

Variações fisiológicas de parâmetros reprodutivos em vacas de raça Holandesa importadas da Hungria para o Nordeste brasileiro

Physiological variations of reproduction parameters of Holstein-Friesian cows imported from Hungary to Northeastern Brazil

Balázs BÉNYEI¹; Costa Celso Walter BARROS²

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Balázs Bényei
Instituto de Pesquisa da Faculdade de
Ciências Veterinárias
Universidade St Stefano
2225 Úllő-Budapeste, Fazenda Dora
Hungria
e-mail: benyeib@zaz.com.br

1-Instituto Experimental da Universidade
de Ciências Veterinárias, Úllő-
Budapeste, Hungria
2-Distrito de Irrigação do Projeto
Senador Nilo Coelho, Pretolina – PE

RESUMO

O número de dias entre a parição e o primeiro cio, as medidas de volume dos ovários e os resultados de superovulação no desempenho de doadoras da raça Holandesa ($n = 70$) foram analisados com o objetivo de encontrar e determinar a possível influência do clima sobre esses dados. No primeiro ano do experimento (1996), levaram-se $112,1 \pm 30,5$ dias da parição até o primeiro cio, sendo assim um período irregular, pois o resultado da experiência do grupo testemunha foi $48 \pm 12,0$ dias. Os resultados do tamanho dos ovários e de superovulação foram de acordo com a teoria de que a atividade sexual das vacas doadoras pode ser influenciada pelo estresse causado pela aclimação. As vacas foram superovuladas, os resultados foram modelados com análise de mínimo quadrado de variância e as diferenças foram analisadas com prova de χ -quadrado e teste t. O período de aclimação influencia negativamente a eficiência do tratamento de superovulação e produção de embriões. Com isso, o número de ovulações ($6,7 \pm 3,5$) e de embriões de boa qualidade ($1,2 \pm 0,5$), a eficiência de coleção (57,0%) e a proporção de obtenção de embriões (46,3%) foram significativamente diferentes do grupo testemunha. Durante o período de aclimação de um ano e meio, a alta temperatura contínua e as horas claras permanentes parecem adversamente afetar as respostas da reprodução das vacas importadas de raça Holandesa, intensivamente manejadas no centro de doadoras do programa MOET (Multiply Ovulation and Embryo Transfer).

UNITERMOS: Aclimação; Superovulação; Estresse por calor; Gado Holandês; Reprodução.

INTRODUÇÃO

A temperatura e umidade elevada do ambiente são associadas à diminuição da eficiência de reprodução e de produção de leite das vacas leiteiras no clima subtropical⁹. Portanto, o estresse calórico ocorre quando algumas combinações das condições do meio ambiente fazem a temperatura ficar maior que a temperatura suportada habitualmente pelos animais¹. As vacas em lactação também respondem ao estresse calórico em vários termos: 1) consumo reduzido de alimento; 2) consumo elevado de água; 3) alteração da razão metabólica e requerimentos de manutenção do corpo; 4) perda intensiva de água por evaporação; 5) ritmo de respiração acelerado; 6) alteração da concentração dos hormônios no sangue; 7) temperatura corporal elevada; e 8) reduzido fluxo de sangue no útero. As vacas de alta produtividade são extremamente sensíveis ao estresse calórico. Essas respostas se manifestam alternadamente nas funções reprodutivas: aciclia, fertilidade

reduzida e degeneração de embriões^{2,9,10,13,15,17,19}. Estudos com espécies diferentes mostram uma associação entre elevada mortalidade de embriões e o estresse calórico^{5,7}. Testes comprovam que a exposição de vaca leiteira ao estresse de verão⁸ ou em câmara de ambiente hipertérmico (42°C) nos primeiros sete dias resultou em reduzida viabilidade de embriões coletados das vacas e aumentou a incidência de embriões degenerados e retardados no desenvolvimento. Esses fatores são responsáveis pela baixa fertilidade das vacas estressadas no período de verão.

Os trabalhos citados referem-se a áreas subtropicais do planeta. Informações sobre o efeito de mudança do clima (animais foram transportados do clima temperado para o clima tropical, onde foram estressados pelo calor contínuo) na alteração reprodutiva, que potencialmente pode influir no resultado de um programa MOET, não estão disponíveis. Portanto, este trabalho foi conduzido para determinar a duração do período de aclimação e efeito da adaptação na duração do período entre a parição e o primeiro cio, volumes

dos ovários e como as vacas respondem ao tratamento de superovulação. Em nosso estudo, estas implicações foram investigadas em vacas leiteiras da raça Holandesa em um centro de doadoras de MOET na região Nordeste brasileira.

