. Ao banco de dados foi aplicado o critério de análise de concentração de registros entre 08h00 e 16h00, conforme metodologia adotada por Magalhães (et al., 2020), que abrange os momentos do dia de temperatura ambiente mais elevada e radiação solar mais intensa (Pezzopane et al., 2019). As variáveis estudadas foram temperatura do ar (TA, °C), temperatura de globo negro (TGN, °C), umidade relativa (UR, %) e velocidade do vento (VV, m/s). Com base nestas, foram calculados o Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) (Buffington et al., 1981) e a Carga Térmica Radiante (CTR, W/m²) (Esmay, 1978) para cada sistema de produção (Figura 2).

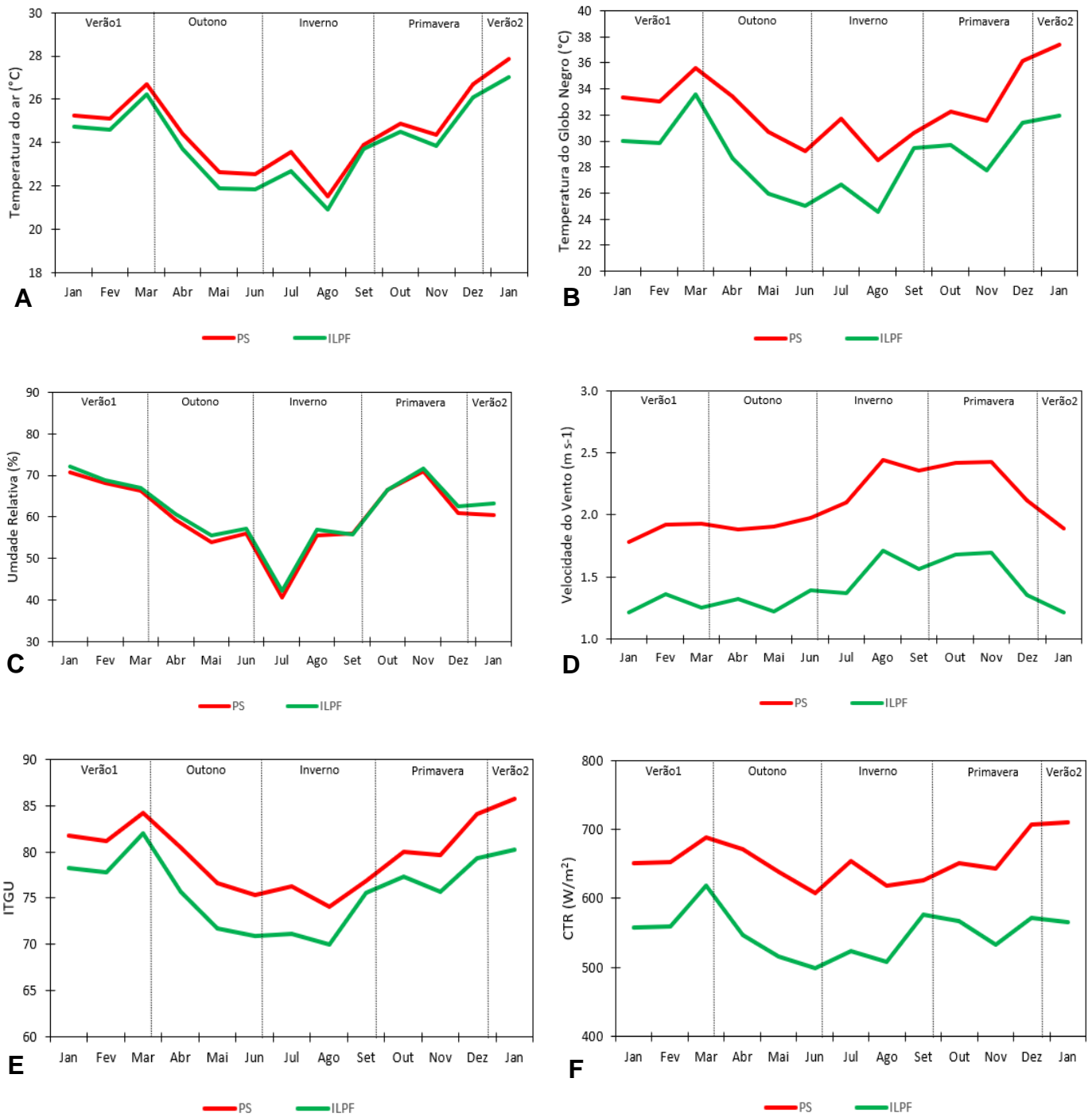


Figura 2. Valores médios da (A) temperatura do ar (TA), (B) temperatura do globo negro (TGN), (C) umidade relativa (UR), (D) velocidade do vento (VV), (E) Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) e (F) Índice de Carga Térmica Radiante (CTR) registrados entre 08h00 e 16h00 no sistema a pleno sol (PS) e no sistema com arborização (iLPF), em ambiente tropical.

Animais experimentais e manejo

Foram utilizados 64 touros bovinos, sendo 32 animais da raça Nelore (*Bos indicus*) e 32 da raça Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*). Ao início do experimento, os animais apresentavam, em média, 24 meses de idade, 412 kg e escore de condição corporal $5,9 \pm 0,1$ (escala de 1 a 9, conforme Cooke et al., 2009). A fim de garantir a homogeneidade dos animais experimentais, os touros foram pré-selecionados considerando sua condição clínico-reprodutiva, dentre um rebanho de 175 touros contemporâneos nascidos e criados no mesmo sistema de produção a pasto, previamente ao presente experimento. Dos touros selecionados, foram alocados 16 Nelore e 16 Canchim no sistema a pleno sol (PS, n=32) e 16 Nelore e 16 Canchim no sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF, n=32). Os animais foram inseridos em seus respectivos sistemas de produção 30 dias antes do início das coletas de dados, a fim de acomodá-los e evitar qualquer tipo de estresse comportamental com relação ao novo espaço de permanência. Os touros foram mantidos sob iguais condições sanitárias e nutricionais, com acesso *ad libitum* à água em bebedouros automáticos e a suplementação mineral em cochos cobertos, localizados no centro de manejo de cada sistema.

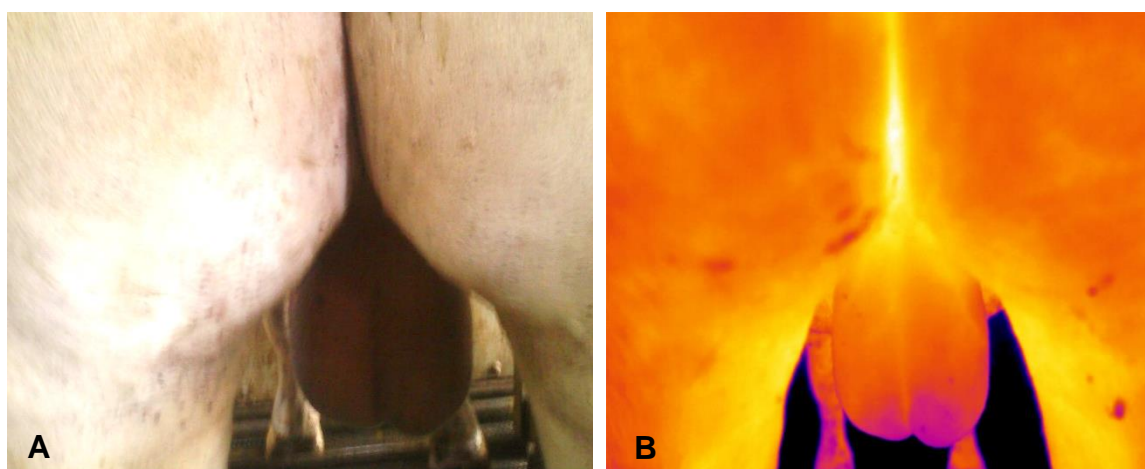
Avaliação da temperatura interna corpórea

A temperatura interna corpórea foi avaliada por meio da aferição de termometria clínica por via transretal (TR, °C) (Rosenberger et al., 1993), sendo aferida mensalmente com termômetro digital, sempre das 11h00 às 14h30, com intuito de contemplar o horário do dia de maior desafio térmico. Os animais eram conduzidos ao passo até curral de manejo contíguo às áreas de pastagem (400 metros), e eram contidos em brete para avaliação, abrigado de radiação solar direta e chuva. Adotou-se o critério de deslocar os animais para avaliação no curral sempre em pequenos lotes de manejo de oito animais, que eram conduzidos em ordem alternada a cada data estabelecida para a coleta de dados. Esse cuidado de delineamento foi adotado com o intuito de impossibilitar uma ordem fixa de entrada dos animais, e evitar que os dados dos animais fossem influenciados pelo avançar do horário, dentro da janela de tempo estipulada.

Avaliação da temperatura de superfície escrotal e gradientes térmicos

As temperaturas de superfície escrotal dos animais foram avaliadas mensalmente por termografia infravermelha, com uso de termógrafo portátil com câmera digital integrada (Testo 890-2 kit, Testo AG, Lenzkirch, Alemanha), equipada com lente 42° x 32° (15 mm), resolução geométrica (IFOV) de 1,13 mrad, resolução no infravermelho de 640 x 480 pixels, sensibilidade térmica de <40 mK (<0,04 °C a temperatura ambiente de +30 °C), faixa de temperatura de 0 a +350 °C, na opção de foco manual. A emissividade adotada foi de 0,98 (Romanello et al., 2018). As imagens foram geradas pelo mesmo operador, em curral de manejo, nos horários de maior desafio térmico do dia (11h00 às 14h30), com distância padronizada em 1,0 m entre o termógrafo e a região de interesse (Figura 3). Os termogramas (n=2,428) passaram por pós-processamento com uso do *software* IRSoft versão 4.5 (Testo AG; Lenzkirch, Alemanha), sendo adotada a técnica de análise por integralização em polígonos e ferramenta de traçado à mão livre (Kotrba et al., 2007; Moura et al., 2019).

Foram determinadas as médias das temperaturas de superfície (°C) das regiões anatômicas do funículo espermático (TFUN), polo testicular dorsal (TPTD), polo testicular ventral (TPTV), cauda do epidídimo (TCEP) e escroto (TESC). As temperaturas dos gradientes (°C) foram determinadas por meio das seguintes equações: Grad1 = (temperatura interna – temperatura do polo testicular dorsal); Grad2 = (temperatura interna – temperatura do polo testicular ventral); Grad3 = (temperatura interna – temperatura da cauda do epidídimo); Grad4 = (temperatura do polo testicular dorsal – temperatura do polo testicular ventral).



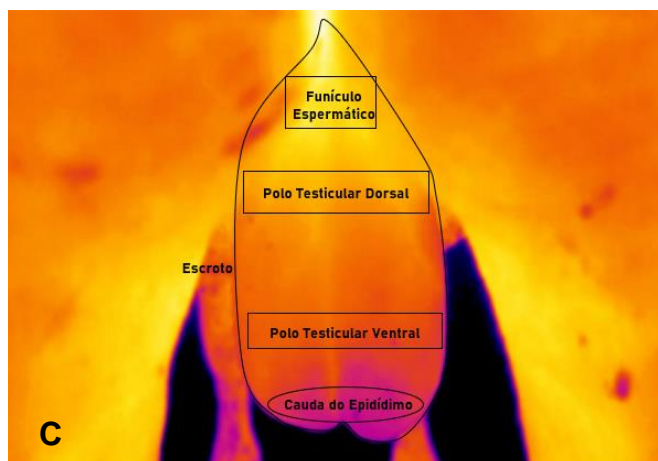


Figura 3. Imagens ilustrativas da região escrotal de touro bovino em abordagem caudal, geradas com (A) câmera digital integrada no espectro visível; (B) câmera termográfica de infravermelho (termograma parametrizado para escala de 28,5 a 38,5 °C e paleta iron); (C) Análise por integralização em polígonos e ferramenta de traçado à mão livre das regiões anatômicas do funículo espermático, polo testicular dorsal, polo testicular ventral, cauda do epidídimo e escroto. (Fonte: Arquivo pessoal).

Biometria, consistência e volume testicular

As avaliações biométricas foram realizadas mensalmente. A mensuração do perímetro escrotal (PE, cm) foi realizada com fita maleável graduada em mm na região de maior perímetro do escroto (CBRA, 2013). Para determinar o volume dos testículos direito e esquerdo (VOL, cm³), estes foram mensurados individualmente quanto a largura e comprimento, com uso de paquímetro metálico digital (mm). Na sequência, o volume testicular foi obtido por meio da equação do prolato esferoide, sendo volume = $2 \times [4/3 \times \pi \times (\text{larg}/2)^2 \times (\text{comp}/2)]$, conforme Bailey et al, (1998). A avaliação da consistência dos testículos direito (COD) e esquerdo (COE) foi realizada por palpação bilateral e o tônus testicular foi classificado de 1 a 5, onde 1=flácido e 5=firme (CBRA, 2013).

Avaliação da ecotextura do parênquima testicular

A avaliação da ecotextura do parênquima testicular foi realizada mensalmente por exame ultrassonográfico em modo B, com probe linear de 7,5 mHz (DP- 3300 Vet, Mindray, China). Foi avaliada a homogeneidade do parênquima dos testículos direito (HOMD) e esquerdo (HOME, 0 a 2), sendo adotada a seguinte classificação: 0 =

ausência de pontos anecoicos patológicos, 1 = presença de poucos pontos anecoicos patológicos e 2 = presença de muitos pontos anecoicos patológicos. Durante o procedimento, foi também avaliada a presença de pontos hiperecoicos no parênquima dos testículo direito (HIPD) e esquerdo (HIPE) (Figura 4), sendo adotada classificação que considera: 0 = ausência de pontos hiperecoicos; 1 = presença de até cinco pontos hiperecoicos, 2 = presença de mais de cinco pontos hiperecoicos próximos ao mediastino, 3 = presença de mais de cinco pontos hiperecoicos difusos no parênquima testicular (Alves, 2016; Kahwage et al., 2017).

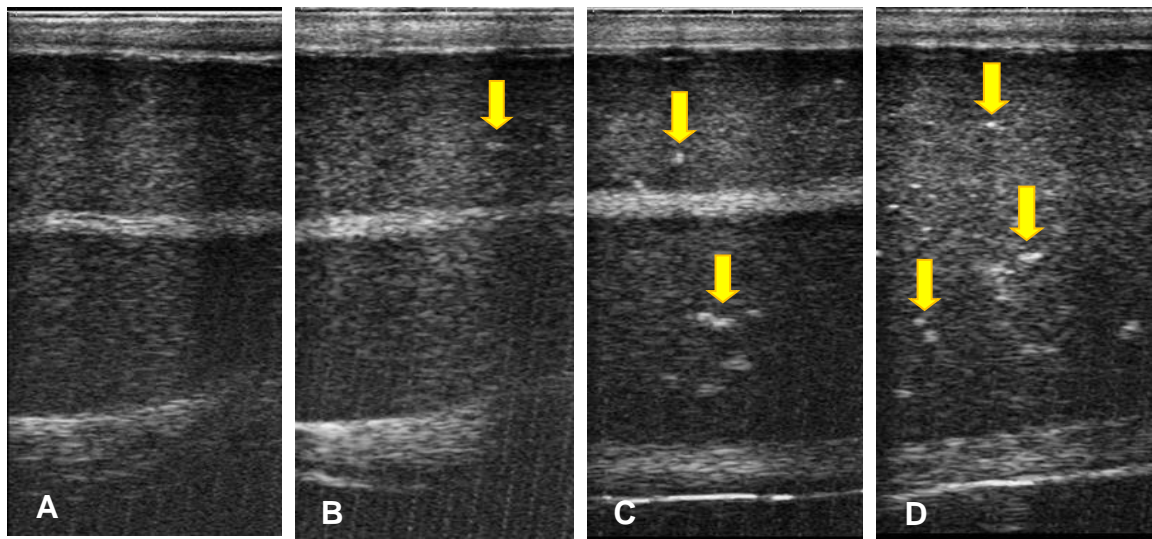


Figura 4. Imagens ultrassonográficas da ecotextura do parênquima testicular em modo B (abordagem longitudinal) realizadas com probe linear de 7,5 mHz, para avaliação do grau de hiperecogeneidade testicular, classificada em escores, (A) Escore 0: ausência de pontos hiperecoicos no parênquima, (B) Escore 1: presença de até cinco pontos hiperecoicos, (C) Escore 2: presença de mais de cinco pontos hiperecoicos próximos ao mediastino e distanciados, (D) Escore 3: presença de mais de cinco pontos hiperecoicos difusos no parênquima testicular, As setas indicam a presença de pontos hiperecoicos (Fonte: Romanello, 2017).

Dosagem de testosterona

A determinação da concentração sérica de testosterona foi realizada por radioimunoensaio. Mensalmente o sangue foi colhido por venopunção em tubos a vácuo siliconizados de 10 mL, sem anticoagulante, sempre das 11h00 às 14h30. As amostras foram centrifugadas a 1,350 x g por 15 minutos para a separação do soro, fracionadas em alíquotas e armazenadas a -20°C em microtubos de polipropileno para posterior análise. As dosagens de testosterona (n=832) foram realizadas com o kit comercial Immu Chemtm Double Antibody Testosterone (MP Biomedicals, Inc. Diagnostics Division, USA). A sensibilidade e o coeficiente intra-ensaio foram de 0,03 ng / mL e 12,2%, respectivamente.

Avaliação das características do sêmen

Para avaliação da qualidade seminal, ejaculados de todos os animais foram coletados mensalmente por eletroejaculação. As amostras (832 ejaculados) foram mantidas a 37 °C durante a execução imediata das análises de vigor espermático (1 a 5) e motilidade espermática progressiva (MP, %), as quais foram avaliadas em microscopia óptica de campo claro (Eclipse E200, Nikon, Japão) com magnificação de 100x (CBRA, 2013). A concentração espermática (CONC, x10⁶ spz/mL) foi avaliada em câmara de Neubauer (1:100). A funcionalidade da membrana plasmática dos espermatozoides (IMP, %) foi avaliada por teste hiposmótico (Revell e Mrode, 1994). Para análise da morfologia espermática, as amostras de sêmen foram fixadas em solução salina tamponada com fosfato de Dulbecco a 5% de formaldeído pré-aquecidas a 37°C. Em cada amostra, 200 células foram analisadas por microscopia de contraste de fase (Eclipse E200, Nikon, Japão), pela técnica da câmara úmida, com magnificação de 1000x. Os espermatozoides foram classificados de acordo com sua morfologia e os resultados foram expressos em percentagem de defeitos menores (%), defeitos maiores (%) e defeitos totais (%), conforme Bloom (1973). A fragmentação da cromatina (%) foi avaliada pela técnica colorimétrica com azul de toluidina (Beletti et al., 2005). A técnica de azul de toluidina, também denominada de metacromasia induzida, é considerada simples, prática e sensível, sendo baseada na suscetibilidade dos grupos fosfatos livres de DNA espermático e não ligados a protaminas em se ligarem aos corantes básicos (Shamsi et al., 2011). Desse modo, quanto maior o número de grupos fosfatos livres, mais corado ficará o DNA, assim, os espermatozoides que apresentarem

coloração azul claro possuem condensação normal da cromatina, no entanto, as células espermáticas que apresentam coloração azul escura ou até violeta, apresentam algum grau de descondensação do DNA (Beletti et al., 2005; Florez-Rodriguez et al., 2014).

Análise estatística

As variáveis relacionadas ao experimento, foram avaliadas considerando um modelo linear misto geral que contemplou os fixos de Estação (verão, outono, inverno primavera ou verão), Raça (Nelore ou Canchim), Tratamento (PS ou iLPF), interações duplas Estação x Raça, Estação x Tratamento, Raça x Tratamento e interação tripla Estação x Raça x Tratamento, além do efeitos aleatórios de animal dentro de lote e resíduo. Em caso de variáveis expressas em percentagens, utilizou-se um modelo linear misto generalizado com função de ligação logística visando relacionar a variável dependente em análises ao modelo descrito acima. Os animais dentro de cada lote foram incluídos nas análises visando acomodar a estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais ao longo das diferentes estações avaliados. As estruturas de covariância entre as medidas repetidas foram avaliadas pelo critério de informação de Akaike, AIC (Akaike,1973). As pressuposições dos modelos de análise variância (normalidade e homogeneidade dos resíduos) foram realizadas simultaneamente por meio de análises de resíduos condicionais Studentizados. Em caso de resultados significativos para os efeitos fixos de Estação, Raça, Tratamento, interações duplas e interação tripla, o Teste de Tukey foi utilizado, de forma apropriada, como procedimento para comparação das médias, visando manter o nível de confiança conjunto fixado. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do procedimento PROC MIXED ou GLIMMIX, do programa Statistical Analysis System, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). No presente trabalho foram apresentadas apenas as variáveis que demonstraram diferença estatística. O nível de significância adotado foi de $P < 0.05$.

Resultados

Temperatura interna corpórea

As diferenças entre os tratamentos dentro das estações podem ser observadas na Tabela 1. Os animais mantidos a pleno sol apresentaram valores mais elevados de temperatura interna no outono, enquanto os animais do sistema sombreado apresentaram temperatura interna mais expressiva na primavera. Considerando o efeito de raça, a temperatura interna não foi significativamente diferente entre os animais Canchim e Nelore, durante o Verão I ($39,3 \pm 0,1$ vs $39,4 \pm 0,1$ °C), Outono ($39,5 \pm 0,1$ vs $39,4 \pm 0,1$ °C) e Verão II ($39,4 \pm 0,1$ vs $39,3 \pm 0,1$ °C), respectivamente. Animais Canchim apresentaram temperatura interna mais elevada nas estações de Inverno ($39,5 \pm 0,1$ vs $39,3 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$) e Primavera ($39,5 \pm 0,1$ vs $39,3 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$), respectivamente.

Tabela 1. Valores médios (\pm erro padrão) da temperatura interna corpórea (TR, °C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.

Estação	Tratamento	
	PS	iLPF
Verão I	$39,41 \pm 0,05^B$	$39,30 \pm 0,05^B$
Outono	$39,54 \pm 0,05^a$	$39,35 \pm 0,05^{ABb}$
Inverno	$39,39 \pm 0,05^B$	$39,39 \pm 0,05^{AB}$
Primavera	$39,35 \pm 0,05^{Bb}$	$39,40 \pm 0,05^a$
Verão II	$39,33 \pm 0,07^B$	$39,35 \pm 0,07^{AB}$

^{A,B} Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem significativamente ($P < 0,05$).

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$).