MATERIAL E MÉTODO

Vacas leiteiras adultas da raça Holandesa foram usadas para este estudo. O experimento foi conduzido, de abril de 1996 até janeiro de 1998. Os animais experimentais ($n = 70$) foram importados da Hungria (clima continental) em junho de 1995 como novilhas prenhes para um centro de doadoras de MOET, localizado no clima semi-árido brasileiro. Vacas locais de raça Holandesa PO ($n = 40$) foram usadas como testemunhas. Os experimentos de superovulação foram conduzidos determinando a duração do período de aclimação e testando o efeito reprodutivo.

Os animais foram colocados em projeto da Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), perímetro de irrigação Nilo Coelho em Petrolina-PE (latitude $09^{\circ}09'$, longitude $40^{\circ}22'$ e altitude 465,5 m). As vacas foram instaladas em estábulo aberto e separadas em currais (10 animais por grupo, $15 \text{ m}^2/\text{vaca}$). Borrifadores foram instalados acima das vacas para pulverizar água durante 10 minutos a cada hora quando a temperatura estivesse acima de 30°C . Foram alimentadas com milho triturado, capim-elefante triturado fresco, feno de alfafa e ração balanceada com quantidades dependendo da produção de leite.

No período do experimento não havia grandes diferenças de temperatura nas estações do ano. A temperatura média diária anual no local ficava em torno de $25,8 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$, variando entre $34,4 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$ e $23,2 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$. Nos meses mais quentes (de setembro a janeiro), a temperatura média era $27,3 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$, variando entre $33,6 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$ e $22,5 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$. A precipitação anual foi 650 mm/ano , a umidade relativa do ar variou entre 35 e 38% durante a tarde e 70 e 85% durante a noite e a madrugada. As estações do ano não influenciaram nas horas claras ($12 \pm 0,5 \text{ hora/dia}$), porque o local do experimento está localizado na faixa equatorial a 9° para o Sul. No clima continental há bruscas alterações entre as estações do ano, a temperatura média nos meses quentes de verão (entre junho e agosto) é $24,2 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$, variando entre $18,4 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ e $30,7 \pm 2,6^{\circ}\text{C}$. Nos meses frios de inverno (entre dezembro e março), a temperatura média é $2,6 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$, variando entre $-4,8 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$ e $10,3 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$. A temperatura máxima nos dias mais quentes é $35,6 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$ e nos dias mais frios foi $-18,6 \pm 1,9^{\circ}\text{C}$. A precipitação anual é de 690 mm/ano (D: 300 a 900 mm). As horas claras chegam a 15 horas nos meses de verão e diminuem até 8 horas nos meses de inverno.

A medição dos ovários foi feita pelo reto utilizando a ultra-sonografia a (Echoscan-H5 com *probe* linear de 5 MHz).

O efeito do período de aclimação no intervalo entre

a parição e o primeiro cio, o volume dos ovários e os resultados de superovulação (número de doadoras superovuladas, ovulações das doadoras, óvulos e embriões coletados) foram avaliados pela variância de mínimo quadrado. As diferenças entre os resultados do grupo testemunha e experimental em 1996 e 1997 foram determinadas pelo teste t (Student) e de χ^2 -quadrado e com diferenças $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

Para o experimento, todos os animais foram avaliados por palpação e ultra-sonografia retal e as vacas com ciclo regular foram sincronizadas com dosagem luteolítica de PGF 2α (Enzaprostb or Veteglanc or Ciosind or Lutalysee). Para a superovulação, foi usado FSHp (Pluset, 750 a 1000 U.I. quantia total dividida em dosagens decrescentes durante 4 dias). Este tratamento foi iniciado a partir do 8° ao 11° dia do ciclo (Dia 0 iniciar o cio). No 3° dia de tratamento (Dia 1 foi o primeiro dia de aplicação) foi administrado o luteolítico uma vez, à tarde, e os animais foram artificialmente inseminados com única dose de sêmen descongelado 48 a 60 horas mais tarde. No 7° dia, os embriões foram coletados e avaliados. Sua viabilidade foi notada em escala de pontuação quatro baseada em características morfológicas^{11,20}, ou seja, classificados como óvulos, embriões de qualidade boa e ruim pela proporção das células degeneradas¹⁸.

Todos os dados sobre o intervalo entre a parição e o primeiro cio, tamanho dos ovários tirados pela ultra-sonografia retal no dia 65 ± 5 (Dia 0 foi a parição) e os resultados de superovulação foram anotados durante o período do experimento (1996 e 1997). Para analisar o volume dos ovários, uma escala de pontuação 5 foi introduzida (pontuação 1 até 5, com 1 sendo o volume de ovário de 0,5 cc sem folículo ou corpo lúteo (CL) nele, praticamente inativo e, seguindo a escala, chegando até a pontuação 5, onde o volume é de 12 cc com um ou dois folículos de 10 mm ou CL de 20 mm de diâmetro, estes ovários estão funcionando bem. Ovários císticos não foram incluídos nos dados).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vacas leiteiras de alta produção são muito sensíveis à temperatura ambiental elevada. Acima de 25°C , a perda de calor via convecção é reduzida e a dissipação de calor é dependente da evaporação de água sobre o pêlo e via respiratória⁴. Nesta temperatura, no caso das vacas secas e novilhas, a produção de calor orgânico é igual à perda de calor pela evaporação, que é suficiente para manter a temperatura corporal, o que evita o estresse. Já em vacas produtoras de 30 kg leite/dia ou mais, apenas a metade é dissipada, favorecendo assim uma situação de estresse⁴. Para reduzir o estresse calórico, são recomendadas sombra, ducha

e ventilação forçada⁹. Em nosso estudo apenas sombra e sistema de microaspersão foram utilizados.

O número de vacas superovuladas, número de ovulações das doadoras e resultado de superovulação estão apresentados na Tab. 1. Em alguns casos, o número de CL foi tão grande que não foi possível fazer uma contagem exata. Estes ovários foram considerados como "ovários com muito CL", ou seja, como de 20 ovulações¹².

As vacas que não responderam à superovulação não foram incluídas na análise. 2. As doadoras sem embriões foram retiradas da estatística. 3. Percentagem de vacas submetidas a coleta em relação às que deram embriões. 4. Percentagem de embriões coletados em relação ao número das ovulações palpadas pelo reto. ab Valores com os sobrescritos diferentes entre os dados com a mesma linha são diferentes ($p < 0,05$). aa Valores com o mesmo sobrescrito entre os dados com a mesma linha não são diferentes ($p > 0,05$).

No ambiente quente, as novilhas e doadoras secas são melhores produtoras de embriões que as vacas leiteiras devido à lactação^{3,4}.

Um fator importante no sucesso da produção de embriões é a reação ovariana, o número de CL. Foi publicado que o estresse calórico não influencia na superovulação das vacas doadoras e no número total de embriões (soma dos óvulos e embriões de qualidade boa e ruim, mais tarde apenas ovos) coletados^{12,16,17}. Em nosso experimento - entre abril de 1996 e janeiro de 1997 -, o número de ovulações das vacas experimentais foi $6,7 \pm 3,5$, sendo diferente do resultado do trabalho acima mencionado, o número de CL aumentou em 1997 ($12,8 \pm 6,9$) no grupo de experimento, chegando a igualar ao das doadoras testemunhas ($13,6 \pm 7,5$), o que se iguala com o resultado de experimento reportado. Também foi publicado que não há mudança significativa no número total de ovos se a temperatura for acima de 32°C em relação ao número de ovulações¹³. Em nosso trabalho, achamos significativamente mais ovulações em 1997 que em 1996 ($12,8 \pm 6,9$ vs $6,7 \pm 3,5$, $p < 0,05$) nos animais importados superovulados e não havia diferença significativa entre o resultado das doadoras de grupo de testemunha e do experimento em 1997 ($13,6 \pm 7,5$ vs $12,8 \pm 6,9$, $p > 0,05$).

Embora tenha sido sugerido que a eficiência da coleta de embriões não é influenciada pelo ambiente calórico¹⁶, no

nosso estudo este aumentou significativamente entre 1996 e 1997. No ano de 1996, 57,0% das vacas lavadas deram pelo menos um ovo, resultado que contrasta com o trabalho citado; já em 1997 aumentou para 85,0% nos animais importados ($p < 0,05$). O resultado das doadoras testemunhas foi semelhante ao resultado em 1997 do grupo de experimento.