Temperatura de superfície escrotal e gradientes térmicos

Não houve diferenças significativas para as temperaturas de superfície e gradientes térmicos nos tratamentos nem entre os genótipos. As médias, desvio padrão e coeficiente de variação dessas variáveis podem ser vistas na Tabela Sup1 em Material Suplementar. Os touros Canchim apresentaram temperaturas de superfície mais elevadas para funículo espermático ($36,3 \pm 0,1$ vs $35,9 \pm 0,1$ °C, $P < 0,05$), polo testicular dorsal ($34,8 \pm 0,1$ vs $34,5 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$) e Grad3 ($9,0 \pm 0,1$ vs $7,7 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$). Os touros Nelore apresentaram maior temperatura de superfície de polo testicular ventral ($32,9 \pm 0,1$ vs $32,4 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$) e cauda do epidídimo ($31,6 \pm 0,1$ vs $30,5 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$). A temperatura escrotal não apresentou diferença significativa entre as raças Canchim e Nelore ($33,8 \pm 0,1$ vs $34,0 \pm 0,1$ °C; $P < 0,05$) respectivamente. Animais Nelore apresentaram maiores Grad2 e Grad4, durante todas as estações climáticas, exceto no Verão II (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios (\pm erro padrão) dos gradientes térmicos da temperatura da superfície escrotal, de touros bovinos ($n=64$) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.

Estação	Genótipo	
	Nelore ($n=32$)	Canchim ($n=32$)
	*Grad1 (°C)	
Verão I	$4,1 \pm 0,1$	$4,2 \pm 0,1$
Outono	$5,2 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,1$
Inverno	$5,9 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,1$
Primavera	$4,6 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,1$
Verão II	$3,7 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,1$

*Grad2 (°C)		
Verão I	5,8±0,1 ^b	6,5±0,1 ^a
Outono	6,8±0,1 ^b	7,4±0,1 ^a
Inverno	7,7±0,1 ^b	8,6±0,1 ^a
Primavera	6,2±0,1 ^b	6,9±0,1 ^a
Verão II	5,6±0,2	5,7±0,2
*Grad3 (°C)		
Verão I	7,7±0,1	7,6±0,1
Outono	8,8±0,1	8,9±0,1
Inverno	10,2±0,1	10,1±0,1
Primavera	8,0±0,1	8,1±0,1
Verão II	7,0±0,2	7,2±0,2
*Grad4 (°C)		
Verão I	1,6±0,1 ^b	2,5±0,1 ^a
Outono	1,4±0,1 ^b	2,4±0,1 ^a
Inverno	1,6±0,1 ^b	2,8±0,1 ^a
Primavera	1,6±0,1 ^b	2,3±0,1 ^a
Verão II	1,9±0,1	2,0±0,1

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente entre raças dentro da mesma estação (P<0,05).

*Grad1= gradiente entre temperaturas interna e do polo testicular dorsal; Grad2= gradiente entre temperaturas interna e do polo testicular ventral; Grad3= gradiente entre temperaturas interna e da cauda do epidídimo; Grad4= gradiente entre temperaturas dos polos testiculares dorsal e ventral.

Biometria, consistência e características do parênquima testicular

O perímetro escrotal e a consistência testicular não apresentaram diferenças entre os tratamentos, genótipos e estações climáticas. As médias, desvios padrão e coeficiente de variação dessas variáveis podem ser vistas na Tabela Sup2 em Material Suplementar. O perímetro escrotal médio dos animais durante o período experimental foi de $36,0 \pm 0,4$ para os touros Canchim e $34,0 \pm 0,7$ cm para os touros Nelore. Houve diferença significativa ($P < 0,05$) dentro dos tratamentos ao longo do tempo, com valores crescentes do Verão I até o Verão II. A média da consistência do testículo direito e esquerdo foi de $3,2 \pm 0,1$ para os touros Canchim e de $3,1 \pm 0,1$ para os touros Nelore.

O volume testicular e a ecotextura do parênquima testicular estão apresentados na Tabela 3. Animais mantidos a pleno sol apresentaram menores valores de volume testicular direito, independente do genótipo, além de maior homogeneidade do parênquima testicular esquerdo e a hiperecogenicidade do parênquima direito. Na análise comparativa entre os genótipos, touros Canchim apresentaram valores mais altos de hiperecogenicidade do parênquima testicular direito que os animais Nelore ($1,5 \pm 0,1$ vs $1,2 \pm 0,1$; $P < 0,05$).

Tabela 3. Valores médios (\pm erro padrão) do volume testicular (cm^3), homogeneidade (0 a 2) e hiperecogenicidade (0 a 3) do parênquima testicular de touros bovinos ($n=64$) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*) mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.

Variável	Tratamento	
	PS	iLPF
Volume testicular direito	$247,5 \pm 5,7^b$	$259 \pm 5,7^a$
Volume testicular esquerdo	$245,4 \pm 4,1$	$248,3 \pm 5,7$
Homogeneidade do parênquima testicular direito	$0,6 \pm 0,04$	$0,6 \pm 0,04$
Homogeneidade do parênquima testicular esquerdo	$0,7 \pm 0,04^a$	$0,6 \pm 0,04^b$
Hiperecogenicidade do parênquima testicular direito	$1,4 \pm 0,09^a$	$1,3 \pm 0,09^b$
Hiperecogenicidade do parênquima testicular esquerdo	$1,2 \pm 0,09$	$1,2 \pm 0,09$

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$).



Homogeneidade (0 a 2): 0 = ausência de pontos anecoicos patológicos, 1 = presença de poucos pontos anecoicos patológicos e 2 = presença de muitos pontos anecoicos patológicos.

Hiperecogenicidade (0 a 3): 0 = ausência de pontos hiperecoicos; 1 = presença de até cinco pontos hiperecoicos, 2 = presença de mais de cinco pontos hiperecoicos próximos ao mediastino, 3 = presença de mais de cinco pontos hiperecoicos difusos no parênquima testicular (Kahwage et al., 2017).

Na análise que verifica o comportamento dos tratamentos dentro de cada estação (Tabela 4), verificou-se que a homogeneidade do parênquima testicular esquerdo foi maior nos animais mantidos a pleno sol durante o outono. Com relação à hiperecogenicidade do parênquima dos testículos direito e esquerdo, esta foi maior nos animais mantidos no sistema a pleno sol na primavera.

Tabela 4. Valores médios (\pm erro padrão) da homogeneidade do parênquima testicular direito (HOMD) e esquerdo (HOME), hiperecogenicidade do parênquima testicular direito (HIPD) e esquerdo (HIPE) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*) mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical, em função da estação climática.

Estação	Tratamento	
	PS	iLPF
Homogeneidade do parênquima testicular direito		
Verão I	0,1 \pm 0,05	0,1 \pm 0,05
Outono	0,2 \pm 0,05	0,2 \pm 0,05
Inverno	0,9 \pm 0,05	0,8 \pm 0,05
Primavera	0,9 \pm 0,05	0,9 \pm 0,05
Verão II	0,6 \pm 0,07	0,7 \pm 0,07
Homogeneidade do parênquima testicular esquerdo		
Verão I	0,2 \pm 0,05	0,1 \pm 0,05
Outono	0,3 \pm 0,05 ^a	0,2 \pm 0,05 ^b
Inverno	0,8 \pm 0,05	0,9 \pm 0,05

Primavera	1,0±0,05	0,9±0,05
Verão II	0,9±0,07	0,8±0,07
Hiperrecogenicidade do parênquima testicular direito		
Verão I	0,5±0,10	0,6±0,10
Outono	0,7±0,10	0,7±0,10
Inverno	1,4±0,10	1,5±0,10
Primavera	2,0±0,10 ^a	1,6±0,11 ^b
Verão II	2,3±0,13 ^a	1,9±0,13 ^b
Hiperrecogenicidade do parênquima testicular esquerdo		
Verão I	0,5±0,11	0,5±0,11
Outono	0,8±0,11	0,7±0,11
Inverno	1,4±0,11	1,5±0,11
Primavera	1,9±0,11 ^a	1,5±0,11 ^b
Verão II	2,3±0,14	2,0±0,14

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$).
 Homogeneidade (0 a 2): 0 = ausência de pontos anecoicos patológicos, 1 = presença de poucos pontos anecoicos patológicos e 2 = presença de muitos pontos anecoicos patológicos.
 Hiperrecogenicidade (0 a 3): 0 = ausência de pontos hiperecoicos; 1 = presença de até cinco pontos hiperecoicos, 2 = presença de mais de cinco pontos hiperecoicos próximos ao mediastino, 3 = presença de mais de cinco pontos hiperecoicos difusos no parênquima testicular (Kahwage et al., 2017).

Testosterona

A concentração sérica de testosterona diferiu entre tratamentos, com maiores valores observados nos animais mantidos no sistema de produção a pleno sol (Figura 5). Com relação às divergências entre os genótipos, foi possível observar maior concentração sérica de testosterona nos touros Canchim comparados aos Nelore ($2,7 \pm 0,2$ vs $2,0 \pm 0,2$ ng/mL; $P < 0,05$).

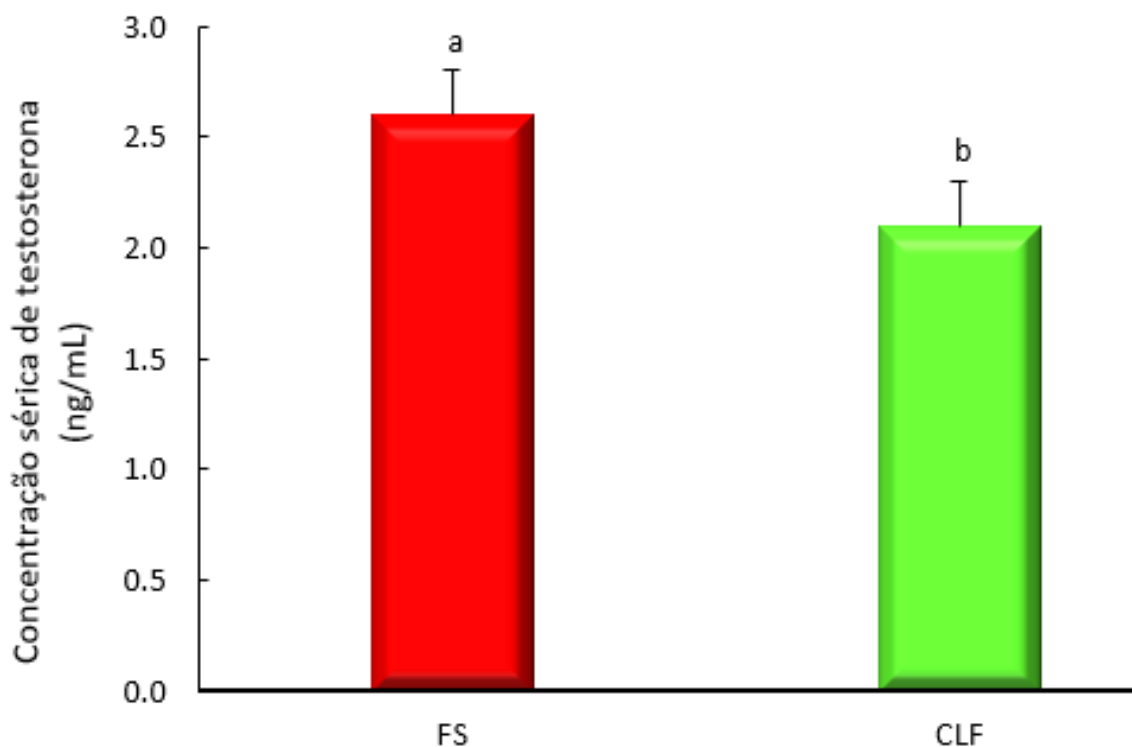


Figura 5. Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de testosterona de touros bovinos ($n=64$) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*), mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), em ambiente tropical.

^{a,b} Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre tratamentos ($P < 0,05$).

Características seminais

O vigor espermático, motilidade espermática progressiva e a concentração espermática. As médias, desvios padrão e coeficiente de variação dessas variáveis podem ser vistas na Tabela Sup3 em Material Suplementar. As diferenças na morfologia espermática e na população celular com fragmentação da cromatina nos genótipos estudados dentro de cada estação podem ser observadas na Figura 6. Os defeitos morfológicos apresentaram tendência de decréscimo ao longo do tempo, para ambos os genótipos. Comparativamente, dentro das estações, os touros Nelore apresentaram mais defeitos menores verão I. Os defeitos maiores foram sempre mais expressivos nos touros Canchim, com exceção do verão II. Os defeitos totais foram mais elevados no Canchim, durante o outono e inverno. A fragmentação da cromatina foi também mais elevada na raça Canchim, durante as estações de verão I, outono e verão II. A integridade da membrana plasmática dos espermatozoides não foi impactada pelos

sistemas de produção, tendo apresentado diferenças apenas entre genótipos, com maiores valores na média geral do período experimental para os animais os touros da raça Canchim em comparação animais Nelore ($64,9 \pm 1,4$ vs $60,9 \pm 1,3$; $P < 0,05$).

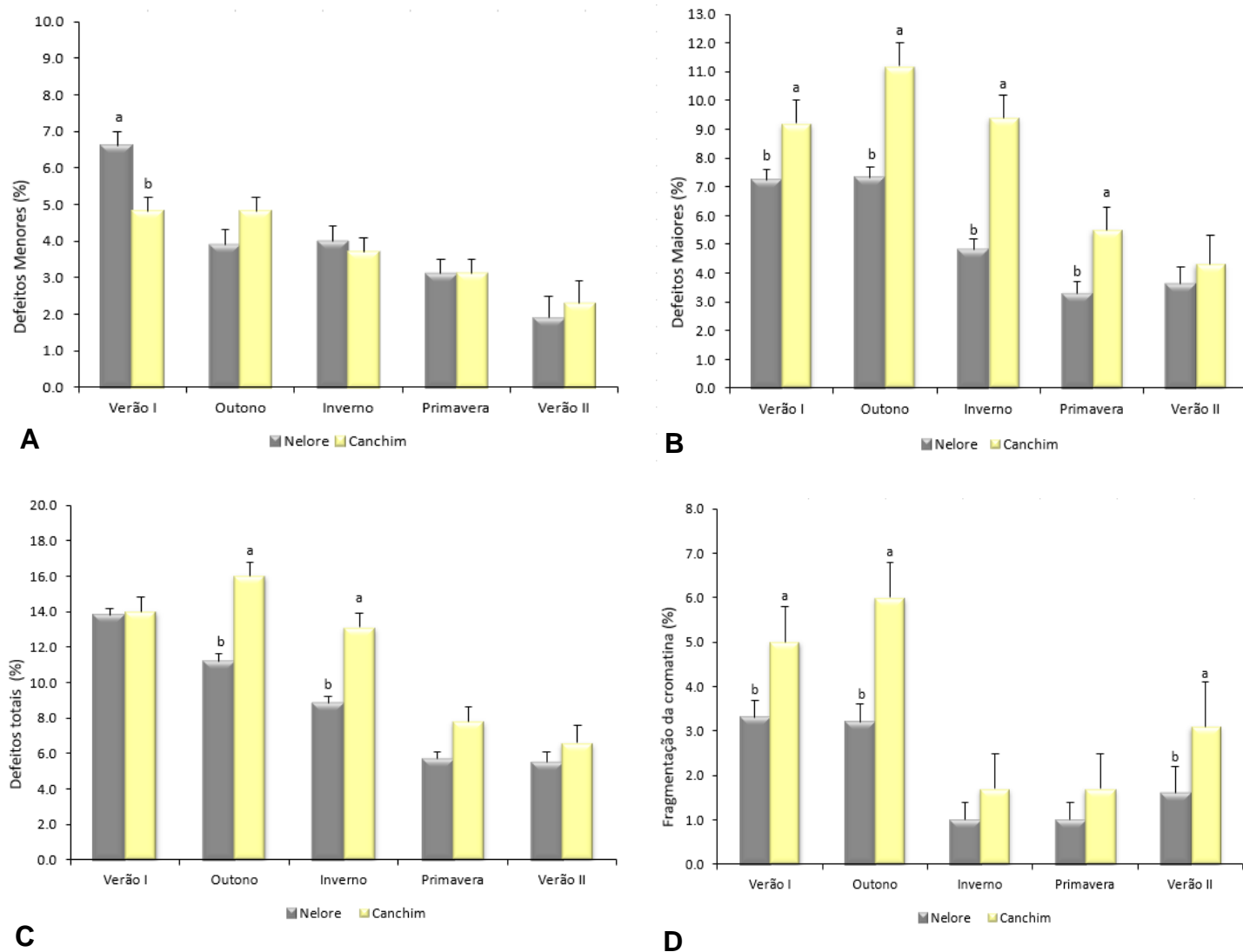


Figura 6. Médias (\pm erro padrão) relativas às características de morfologia espermática quanto a (A) Defeitos menores, (B) Defeitos maiores, (C) Defeitos totais e (D) Fragmentação da cromatina, avaliadas em ejaculados de touros bovinos ($n=64$) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*), mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), em ambiente tropical.

^{a,b} Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre genótipos dentro da estação climática ($P < 0,05$).



Discussão

Touros bovinos mantidos em condições de desconforto térmico calórico apresentam queda na produtividade, menor bem-estar e eficiência reprodutiva. Com isso, nos últimos anos, pesquisas vêm sendo realizadas com ênfase na influência da carga de calor sobre a fertilidade e o papel na morfofisiologia do escroto na termorregulação testicular (Lees et al., 2019). No período estudado, a temperatura do ar, umidade relativa e a radiação solar apresentaram dados característicos ao historicamente registrado para regiões de clima tropical de altitude (Peel et al., 2007), com maiores valores observados no Verão I, Primavera e Verão II. Como consequência, os valores de TGN, CTR e ITGU também foram elevados nessas estações, considerando os valores obtidos no experimento e estes, interpretados conforme Baêta e Souza (2010) para ITGU. Além das oscilações das variáveis climáticas nas estações, foi notória a discrepância de microclima entre os tratamentos, durante todo o período experimental, no sistema a pleno sol o ITGU esteve sempre acima do limiar, com valores muito elevados no Verão II, indicando que os animais alocados nesse sistema de produção passaram por situações de desconforto térmico. Já no sistema iLPF, os valores de ITGU se mantiveram sempre abaixo dos valores encontrados no sistema a pleno sol, inclusive mantendo-se próximos ao limiar, mesmo nas estações consideradas de maior desafio térmico. Foi possível observar valores expressivamente baixos, indicando que esses animais estariam posicionados em uma situação de maior conforto térmico. Foi notória a capacidade do componente arbóreo em alterar positivamente o microclima, corroborando relatos prévios de amenização na temperatura do ambiente e na incidência direta de radiação solar sobre os animais, devido à barreira física que as árvores determinam dentro das áreas de pastagem (Lopes et al., 2016; Giro et al., 2019).

Com relação aos genótipos estudados, foi possível notar maiores valores de temperatura interna nos animais Canchim, nas estações de Inverno e Primavera. A diferença na temperatura interna corpórea entre genótipos pode estar relacionada ao fato dos bovinos apresentarem diferentes zonas de conforto térmico, sendo de - 1 a 16°C para taurinos e de 10 a 27°C para zebuínos (Baêta e Souza, 2010). A zona de conforto térmico é a faixa de temperatura ambiente na qual o animal homeotérmico não necessita ativar seu sistema termorregulador (Van Laer et al., 2014). Estudos prévios afirmam que os animais zebuínos são mais adaptados ao clima tropical do que os taurinos, muito embora também sejam suscetíveis a sofrer com estresse calórico (Hansen, 2004).



Algumas diferenças morfológicas do tegumento de animais zebuínos e taurinos também podem ajudar a explicar as divergências encontradas quanto à tolerância térmica desses animais, podendo ser ferramenta auxiliar para seleção genética (Hamblen et al., 2018). Os zebuínos caracterizam-se por apresentarem pelos mais curtos e finos que os taurinos (Davila et al., 2019). No entanto, animais oriundos de cruzamentos de raças zebuínas e taurinas, como os animais da raça Canchim, apresentam uma vasta gama de tipos de pelagem, devido a sua origem de base genética multifatorial (Porto-Neto et al., 2018). Existe alta herdabilidade das características do pêlo em bovinos das raças Brahman (zebuíno) e Angus (taurino), com valores de 0,50 para diâmetro do pêlo, de 0,67 para pelos classificados como curtos e de 0,42 para os pêlos considerados compridos, sendo observado que quanto maior a composição racial zebuína no cruzamento dos animais, maior é a redução do comprimento dos pêlos e da temperatura corporal (Davila et al., 2019). Dikmen et al. (2018) também observaram que as diferentes composições genéticas do cruzamento de animais Brahman x Angus influenciaram na redução da temperatura corpórea, sendo que quando animais apresentavam $\frac{1}{2}$ da composição genotípica proveniente de Brahman, mais expressiva foi a redução na temperatura corpórea, comparativamente aos animais que tinham apenas $\frac{1}{4}$ de Brahman ou menos em sua composição racial. Outro fator que pode também auxiliar na explanação sobre as diferenças de temperaturas encontradas nos genótipos estudados no presente trabalho é o fato de que animais zebuínos, quando expostos a temperaturas do ambiente maiores que 30°C, efetuam sua troca de calor principalmente através da evaporação cutânea, e para a qual a região anatômica da barbela desempenha um papel importante (Costa et al., 2018). Ainda, animais *Bos indicus* possuem maior facilidade de termorregulação corpórea com menor taxa metabólica e maior perda de calor, devido ao maior tamanho de suas glândulas sudoríparas e propriedades do pelame, que auxiliam no aumento da perda de calor por condução e convecção (Paim et al., 2018).

Quando machos reprodutores são mantidos constantemente em ambiente com elevadas temperaturas e sua termorregulação não é eficiente, ocorre aumento da temperatura testicular, sendo esta uma das principais causas de degeneração testicular e comprometimento da viabilidade e motilidade das células espermáticas, (Rahman et al., 2011; Alves et al., 2016). A degeneração testicular caracteriza-se por ser um conjunto de alterações no parênquima testicular que ocasionam alterações bioquímicas e morfológicas do tecido da gônada masculina, com conseqüente alteração da produção

espermática, presença de pontos de calcificação no parênquima, redução do tamanho dos testículos e comprometimento da fertilidade (Van Camp, 1997; Garcia, 2017). Nos primeiros estágios da espermatogênese, as células germinativas nas fases de leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese da prófase I da meiose I, são muito sensíveis a altas temperaturas nos testículos, devido à alta atividade celular desse órgão (Parkinson, 1987; Gonçalves et al., 2021). Os problemas causados a nível celular são aumento da apoptose e autofagia, quebra das fitas de DNA e produção de espécies reativas do oxigênio (Januskauskas et al., 1995). Segundo Malama et al. (2017), durante a maturação epididimária, as altas temperaturas causam efeitos diferentes daqueles que ocorrem nos testículos, implicando em danos na quantidade de espermatozoides vivos, concentração de ATP, comprometimento da capacidade fecundante e redução da integridade de membrana espermática. As altas temperaturas também são capazes de interferirem no metabolismo oxidativo da glicose nas células espermáticas, devido a disfunções mitocondriais (Nichi et al., 2006; Abbas et al., 2020).