Foi publicado que há diferença significativa na qualidade de embriões coletados em ambiente quente ($>32^{\circ}\text{C}$ máxima) e frio ($>32^{\circ}\text{C}$ máxima)^{6,14,15,16}. Em nosso trabalho, a temperatura máxima foi continuamente acima de 32°C em 1996 e 1997. No ano de 1996, 58,8% dos embriões foram fertilizados, e em 1997, 66,8% foram de boa qualidade. Semelhantemente, a percentagem de embriões de boa qualidade coletados das vacas testemunhas foi 58,1%, a qual frequentemente tende a ser diferente, mas é insignificante. O número de embriões de boa e má qualidade obtidos em temperatura ideal e elevada foi analisado por Putney *et al.*^{15,16}. Neste trabalho, acharam que em temperatura neutra o número de embriões de boa qualidade é $3,5 \pm 1,1$ e os de má qualidade é $3,7 \pm 0,7$. No ambiente quente, o número de embriões de boa qualidade é $2,3 \pm 0,7$ e de má qualidade é $5,0 \pm 0,5$, sugerindo que não há diferença significativa entre a quantidade de embriões de boa qualidade obtidos no ambiente quente e confortável. Em contraste com esta observação, nossas vacas experimentais deram um número de embriões de boa qualidade significativamente menor em 1996 que em 1997, $1,2 \pm 1,5$ vs $4,0 \pm 3,7$, e que nas doadoras testemunhas em 1996 e 1997, $4,3 \pm 3,4$, $p < 0,05$.

A proporção de obtenção dos embriões, expressada como a percentagem de embriões e óvulos coletados em relação ao número de CL, foi significativamente diferente em 1996 e 1997 (46,3% vs 71,9%, $p < 0,05$). Assim, o número de ovos parece ter sido alterado pela temperatura elevada durante o período de aclimação. O índice da obtenção de embriões aumentou em 1997 e tornou-se semelhante aos resultados obtidos no nosso grupo de testemunhas e aos dados de outra experiência divulgada¹³.

O efeito do ambiente quente no número de dias entre a parição e o primeiro cio foi analisado por Lewis *et al.*¹⁰ Concluiu-se que o tempo decorrido para o primeiro cio na condição de temperatura elevada foi de $32,3 \pm 4,8$ dias. Em nosso experimento, os resultados obtidos com o período entre

Tabela 1

Respostas de superovulação e eficiência de coleção de embriões (média \pm desvio padrão). Petrolina, PE, 1996-97.

	1996	1997	Testemunhas
Nº de superovulação	63	96	67
Nº de vacas lavadas	45 (71,0%) ^a	86 (89,0%) ^a	59 (88,0%) ^a
Nº de CL/doadora ¹	$6,7 \pm 3,5^a$	$12,8 \pm 6,9^b$	$13,6 \pm 7,5^b$
Nº de embriões viáveis/doadora ²	$1,2 \pm 1,5^b$	$4,0 \pm 3,7^a$	$4,3 \pm 3,4^a$
Nº de óvulos e embriões degenerados/doadora ²	$0,4 \pm 0,6^b$	$2,9 \pm 3,5^a$	$3,1 \pm 2,9^a$
Nº vacas com embriões coletados ² (eficiência de coleção ³)	26 (57,0%) ^a	73 (85,0%) ^b	51 (86,0%) ^b
Razão de coleção de embriões ⁴ (%)	23,8 ^a	53,9 ^b	54,5 ^b

Tabela 2

Distribuição dos ovários pelo volume (%). Petrolina, PE, 1998.

Pontuação	1	2	3	4	5
1996	21,0 ^b	27,0 ^b	8,7 ^a	11,3 ^a	32,0 ^a
1997	3,6 ^a	9,6 ^a	14,4 ^b	18,0 ^b	54,4 ^b
Testemunhas	4,1 ^a	10,1 ^a	12,3 ^b	17,1 ^b	56,3 ^b

^{ab} Colunas com sobrescritos diferentes são estatisticamente diferentes $p < 0,05$.

a parição e o primeiro cio em 1996, comparados com os dados de 1997 das vacas experimentais e das testemunhas, são significativos ($112,2 \pm 30,5$ vs $55,0 \pm 18,0$ e $48,3 \pm 12,0$, ($p < 0,05$), embora no caso das vacas importadas em 1996 o intervalo tenha sido significativamente diferente da observação do trabalho citado e dos dados de 1997. Não achamos grandes diferenças entre os números obtidos com as vacas testemunhas e o resultado do mesmo experimento de Lewis *et al.*¹⁰.