A avaliação do parênquima testicular de touros através do exame ultrassonográfico é importante porque as avaliações biométricas de testículos e de escroto de forma isolada, mesmo se realizadas em diversas idades do animal, não são capazes de prever a real condição de funcionalidade do órgão, e tampouco identificar processos patológicos de base celular (Palmer, 2016). Essas manifestações, em geral, foram observadas no presente trabalho, pois foi notória a pior condição do parênquima testicular dos touros mantidos a pleno sol, os quais apresentaram pior classificação quanto a ecotextura do tecido gonadal, com comprometimento na homogeneidade e elevada presença de pontos hiperecogênicos no parênquima testicular, comparado aos animais mantidos com acesso ao sombreamento natural. Essas alterações na estrutura e a presença de microlitíases no parênquima testicular são indícios de comprometimento gonadal e estão diretamente relacionadas com a redução na produção e na qualidade do sêmen (Dogra et al., 2003). A maior incidência de pontos hiperecogênicos no parênquima testicular dos animais no sistema a pleno sol pode ser reflexo da longa intensidade e duração do desafio térmico ao qual os animais foram expostos, devido à ausência de componente arbóreo (Sabés-Alsina et al., 2017). No presente estudo, a ocorrência ecográfica de parênquima testicular mais homogêneo e a menor quantidade de pontos de microlitíase nos testículos dos touros mantidos no sistema iLPF indica que este teve

efeito positivo em relação à integridade tecidual, evitando possíveis alterações gonadais passíveis de evolução para quadros mais graves e que levam à subfertilidade.

A termorregulação testicular tem importância fundamental na qualidade do sêmen, uma vez que para uma eficiente produção espermática, a temperatura escrotal de touros bovinos deve permanecer até 6°C abaixo da temperatura interna corpórea (Anderson, 1988). Com isso, a termografia por infravermelho do escroto torna-se uma ferramenta auxiliar importante na avaliação dos efeitos do estresse calórico nos parâmetros reprodutivos de touros (Menegassi et al., 2015; Idris et al., 2021). No presente estudo, foi importante a utilização da termografia como método de avaliação para evidenciar nos genótipos estudados as diferenças na variação das temperaturas de superfície média do escroto e demais regiões importantes para a termorregulação testicular e seus gradientes. Apesar da temperatura média escrotal não diferir entre os animais, algumas diferenças foram observadas em regiões anatômicas específicas. A ausência na diferença da temperatura média escrotal pode ser explanada pelo fato de que a superfície escrotal e os testículos apresentam gradientes de temperatura considerados complementares opostos, originando uma temperatura intratesticular relativamente homogênea em condições fisiológicas (Kastelic et al., 1996). Isso é possível, pois o escroto é vascularizado da porção dorsal para ventral, enquanto os testículos têm uma organização vascular oposta (Rahman et al., 2018). Assim, a artéria testicular progride ao longo do comprimento do testículo, atingindo a região ventral do órgão e, em seguida, se ramifica em diversos segmentos vasculares que se espalham dorsal e lateralmente através da superfície testicular, antes de adentrar de fato no parênquima (Morrell, 2020).

As diferenças na temperatura da superfície escrotal em determinadas regiões anatômicas dos genótipos estudados podem ser explicadas com base em estudos a nível molecular. A termotolerância celular é regulada por uma família de proteínas de choque térmico, as Hsp, ou heat shock proteins, sendo que a Hsp70, é considerada uma das proteínas mais abundantes e sensíveis à temperatura (Wandinger et al., 2008). Alguns estudos demonstraram que a expressão de miRNAs ligadas a essas proteínas ocorre de modo diferente em animais taurinos e zebuínos submetidos ao estresse calórico (Sengar et al., 2018a). Branuprakash et al. (2016) demonstraram diferenças importantes na expressão da Hsp70, sendo que em animais zebuínos a expressão dessa proteína foi maior, quando comparada aos animais taurinos, inclusive em condições de temperaturas



ambientais desafiadoras para ambos os genótipos. Esses resultados auxiliam a explicar a maior adaptabilidade dos animais zebuínos mantidos em condições ambientais com elevadas temperaturas. Porém, é importante enfatizar que esses animais também estão suscetíveis a sofrerem com o estresse calórico. Sengar et al. (2018b) identificaram diversos miRNAs expressos em zebuínos mantidos em diferentes condições climáticas, demonstrando que os miRNAs bta-mir-1248, bta-mir-2332, bta-mir 2478 e bta-mir-1839 foram significativamente ($p < 0,01$) mais expressos durante o verão em comparação com o inverno, sendo que, bta-mir-1248 e bta-mir-1839 foram considerados os principais responsáveis pela regulação de diferentes vias metabólicas em resposta ao estresse térmico. O mir-2478 possui função importante no controle do metabolismo energético e na adipogênese dos bovinos (Romao et al., 2014), sendo que a regulação adequada desse miRNA na musculatura bovina está associada à expressão de Esteroil-CoA desaturase (SCD1), que é uma enzima que promove a síntese de ácidos graxos monoinsaturados (Muroya et al., 2016).

Alguns efeitos como a hipóxia e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio são alterações fisiológicas observadas em touros que sofrem aumento de temperatura testicular, devido à intensa ativação metabólica nessa situação (Morrell, 2020). As espécies reativas de oxigênio em níveis fisiológicos são componentes importantes que participam na regulação da capacitação do espermatozoide, na reação acrossômica e na ligação à zona pelúcida no momento da fertilização do oócito (Lamirande et al., 1997). Entretanto, excesso na concentração e determinados tipos de espécies reativas de oxigênio são extremamente danosos a célula espermática, pois causam peroxidação lipídica nas membranas e danificam o DNA, desnaturando proteínas e induzindo apoptose (Sanocka e Kurpisz, 2004). A maior quantidade de fragmentação da cromatina encontrada nos animais Canchim nas estações climáticas de Verão I, Outono e Verão II confirma que esses animais foram mais sensíveis às oscilações das variáveis climáticas e menos eficientes em suplantar esse quadro, comparados aos animais Nelore. Esse tipo de avaliação torna-se cada vez mais importante, porém não é realizada nos exames andrológicos de rotina a campo, pois os efeitos no DNA não são visíveis imediatamente durante essas avaliações. No entanto, o estresse térmico pode resultar em baixa fertilidade, mesmo que os espermatozoides sejam visivelmente normais (Setchell, 1998). O espermatozoide considerado morfolologicamente normal mas com material genético danificado é capaz de fertilizar o

oócito, sem afetar o processo da primeira clivagem. Contudo, após a ativação genômica no estágio de 8 a 16 células, a ação apoptótica celular frequentemente é ativada e o desenvolvimento embrionário é interrompido (Fatehi et al., 2006). Segundo Karoui et al. (2012) valores de fragmentação de DNA em células espermáticas de touros bovinos variando de 7 a 10% são suficientemente significativos na associação com baixas taxas de prenhez após inseminação artificial. Sabendo dessa informação, nas estações de Verão I e Outono, os valores de fragmentação de cromatina do presente estudo se aproximaram a 7% para touros Canchim, demonstrando que estes podem ter sido mais sensíveis ao aumento das temperaturas, bem como indicam a importância desse tipo de avaliação na análise de rotina dos touros bovinos.

A qualidade seminal de touros zebuínos, taurinos e compostos vem sendo investigada há muitos anos, principalmente com base em suas características fenotípicas. No entanto, recentemente, as pesquisas a nível molecular para explicar essas diferenças vêm evoluindo (Srikanth et al., 2017; Xu et al., 2017; Liu et al., 2020; Dixit et al., 2020). No presente trabalho, foi notória a diferença da qualidade seminal com relação à morfologia espermática entre animais compostos e zebuínos durante as diferentes estações climáticas, tendo os touros zebuínos apresentando melhor espermograma que os compostos. Além das diferenças fenotípicas dos animais estudados que já foram relacionadas anteriormente, pode-se inferir que essas diferenças, com base em trabalhos recentes, também podem ser explicadas através de divergências genotípicas. Elango et al. (2020) avaliaram o perfil transcriptômico do tecido testicular de touros compostos e zebuínos, e encontraram diversos genes associados a danos na célula espermática altamente expressos em animais compostos. O gene *IL12RB2* foi expressivo positivamente nos animais compostos, sendo que esse gene está altamente relacionado com danos a membrana plasmática do espermatozoide devido à produção de interferon-gama (Estrada et al., 1997). Genes envolvidos na localização das proteínas da membrana plasmática do espermatozoide e na via de sinalização WNT, que constitui a regulação de diversos processos fisiológicos, sendo crucial no desenvolvimento embrionário, proliferação e diferenciação celular, foram expressas negativamente em touros compostos (Elango et al., 2020). A via WNT possui também a função de auxiliar na motilidade espermática e manter a estabilidade proteica ao realizar a inibição da poliubiquitinação das proteínas. Com isso, uma expressão negativa dos genes associados a WNT promove uma incapacidade de manutenção da integridade da



proteína da membrana plasmática da célula espermática de touros compostos, sugerindo ser um fator importante que contribui para a subfertilidade e até infertilidade nesses animais (De Robertis e Ploper, 2015; Koch et al., 2015). A expressão negativa de genes ligados a esteroidogênese em animais compostos, também foi um achado importante no estudo de Elango et al, (2020), os quais relataram que o gene CYP17A1 está envolvido na regulação da enzima que possui atividade de 17 α -hidroxilase e atividade de 17, 20-liase, que são cruciais para a esteroidogênese (Storbeck et al., 2013). Gulia et al. (2010) relataram uma concentração sérica menor de testosterona em touros compostos comparados aos animais zebuínos, concretizando assim os achados a nível molecular de genes que afetam a esteroidogênese desses animais.

No presente trabalho foi possível observar maior concentração sérica de testosterona em animais mantidos no sistema a pleno sol, podendo ser explicada pelo fato de que quando os são animais submetidos as condições de desconforto ou estresse térmico causados pelo calor, estes ativam mecanismos fisiológicos para manter a homeotermia corpórea (Sejian et al., 2018). Um dos mecanismos que é ativado nessa situação é a vasodilatação periférica, proporcionando aumento de fluxo sanguíneo para a superfície da pele, com o propósito em aumentar as trocas térmicas (Bayssa et al., 2021). Alguns trabalhos relatam a influência da testosterona no processo da vasodilatação, no qual este hormônio esteróide estimula a geração de superóxido e óxido nítrico, para produção de peroxinitrito. Este, por sua vez, tem efeito vasodilatador direto, indicando que a testosterona desempenha papel importante nos efeitos vasculares (Tostes et al., 2016). Existem relatos na literatura que evidenciam a atuação da testosterona atuando como pró-oxidantes, ou seja, induzindo excesso de espécies reativas de oxigênio e, como já descrito, quantidades exacerbadas de espécies reativas de oxigênio ocasionam danos celulares severos (Chignalia et al., 2012). Evidências encontradas no presente estudo relacionam maior temperatura do ar, temperatura de globo negro, ITGU e CTR, a maiores danos no parênquima testicular e maior concentração sérica de testosterona, o que foi observado nos animais que permaneceram no sistema a pleno sol, nos levando a presumir que a termorregulação escrotal seja preterida em relação à termorregulação central, a partir do momento em que os animais necessitam ativar seus mecanismos fisiológicos para manter sua homeotermia.

Conclusões

Conclui-se que o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta foi eficaz em amenizar o microclima das pastagens e reduzir os efeitos adversos das intempéries ambientais nas características reprodutivas de touros bovinos de corte. Foi notória a melhor condição do parênquima testicular dos animais mantidos em iLPF e, por consequência, também foi observada melhor qualidade seminal desses animais, independente do genótipo estudado. Também, foi possível notar maior sensibilidade de animais compostos expostos às variações climáticas, sendo evidente que esses animais ativaram seus mecanismos fisiológicos para manutenção de sua homeostase e homeotermia. Com isso, se faz importante a implementação de sistemas sombreados para fornecer maior bem-estar e melhores índices reprodutivos aos touros bovinos zebuínos e compostos mantidos em ambiente tropical. Adicionalmente, mais estudos devem avançar na identificação fenotípica e seleção de genotípica de animais mais adaptados ao ambiente tropical, pois foi evidente neste trabalho a divergência em determinadas características reprodutivas de interesse.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Projeto Rede Pecuária de Precisão #01,14,09,001,03,03), à FAPESP-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 2019/04528-6) e à CAPES-Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro para a realização do estudo.

Referências

Akaike, H (1973) Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Proceedings of the Second International Symposium on Information Theory. Budapest: Akademiai Kiado. 267–281

Abbas Z, Sammad A, Hu L, Fang H, Xu Q, Wang Y. Glucose metabolism and dynamics of facilitative glucose transporters (GLUTs) under the influence of heat stress in dairy cattle. *Metabolites* 2020; 10:312. doi:10.3390/metabo10080312

Alves MB, Arruda RP, Batissaco L, Florez-Rodriguez SA, Oliveira BM, Torres MA, Ravagnani GM, Lançoni R, Almeida TG, Storillo VM, Vellone VS, Franci CR, Thomé HE, Canella CL, Andrade AF, Celeghini EC. Low-level laser therapy to recovery testicular degeneration in rams: effects on seminal characteristics, scrotal temperature,



plasma testosterone concentration, and testes histopathology. *Lasers Med Sci* 2016; 31:695-704. doi:10.1007/s10103-016-1911-1

Alves MBR, Andrade AFC, Arruda RP, Batissaco L, Florez-Rodriguez SA, Lançoni R, Oliveira BMM, Torres MA, Ravagnani GM, Almeida TG, Vellone VS, Celeghini ECC. An efficient technique to detect sperm reactive oxygen species: the CellROX Deep Red® fluorescent probe *Biochem Physiol. Open Access* 2015; 4:157. Doi:10.4172/2168-9652.1000157

Baêta FC, Souza CF, *Ambiência em Edificações Rurais: Conforto Animal*, second ed, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa; 2010. 269p.

Bailey TL, Monke D, Hudson RS, Wolfe DF, Carson RL, Riddell MG. Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls. *Theriogenology* 1996; 46:881-887. Doi: 10.1016/s0093-691x(96)00245-2

Bayssa M, Yigrem S, Betsha S, Tolera A. Production, reproduction and some adaptation characteristics of Boran cattle breed under changing climate: A systematic review and meta-analysis. *Plos One* 2021; 16:5. e0244836. Doi:10.1371/journal.pone.0244836

Beletti ME, Costa LF, Guardieiro MM. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa. *Braz J Morphol Sci* 2005; 22: 85-90

Bhanuprakash V, Singh U, Sengar G, Sajjanar B, Bhusan B, Raja TV, Alex R, Kumar S, Singh R, Kumar A, Alyethodi RR, Kumar S, Deb R. Differential effect of thermal stress on Hsp70 expression, nitric oxide production and cell proliferation among native and crossbred dairy cattle. *J Therm Biol* 2016; 59:18-25 Doi: 10.1016/j.jtherbio.2016.04.012

Bhat S, Kumar P, Kashyap N, Deshmukh B, Dige MS, Bhushan B. Effect of heat shock protein 70 polymorphism on thermotolerance in Tharparkar cattle. *Vet World* 2016; 9:113-117. doi:10.14202/vetworld.2016.113-117

Bloom E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects. *Nord Vet Med* 1973;15:283.

Brasil-Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica [Internet] 2016. Brasília: Concea, <http://bit.ly/2VEvkg9> Acesso em 6 de setembro de 2021.

Broom DM, Galindo FA, Murgueitio E. Sustainable, efficient livestock production with high biodiversity and good welfare for animals. *Proc Royal Soc B* 2013; 280:2013-2025

Buffington DE, Colazzo-Arocho A, Caton GH, Caton GH, Pitt D, Thatcher WW, Collier RJ. Black globe humidity comfort index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Trans ASAE* 1981; 24:711-714



Carvajal MA, Alaniz AJ, Gutiérrez-Gómez C, Vergara PM, Sejian V, Bozinovic F. Increasing importance of heat stress for cattle farming under future global climate scenarios. *Sci Total Environ* 2021;18:801. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.149661

CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, 3rd ed, Belo Horizonte, Brasil; 2013. 104p

Chignalia AZ, Schuldt EZ, Camargo LL, Montezano AC, Callera GE, Laurindo FR, Lopes LR, Avellar MC, Carvalho MH, Fortes ZB, Touyz RM, Tostes RC. Testosterone induces vascular smooth muscle cell migration by NADPH oxidase and c-Src-dependent pathways. *Hypertension* 2012; 59:1263-1271

Cooke RF, Arthington JD, Araujo DB, Lamb GC. Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman - crossbred cows. *J Anim Sci* 2009; 87:4125-4132. Doi: 10.2527/jas.2009-2021

Costa CCM, Mais ASC, Nascimento ST, Nascimento CCN, Neto MC, Fonsêca VFC. Thermal balance of Nellore cattle. *Int J Biometeorol* 2018; 62:723-731. Doi:10.1007/s00484-017-1349-6

Cundiff L, V. Experimental results on crossbreeding cattle for beef production. *J Anim Sci* 1970; 30:694-705. Doi:10.2527/jas1970,305694x

Davila KMS, Hamblen H, Hansen PJ, Dikmen S, Oltenacu PA, Mateescu RG. Genetic parameters for hair characteristics and core body temperature in a multibreed Brahman-Angus herd. *J Anim Sci* 2019; 97:3246-3252. Doi:10.1093/jas/skz188

De Robertis EM, Ploper D. Sperm motility requires Wnt/GSK3 stabilization of proteins. *Dev Cell* 2015;35:401-2. Doi: 10.1016/j.devcel.2015.11.009

Dikmen S, Mateescu RG, Elzo MA, Hansen PJ. Determination of the optimum contribution of Brahman genetics in an Angus-Brahman multibreed herd for regulation of body temperature during hot weather. *J Anim Sci* 2018; 96:2175-2183. Doi:10.1093/jas/sky133

Dixit SP, Singh S, Ganguly I, Bhatia AK, Sharma A, Kumar NA. Genome-Wide runs of homozygosity revealed selection signatures in *Bos indicus*. *Frontiers in Genetics* 2020; 11:92. Doi:10.3389/fgene.2020.00092/full

Dogra VS, Gottlieb RH, Oka M, Rubens DJ. Sonography of the Scrotum. *Radiology* 2003; 237:18-36. Doi: 10.1148/radiol.2271001744

Elango K, Kumaresan A, Sharma A. Sub-fertility in crossbred bulls: deciphering testicular level transcriptomic alterations between zebu (*Bos indicus*) and crossbred (*Bos taurus* x *Bos indicus*) bulls. *BMC Genomics* 2020; 21:502. Doi:10.1186/s12864-020-06907-1

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 2021. Condições meteorológicas da estação da Embrapa Pecuária Sudeste. Disponível em



<<http://www.cppse.embrapa.br/meteorologia/index.php?pg=inicio> Acesso em 31 março 2021

Esmay ML. Principles of Animal Environment. Avi Publishing Westport 1978; 358p

Estrada LS, Champion HC, Wang R, Rajasekaran M, Hellstrom WJG, Aggarwal B. Effect of tumour necrosis factor- α (TNF- α) and interferon- γ (IFN- γ) on human sperm motility, viability and motion parameters. *Int J Androl* 1997; 20:237-42. Doi: 10.1046/j.1365-2605.1997.00062.x

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations 2020, OECD-FAO. Agricultural Outlook 2020-2029. <https://www.fao.org/3/ca8861en/ca8861en.pdf> Acesso em 16 out 2021

Fatehi AN, Bevers MM, Schoevers E, Roelen BAJ, Colenbrander B, Gadella BM. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. *J Androl* 2006; 27(2):176-188. Doi:10.2164/jandrol.04152

Felton-Taylor J, Prosser KA, Hernandez-Medrano JH, Gentili S, Copping KJ, Macrossan PE, Perry VEA. Effect of breed, age, season and region on sperm morphology in 11,387 bulls submitted to breeding soundness evaluation in Australia. *Theriogenology* 2020;142:1-7. Doi:10.1016/j.theriogenology.2019.09.001

Florez-Rodriguez SA, de Arruda RP, Alves MBR, Affonso FJ, Carvalho HF, Lemes KM, Lançoni R, Andrade AFC, Celeghini ECC. Morphofunctional characterization of cooled sperm with different extenders to use in equine-assisted reproduction. *J Equine Vet Sci* 2014; 911-917

Garcia AR. Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? *Rev Bras Reprod Anim* 2017; 41:33-39

Gaughan JB, Mader TL, Holt SM, Lisle A. A new heat load index for feedlot cattle. *J Anim Sci* 2008; 86:226-234

Giro A, Pezzopane JRM, Barioni Junior W, Pedroso AF, Lemes AP, Botta D, Romanello N, Barreto AN, Garcia AR. Behavior and body surface temperature of beef cattle in integrated crop-livestock systems with or without tree shading. *Sci Total Environ* 2019; 684:587-596. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.377

Gonçalves AA, Garcia AR, Rolim Filho ST, Silva JARD, Melo DN, Guimarães TC, Tavares HR, Silva TVG, Souza EB, Santos SDS, Ohashi OM. Scrotal thermoregulation and sequential sperm abnormalities in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) under short-term heat stress. *J Therm Biol* 2021; 96:102842. Doi:10.1016/j.jtherbio.2021.102842

Gouel G, Guimbard H. Nutrition transition and the structure of global food demand. *American Journal of Agricultural Economics* 2018; 101: 383-403. Doi:<https://doi.org/10.1093/ajae/aay030>



Gulia S, Sarkar M, Kumar V, Meyer HHD, Prakash BS. Divergent development of testosterone secretion in male zebu (*Bos indicus*) and crossbred cattle (*Bos indicus* x *Bos taurus*) and buffaloes (*Bubalus bubalis*) during growth. *Trop Anim Health Prod* 2010; 42:1143-8. Doi: 10.1007/s11250-010-9538-x

Hamblen H, Hansen PJ, Zolini AM, Oltenacu PA, Mateescu RG. Thermoregulatory response of Brangus heifers to naturally occurring heat exposure on pasture. *J Anim Sci* 2018; 96:3131-3137. Doi:10.1093/jas/sky224

Hansen PJ. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci* 2004; 82:349-360. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.011

Idris M, Uddin J, Sullivan M, McNeill D, Phillips C. Non-invasive physiological indicators of heat stress in cattle. *Animals* 2021; 11:71. Doi:10.3390/ani11010071

IPCC - The Intergovernmental Panel on Climate Change 2021, IPCC Reports, Final Government Draft versions, Chapter 5: Food Security. <https://www.ipcc.ch/srccl-report-download-page/> Acesso em 10 de outubro de 2021

Januskauskas A, Gil J, Rodríguez-Martínez H, Söderquist L, Lundeheim N. Effects of a brief elevation of scrotal temperature on the post-thaw viability of bull semen. *Reprod Domest Anim* 1995; 30:271-277. Doi:10.1111/j.1439-0531.1995.tb00624.x

Kahwage PR, Esteves SN, Jacinto MAC, Barioni Junior W, Pezzopane JRM, Pantoja MHA, Bosi C, Miguel MCV, Mahlmeister K, Garcia AR. High systemic and testicular thermolytic efficiency during heat tolerance test reflects better semen quality in rams of tropical breeds. *Int J Biometeorol* 2017; Doi:10.1007/s00484-017-1367-4

Karoui S, Diaz C, Gonzalez-Marin C, Amenabar ME, Serrano M, Ugarte E, Gosalvez J, Roy R, Lopez-Fernandez C, Carabano MJ. Is sperm DNA fragmentation a good marker for field AI bull fertility? *J Anim Sci* 2012; 90:2437e49. Doi: 10.2527/jas.2011-4492

Karvate Junior N, Klosowski ES, Almeida RG, Mesquita EE, Oliveira CC, Alves FV. Shading effect on microclimate and thermal comfort indexes in integrated crop-livestock-forest systems in the Brazilian Midwest. *Int J Biometeorol* 2016; 60:1933-1941. Doi: 0.1007/s00484-016-1180-5

Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH. Contribution of the scrotum and testes to scrotal and testicular thermoregulation in bulls and rams. *J Reprod Fertil* 1996;108(1):81e5. Doi: 10.1530/jrf.0.1080081

Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 2010; 8(6): e1000412. Doi:10.1371/journal.pbio.1000412.

Koch S, Acebron SP, Herbst J, Hatiboglu G, Niehrs C. Post-transcriptional Wnt signaling governs epididymal sperm maturation. *Cell* 2015;163:1225-36. Doi: 10.1016/j.cell.2015.10.029

Kottek M, Grieser J, Beck C, Rudolf B, Rubel F. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol Z* 2006; 15:259-263. Doi:10.1127/0941-2948/2006/0130

Lamirande E, Jiang H, Zini A, Kodama H, Gagnon C. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev Reprod* 1997;2:48e54. Doi: 10.1530/ror.0.0020048

Leal WS, MacNeil MD, Carvalho HG, Vaz RZ, Cardoso FF. Direct and maternal breed additive and heterosis effects on growth traits of beef cattle raised in southern Brazil. *J Anim Sci* 2018;96:2536-2544. Doi: 10.1093/jas/sky160

Lees AM, Sejian V, Wallage AL, Steel CC, Mader TL, Lees JC, Gaughan JB. Review: The impact of heat load on cattle. *Animals* 2019; 9:322. Doi:10.3390/ani9060322

Lemes AP, Garcia AR, Pezzopane JRM, Brandão FZ, Watanabe YF, Cooke RF, Sponchiado M, de Paz CCP, Camplesi AC, Binelli M, Gimenes LU. Silvopastoral system is an alternative to improve animal welfare and productive performance in meat production systems. *Sci Rep* 2021; 8:11(1):14092. Doi:10.1038/s41598-021-93609-7

Liu S, Yue T, Ahmad MJ, Hu X, Zhang X, Deng T. Transcriptome analysis reveals potential regulatory genes related to heat tolerance in Holstein dairy cattle. *Genes* 2020; 11:68. Doi:10.3390/genes11010068

Lopes LB, Eckstein C, Pina DS, Carnevalli RA The influence of trees on the thermal environment and behaviour of grazing heifers in Brazilian Midwest. *Trop Anim Health Prod* 2016; 48:755-761. Doi:10.1007/s11250-016-1021-x

Magalhães CAS, Zolin CA, Lulu J, Lopes LB, Furtini IV, Vendrusculo LG, Zaiatz APSR, Pedreira BC, Pezzopane JRM. Improvement of thermal comfort indices in agroforestry systems in the southern Brazilian Amazon. *Journal of Thermal Biology* 2020; 91. Doi:10.1016/j.jtherbio.2020.102636

Malama E, Zeron Y, Janett F, Siuda M, Roth Z, Bollwein H. Use of computer-assisted sperm analysis and flow cytometry to detect seasonal variations of bovine semen quality. *Theriogenology* 2017; 87:79-90. Doi:10.1016/j.theriogenology.2016.08.002

Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Jr C, Pereira GR, Peripolli V, McManus C, Canozzi MEA, Lopes FG. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *Int J Biometeorol* 2015; 59:357-64 357364. Doi:10.1007/s00484-014-0847-z

Morrell JM. Heat stress and bull fertility. *Theriogenology*, 2020; 153:62-67. Doi:10.1016/j.theriogenology.2020.05.014

Moura ABB, Brandão FZ, Esteves SN, Nunes de Souza G, Fonseca JFD, Pantoja MHA, Romanello N, Botta D, Giro A, Garcia AR. Differences in the thermal sensitivity and seminal quality of distinct ovine genotypes raised in tropical conditions. *Theriogenology* 2019; 1;123:123-131. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.09.037

Muroya S, Hagi T, Kimura A, Aso H, Matsuzaki M, Nomura M. Lactogenic hormones alter cellular and extracellular microRNA expression in bovine mammary epithelial cell culture. *J Anim Sci Biotechnol* 2016; 7(1):8. Doi: 10.1186/s40104-016-0068-x

Nichi M, Bols PEJ, Zuge RM, Barnabe VH, Goovaerts IGF, Barnabe RC, Cortada CMN. Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. *Theriogenology* 2006; 66:822-828. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.01.056

Onasanya GO, Msalya GM, Thiruvankadan AK, Sreekumar C, Tirumurugaan GK, Sanni TM, Decampos JS, Amusan SA, Olowofeso O, Fafiolu AO, Okpeku M, Yakubu A, Ikeobi CO. Single nucleotide polymorphisms at heat shock protein 90 gene and their association with thermo-tolerance potential in selected indigenous Nigerian cattle. *Trop Anim Health Prod* 2020; 52(4):1961-1970. Doi:10.1007/s11250-020-02222-9

Paim TP, Goulart RO, da Silva DAL, Sousa JA, Gonçalves LF, Claudio FL, Calgato Júnior G, Gléria AA, Santos LC, Alves EM. Relationship of weight gain with infrared temperatures in Nelore and F1 (Nelore × Angus) heifers reared in two forage production systems. *J Anim Sci* 2018; 7;96(9):4002-4011. Doi: 10.1093/jas/sky242

Palmer CW. Management and Breeding Soundness of Mature Bulls. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2016; 32:479-95. Doi:10.1016/j.cvfa.2016.01.014

Parkinson TJ. Seasonal variations in semen quality of bulls: Correlations with environmental temperatures. *Vet Rec* 1987; 120:479-482. Doi: 10.1136/vr.120.20.479

Peel MC, Finlayson BL, McMahon TA. Updated world map of the Koppen Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci* 2007;11:1633-1644. Doi: 10.5194/hess-11-1633-2007

Pezzopane JRM, Nicodemo MLF, Bosi C, Garcia AR, Lulu J. Animal thermal comfort indexes in silvopastoral systems with different tree arrangements. *J Therm Biol* 2019; 79:103-111. Doi: doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.12.015

Porto-Neto LR, Bickhart DM, Landaeta Hernandez AJ, Utsunomiya YT, Pagan M, Jimenez P, Hansen PJ, Dikmen S, Schroeder SG, Kim ES. Convergent evolution of slick coat in cattle through truncation mutations in the prolactin receptor. *Front Genet* 2018; 9:57. Doi:10.3389/fgene.2018.00057

Kotrba R, Knížková I, Kunc P, Bartoš L. Comparison between the coat temperature of the eland and dairy cattle by infrared thermography. *J Therm Biol Volume* 2007; 6:355-359. Doi:10.1016/j.jtherbio.2007.05.006

Rahman MB, Vandaele L, Rijsselaere T, Maes D, Hoogewijs M, Frijters A, Noordman, J, Granados A, Dernelle E, Shamsuddin M, Parrish JJ, Van Soom A. Scrotal insulation and its relationship to abnormal morphology, chromatin protamination and nuclear shape of spermatozoa in Holstein-Friesian and Belgian Blue bulls. *Theriogenology* 2011; 76:1246-1257. Doi:10.1016/j.theriogenology.2011.05.031

Rahman MB, Schellander K, Luceno NL, Soom AV. Heat stress responses in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle fertility. *Theriogenology* 2018; 113 102e112. Doi: doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.02.012

Renaudeau D, Collin A, Yahav S, Basilio V, Gourdine JL, Collier RJ. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal* 2011; 6:707-728. Doi:10.1017/S1751731111002448

Revell SG, Mrode RA. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim Reprod Sci* 1994; 36:77-86. Doi:10.1016/0378-4320(94)90055-8

Rogers CDW, Ting M, Li C, Kornhuber K, Coffel ED, Horton RM, Raymond C, Singh D. Recent increases in exposure to extreme humid-heat events disproportionately affect populated regions. *Geophysical Research Letters* 2021;48. Doi:10.1029/2021GL094183

Romao JM, Jin W, He M, McAllister T. MicroRNAs in bovine adipogenesis: genomic context, expression and function. *BMC Genomics* 2014;15(1):137. Doi: 10.1186/1471-2164-15-137

Romanello N. Avaliação da qualidade do sêmen de touros Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*) sob diferentes condições climáticas e tratamento hormonal. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2017; 88p

Romanello N, Lourenço Junior JB, Barioni Junior W, Brandão FZ, Marcondes CR, Pezzopane JRM, Pantoja MHA, Botta D, Giro A, Moura ABB, Barreto AN, Garcia AR. Thermoregulatory responses and reproductive traits in composite beef bulls raised in a tropical climate. *Int J Biometeorol* 2018 62(9):1575-1586. Doi:10.1007/s00484-018-1557-8

Rosenberger G, Dirksen G, Gründer HD, Grunert E, Krause D, Stöber M. Exame clínico dos bovinos, terceira ed, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1993, 448p

Sabés-Alsina M, Johannisson A, Lundeheim N, Lopez-Bejar M, Morrell JM. Effects of season on bull sperm quality in thawed samples in northern Spain. *Vet Rev* 2017;180:251. Doi:10.1136/vr.103897

Sanocka D, Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:12e8

Sejian AP, Amitha JP, Rashamol VP, Vandana GD, Savitha ST. Climate change and cattle production: impact and adaptation. *J Vet Med Res* 2018; 5(4): 1134. Doi: <http://dx.doi.org/10.31893/2318-1265jabb.v7n3p104-118>

Sengar GS, Deb R, Singh U, Raja TV, Kant R, Sajjanar B, Alex R, Alyethodi RR, Kumar A, Kumar S, Singh R. Differential expression of microRNAs associated with thermal stress in Frieswal (*Bos taurus* x *Bos indicus*) crossbred dairy cattle. *Cell Stress and Chaperones* 2018a; 23:155-170. Doi:10.1007/ s12192-017-0833-6

Sengar, Gyanendra Singh, Rajib Deb, Umesh Singh, Vivek Junghare, Saugata Hazra, T,V, Raja, Rani Alex, Ashish Kumar, R, R, Alyethodi, Rajiv Kant, Subhash Jakshara, and C, G, Joshi. Identification of differentially expressed microRNAs in Sahiwal (*Bos Indicus*) breed

of cattle during thermal stress. *Cell Stress & Chaperones* 2018b; 23:5 1019-032. Doi:10.1007/s12192-018-0911-4

Setchell BP. The Parkes Lecture, Heat and the testis, *J Reprod Fertil* 1998;114: 179e94

Shamsi MB, Imam SN, Dada R. Sperm DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and amplications in management of infertility. *J Assist Reprod Genet* 2011; 28:1073-85. Doi: 10.1007/s10815-011-9631-8

Srikanth K, Kwon A, Lee E, Chung H. Characterization of genes and pathways that respond to heat stress in Holstein calves through transcriptome analysis. *Cell Stress Chaperones* 2017; 22:29-42. Doi:10,1007/s12192- 016-0739-8

Storbeck K-H, Swart AC, Goosen P, Swart P. Cytochrome b5: novel roles in steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 371:87-99. Doi: 10.1016/j.mce.2012.11.020

Summer A, Lora I, Formaggioni P, Gottardo F. Impact of heat stress on milk and meat production. *Anim Front* 2019; 9:39-46. Doi:10.1093/af/vfy026

Tostes RC, Carneiro FS, Carvalho MH, Reckelhoff JF. Reactive oxygen species: players in the cardiovascular effects of testosterone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2016; 1;310(1):R1-14. Doi:10.1152/ajpregu.00392.014

Van Camp SD. Common causes of infertility in the bull. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1997;13:203-231. Doi: 10.1016/s0749-0720(15)30336-4

Van Laer E, Moons C, Sonck B, Tuytens F. Importance of outdoor shelter for cattle in temperate climates. *Livest Sci* 2014; 159:87-101. Doi: 10.1016/j.livsci.2013.11.003

Velickovic JL, Stefanovic V. Hypoxia and spermatogenesis. *Int Urol Nephrol* 2014; 46:887-894 Doi:10.1007/s11255-013-0601-1

Wandinger SK, Richter K, Buchner J. The Hsp90 chaperone machinery. *J Biol Chem* 2008; 283(27):18473-18477. Doi: 10.1074/jbc.R800007200

Xu Q, Wang YC, Liu R, Brito LF, Kang L, Yu Y. Differential gene expression in the peripheral blood of Chinese Sanhe cattle exposed to severe cold stress. *Genet Mol Res* 2017;16:gmr16029593. Doi:10.4238/gmr1602 9593



MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela Sup1. Valores médios, erro padrão e coeficiente de variação da temperatura escrotal (°C), temperatura do funículo espermático (°C), temperatura do polo testicular dorsal (°C), temperatura do polo testicular ventral (°C), temperatura da cauda do epidídimo (°C), Grad1 = temperatura interna – temperatura do polo testicular dorsal (°C), Grad2 = temperatura interna – temperatura do polo testicular ventral (°C), Grad3 = temperatura interna – temperatura da cauda do epidídimo (°C), Grad4 = temperatura do polo testicular dorsal – temperatura do polo testicular ventral (°C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (FS) ou com arborização (CLF) em ambiente tropical.

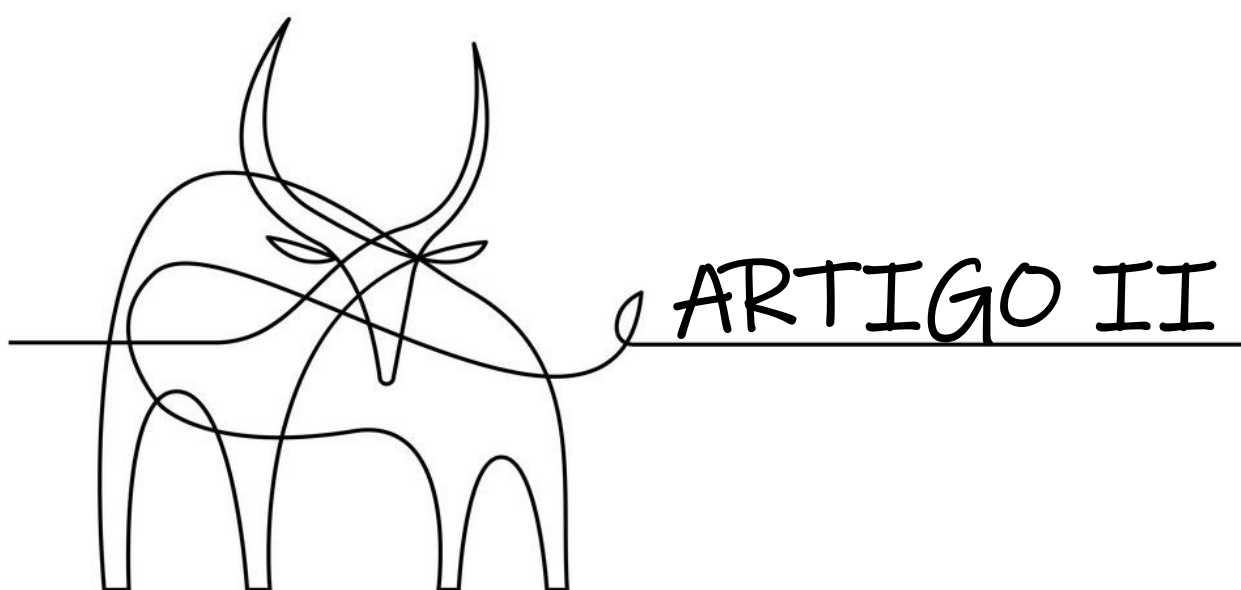
Variável	Média	Erro Padrão	Coeficiente de Variação
Temperatura escrotal (°C)	33,75	1,27	3,78
Temperatura do funículo espermático (°C)	35,96	1,37	3,82
Temperatura do polo testicular dorsal (°C)	34,51	1,28	3,71
Temperatura do polo testicular ventral (°C)	32,47	1,39	4,30
Temperatura da cauda do epidídimo (°C)	30,82	1,92	6,24
Grad1 = temperatura interna – temperatura do polo testicular dorsal (°C)	4,88	1,28	26,32
Grad2 = temperatura interna – temperatura do polo testicular ventral (°C)	6,92	1,39	20,13
Grad3 = temperatura interna – temperatura da cauda do epidídimo (°C)	8,57	1,92	22,43
Grad4 = temperatura do polo testicular dorsal – temperatura do polo testicular ventral (°C)	2,03	0,94	46,09

Tabela Sup2. Valores médios, erro padrão e coeficiente de variação do perímetro escrotal (cm), consistência do testículo direito (1-5) e consistência do testículo esquerdo (1-5) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.

Variável	Média	Erro Padrão	Coeficiente de Variação
Perímetro escrotal (cm)	34,49	2,75	7,98
Consistência do testículo direito (1-5)	3,12	0,40	12,95
Consistência do testículo esquerdo (1-5)	3,24	0,36	11,16

Tabela Sup3. Valores médios, erro padrão e coeficiente de variação do vigor espermático (0-5), motilidade espermática progressiva (%) e concentração espermática ($\times 10^6$ spz/mL) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*) em diferentes estações climáticas, mantidos em sistema de produção a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.

Variável	Média	Erro Padrão	Coeficiente de Variação
Vigor espermático (0-5)	2,75	0,66	23,90
Motilidade espermática progressiva (%)	59,82	15,60	26,08
Concentração espermática ($\times 10^6$ spz/mL)	1023,90	732,19	71,51



ARTIGO II – O Sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta aumenta o conforto térmico de touros Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*) mantidos em clima tropical

**Artigo a ser submetido ao Periódico International Journal of Biometeorology (ISSN 0020-7128), Qualis A2 em Medicina Veterinária e JCR 2,377*

Resumo

Estratégias de manejo que visam minimizar os efeitos adversos do aumento constante de temperatura e umidade ambiental sobre a eficiência da pecuária de corte têm se tornado cada vez mais relevantes. O estudo visou avaliar a influência das diferentes condições microclimáticas ocorrentes nos sistemas de produção de pastagens não-sombreadas e de pastagem em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta na resposta termorregulatória de touros Nelore e Canchim, durante diferentes estações climáticas. Foram utilizados 64 touros, sendo 32 Nelore (*Bos indicus*) e 32 Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*). O experimento foi realizado durante um período que contemplou as estações de Verão I, Outono, Inverno, Primavera e Verão II em dois diferentes sistemas de produção: Sistema a pleno sol (Grupo PS; 16 Nelore e 16 Canchim) e Sistema com arborização (Grupo iLPF; 16 Nelore e 16 Canchim). O experimento seguiu um delineamento fatorial 2x2 (dois genótipos e dois sistemas), com medidas repetidas no tempo. Mensalmente, os animais foram avaliados quanto à frequência respiratória e temperatura interna corpórea, concentração sérica hormonal (cortisol e triiodotironina) e temperatura da superfície corporal. Os dados foram avaliados considerando um modelo linear misto geral e em caso de resultados significativos, o Teste de Tukey foi utilizado ($P < 0,05$). De modo geral, as variáveis climáticas avaliadas, sendo, temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$), temperatura do globo negro ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa (%), velocidade do vento (m/s), Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade e a Carga Térmica Radiante (W/m^2) apresentaram menores valores no sistema sombreado (iLPF) comparado ao sistema não sombreado (PS). Animais do iLPF demonstraram melhor resposta fisiológica, no Outono, com valores de frequência respiratória de $31,97 \pm 0,88$ versus $35,85 \pm 0,88$ e de temperatura interna $39,35 \pm 0,05$ versus $39,54 \pm 0,05$ ($P < 0,05$). As variações hormonais e de temperatura corpórea foram divergentes tanto com relação ao sistema de produção, quanto aos genótipos dos animais estudados. Conclui-se com os resultados apresentados, que o sistema iLPF foi



eficaz em minimizar os efeitos adversos ambientais sobre as variáveis fisiológicas, endócrinas e de temperaturas de superfície corpórea de touros bovinos de corte.

Palavras-chave: agricultura tropical, bem-estar animal, iLPF, termorregulação, sistemas integrados, sustentabilidade.

Abstract

Management strategies that aim to minimize the adverse effects of the constant increase in temperature and environmental humidity on the efficiency of beef cattle raising have become increasingly relevant. The study aimed to evaluate the influence of different microclimatic conditions occurring in the production systems of non-shaded pastures and pasture in a crop-livestock-forest integration system on the thermoregulatory response of Nellore and Canchim bulls, during different climatic seasons. 64 bulls were used, 32 Nellore (*Bos indicus*) and 32 Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*). The experiment was carried out during a period that included the seasons of Summer I, Autumn, Winter, Spring and Summer II in two different production systems: Full sun system (Group FS; 16 Nellore and 16 Canchim) and System with trees (Group CLF; 16 Nellore and 16 Canchim). The experiment followed a 2x2 factorial design (two genotypes and two systems), with repeated measures over time. The animals were monthly evaluated for respiratory rate and internal body temperature, serum hormone concentration (cortisol and triiodothyronine) and body surface temperature. The data were evaluated considering a general mixed linear model and in case of significant results, the Tukey test was used ($P < 0.05$). Air temperature ($^{\circ}\text{C}$), black globe temperature ($^{\circ}\text{C}$), relative humidity (%), wind speed (WS, m/s), Black Globe Temperature and Humidity Index (BGHI) and the Radiant Thermal Load (W/m^2) presented lower values in the shaded system (CLF) compared to the non-shaded system (FS). Animals from the CLF showed better physiological response, in autumn, with respiratory rate values of 31.97 ± 0.88 versus 35.85 ± 0.88 and internal temperature 39.35 ± 0.05 versus 39.54 ± 0.05 ($P < 0.05$). Hormonal and body temperature variations were divergent both in relation to the production system and the genotypes of the studied animals. The results showed that the CLF system was effective in minimizing adverse environmental effects on physiological, endocrine and body surface temperature variables of beef bulls.

Keywords: tropical agriculture, animal welfare, CLF, thermoregulation, integrated systems, sustainability.

Introdução

Diversos países vêm progressivamente sofrendo com os efeitos das alterações climáticas, o que vem determinando prejuízos diretos no setor agroalimentar (Bayssa et al., 2021). Segundo o IPCC (2021), há uma projeção de que a temperatura da superfície terrestre poderá aumentar em média de 2.6°C a 4.8°C até o ano de 2100. Estima-se que a frequência, a intensidade e a duração das condições bioclimatológicas extremas, tanto em relação ao frio quanto ao calor, serão cada vez mais agressivas (Howden et al., 2008). No setor da pecuária, os bovinos de corte sofrem grandemente quando expostos a elevadas temperaturas, umidade do ar e alta incidência de radiação solar, sendo uma das espécies mais suscetíveis ao estresse hídrico e alimentar em decorrência das mudanças climáticas (Bati et al., 2014; Ali et al., 2021).