Para analisar o tamanho dos ovários, os animais foram investigados por ultra-sonografia via retal e o tamanho deles foi anotado. Os resultados são apresentados na Tab. 2.

O ovário oposto ao corno do útero grávido antes da parição fica inativo. Porém, logo após o parto até aproximadamente 34 dias aumentam de tamanho. No entanto, o ovário do lado onde ocorreu a gravidez, em vacas estressadas, aumenta de volume mas não chega ao mesmo diâmetro que o posto. Esse é o resultado de uma pesquisa reportada¹⁰, entretanto, o resultado da nossa experiência em 1996, com as vacas importadas, foi oposto. Neste, o ovário do lado do corno do útero previamente prenhe não se modificava. Ovários inativos (pontuação 1) foram encontrados em 1996 no grupo experimental em significativamente maior porcentagem comparando-se com o mesmo grupo em 1997 e nas vacas testemunhas durante o estudo (21,0% vs 3,6% e 4,1%, $p < 0,05$), o que indica um longo intervalo inativo. Maior percentual de ovários de pontuação 2 foi observado nas vacas importadas em 1996 que na subsequente (27,0% vs 9,6% e

10,1%, $p < 0,05$). Os dados sobre os ovários com bom funcionamento, ou seja, pontuação 4 e 5, também evidenciam a atividade sexual paralisada das vacas importadas em 1996, pois a porcentagem dessa categoria foi significativamente menor que no grupo experimental de 1997 e no de testemunhas no mesmo período.

Pesquisas prévias demonstraram claramente que a temperatura ambiental elevada não influencia o número de dias entre a parição e o primeiro cio e no volume de ovários¹⁰. Outros pesquisadores revelaram que a porcentagem de vacas submetidas a coleta em relação às que deram pelo menos um ovo e/ou óvulo, o estresse calórico não afeta a quantidade de embriões coletados^{13,15,16}. Embora condições tropicais assim não parecem afetar as respostas reprodutivas das vacas doadoras, observamos que a raça Holandesa, criada no clima temperado e transportada ao trópico, é muito sensível à mudança do clima. Os nossos resultados obtidos foram significativamente diferentes dos parâmetros investigados em 1996 entre o grupo experimental e o grupo de testemunhas. No segundo ano, 1997, essas respostas reprodutivas tornaram-se iguais aos resultados do grupo de testemunhas e na literatura citada.

CONCLUSÕES

Os dados sugerem que a aclimação para as novas condições locais levou um ano e meio, que influenciou seriamente o período entre a parição e o primeiro cio, a involução de ovários e o resultado do programa de superovulação.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi executado pelo convênio entre CODEVASF/AGROINVEST (Hungria), Nº 0-05-93-0004/00. Os autores agradecem a Maria Neide de Lima pela correção do texto.

SUMMARY

Number of days between the calving and first estrus, ovarian volumes and superovulation results on performance of Holstein Friesian donor cows ($n = 70$) from a MOET center unit were analyzed in a two-years experiment for the environmental effects. In the experimental year 112.1 ± 30.5 days passed from calving to first estrus, which was significantly longer than in the control experiment (48 ± 12.0 , $p < 0.05$). Results of ovarian volumes were also consistent with the theory that sexual activity of the donor cows is depressed by the acclimatization stress. The cows were superovulated. Responses were modeled with last square analysis of variance and differences were analyzed by χ^2 probe and t-test. Acclimatization period affects on the efficiency of superovulation treatment and embryo production. Number of ovulation (6.7 ± 3.5), good quality embryos (1.2 ± 1.5), collection efficiency (57.0%), and embryo recovery rate (46.3%) were significantly different from the control experiments. Continuously elevated environmental temperature and permanent lighting hours in the new environment during the one and a half year long adaptation period does appear to adversely affect reproductive responses of imported Holstein Friesian donor herd intensively managed in a MOET (Multiply Ovulation and Embryo Transfer) center.