As alterações climáticas afetam não somente a produtividade, mas também a saúde geral dos bovinos. O estresse pelo calor tem efeitos deletérios sobre a homeostase, causando alterações nutricionais e metabólicas que comprometem o desempenho produtivo, em virtude da redução na velocidade de crescimento, diminuição do ganho de peso e redução na qualidade da carne (Henry et al., 2012). O comprometimento reprodutivo de bovinos que permanecem constantemente expostos as severas intempéries ambientais que extrapolam sua zona de conforto térmico, também é notório e debilita de forma significativa sua fertilidade e morfofisiologia (Lees et al., 2019). Adicionalmente, as condições que derivam das intempéries ambientais resultam em efeitos adversos na condição imunológica dos animais, tornando os bovinos mais suscetíveis a diversas doenças e expostos a condições que não atendem às premissas do bem-estar animal (Bett et al., 2017; Caminade et al., 2019).

Em vista disto, estudos que busquem desenvolver estratégias para mitigar o problema de estresse térmico de rebanhos mantidos a pasto vêm ganhando importância, em regiões de clima tropical (Domiciano et al., 2016; Giro et al., 2019a; Santos et al., 2021) e subtropical (Davison et al., 2016; Deniz et al., 2021). Nesse sentido, a implementação do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta vem tornando os sistemas produtivos cada vez mais sustentáveis, especializados e tecnificados (Garrett

et al., 2017). O sistema de integração lavoura-pecuária-floresta possui diversos benefícios, como a intensificação no uso da terra, com aumento dos componentes implementados em um mesmo espaço, permitindo também, a diversidade da produção agrícola, fornecendo ao produtor a opção para inserção de grãos e ou forrageiras no sistema (Figueiredo et al., 2017). Ainda, tem potencial de contribuir para a redução da emissão de gases poluentes, principalmente gás carbônico e gás metano (Sá et al., 2017).

Considerando o componente animal dentro do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta, este pode se beneficiar com o aumento da qualidade da forrageira e com o conforto térmico, devido à presença do componente arbóreo integrado às pastagens (Assmann et al., 2014; Bertolazzi et al., 2017). Sabe-se, também, que sistemas que possuem o componente arbóreo causam mudanças microclimáticas positivas no ambiente biofísico, fornecendo sombreamento natural e um ambiente com temperatura mais amena, proporcionando menor número de horas de estresse térmico (Pezzopane et al., 2019). Contudo, existem lacunas de informações científicas sobre a adoção dos sistemas integrados e seus possíveis benefícios sobre os animais. Um dos pontos intrigantes é como podem responder os mecanismos de homeotermia de reprodutores bovinos de origem zebuína ou de raças compostas quando mantidos nesses sistemas de produção.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência das diferentes condições microclimáticas ocorrentes nos sistemas de produção de pastagens não-sombreadas e de pastagem em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta na resposta termorregulatória de touros Nelore e Canchim, durante diferentes estações climáticas. Com isso, pretende-se gerar informações sobre os efeitos do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta como uma ferramenta que possa contribuir para maior eficiência do manejo de touros de corte, além de contribuir com o processo de identificação e seleção de animais mais adaptados ao ambiente tropical.

Material e Métodos

Local e período experimental

O experimento foi realizado em treze meses, de janeiro de 2018 a janeiro de 2019, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP, Brasil (21°57'42''S, 47°50'28''W, altitude 860 m). O tipo climático

local é Cwa, tropical de altitude, conforme classificação de Köppen-Geiger (Kottek et al. 2006), com quatro estações climáticas definidas: Inverno (junho a setembro), Primavera (setembro a dezembro), Verão (dezembro a março) e Outono (março a junho). No decorrer do ano, a temperatura máxima do ar varia de 29,2 a 36,6 °C com picos de até 38,0 °C. A média de umidade relativa do ar varia de 55,3 a 90,5%. A precipitação anual é de 1.361 mm, sendo o mês de janeiro o mais chuvoso, com média de 274,7 mm, e agosto o menos chuvoso, com média de 22,8 mm. A média da radiação solar no Verão é de 20,85 MJ/m²/dia, com valores mínimos de 13,19 MJ/m²/dia registrados em junho e máximos de 27,82 MJ/m²/dia em novembro (Embrapa, 2021). O período experimental contemplou cinco estações climáticas consecutivas, denominadas como Verão I (janeiro-março), Outono (janeiro-junho), Inverno (junho-setembro), Primavera (setembro-dezembro) e Verão II (dezembro-janeiro).

Bioética

O experimento foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais Experimentais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (protocolo CEUA nº 4361040917). O experimento foi conduzido em conformidade com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (Brasil, 2016) e os resultados reportados de acordo com o The ARRIVE Guidelines (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) (Kilkenny et al., 2010).

Sistemas de produção e tratamentos

A área experimental era composta por dois diferentes sistemas de produção (Fig 1), os quais correspondem aos tratamentos, a saber: I) Sistema a pleno sol, Grupo PS: sistema de pastagens (12 ha), para pastejo rotacionado intensivo de *Brachiaria brizantha* (cv Piatã), sem presença significativa de árvores nem elementos de sombreamento artificial. II) Sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta, Grupo iLPF, sistema idêntico ao anterior em área e tipo de forragem (12 ha), com diferencial de haver árvores de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) dispostas em linhas simples, no sentido leste-oeste, com espaçamento de 15 metros entre linhas e 4 metros entre plantas (165 árvores/ha). As árvores determinam área de sombreamento útil de 30% (Fig 2). Os sistemas eram subdivididos em piquetes de 0,5 ha, sendo que a rotação



dos animais nos piquetes ocorreu a cada 6 dias, com tempo de descanso da pastagem de 30 dias, perfazendo ciclos de pastejo de 36 dias. As árvores foram plantadas sete anos antes do estudo, em fileiras simples, com espaçamento de 15 metros entre linhas e 2 metros entre árvores na linha, caracterizando densidade de 333 árvores/ha. Com o crescimento natural das árvores, a fim de manter o equilíbrio com os demais componentes do sistema, em junho de 2016 foi realizada remoção de 50% das árvores dentro de cada subsistema, aumentando o espaçamento entre árvores para 4 metros e determinando a densidade arbórea utilizada no presente estudo (165 árvores/ha), quando as árvores apresentavam altura média de 29 m. A área sombreada variou espacialmente em relação ao horário do dia, mas a disposição das fileiras e a densidade arbórea adotada foram suficientes para fornecer sombra aos animais do Grupo iLPF em qualquer momento do dia.

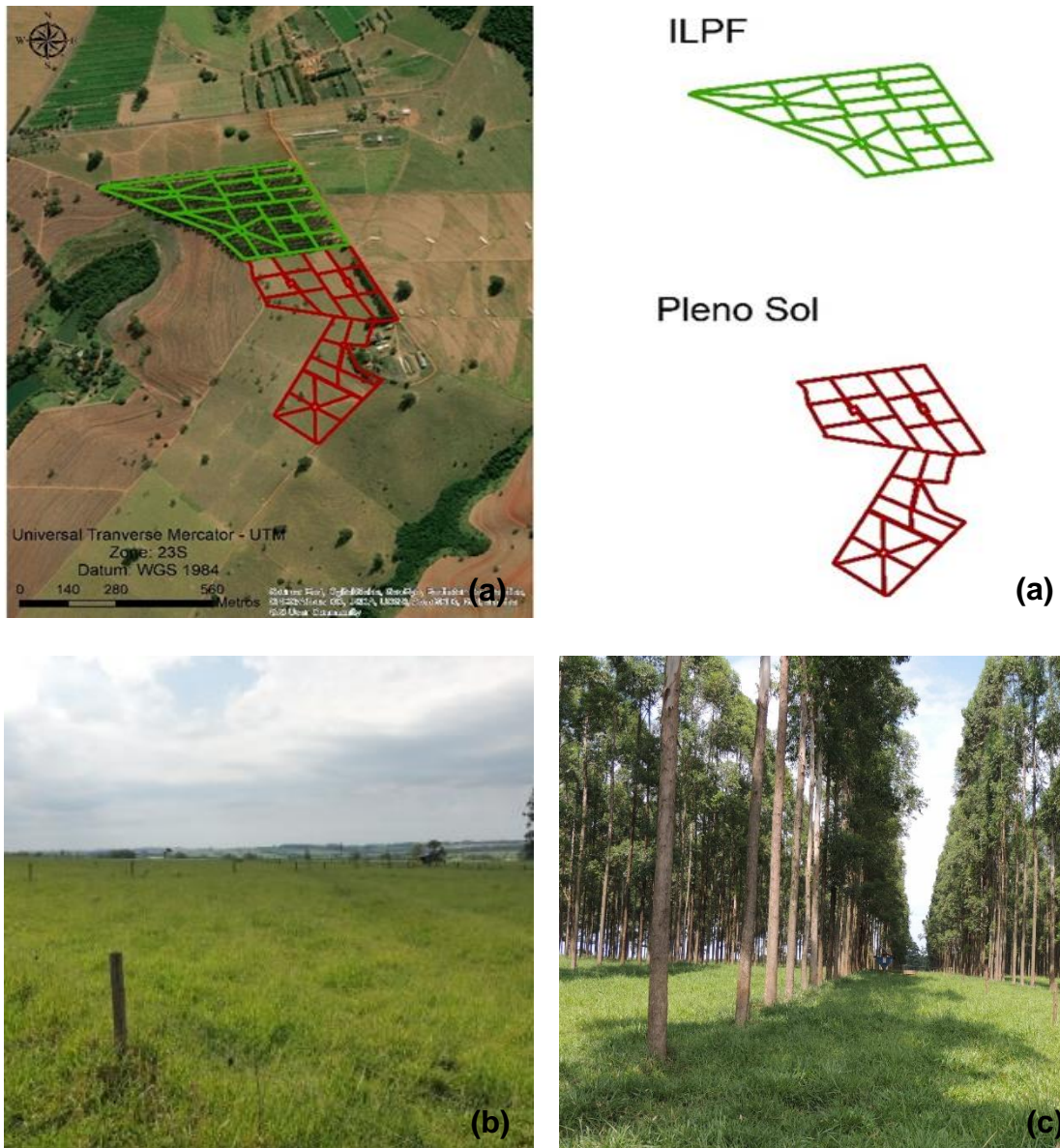


Fig. 1 (a) Fotografia aérea demonstrando a área experimental com os sistemas de produção em pastagens a pleno sol (PS) (delimitado por linha vermelha) e em Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) (delimitado por linha verde) implantados em São Carlos, Brasil. (b) Fotografias com detalhe dos sistemas de pastagens de *Brachiaria brizantha* a pleno sol e (c) com arborização (Fonte: Arquivos Garcia AR, 2021; Maio AMD, 2019).

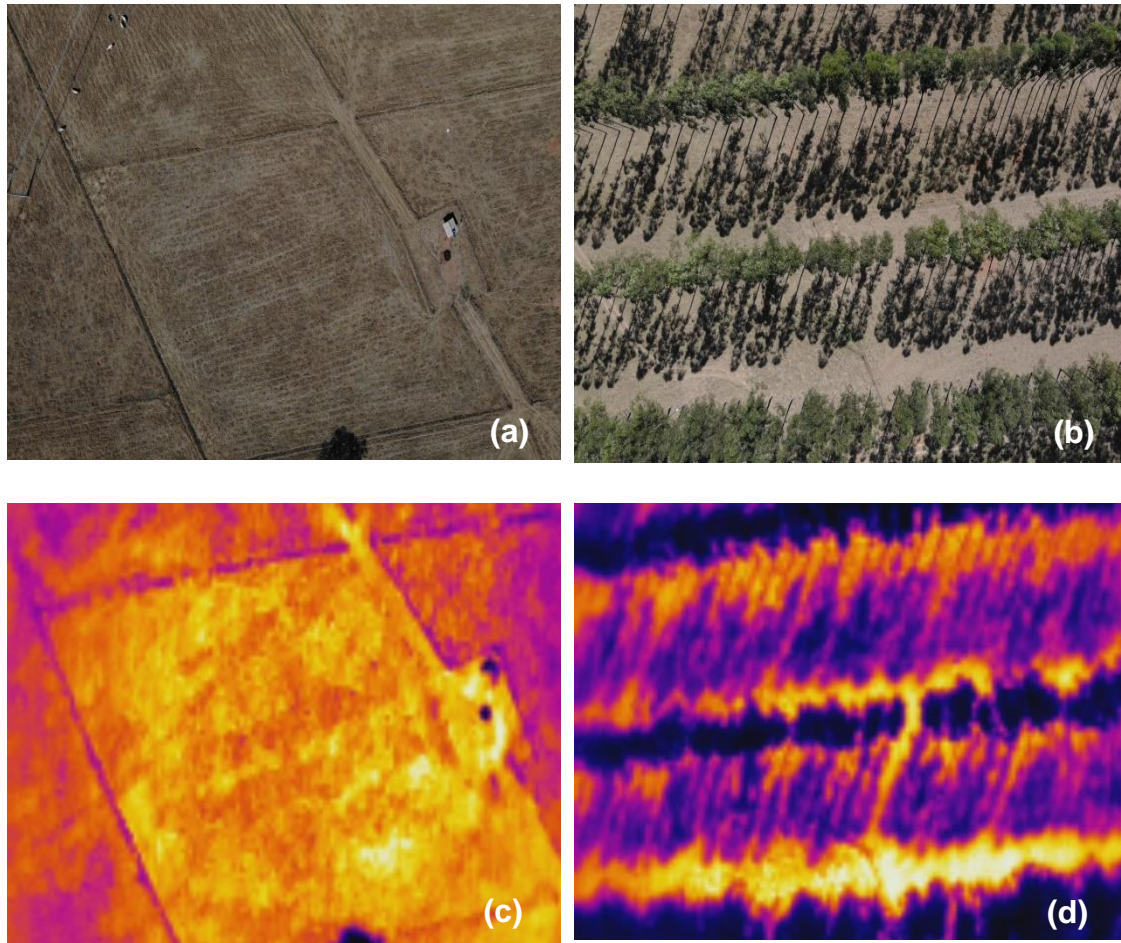


Fig. 2 Fotografias realizadas por veículo aéreo não-tripulado demonstrando os sistemas de produção a pleno sol (a, c) e em integração lavoura-pecuária-floresta (b, d) com uso de câmera digital no espectro visível e câmera termográfica por infravermelho, em São Carlos, Brasil. Detalhe para a diferença térmica entre pastagens com ou sem sombreamento (cores laranja/amarela indicam maiores temperaturas; cores lilás/azul indicam temperaturas mais baixas). Termogramas parametrizados para escala automática e paleta iron. (Fonte: Arquivos Garcia AR, 2021; Pezzopane JRM, 2019).

Variáveis biometeorológicas e indicadores térmicos

Os sistemas de produção foram permanentemente monitorados durante o período experimental. Foram demonstrados nos resultados os valores médios das variáveis climáticas registradas entre às 08:00 e às 16:00 horas, pois são as consideradas de maior interesse em virtude de representarem as temperaturas mais elevadas ao longo das 24 horas do dia e por englobarem momentos de maior radiação solar sobre os sistemas de produção (Magalhães et al., 2020). A caracterização microclimática foi realizada por meio de duas estações meteorológicas automáticas, uma instalada na área do Grupo PS, e outra na área do Grupo iLPF, com o intuito de demonstrar as diferenças microclimáticas entre os sistemas. Os registros contemplaram dados de temperatura do ar (TA, °C), temperatura do globo negro (TGN, °C), umidade relativa (UR, %) e velocidade do vento (VV, m/s). As estações automáticas eram compostas dos seguintes sensores: termohigrômetro (HC2-S3, Rotronic, Bassersdorf, Suíça - Acurácia: ± 0,8% UR, ± 0,1 ° C) instalado em abrigos de placas múltiplas, anemômetro ultrassônico (Windsonic, Gill, Lymington, Hampshire, Reino Unido - Acurácia: ± 2% de leitura) e termopar de cobre-constantan (Acurácia: 0,4% de leitura) inserido em globo negro metálico. Os sensores foram instalados 1,5m acima da superfície do solo e eram conectados a datalogger (CR3000, Campbell Scientific, Logan, UT, EUA). No sistema iLPF, a instalação dos sensores foi realizada na posição abaixo as árvores, e, para tal, um ponto representativo da cobertura da copa das árvores foi escolhido. Para instalação dos sensores no sistema PS, foi escolhido um local descampado, distante de elementos que pudessem causar interferência no monitoramento. Com base nos registros, foram calculados o Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) através da seguinte fórmula (Buffington et al., 1981):

$$ITGU = TGN + 0.36 (TPO) + 41.5$$

Onde, TGN= Temperatura de Globo Negro e TPO= Temperatura de Ponto de Orvalho. A Carga Térmica Radiante (CTR, W/m²) (Esmay, 1978) foi calculada através da fórmula:

$$CTR = \sigma \times (T_m^2)$$



Onde, σ = Constante de Stefan-Boltzman ($5.67 \times 10^{-8} \text{K}^4, \text{W/m}^2$) e T_m^2 = Temperatura Radiante Média (W/m^2).

Animais experimentais e manejo

Foram utilizados 64 touros bovinos, sendo 32 animais da raça Nelore (*Bos indicus*) e 32 da raça Canchim ($5/8 \text{ Bos taurus} \times 3/8 \text{ Bos indicus}$). Os animais apresentavam, em média, 24 meses de idade, 412 kg e escore de condição corporal $5,9 \pm 0,1$ (escala de 1 a 9) (Cooke et al., 2009) ao início do experimento. Os animais foram pré-selecionados dentre um rebanho de 175 touros contemporâneos, oriundos de um mesmo sistema de produção a pasto, a fim de garantir a homogeneidade dos animais experimentais. O Grupo PS foi composto por 16 animais Nelore e 16 Canchim (PS, $n=32$), os quais foram alocados em área de pastagens não-sombreadas no sistema de pastagem em monocultura. O Grupo iLPF foi formado por 16 animais Nelore e 16 Canchim (iLPF, $n=32$), alocados em área de pastagens sombreadas no sistema de integração-lavoura-pecuária-floresta. O período de adaptação dos animais ao manejo foi de 30 dias antes do início das coletas de dados. Os animais foram mantidos sob iguais condições sanitárias e nutricionais, com acesso *ad libitum* à água em bebedouros automáticos e a suplementação mineral em cochos cobertos, localizados no centro de manejo de cada subsistema. O manejo sanitário seguiu as recomendações preconizadas para a espécie.

Temperaturas de superfície corpórea por termografia infravermelha

A temperatura de superfície corpórea dos animais foi avaliada com uso de sensoriamento proximal por termografia infravermelha, com auxílio de termógrafo portátil (Testo 890-2 kit, Testo AG, Lenzkirch, Alemanha), com resolução no infravermelho de 640×480 pixels, sensibilidade térmica de $<40 \text{ mK}$ ($<0,04 \text{ }^\circ\text{C}$ a temperatura ambiente de $+30 \text{ }^\circ\text{C}$), faixa de temperatura de 0 a $+350 \text{ }^\circ\text{C}$, na opção de foco manual. A emissividade adotada foi de 0,98 (Romanello et al., 2018). As imagens foram geradas sempre pelo mesmo operador, mensalmente a campo e em curral de manejo em dias diferentes, respeitando sempre a janela de coleta nos horários de maior desafio térmico do dia (11h00 às 14h30) (Fig 3). As avaliações no curral de manejo foram realizadas em dias distintos das avaliações a campo, ambas sempre realizadas em

dias representativos da estação climática e nos quais não tivesse ocorrido precipitação pluvial.

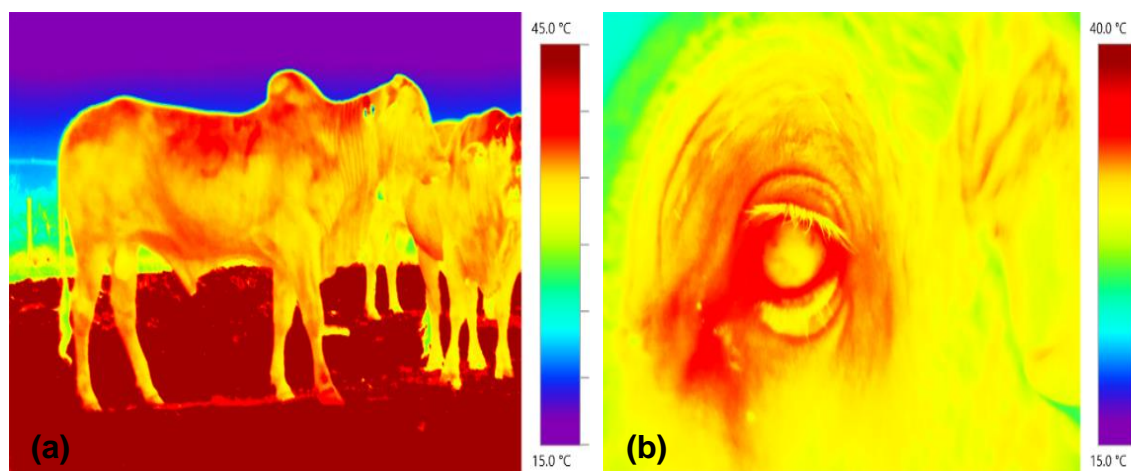


Fig. 3 Imagens ilustrativas termográficas de touros bovinos. (a) Abordagem lateral para registro a campo do antímero direito do animal em estação, respeitando sua zona de fuga, (b) Abordagem lateral com animal contido em brete para registro do globo ocular esquerdo. Termogramas parametrizados para paleta rainbow e escalas de 15,0 a 45,0 °C e 15,0 a 40,0 °C (Fonte: Arquivo pessoal).

Os registros a campo consideraram a aquisição de imagens individuais do antímero direito de cada animal parado e em estação, sem a necessidade de movimentação prévia do animal ou sua separação do lote. Os termogramas foram gerados a uma distância ortogonal aproximada de 5 m (Giro et al., 2019a), dentro do campo de visão do animal porém externo à sua zona de fuga, de modo que o animal se mantivesse calmo e com comportamento natural no ambiente. Para as imagens de campo, o termógrafo portátil foi equipado com lente do tipo telefoto, com campo de visão de 15° x 11° (40 mm) e resolução geométrica (IFOV) de 0.42 mrad (Testo AG, Lenzkirch, Alemanha).

Para a execução dos registros termográficos em curral, os animais foram conduzidos uma vez ao mês ao local de manejo e contidos em brete, para avaliação da região anatômica do globo ocular esquerdo. A distância ortogonal adotada entre o termógrafo e a região de interesse foi padronizada em 0,5m (Romanello et al., 2018; Giro et al., 2019b). A aquisição dos termogramas de globo ocular foi realizada com o



termógrafo equipado com lente trocável de 42° x 32° (15 mm), resolução geométrica (IFOV) de 1.13 mrad, que permite distância mínima de foco de 0,1m.