UNITERMS: Acclimatization; Superovulation; Heatstress; Holstein-Friesian breed; Reproduction.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2044-50, 1994.
- 2- BADINGA, L.; COLLIER, R.J.; THATCHER, W.W.; WILCOX, C.J. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. **Journal of Dairy Science**, v.68, n.1, p.78-85, 1985.
- 3- BÉNYEI, B.; FÁRI, M.; BARROS, C.W.C.; SOLTI, L. Superovulatory response of continuously heat stressed heifers and cows in Brazil. **Theriogenology**, v.51, n.1, p.260, 1999.
- 4- BERMAN, A.; MORAG, M. Nychthermal patterns of thermoregulations in high yielding cows in a hot dry climate. **Austral Journal of Agricultural Research**, v.22, n.4, p.671-9, 1971.
- 5- DUTT, R.H. Critical period for early embryo mortality in ewes exposed to high ambient temperature. **Journal of Animal Science**, v.22, n.4, p.713-9, 1963.
- 6- EALY, A.; DROST, M.; HANSEN, P. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.8, p.2899-905, 1993.
- 7- EDWARDS, R.L.; OMTWEDT, J.T.; TURMAN, J.; STEVENS, D.F.; MAHONEY, J.W. Reproductive performance in gilts following heat stress prior to breeding and in early gestation. **Journal of Animal Science**, v.27, n.7, p.1634-7, 1968.
- 8- GORDON, I.; BOLAND, M.P.; MCGOVERN, H.; LYNN, G. Effects of season on superovulatory responses and embryo quality in Holstein cattle in Saudi Arabia. **Theriogenology**, v.27, n.1, p.231, 1987.
- 9- GWAZDAUSKAS, F.C.; THATCHER, W.W.; WILCOX, C.J. Physical, environmental and hormonal factors at insemination which may affect conception. **Journal of Dairy Science**, v.56, n.7, p.873-7, 1973.
- 10- LEWIS, G.S.; THATCHER, W.W.; BLISS, E.L.; DROST, M.; COLLIER, R.J. Effect of heat stress during pregnancy on postpartum reproductive changes in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.58, n.1, p.174-86, 1984.
- 11- LINDER, G.M.; WRIGHT Jr., R.W. Bovine embryo morphology and evaluation. **Theriogenology**, v.20, n.3, p.407-16, 1983.
- 12- MONTY Jr., D.E.; RACOWSKY, C. *In vitro* evaluation of early embryo viability and development in summer-stressed, superovulated dairy cows. **Theriogenology**, v.28, n.4, p.451-65, 1987.
- 13- PUTNEY, D.J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 post insemination. **Theriogenology**, v.30, n.2, p.195-209, 1988.
- 14- PUTNEY, D.J.; MALAYER, J.R.; GROSS, T.S.; THATCHER, W.W.; HANSEN, P.J.; DROST, M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. **Biology of the Reproduction**, v.39, n.4, p.717-28, 1988.
- 15- PUTNEY, D.J.; THATCHER, W.W.; DROST, M.; WRIGHT, J.M.; DELORENZO, M.A. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine donors and recipients in the Southwest region of the United States. **Theriogenology**, v.30, n.5, p.905-22, 1988.
- 16- PUTNEY, D.J.; MULLINS, S.; THATCHER, W.W.; DROST, M.; GROSS, T.S. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. **Animal Reproduction Science**, v.19, n.1, p.37-51, 1989.
- 17- PUTNEY, D.J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. **Theriogenology**, v.31, n.4, p.765-78, 1989.
- 18- SEIDEL Jr., G.E.; SEIDEL, S.M. **Training manual for embryo transfer in cattle**. Rome: FAO Animal Production and Health Paper. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1991. p.33-41: Recovery of embryos.
- 19- THATCHER, W.W. Effects of season, climate and temperature on reproduction and lactation. **Journal of Dairy Science**, v.57, n.3, p.360-8, 1974.
- 20- WRATHALL, A.E.; Certification and identification embryo. *In*: STRING FELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. (eds.). **Manual of the international embryo transfer society**. 2.ed. Champaing: [s.n.], 1990. p.60-8.

Recebido para publicação: 09/03/1999

Approved para publicação: 03/12/1999