A análise dos termogramas foi realizada com uso do *software* IRSoft-Testo versão 4.5, delimitando as regiões anatômica de interesse. Para os termogramas de antímero direito realizados a campo, foram consideradas de interesse as avaliações das regiões anatômicas do dorso e do tronco, pois, estas estão expostas a maior radiação solar direta durante o dia. Assim, as temperaturas do dorso foram determinadas em 1574 termogramas (90 termogramas, ou 5,4% das amostras, não apresentavam qualidade suficiente para serem analisados), por meio de traçado linear da escápula até a crista ilíaca (Pantoja et al., 2017), sendo apresentadas como as temperaturas mínima de dorso (MiTD, °C), média de dorso (MeTD, °C) e máxima de dorso (MxTD, °C). A temperatura média do tronco (TTro, °C) foi determinada por traçado à mão livre, com integralização da área de interesse, conforme descrito por Kotrba et al (2007). Para a temperatura de globo ocular (GLO, °C), foram avaliados 832 termogramas. A interpretação foi obtida por traçado circular sobre a região orbital, incluindo o globo ocular e aproximadamente 1 cm da cavidade orbital, para incluir a glândula lacrimal. Os valores máximos de GLO (hot spots) foram usados na análise estatística (Hoffmann et al., 2013; Romanello et al., 2018).

Variáveis fisiológicas

A frequência respiratória (FR, movimentos/minuto) e a temperatura interna corpórea (TR, °C) foram aferidas mensalmente sempre das 11h00 às 14h30, com intuito de contemplar o horário do dia de maior desafio térmico. Os animais eram conduzidos ao passo (4 a 5 minutos) até curral de manejo contíguo à área de pastagem. Os animais eram contidos em brete para avaliação, abrigado de radiação solar direta e chuva. A FR foi aferida por observação da região tóraco-abdominal e contagem dos movimentos respiratórios durante um minuto. A TR foi avaliada por termometria clínica digital por via transretal (Rosenberger et al., 1993). Adotou-se o critério de deslocar os animais para avaliação no curral sempre em pequenos lotes de manejo de oito animais, que eram conduzidos em ordem alternada a cada data estabelecida para a coleta de dados. Esse cuidado de delineamento foi adotado com o intuito de impossibilitar uma ordem fixa de entrada dos animais, e evitar que os dados dos animais fossem influenciados pelo avançar do horário, dentro da janela de tempo estipulada. A sequência adotada para as

coletas de dados era fixa, sendo sempre realizados antes os métodos menos invasivos, a saber: avaliações termográficas, frequência respiratória, temperatura interna corpórea e coleta de sangue para dosagens hormonais.

Dosagens hormonais

As concentrações séricas de cortisol e triiodotironina (T3) foram determinadas mensalmente por radioimunoensaio. O sangue foi colhido em tubos a vácuo siliconizados de 10 mL, sem anticoagulante. Com intuito de contemplar o horário do dia de maior desafio térmico, as colheitas eram sempre realizadas das 11h00 às 14h30. As amostras foram centrifugadas a 1.350 x g por 15 minutos para a separação do soro, fracionadas em alíquotas e armazenadas a -20°C em microtubos de polipropileno para posterior análise em laboratório. As dosagens de cortisol (832 amostras) foram realizadas com o kit Cortisol Immuchem Coated Tube (MP Biomedicals, LCC Diagnostics Division, USA). A sensibilidade e o coeficiente intra-experimento foram de 0,17 ug/dL e 11%, respectivamente. As dosagens de T3 (832 amostras) usaram o kit T3 Antibody-Coated Tubes, T3 Tracer [125I] e T3 Standards Set (MP Biomedicals, Inc., Diagnostics Division, USA), sendo a sensibilidade, o coeficiente intra e inter-experimento de 6,7 ng/dL, 9% e 10%, respectivamente.

Análise estatística

As variáveis relacionadas ao experimento, foram avaliadas considerando um modelo linear misto geral que contemplou os fixos de Estação (verão, outono, inverno primavera ou verão), Raça (Nelore ou Canchim), Tratamento (PS ou iLPF), interações duplas Estação x Raça, Estação x Tratamento, Raça x Tratamento e interação tripla Estação x Raça x Tratamento, além dos efeitos aleatórios de animal dentro de lote e resíduo. Em caso de variáveis expressas em percentagens, utilizou-se um modelo linear misto generalizado com função de ligação logística visando relacionar a variável dependente em análises ao modelo descrito acima. Os animais dentro de cada lote foram incluídos nas análises visando acomodar a estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais ao longo das diferentes estações avaliadas. As estruturas de covariância entre as medidas repetidas foram avaliadas pelo critério de informação de Akaike, AIC (Akaike,1973). As pressuposições dos modelos de análise variância (normalidade e homogeneidade dos resíduos) foram realizadas simultaneamente por

meio de análises de resíduos condicionais Studentizados. Em caso de resultados significativos para os efeitos fixos de Estação, Raça, Tratamento, interações duplas e interação tripla, o Teste de Tukey foi utilizado, de forma apropriada, como procedimento para comparação das médias, visando manter o nível de confiança conjunto fixado. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do procedimento PROC MIXED ou GLIMMIX, do programa Statistical Analysis System, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).). No presente trabalho foram apresentadas apenas as variáveis que demonstraram diferença estatística. O nível de significância adotado foi de $P < 0.05$.

Resultados

Variáveis biometeorológicas e indicadores térmicos

As médias gerais registradas e as diferenças entre os tratamentos com relação às variáveis biometeorológicas e indicadores térmicos podem ser observadas na Tabela 1. A umidade relativa não apresentou diferença entre tratamentos. A presença do componente arbóreo reduziu a carga térmica radiante de 656 para 551 W/m^2 nas pastagens e diminuiu significativamente a temperatura média do ar em 0,6 °C e a temperatura de globo negro em 3,7 °C. Conseqüentemente, o ITGU foi mais alto em 3,8 pontos nas áreas não-sombreadas, onde, porém, a velocidade do vento foi maior em 0,6 m/s.

Tabela 1 Valores médios (\pm erro padrão) da temperatura do ar (TA, °C), temperatura do globo negro (TGN, °C), umidade relativa (UR, %), velocidade do vento (VV, m/s), Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) e a Carga Térmica Radiante (CTR, W/m²), registrados entre 8h00 e 16h00 durante o período experimental em sistemas a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF) em ambiente tropical.

Variável	Tratamento		P valor (<)
	PS	iLPF	
TA (°C)	24,70 \pm 0,14a	24,09 \pm 0,14b	0,01
TGN (°C)	32,76 \pm 0,23a	29,01 \pm 0,23b	0,01
UR (%)	61,58 \pm 0,86	62,93 \pm 0,86	0,01
VV (m/s)	2,05 \pm 0,02a	1,39 \pm 0,02b	0,01
ITGU*	80,04 \pm 0,21a	76,22 \pm 0,21b	0,01
CTR (W/m ²)	656,14 \pm 3,33a	551,58 \pm 3,33b	0,05

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente.

* variável adimensional.

Temperaturas de superfície corpórea

As diferenças nos padrões de temperatura de superfície corpórea podem ser observadas na Fig 4. A MiTD, MeTD e TTro foram maiores nos animais que permaneceram a pleno sol no Outono e Inverno, sem diferenças entre tratamentos. Animais a pleno sol também apresentaram valores mais expressivos de MxTD durante as estações de Outono, Inverno e Verão II. A GLO não apresentou diferença significativa nos tratamentos e períodos estudados.

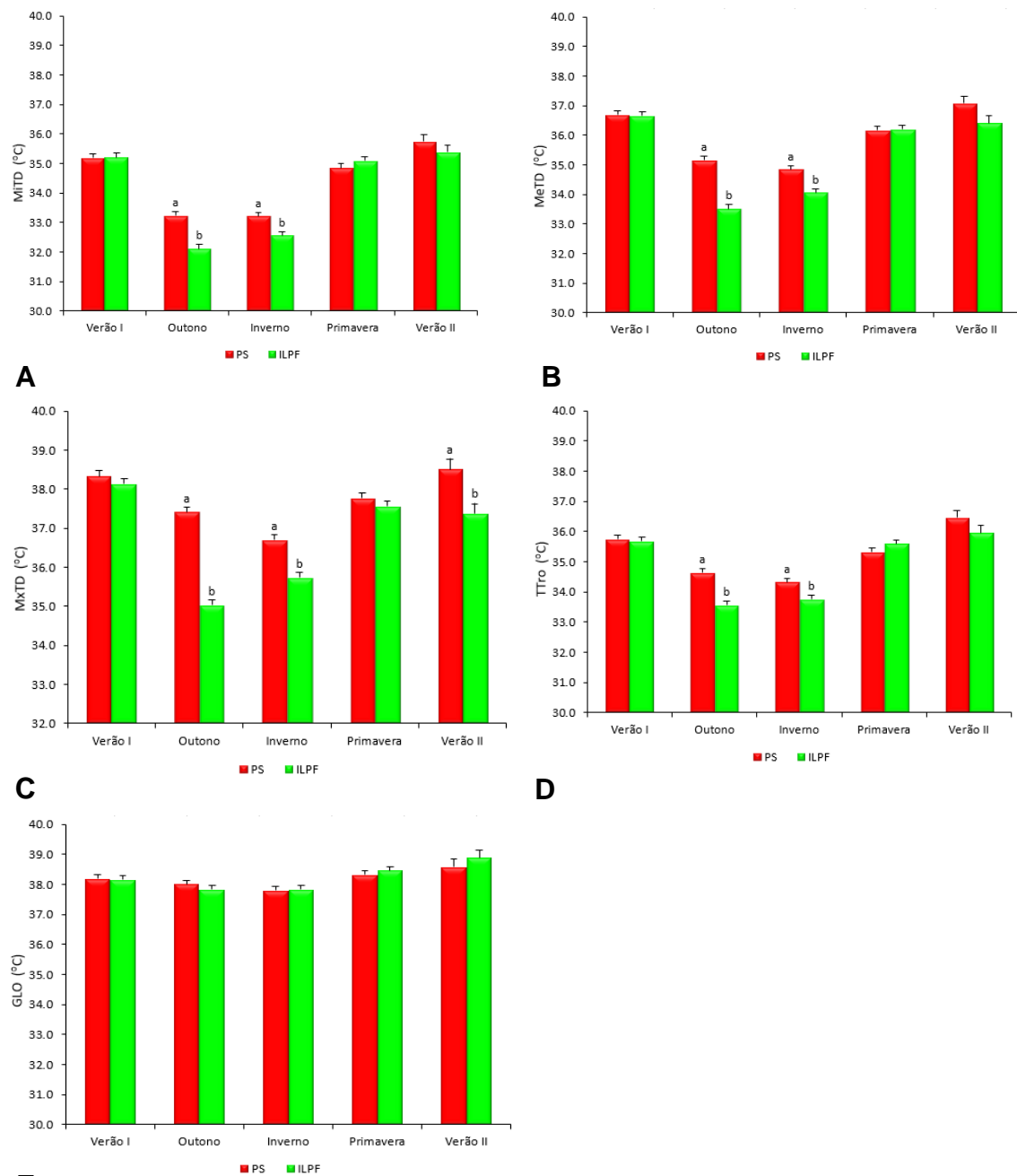


Fig. 4 Médias (\pm erro padrão) das (A) temperaturas mínima (MiTD, °C) (B) média (MeTD, °C) e (C) máxima do dorso (MxTD, °C), temperatura média do tronco (TTro, °C) e temperatura de globo ocular (GLO, °C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), mantidos em sistemas a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), avaliadas das 11h00 às 14h30, ao longo de diferentes estações climáticas em ambiente tropical.

^{a,b} Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre tratamentos na estação climática (P<0,05)

Frequência respiratória e temperatura interna

O comportamento das variáveis fisiológicas dos animais nos diferentes tratamentos, ao longo das estações climáticas, pode ser observado na Tabela 2. Os animais mantidos no tratamento PS apresentaram valores mais elevados tanto para FR quanto para TR durante o Outono. Nas outras estações, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Considerando o efeito do genótipo, animais Nelore apresentaram menores valores de FR e TR no Inverno, Primavera e Verão II, não tendo ocorrido diferença entre os genótipos no Verão I e Outono (Tabela 3).

Tabela 2 Valores médios (\pm erro padrão) da frequência respiratória (FR, movimentos/minuto) e temperatura interna corpórea (TR, °C) de touros bovinos (n=64) mantidos em sistemas a pleno sol (PS) ou com arborização (iLPF), avaliadas das 11h00 às 14h30, em ambiente tropical.

Estação	PS	iLPF
Frequência Respiratória (movimentos/minuto)		
Verão I	33,65 \pm 0,88	33,84 \pm 0,88
Outono	35,85 \pm 0,88 ^a	31,97 \pm 0,88 ^b
Inverno	24,69 \pm 0,88	25,37 \pm 0,89
Primavera	31,72 \pm 0,88	31,84 \pm 0,88
Verão II	38,25 \pm 1,40	36,66 \pm 1,40
Temperatura Interna (°C)		
Verão I	39,41 \pm 0,05	39,30 \pm 0,05
Outono	39,54 \pm 0,05 ^a	39,35 \pm 0,05 ^b
Inverno	39,39 \pm 0,05	39,39 \pm 0,05
Primavera	39,35 \pm 0,05	39,40 \pm 0,05
Verão II	39,33 \pm 0,07	39,35 \pm 0,07

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente (P<0,05).



Tabela 3 Valores médios (\pm erro padrão) da frequência respiratória (FR, movimentos/minuto) e temperatura interna corpórea (TR, °C) de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, em ambiente tropical.

Estação	Genótipo	
	Nelore (n=32)	Canchim (n=32)
Frequência Respiratória (movimentos /minuto)		
Verão I	32,85 \pm 0,88	34,64 \pm 0,88
Outono	32,74 \pm 35,08	35,08 \pm 0,88
Inverno	23,10 \pm 0,88 ^b	26,96 \pm 0,89 ^a
Primavera	27,89 \pm 0,88 ^b	35,68 \pm 0,88 ^a
Verão II	30,63 \pm 1,40 ^b	44,28 \pm 1,40 ^a
Temperatura Interna (°C)		
Verão I	39,36 \pm 0,05	39,35 \pm 0,05
Outono	39,42 \pm 0,05	39,47 \pm 0,05
Inverno	39,29 \pm 0,05 ^b	39,49 \pm 0,05 ^a
Primavera	39,29 \pm 0,05 ^b	39,46 \pm 0,05 ^a
Verão II	39,27 \pm 0,07 ^b	39,42 \pm 0,07 ^a

^{a,b} Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente (P<0,05).

Concentrações séricas de cortisol e triiodotironina

As variações das concentrações séricas de cortisol entre as estações, independentemente do sistema de produção, podem ser observadas na Fig 5. Maiores concentrações de cortisol foram registradas durante o Verão I e Outono, independente de tratamentos e genótipos estudados, com redução ao longo do tempo, e menores valores registrado no Verão II.

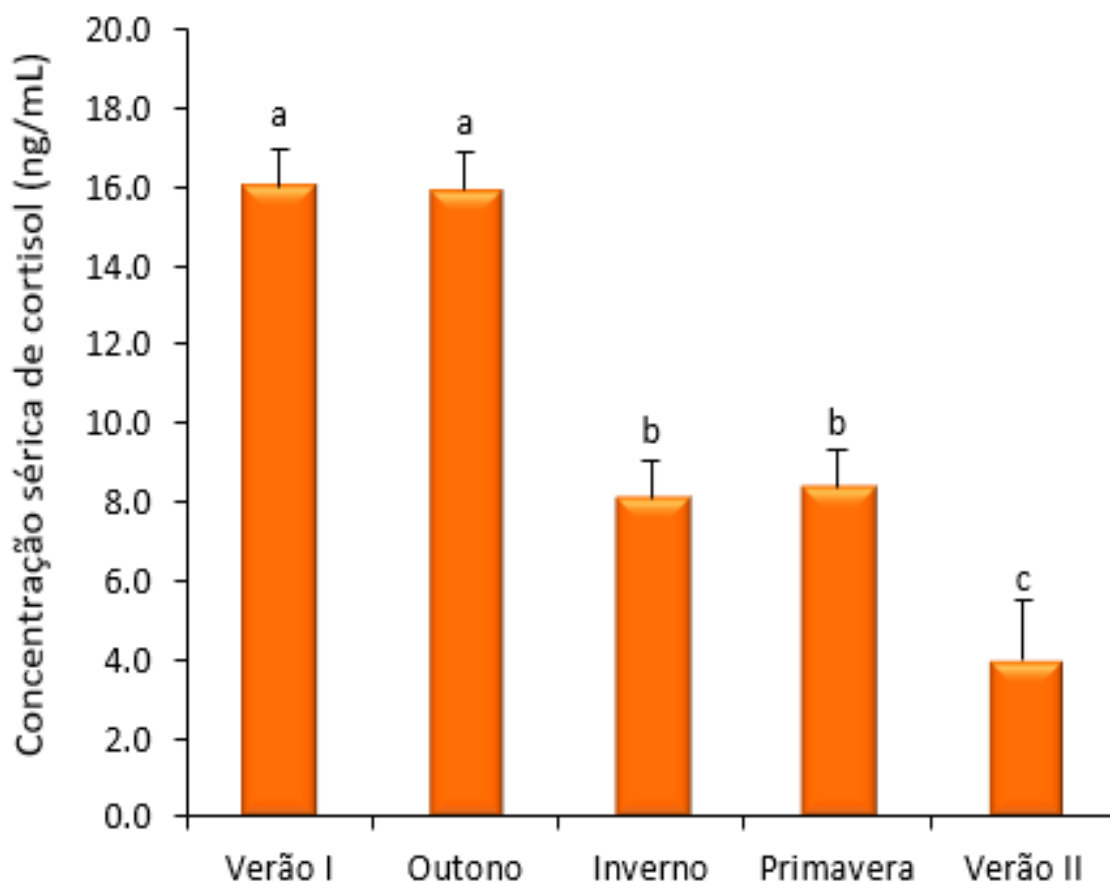


Fig. 5 Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de cortisol de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, em diferentes estações climáticas em ambiente tropical.

^{a,b,c} Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre estações climáticas (P<0,05).

As concentrações séricas médias de cortisol nos animais dos diferentes genótipos podem ser observadas na Fig 6. De modo geral, independente de tratamento e estações avaliadas, animais Nelore apresentaram menores valores de cortisol comparados aos animais da raça Canchim ($8,96 \pm 1,09$ vs $11,97 \pm 1,06$ ng/mL; $P < 0,05$, respectivamente).

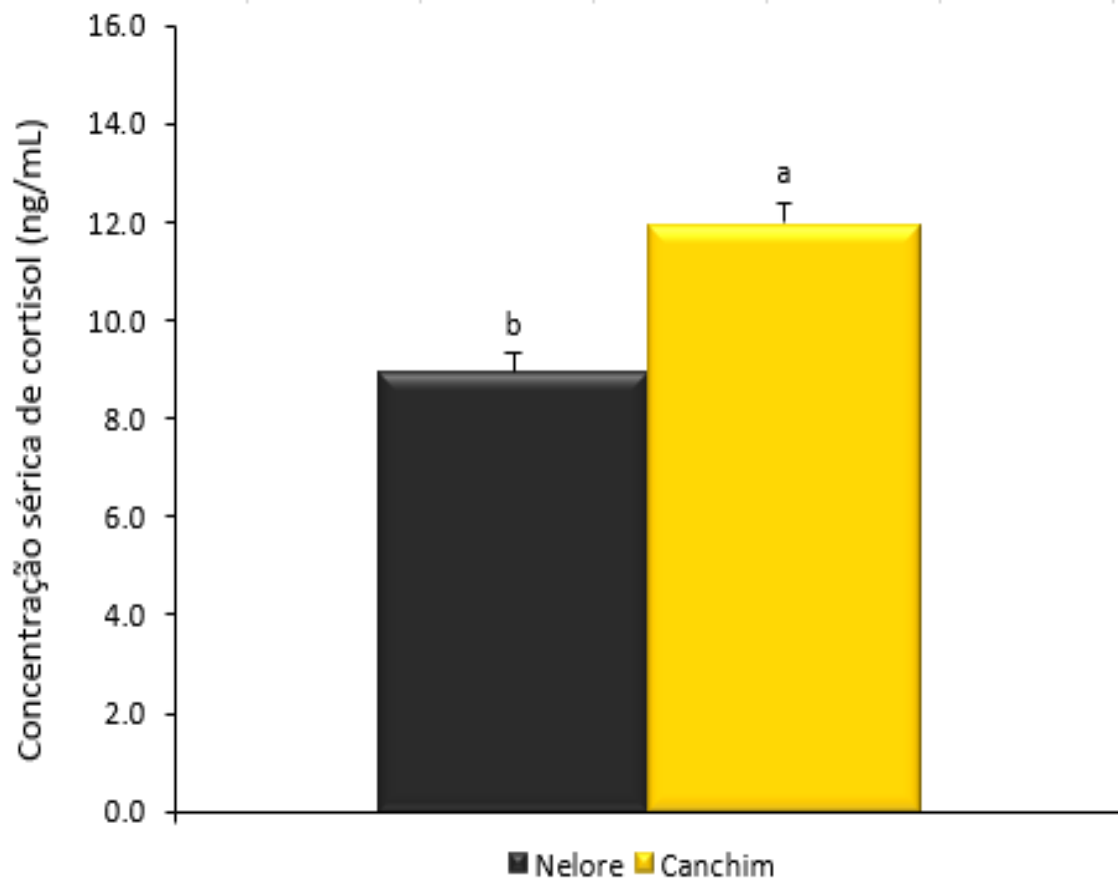


Fig. 6 Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de cortisol de touros bovinos ($n=64$) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim ($5/8$ *Bos taurus* x $3/8$ *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, ao longo de treze meses, em ambiente tropical.

^{a,b} Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre raças ($P < 0,05$).

As diferenças nas concentrações séricas de triiodotironina entre genótipos durante as estações climáticas podem ser observadas na Fig 7. Touros Nelore apresentaram maiores concentrações de T3 durante a maior parte do período experimental, contemplando as estações de Verão I, Outono, Inverno e Verão II. Apenas na Primavera não foi observada diferença significativa entre genótipos.

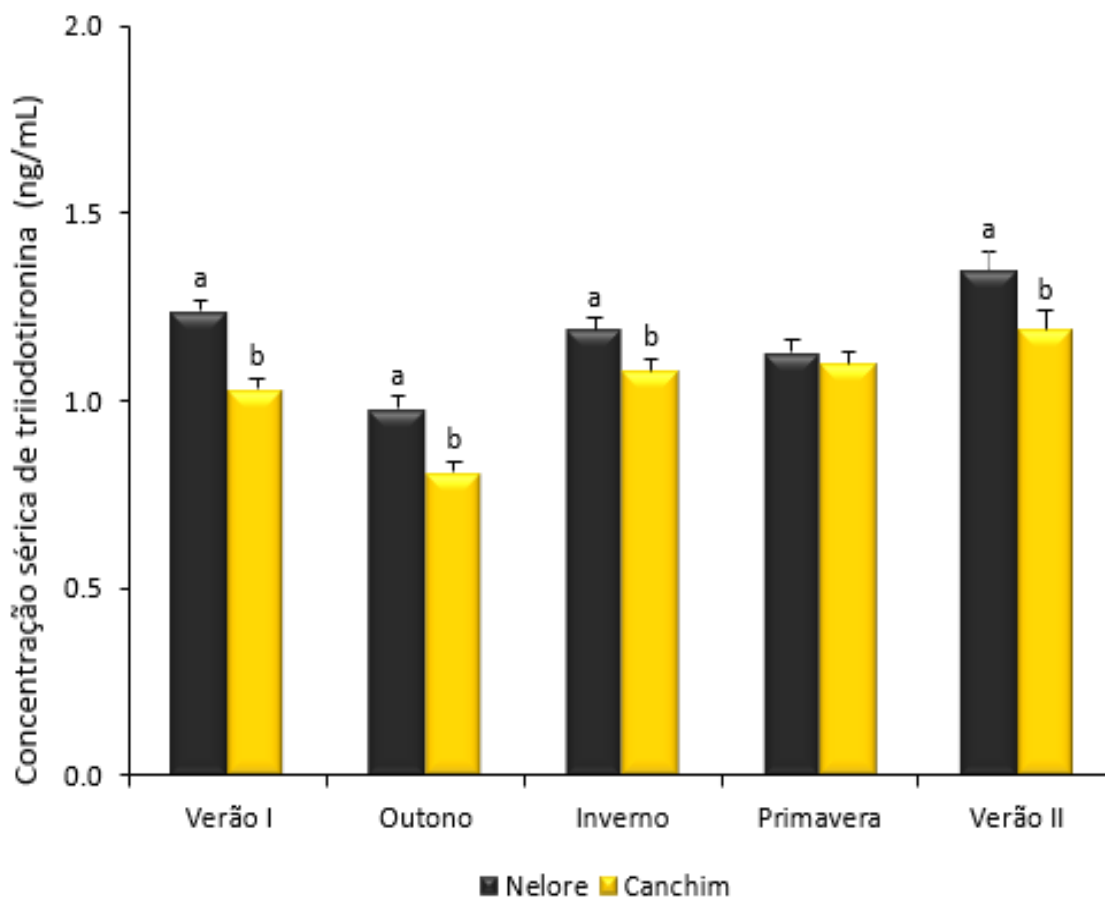


Fig. 7 Médias (\pm erro padrão) das concentrações séricas de triiodotironina de touros bovinos (n=64) das raças Nelore (*Bos indicus*) e Canchim (5/8 *Bos taurus* x 3/8 *Bos indicus*), avaliadas das 11h00 às 14h30, em diferentes estações climáticas em ambiente tropical.

^{a,b} Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre genótipos dentro da estação climática ($P < 0,05$).

Discussão

Um dos objetivos mais importantes na inserção do componente arbóreo em um sistema de produção é fazer com que os bovinos fiquem menos expostos à intensa radiação solar e à alta temperatura ambiental, fornecendo um microclima que visa ao conforto térmico dos animais (Castro-Pérez et al., 2020). Estes efeitos foram eficientemente alcançados e comprovados no presente trabalho, sendo observados valores ambientais mais amenos no sistema de integração lavoura-pecuária-floresta do que no sistema baseado em pastagens em monocultura. A condição ambiental se relaciona diretamente com o desempenho produtivo de bovinos de corte (Sullivan et al., 2011; Barajas et al., 2013). Com isso, animais mantidos em um ambiente que promove seu conforto térmico conseguem expressar melhor seu potencial genético e, assim, melhorar seu ganho de peso médio diário (Mader and Griff, 2015; Grandin, 2016). Os bovinos têm o comportamento de buscar locais de microclima mais ameno quando são expostos a incremento na magnitude de variáveis ambientais que induzem à aquisição de energia térmica, como a radiação solar (Giro et al., 2019a) e o ITGU (Volpi et al., 2021). Essa atitude é evidenciada quando áreas sombreadas estão disponíveis, seja em ambiente tropical (Giro et al., 2019a; Silva et al. 2020) ou subtropical (Vizzotto et al., 2015).

Os registros biometeorológicos no interior das pastagens demonstram que o sistema sem arborização foi muito mais desafiador quanto ao ambiente térmico, pois todas as variáveis climáticas e indicadores de conforto térmico apontam para a elevação de energia interna desses animais de modo mais expressivo comparativamente àqueles mantidos com acesso às áreas sombreadas. O efeito mitigador do sistema iLPF sobre as variáveis ambientais foi digno de nota, como notado pelas reduções da TGN em 3,7 °C, da temperatura média do ar em 0,6 °C, do ITGU em 3,8 pontos e da radiação solar em 105 W/m². Os registros diários do período experimental (dados não demonstrados) indicam valores condizentes com as características do clima tropical de altitude (Nimer, 1989), sendo um clima quente com inverno seco, com o agravante que no local experimental o ano de 2018 foi um dos quatro anos mais quentes já registrados, padrão observado mundialmente, desde que há registros (INMET, 2019).

Segundo a análise do ITGU para a classificação de ambientes, $ITGU < 74,0$ = situação de conforto térmico, $74,0 \leq ITGU < 79,0$ = situação de alerta, $79,0 \leq ITGU < 84,0$ = situação de perigo e $ITGU \geq 84,0$ = situação de emergência (Baêta e Souza,

2010). Assim, com base nos valores de ITGU registrados no presente estudo, a condição no sistema a pleno sol pode ser classificada como perigo, e no sistema iLPF pode ser classificada como alerta. Comparativamente, o sistema a pleno sol apresentou pior condição aos animais, tanto em termos de temperatura quanto de radiação solar. A melhoria da condição ambiental no sistema iLPF pode ser explicada pela presença do componente arbóreo, cujas copas promovem o efeito de barreira física à incidência da radiação direta, bem como favorecem à redução da temperatura do ar. O valor médio do ITGU indica que os animais mantidos a pleno sol foram desafiados com maior intensidade e maior constância, com relação ao ambiente térmico que estavam expostos. A cronicidade da exposição dos animais em um ambiente térmico desconfortável afeta diretamente a saúde geral dos bovinos, causando desordens metabólicas, estresse oxidativo, danos a imunidade, comprometimento reprodutivo e queda na produtividade (Bett et al., 2017; Ali et al., 2020). Mizard et al. (2017) reportaram queda substancial na concentração sérica de antioxidantes em bovinos durante o verão e em condição de estresse térmico. A queda da concentração sérica de antioxidantes dificulta a neutralização das espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio, ânion superóxido e radicais hidroxilas, o que impacta negativamente na peroxidação lipídica e na inativação de enzimas importantes, podendo causar danos celulares (Mondal e Reddy, 2018).

Quando mantidos no iLPF, os animais apresentaram valores menos expressivos para ITGU, o que representa melhor condição de conforto térmico, muito embora os valores absolutos do indicador apontem o quão desafiador é o desenvolvimento da produção de bovinos a pasto em clima tropical. A CTR também foi notavelmente reduzida, com diminuição de 16% no iLPF, dado corroborado por relatos na literatura (Domiciano et al., 2016; Giro et al., 2019a). A velocidade do vento foi menor no iLPF decorrente da barreira física dos troncos e das copas das árvores (Lopes et al., 2016), porém esse efeito, que poderia diminuir a eficiência da termólise convectiva, não desabona a eficiência do sistema em fornecer um microclima bastante favorável aos animais, principalmente pelo favorecimento da termólise por radiação e condução. A umidade relativa não apresentou diferença significativa entre sistemas, semelhantemente ao relatado em outros ensaios (Renaudeau et al., 2012; Giro et al., 2019a). Dada sua capacidade de alteração favorável de variáveis ambientais dentro do sistema de produção, considera-se que o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta

é uma maneira de intensificação ecológica da agricultura, que favorece significativamente a sinergia funcional e biológica entre os componentes vegetal e animal (Carvalho et al., 2018).

Relatos prévios na literatura demonstram que há uma alta correlação entre a temperatura da superfície corpórea e a produção de calor em bovinos (Montanholi et al., 2007; Leão et al., 2018). Considerando que a produção de calor foi comprovada como responsável por até 73% da variação do consumo alimentar (Herd e Arthur, 2009), o monitoramento da temperatura das superfícies corpóreas dos bovinos nos sistemas de produção se faz essencial. Os achados termográficos no presente estudo demonstram inequivocamente que as temperaturas de dorso (mínima, média e máxima) e de tronco apresentaram valores mais expressivos no sistema de produção em que os animais foram mantidos a pleno sol. Isso se explica porque, ao participarem do sistema produtivo na condição de receptores de grande carga de radiação de ondas curtas, existe um desequilíbrio na permuta de calor por radiação e, conseqüentemente, acúmulo de energia térmica na superfície corpórea, que se traduz em elevação da temperatura do tegumento. Isso reafirma a importância da inserção do componente arbóreo para favorecer o equilíbrio termodinâmico dos animais produzidos a pasto. Paralelamente, vale ressaltar a utilização da termografia de infravermelho como recurso metodológico para se realizar avaliações de temperaturas de superfícies em bovinos. A técnica vem sendo cada vez mais usada no sensoriamento proximal de grandes ruminantes (Barros et al., 2016; Deak et al., 2019; Motas-Rojas et al., 2021), tem as vantagens de ser não-invasiva, não-destrutiva, acurada (Wang et al., 2021) e não estressar os animais (Sathiyabarathi et al., 2018), o que foi útil para não induzir alterações iatrogênicas nas demais avaliações realizadas.

O monitoramento das temperaturas de superfície como indicativo da capacidade de termólise, assim como realizados no presente trabalho, pode ser utilizado como gerador de informações valiosas para a seleção genética de touros mais termotolerantes a altas temperaturas, umidade e radiação solar incidente no ambiente (Srikanth et al., 2017). Nesse sentido, diversas ferramentas vêm sendo exploradas no âmbito da genômica para a compreensão dos genes envolvidos na regulação da temperatura corporal de bovinos em resposta ao estresse térmico causado pelo calor (Silpa et al., 2021). Bharati et al. (2017) investigaram o comportamento da expressão de HSP70 em bovinos zebuínos desafiados a uma temperatura ambiente de 42°C por 23 dias, tendo

sido inicialmente aclimatados em uma zona de termoneutralidade durante 15 dias. A expressão de mRNA de HSP70 teve expressiva elevação, com dois picos distintos, sendo o primeiro pico para minimizar os efeitos adversos do estresse térmico e o segundo pico representativo de um mecanismo fisiológico que o animal ativaria para lidar com a exposição crônica ao estresse térmico. A partir dessas informações seria possível selecionar bovinos mais termotolerantes ao calor.

Outros indicadores mais elementares são usados para averiguar a condição termorregulatória dos animais e auxiliar na quantificação da severidade do estresse pelo calor, como a frequência respiratória e a temperatura interna corpórea (Silanikove, 2000). Quando o organismo está em desconforto térmico pelo calor, a frequência respiratória se eleva na tentativa de dissipar calor corpóreo por trocas térmicas latentes, levando os animais a um quadro de taquipnéia (Stöber, 1993). Na realidade, a polipnéia térmica ocorre ainda na ausência de qualquer elevação da temperatura nuclear, funcionando como antecipadora de iminente hipertermia (Pereira et al., 2019). De modo geral, em ambos os sistemas de produção avaliados, os animais mantiveram a frequência respiratória e a temperatura interna dentro da faixa considerada fisiológica para bovinos (Robinson, 2021). Do mesmo modo, não houve diferença expressiva entre animais mantidos com ou sem acesso a sombreamento natural no tocante à temperatura de superfície do globo ocular, variável que apresenta relações de média a alta intensidade com a temperatura interna em bovinos (Martello et al., 2016; Giro et al., 2019b).

Não obstante, no Outono, os animais mantidos a pleno sol apresentaram maiores valores de frequência respiratória e temperatura interna. O Outono é considerado uma estação de transição, de temperaturas decrescentes. Contudo, na região do estudo, o Outono apresentou temperatura do ar e umidade relativa máximas que alcançaram 28,1 °C e 90,3%, respectivamente (dados não demonstrados). Soma-se a isso o desafio térmico permanente ao qual os animais estavam submetidos, desde o início do Verão I. Por isso, mesmo na estação de Outono, é notório que os animais, independentemente do genótipo, se beneficiaram do sistema sombreado, em virtude do maior conforto ambiental. Isso favoreceu a homeotermia desses animais e os permitiu diminuir a ativação dos mecanismos de troca térmica pela via respiratória, com redução de 10,8% na frequência respiratória durante o Outono. A menor frequência respiratória em animais mantidos em sistema arborizado também foi relatada em estudos prévios, com

redução significativa de 10% em comparação ao sistema sem sombreamento (Souza et al., 2017), valor muito semelhante ao observado no presente trabalho. Adicionalmente, o sombreamento natural tem se mostrado mais eficiente que o sombreamento artificial na redução da frequência respiratória de bovinos jovens (Rovira e Velazco, 2010). Assim, a sombra oferecida pelo sistema de integração no presente trabalho promoveu a redução do tempo de exposição dos animais a condições de estresse térmico, minimizando o ganho calórico exógeno e reduzindo a energia despendida para processos fisiológicos que envolvem a termorregulação corpórea (Garcia et al., 2017).

Considerando a diferença na frequência respiratória observada entre os genótipos, com maiores valores observados para os animais Canchim no Inverno, Primavera e Verão II, esta pode estar explicada pelo fato dos bovinos apresentarem diferentes zonas de termoneutralidade em função de seu genótipo. A zona de termoneutralidade é a faixa de temperatura ambiente na qual o animal homeotérmico pode apresentar sua taxa metabólica mínima e a regulação da homeotermia é efetuada através da permuta de calor sensível (Yousef, 1985). A zona de termoneutralidade é delimitada pelas temperaturas crítica inferior e superior, e foi descrita como sendo de - 1 a 16°C para taurinos e de 10 a 27°C para zebuínos (Baêta e Souza, 1997), porém pode variar em função da categoria animal, estado fisiológico, raça, aptidão produtiva, dentre outros. Assim, a zona de termoneutralidade é um intervalo do qual não é necessário que o animal recorra a mecanismos ativos para manter a homeotermia. Na zona de termoneutralidade, o gasto de energia para manutenção é baixo e, como consequência, há maior eficiência produtiva (Titto, 1998). As diferenças de frequência respiratória entre genótipos foram observadas desde o Inverno ao Verão II, acompanhando, portanto, um crescente de temperatura do ar. Como os animais mantiveram sua temperatura interna na faixa de normalidade, pode-se inferir simplesmente que os touros Canchim tenderam a ser mais sensíveis e responsivos que os animais Nelore, e por isso ativaram seus mecanismos de termorregulação respiratória mediante um estímulo ambiental maior.

Uma possível explicação para as diferenças de tolerância térmica entre animais zebuínos, taurinos e compostos pode estar relacionada a diferenças morfológicas e funcionais do tegumento (Hamblen et al., 2018). Os zebuínos caracterizam-se por apresentarem pêlos mais curtos e finos que os taurinos (Davila et al., 2019). Mais especificamente, animais Nelore apresentam pelagem branca ou cinza-clara, pele preta, solta, fina e macia, com pêlos claros, curtos, densos e medulados. Já os animais

Canchim têm pelagem creme, uniforme, com pêlos curtos, densos e brilhantes e pele clara, solta e abundante. Existe alta herdabilidade das características do pêlo em bovinos das raças Brahman (zebuíno) e Angus (taurino), com valores de 0,50 para diâmetro do pêlo, de 0,67 para pêlos classificados como curtos e de 0,42 para os pêlos considerados compridos, sendo observado que quanto maior a composição racial zebuína no cruzamento dos animais, maior é a redução do comprimento dos pêlos e da temperatura corporal (Davila et al., 2019). Regiões genômicas associadas à tolerância ao calor foram recentemente descritas e polimorfismos de nucleotídeos únicos relacionados a essa variação foram identificados em bovinos. Uma mutação no gene do receptor de prolactina foi relacionada à presença de um tipo de pelagem denominada “slick hair”, que está associado com a maior tolerância ao calor. Contudo, essa mutação ainda não foi descrita em animais Nelore, nem em animais Canchim, e pode constituir linha de estudos futuros visando ferramenta auxiliar para seleção genética.

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é necessária para manutenção da homeostase em resposta a estímulos externos e internos (Sejian et al., 2018). Considerando que a concentração sérica normal de cortisol varia de 5,0 a 12,4 ng/mL nos bovinos (Hein et al., 1992; Yoshida et al., 2005), ambos os genótipos estudados apresentaram variação dentro dos níveis séricos considerados fisiológicos. Porém, nos animais Canchim os valores médios estiveram próximos ao limite superior dos valores de referência encontrados na literatura. Ao examinar sua oscilação nas diferentes estações climáticas, observaram-se concentrações séricas mais altas de cortisol nas estações de Verão I e Outono, concentrações intermediárias no Inverno e Primavera, e valores mais baixos no Verão II. Não houve relação direta entre a secreção de cortisol e as condições de conforto térmico verificadas nas estações climáticas, com tendência decrescente de secreção ao longo do tempo. Essa resposta sugere a ativação do eixo hipotálamo-adenohipófise-adrenal, que desencadeia a secreção de corticotrofina pelo hipotálamo, com posterior secreção de ACTH pela hipófise e culmina com a liberação dos glicocorticóides. Estes estimulam a mobilização de glicogênio hepático e a neoglicogênese, com desvio da utilização de glicose para a produção de energia, maior atividade metabólica e aumento das frequências cardíaca e respiratória. Os resultados indicam que este processo ocorreu, independentemente do sistema de produção, entre as estações de Verão I e Outono. Subsequentemente, houve permanência dos animais sob desafio térmico suficientemente prolongado e marcado pelo aumento da capacidade

máxima de perder calor pela via respiratória, verificada no Outono, o que levou a uma diminuição significativa da concentração sérica de cortisol de médio e longo prazos, a qual é uma resposta característica e indicativa de processo de adaptação dos animais (Correa-Calderon et al., 2004). Por isso, a despeito das condições megatérmicas de Primavera e Verão II, verificou-se nessas estações climáticas as menores concentrações de cortisol, cujos baixos valores contribuem para a diminuição da produção de calor metabólico e para o processo de aclimação dos animais. A diferença observada entre as raças, com maior concentração de cortisol registrada nos animais Canchim, denota o distinto padrão de reação dos bovinos de corte em função do seu temperamento, que está diretamente relacionado ao seu genótipo (Eusebi et al., 2021).

A triiodotironina desempenha papel crucial no metabolismo e na regulação dos sistemas nervoso, cardíaco e muscular esquelético. Isso ocorre porque a triiodotironina aumenta a taxa de utilização do oxigênio e a produção de energia, além de elevar a síntese proteica, o que contribui para acelerar o crescimento. Além disso, os hormônios tireoidianos melhoram o desempenho neuromuscular e os processos de adaptação térmica dos indivíduos (Ferlazzo et al., 2018). No presente estudo, os níveis plasmáticos de triiodotironina foram mais elevados nos animais da raça Nelore do que nos Canchim, em todas as estações climáticas sendo as diferenças mais explícitas nas estações de maior desafio térmico, no caso o Verão I e Verão II. Em condições de termoneutralidade, verifica-se uma condição tendencialmente superior em animais taurinos quando comparados a zebuínos (Bianca, 1965). Animais taurinos da raça Limousin entre 10 e 15 meses de idade apresentam concentrações basais de T3 iguais a $2,06 \pm 0,26$ ng/mL (Fazio et al., 2005), valores superiores aos encontrados no presente estudo, tanto para animais Nelore quanto para animais Canchim. Por uma questão de genotípica, não era esperado que os animais Canchim apresentassem concentrações inferiores de triiodotironina. Contudo, estudos moleculares recentes relatam divergências quanto à expressão gênica ligada a síntese e secreção de triiodotironina em diferentes genótipos bovinos, sendo que as diferenças nos níveis de transcrição da glândula pituitária explicam as variações entre as raças (Gholizadeh et al., 2020; Jiang et al., 2020). A via de sinalização de hormônios da tireoide exerce papel essencial na síntese muscular e metabolismo de gordura (Dalrymple et al., 2017). Lu et al. (2020) relatam a descoberta de diversos genes candidatos presentes na pituitária que podem ser responsáveis por influenciar o crescimento e o desenvolvimento de bovinos, como

SLC38A1, SLC38A3, DGKH, GNB4, GNAQ, ESR1, NPY e GAL. Esse tipo de abordagem, que não foi adotada no presente trabalho, poderia auxiliar a explicar o comportamento distinto nas concentrações séricas de triiodotironina entre indivíduos da mesma raça ou de raças diversas. Ademais, pode vir a futuramente auxiliar na seleção de touros mais termotolerantes ao calor, uma vez que a diminuição da termogênese implica necessariamente uma alteração da taxa metabólica, em que a triiodotironina desempenha um papel fundamental.

Conclusões

O sistema sombreado de integração lavoura-pecuária-floresta foi eficaz em amenizar o microclima das pastagens, pois reduziu o efeito negativo das altas temperatura do ar e radiação solar direta sobre os animais em ambiente tropical. Ao conferir melhor condição de conforto térmico aos touros, o sistema iLPF impactou positivamente nas características fisiológicas relacionadas ao equilíbrio termodinâmico dos animais e na manutenção da sua homeotermia. No tocante às diferenças entre genótipos, os animais Canchim tiveram maior sensibilidade às variações de ambiente que os animais Nelore, revelada pela maior secreção de cortisol e ativação mais precoce de seu sistema termorregulador. Com isso, a implementação de sistemas sombreados com uso de componentes arbóreos dentro de áreas de pastagens em monocultura contribui significativamente para o bem-estar animal e pode ser uma opção para o uso racional dos recursos naturais dentro da propriedade rural, favorecendo a produção agroalimentar frente aos novos desafios mundiais, e colaborando para maior sustentabilidade da pecuária de corte desenvolvida em ambientes tropicais.

Conclusão geral

Conclui-se que o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta foi eficiente em amenizar o microclima das pastagens e reduzir os efeitos adversos das intempéries ambientais em parâmetros reprodutivos de touros bovinos de corte. As características reprodutivas avaliadas nesse estudo demonstraram melhores resultados nos animais mantidos em iLPF, independente do genótipo avaliado. Isso confirma o grande impacto do microclima na anatomofisiologia de touros bovinos mantidos em ambiente desafiadores quanto às variáveis climáticas. Ao conferir melhor condição de conforto térmico aos touros, o sistema iLPF impactou positivamente nas características fisiológicas relacionadas ao equilíbrio termodinâmico dos animais e na manutenção da sua homeotermia. A respeito das diferenças entre genótipos, os animais Canchim tiveram maior sensibilidade às variações de ambiente que os animais Nelore, notada pela maior secreção de cortisol e ativação mais precoce de seu sistema termorregulador. Com isso, a implementação de sistemas sombreados com uso de componentes arbóreos dentro de áreas de pastagens em monocultura, contribui significativamente para diminuição dos efeitos negativos das alterações climáticas sobre as variáveis reprodutivas de touros bovinos. Outras contribuições importantes que o sistema iLPF fornece são a elevação no bem-estar animal e também a capacidade de ser uma opção para o uso racional dos recursos naturais dentro da propriedade rural. Com isso, pode favorecer a produção agroalimentar frente aos novos desafios mundiais, e seu uso colaborar para maior sustentabilidade da pecuária de corte desenvolvida em ambientes tropicais.

Agradecimentos

Os autores agradecem à EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Projeto Rede Pecuária de Precisão #01.14.09.001.03.03), à FAPESP-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 2019/04528-6) e à CAPES-Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro para a realização do estudo.

Referências

Akaike, H (1973) Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Proceedings of the Second International Symposium on Information Theory. Budapest: Akademiai Kiado. 267–281

Ali MZ, Carlile G, Giasuddin M (2020) Impact of global climate change on livestock health: Bangladesh perspective. *Open Vet J.* 10(2):178-188. doi:10.4314/ovj.v10i2.7

Assmann JM, Anghinoni I, Martins SEV, Costa GA, Cecagno D, Carlos FS, Carvalho PCF (2014) Soil carbon and nitrogen stocks and fractions in a long-term integrated crop-livestock system under no-tillage in southern Brazil. *Agric Ecosyst Environ* 190:52–59. doi:10.1016/j.agee.2013.12.003

Baêta FC, Souza CF (1997) *Ambiência em edificações rurais - conforto animal*. Viçosa: Editora da UFV. 246p

Bagath M, Krishnan G, Devaraj C, Rashamol VP, Pragna P, Lees AM, Sejian V (2019) The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review *Res Vet Sci* doi: 10.1016/j.rvsc.2019.08.011

Barajas R, Garcés P, Zinn RA (2013) Interactions of shade and feeding management on feedlot performance of crossbred steers during seasonal periods of high ambient temperature. *Prof Anim Sci.* 29:645-51. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30296-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30296-5)

Barros DV, Silva LKX, Kahwage PR, Lourenço Junior JB, Sousa JS, Silva AGM, Franco IM, Martorano LG, Garcia AR (2016). Assessment of surface temperatures of buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) raised under tropical conditions using infrared thermography. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Online)*. 68:422-430

Bati BM (2014) *Climate Change, Cattle Herd Vulnerability and Food Insecurity: Adaptation through Livestock Diversification in the Borana Pastoral System of Ethiopia*. Ph.D. Thesis, Kommunikations-, Informations- und Medienzentrum der Universität Hohenheim, Stuttgart, Germany, 2014.

Bayssa M, Yigrem S, Betsha S, Tolera A (2021) Production, reproduction and some adaptation characteristics of Boran cattle breed under changing climate: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 16 (5): e0244836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244836>

Bertolazi VT, Inda AV, Caner L, Martins AP, Vaz MAB, Bonnet M, Anghinoni I, Carvalho PCF (2017) Impact of an integrated no-till soybean–beef cattle production system on Oxisol mineralogy in southern Brazil. *Appl Clay Sci* 149:67-74. doi:10.1016/j.clay.2017.08.028

Bett B, Kiunga P, Gachohi J, Sindato C, Mbotha D, Robinson T, Lindahl J, Grace D (2017) Effects of climate change on the occurrence and distribution of livestock diseases. *Prev Vet Med* 137:119-129

Bharati J, Dangi SS, Chouhan VS, Mishra SR, Bharti MK, Verma V (2017) Expression dynamics of HSP70 during chronic heat stress in Tharparkar cattle. *Int J Biometeorol* 61:1017–27. doi: 10.1007/s00484-016-1281-1

Bianca W (1965) Reviews of the progress of dairy physiology cattle in a hot environment. *J Dairy Science* 32:291-345. doi:10.1017/S0022029900018665

Brasil-Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica [Internet]. Brasília: Concea; 2016. <http://bit.ly/2VEvkg9> (Acesso 06 set 2021)

Buffington DE, Collazo-Arocho A, Canton GH, Pitt D, Thatcher WW, Collier RJ (1981) Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Trans ASAE*, 24:711-714. doi:10.13031/2013.34325

Caminade C, McIntyre KM, Jones AE (2019) Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases. *Ann N Y Acad Sci* 137:119-129

Carvalho PCF, Peterson CA, Nunes PAA, Martins AP, de Souza Filho W, Bertolazi VT, Kunrath TR, de Moraes A, Anghinoni I (2018) Animal production and soil characteristics from integrated crop-livestock systems: toward sustainable intensification. *J Anim Sci*. 2018 Jul 28;96(8):3513-3525. doi: 10.1093/jas/sky085. Erratum in: *J Anim Sci*. 2018 Sep 7;96(9):4012. Erratum in: *J Anim Sci*. 2018 Nov 21;96(11):4923. PMID: 29917103; PMCID: PMC6095278.

Castro-Pérez BI, Estrada-Angulo A, Ríos-Rincón FG, Núñez-Benítez VH, Rivera-Méndez CR, Urías-Estrada JD, Zinn RA, Barreras A, Plascencia A. The influence of shade allocation or total shade plus overhead fan on growth performance, efficiency of dietary energy utilization, and carcass characteristics of feedlot cattle under tropical ambient conditions. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2020 Jun;33(6):1034-1041. doi: 10.5713/ajas.19.0112.

Cooke RF, Arthington JD, Araujo DB, Lamb GC (2009) Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman - crossbred cows. *J Anim Sci* 87:4125-4132

Correa-Calderon A, Armstrong D, Ray D (2004) Thermoregulatory responses of Holstein and Brown Swiss heat-stressed dairy cows to two different cooling systems. *Int J Biometeorol* 48:142-148

Dalrymple BP, Guo B (2017) Triennial Growth and Development Symposium: Intramuscular fat deposition in ruminants and pigs: A transcriptomics perspective. *J Anim Sci* 95: 2272–2283

Davila KMS, Hamblen H, Hansen PJ, Dikmen S, Oltenacu PA, Mateescu RG (2019) Genetic parameters for hair characteristics and core body temperature in a multibreed Brahman-Angus herd. *J Anim Sci* 2019.97:3246–3252 doi: 10.1093/jas/skz188

Davison TM, Jonsson NN, Mayer DG, Gaughan JB, Ehrlich WK, McGowan MR (2016) Comparison of the impact of six heat-load management strategies on thermal responses and milk production of feed-pad and pasture fed dairy cows in a subtropical environment. *Int J Biometeorol* 12:1961-1968. doi: 10.1007/s00484-016-1183-2

Deak, FLGB, Chacur MGM, Souza CD, Andrade IB, Cornacini GF, Garcia AR, Gabriel Filho LRA (2019) Effects of physiological stage and season on infrared thermograms of different body areas of dairy cows raised under tropical conditions. *Animal Reproduction* 16(2):311-316. doi:10.21451/1984-3143-AR2017-0023

Deniz M, Sousa KT, Moro MF, Vale MM, Dittrich JR, Machado Filho LCP, Hötzel MJ (2021) Social hierarchy influences dairy cows' use of shade in a silvopastoral system under intensive rotational grazing, *Applied Animal Behaviour Science*. 244:e105467. doi:10.1016/j.applanim.2021.105467.

Dikmen S, Mateescu RG, Elzo MA, Hansen PJ (2018) Determination of the optimum contribution of Brahman genetics in an Angus-Brahman multibreed herd for regulation of body temperature during hot weather. *J Anim Sci* 96:2175-2183. doi:10.1093/jas/sky133

Domiciano LF, Mombach MA, Carvalho P, Silva NMF, Pereira DH, Cabral LS, Lopes LB, Pedreira BC (2016) Performance and behaviour of Nellore steers on integrated systems. *Anim Prod Sci*. 58: 920-929. <https://doi.org/10.1071/AN16351>

EMBRAPA - Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária (2016) Condições meteorológicas da estação da Embrapa Pecuária Sudeste.

<http://www.cppse.embrapa.br/meteorologia/index.php?pg=inicio>. (Acesso em 18.05.2021)

Esmay ML (1978) *Principles of Animal Environment*. Avi Publishing, Westport.

Eusebi PG, Sevane N, O'Rourke T, Pizarro M, Boeckx C, Dunner S (2021) Gene expression profiles underlying aggressive behavior in the prefrontal cortex of cattle. *BMC Genomics* 7;22(1):245. doi:10.1186/s12864-021-07505-5

Fazio E, Medica P, Alberghina D, Cavaleri S, Ferlazzo A (2005) Effect of long-distance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in Limousin cattle: influence of body weight decrease. *Vet Res Commun* 29:713–719. doi:10.1007/s11259-005-3866-3868

Ferlazzo A, Cravana C, Fazio E, Medica P (2018) The contribution of total and free iodothyronines to welfare maintenance and management stress coping in ruminants and equines: physiological ranges and reference values. *Res Vet Sci* 118:134-143. doi:10.1016/j.rvsc.2018.01.025.

Figueiredo EB, Jayasundara S, Bordonal RO, Berchielli TT, Reis RA, Wagner-Riddle C, La Scala NJr (2017) Greenhouse gas balance and carbon footprint of beef cattle in three contrasting pasture-management systems in Brazil. *J Clean Prod*. 142:420–431. doi:10.1016/j.jclepro.2016.03.132

Figueiredo EB, Jayasundara S., Bordonal RO, Berchielli TT, Reis RA, Wagner-Riddle C, La Scala NJr (2017) Balanço de gases de efeito estufa e pegada de carbono de bovinos de corte em três sistemas de manejo de pastagem contrastantes no Brasil. *J Clean Prod* 142:420-431. doi: 10.1016 / j.jclepro.2016.03.132

Ganaie AH, Shanker G, Bumla NA, Ghasura RS, Mir NA (2013) Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines. *J Vet Sci Technol* 4:126

Garcia AR (2017) Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? *Ver Bras Reprod Anim* 41:33-39

Garrett R, Niles MT, Gil JDB, Gaudin A, Chaplin Kramer A, Assmann A, Assmann TS, Brewer K, Carvalho PCF, Cortner O (2017) Social and ecological analysis of integrated crop livestock systems: current knowledge and remaining uncertainty. *Agric Syst* 155:136-146. doi:10.1016/j.agsy.2017.05.003

Garrett R, Niles MT, Gil JDB, Gaudin A, Chaplin-Kramer R, Assmann A, Assmann T S, Brewer K, Carvalho PCF, Cortner O (2017) Social and ecological analysis of integrated crop livestock systems: current knowledge and remaining uncertainty. *Agric Syst* 155:136-146. doi:10.1016/j.agsy.2017.05.003

Gholizadeh M, Fayazi J, Asgari Y, Zali H, Kaderali L (2020) Reconstruction and Analysis of Cattle Metabolic Networks in Normal and Acidosis Rumen Tissue. *Animals* 10:469

Giro A, Bernardi ACC, Barioni Junior W, Lemes AP, Botta D, Romanello N, Barreto ADN, Garcia AR. (2019b) Application of microchip and infrared thermography for monitoring body temperature of beef cattle kept on pasture. *J Therm Biol* 84:121-128. doi:10.1016/j.jtherbio.2019.06.009

Giro A, Pezzopane JRM, Barioni Junior W, Pedroso AF, Lemes AP, Botta D, Romanello N, Barreto AN, Garcia AR (2019a) Behavior and body surface temperature of beef cattle in integrated crop-livestock systems with or without tree shading. *Sci Total Environ* 684:587-596. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.377

Giro A, Pezzopane JRM, Barioni Junior W, Pedroso AF, Lemes AP, Botta D, Romanello N, Barreto AN, Garcia AR (2019) Behavior and body surface temperature of beef cattle in integrated crop-livestock systems with or without tree shading. *Sci Total Environ* 684:587-596. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.377

Grandin T (2016) Evaluation of the welfare of cattle housed in outdoor feedlot pens. *Vet and Anim Sci.* 23–28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vas.2016.11.001>

Hamblen H, Hansen PJ, Zolini AM, Oltenacu PA, Mateescu RG (2018) Thermoregulatory response of Brangus heifers to naturally occurring heat exposure on pasture. *J Anim Sci* 96:3131-3137. doi:10.1093/jas/sky224

Hansen, PJ (2004) Physiological and cellular adaptations of zebu References cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci* 82:349-360

Hein KG, Allrich RD (1992) Influence of exogenous adrenocorticotrophic hormone on estrous behavior in cattle. *J Anim Sci* 70:243-7

Henry B, Charmley E, Eckard R, Gaughan JB, Hegarty R (2012) Livestock production in a changing climate: adaptation and mitigation research in Australia. *Crop Pasture Sci* 63:191-202

Herd RM, Arthur PF (2009) Physiological basis for residual feed intake. *J Anim Sci* 87: 64-71

Hoffmann G, Schmidt M, Ammon C, Rose-Meierhöfer S, Burfeind O, Heuwieser W, Berg W (2013) Monitoring the body temperature of cows and calves using video recordings from an infrared thermography camera. *Vet Res Commun.* 37:91-99. <https://doi.org/10.1007/s11259-012-9549-3>.

Howden SM, Crimp SJ, Stokes CJ (2008) Climate change and Australian livestock systems: impacts, research and policy issues. *Aust J Exp Agric.* 48:780-788

INMET-INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA Principais Condições Meteorológicas do Clima e do Tempo observadas em 2018. Disponível em <<https://portal.inmet.gov.br/uploads/notastecnicas/Condicoes-Meteorologicas-Tempo-Clima-Observadas-2018-INMET.pdf>> Acesso em 24 out 2021.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2013. Summary for policymakers. In *Climate change 2013: the physical science basis*. Eds., Stocker T.F., Qin D., Plattner G.K., Tignor M., Allen S.K., Boschung J., Nauels A., Xia Y., Bex V. and Midgley P.M. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Jiang R, Li H, Huang Y, Lan X, Lei C, Chen H (2020) Transcriptome profiling of lncRNA related to fat tissues of Qinchuan cattle. *Gene* 742:144

Ju XH, Xu HJ, Yong YH, An LL, Jiao PR, Liao M (2014) Heat stress up regulation of Toll-like receptors 2/4 and acute inflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cell (PBMC) of Bama miniature pigs: an in vivo and in vitro study. *Anim* 8:1462-1468

Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2010) Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 8(6), e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412

Kotrba R, Knížková I, Kunc P, Bartos L (2007) Comparison between the coat temperature of the eland and dairy cattle by infrared thermography. *J Therm Biol.* 32: 355–359. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2007.05.006>

Kottek M, Grieser J, Beck C, Rudolf B, Rubel F (2006) World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol Z* 15:259-263. doi:10.1127/0941-2948/2006/0130

Leão JM, Coelho SG, Machado FS, Azevedo RA, Lima JAM, Carneiro JC, Lage CFA, Ferreira AL, Pereira LGR, Tomich TR, Campos MM (2018) Phenotypically divergent classification of preweaned heifer calves for feed efficiency indexes and their correlations with heat production and thermography. *J Dairy Sci* 101(6):5060-5068. doi:10.3168/jds.2017-14109

Lees AM, Sejian V, Wallage AL, Steel CC, Mader TL, Lees JC, Gaughan JB (2019) Review: The impact of heat load on cattle. *Animals* 9:322. doi:10.3390/ani9060322

Leite da Silva WA, Poehland R, Carvalho de Oliveira C, Ribeiro Ferreira MGC, Garcia de Almeida R, Cáceres MBS, Macedo GG, da Costa E Silva EV, Alves FV, Nogueira E, de Andrade Melo-Sterza F (2020) Shading effect on physiological parameters and in vitro embryo production of tropical adapted Nellore heifers in integrated crop-livestock-forest systems. *Trop Anim Health Prod.* 52(5):2273-2281. doi:10.1007/s11250-020-02244-3

Lopes LB, Eckstein C, Pina DS, Carnevalli RA (2016) The influence of trees on the thermal environment and behaviour of grazing heifers in Brazilian Midwest. *Trop Anim Health Prod.* 48:755-761. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1021-x>

Lu X, Arbab AAI, Zhang Z, Fan Y, Han Z, Gao Q, Sun Y, Yang Z (2020) Comparative Transcriptomic Analysis of the Pituitary Gland between Cattle Breeds Differing in Growth: Yunling Cattle and Leiqiong Cattle. *Animals (Basel).* 25;10(8):1271. doi:10.3390/ani10081271.

Mader TL, Griffin D (2015) Management of cattle exposed to adverse environmental conditions. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 31:247-258

Martello LS, da Luz E Silva S, da Costa Gomes R, da Silva Corte RR, Leme PR (2016) Infrared thermography as a tool to evaluate body surface temperature and its relationship with feed efficiency in *Bos indicus* cattle in tropical conditions. *Int J Biometeorol* 60(1):173-81. doi:10.1007/s00484-015-1015-9

Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Jr C, Pereira GR, Peripolli V, McManus C, Canozzi MEA, Lopes FG (2015) Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *Int J Biometeorol* 59:357-64 357364. doi:10.1007/s00484-014-0847-z

Mondal S, Reddy IJ (2018) Impact of climate change on livestock production. In *Biotechnology for sustainable agriculture emerging approaches and strategies*, Eds., Singh, R.L. and Mondal, S. Cambridge, UK: Woodhead Publishing, pp: 236– 245. doi:10.1016/B978-0-12-812160-3.00008-8

Montanholi YR, Swanson KC, Miller SP, Palme R, Schenkel FS 2007 Relationships between residual feed intake and infrared thermography and glucocorticoid levels in feedlot steers from three different sire breeds. *Can J Anim Sci* 88:179

Nimer, E. *Climatologia do Brasil*. 2ª ed. Rio de Janeiro: IBGE 422p. 1989

Pantoja MHA, Esteves SN, Jacinto MAC, Pezzopane JRM, Paz CCP, Silva JAR, Lourenço Junior JB, Brandao FZ, Moura ABB, Romanello N, Botta D, Garcia AR, (2017) Thermoregulation of male sheep of indigenous or exotic breeds in a tropical environment *J Therm Biol.* 69:302-310. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.09.002>
Pereira AMF, Titto EAL, Almeida JAA. *Adaptação dos Ruminantes aos Climas Quentes*. 1ª ed. Curitiba: Ed Appris 186p. 2019

Pezzopane JRM, Nicodemo MLF, Bosi C, Garcia AR, Lulu J (2019) Animal thermal comfort indexes in silvopastoral systems with different tree arrangements. *J Therm Biol.* 79:103-111. doi: 10.1016/j.jtherbio.2018.12.015

Porto-Neto LR, Bickhart DM, Landaeta Hernandez AJ, Utsunomiya YT, Pagan M, Jimenez P, Hansen PJ, Dikmen S, Schroeder SG, Kim ES (2018) Convergent evolution of slick coat in cattle through truncation mutations in the prolactin receptor. *Front Genet* 9:57. doi:10.3389/fgene.2018.00057

Renaudeau D, Collin A, Yahav S, Basilio V, Gourdine JL, Collier RJ (2012) Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal* 6:707-728. <https://doi.org/10.1017/S1751731111002448>.

Robinson EN (2021) Termorregulação. In: Cunningham, J.G. *Tratado de Fisiologia Veterinária*, sexta ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 427-435.

Romanello N, Lourenço Junior JB, Barioni Junior W, Brandão FZ, Marcondes CR, Pezzopane JRM, Pantoja MHA, Botta D, Giro A, Moura ABB, Barreto AN, Garcia AR (2018) Thermoregulatory responses and reproductive traits in composite beef bulls raised in a tropical climate. *Int J Biometeorol* 62:1575–1586. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1557-8>

Rosenberger G, Dirksen G, Gründer HD, Grunert E, Krause D, Stöber M (1993) *Exame clínico dos bovinos*, terceira ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro

Rovira P, Velazco J (2010) The effect of artificial or natural shade on respiration rate behavior and performance of grazing steers. *New Zeal J Agric Res* 53:347-353

Sá JC, Lal R, Cerri CC, Lorenz K, Hungria M, de Faccio Carvalho PC (2017) Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. *Environ Int* 98:102-112. doi:10.1016/j.envint.2016.10.020

Santos NFA, DA Silva JAR, DE Araújo AA, Viana RB, Garcia AR, Bezerra AS, Nahúm BS, Lourenço Júnior JB (2021) Silvopastoral Systems Contribute to Water Buffalo Welfare and Normal Behavior Pattern Under Eastern Amazon Conditions. *Journal of Agricultural Studies.* 9:260-271. doi:10.5296/jas.v9i2.18022

Sathiyabarathi M, Jeyakumar S, Manimaran A, Pushpadass HA, Sivaram M, Ramesha K, Das D, Kataktaaware M (2018) Infrared thermal imaging of udder skin surface temperature variations to monitor udder health status in *Bos indicus* (Deoni) cows. *Infrared Phys Technol* 88:239–244

Sejian V, Bhatta R, Gaughan JB, Dunshea FR, Lacetera N (2018) Review: Adaptation of animals to heat stress. *Anim* 12:431-444

Sengar GS, Deb R, Singh U, Raja TV, Kant R, Sajjanar B, Alex R, Alyethodi RR, Kumar A, Kumar S, Singh R, Jakhesara SJ, Joshi CG (2018) Differential expression of microRNAs associated with thermal stress in Frieswal (*Bos taurus* x *Bos indicus*) crossbred dairy cattle. *Cell Stress Chaperones*. 23(1):155-170. doi: 10.1007/s12192-017-0833-6.

Silanikove N (2000) Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest Prod Sci* 67:1- 18

Silpa MV, König S, Sejian V, Malik PK, Nair MRR, Fonseca VFC, Maia ASC and Bhatta R (2021) Climate-Resilient Dairy Cattle Production: Applications of Genomic Tools and Statistical Models. *Front Vet Sci* 8:625189. doi: 10.3389/fvets.2021.625189

Souza LAS, Matarazzo SV, Carnevalli RA, Toledo LM (2017) Physiological and behavioral responses of dairy heifers in an integrated-crop-livestock-forestry system. *Afr J Agricu Res* 12:1278-1285. 10.5897/AJAR2016.11918

Srikanth K, Kwon A, Lee E, Chung H (2017) Characterization of genes and pathways that respond to heat stress in Holstein calves through transcriptome analysis. *Cell Stress Chaperones* 22:29–42. doi: 10.1007/s12192-016-0739-8

Stöber M (1993) Identificação, anamnese, regras básicas da técnica de exame clínico geral. In: Exame clínico dos bovinos. Terceira ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan cap.2, p.44-80

Sullivan ML, Cawdell-Smith AJ, Mader TL, Gaughan JB (2011). Effect of shade area on performance and welfare of short-fed feedlot cattle. *J Anim Sci*. 89:2911-25 <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3152>

Titto EAL (1998) Clima: influência na produção de leite. *Ambiência na produção de leite em clima quente*. FEALQ, 2:10-23

Vizzotto EF, Fischer V, Thaler Neto A, Abreu AS, Stumpf MT, Werncke D, Schmidt FA, McManus CM (2015) Access to shade changes behavioral and physiological



attributes of dairy cows during the hot season in the subtropics. *Animal* 9(9):1559-66.
doi:10.1017/S1751731115000877

Volpi D, Alves FV, Arguelho AS, Vale MM, Deniz M, Zopollatto M (2021) Environmental variables responsible for Zebu cattle thermal comfort acquisition. *Int J Biometeorol.* 65(10):1695-1705. doi:10.1007/s00484-021-02124-x

Wang FK, Shih JY, Juan PH, Su YC, Wang YC (2021) Non-invasive cattle body temperature measurement using infrared thermography and auxiliary sensors. *Sensors* 21:2425. <https://doi.org/10.3390/s21072425>

Yoshida C, Nakao T (2005) Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows. *J Reprod Dev* 51:99-107

Yousef MK. Thermoneutral zone. In: *Stress Physiology in Livestock*, vol. 1, Basic principles, Yousef MK. ed. CRC Press, Boca Raton, Fla, 1985