

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS SOBRE A
REPROGRAMAÇÃO EPIGENÉTICA DE EMBRIÕES
PRODUZIDOS IN VITRO DAS RAÇAS GIROLANDO E
PANTANEIRA SITUADOS NO CERRADO-PANTANAL

Acadêmico: André Luiz Leão Fialho

Aquidauana-MS

Março/2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS SOBRE A
REPROGRAMAÇÃO EPIGENÉTICA DE EMBRIÕES
PRODUZIDOS IN VITRO DAS RAÇAS GIROLANDO E
PANTANEIRA SITUADOS NO CERRADO-PANTANAL

Acadêmico: André Luiz Leão Fialho

Orientador: Prof^a.Dra.Fabiana de Andrade Melo Sterza

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”

Aquidauana-MS

Março/2015

Houve alteração da proposta inicial, e sugestão de alteração do título para:

**QUALIDADE OOCITÁRIA DE BOVINOS GIROLANDO E
PANTANEIRO SITUADOS SOB ESTRESSE TÉRMICO
CALÓRICO AGUDO E CRÔNICO**

SUMÁRIO

RESUMO DA DISSERTAÇÃO

O estresse térmico calórico (ETC) afeta negativamente a eficiência reprodutiva de bovinos. Várias alternativas têm sido utilizadas para minimizar o efeito do ETC em regiões tropicais com o objetivo de melhorar a produtividade. Nesse sentido, quantificar o estresse em raças adaptadas e determinar o seu efeito sobre a reprodução torna-se uma ferramenta importante para auxiliar nesse processo. O trabalho descrito no capítulo 2 utilizou animais da raça Girolando (n=6) e Pantaneiro (n=12), os quais foram submetidos a aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) em diferentes condições climáticas. O ETC agudo foi caracterizado quando o Índice de temperatura e umidade (ITU) foi maior que 72 no período em que foi realizada a OPU e o ETC crônico quando o ITU permaneceu maior que 72 em 50% do tempo nos 15, 30 e 60 dias que precederam a OPU. O objetivo desse estudo foi avaliar a produção e viabilidade de Complexos Cumulus Oophorus (COCs), de doadoras de raças adaptadas aos trópicos, sob ETC agudo e crônico. A temperatura retal (TR) diferenciou entre as raças tanto nas condições de conforto como de ETC, caracterizando a média de TR de Pantaneiras (38,6 °C), mais elevada que das Girolando (38,3 °C). Por outro lado, a frequência respiratória (FR) variou em função do ETC apenas nas doadoras da raça Girolando. Alterações da viabilidade dos COCs foram observadas quando doadoras da raça Pantaneira foram manejadas sob ETC agudo. O ETC crônico, especialmente ETC 60, afetou negativamente a produção e viabilidade de COC's.

Palavras-chave: Reprodução, Ambiente, oócito, bovinos

ABSTRACT

The caloric heat stress (HS) adversely affects the reproductive efficiency of cattle. Several alternatives have been used to minimize the effect of the HS in tropical regions with the goal of improving productivity. Accordingly, to quantify the stress in races and adapted to determine its effect on reproduction becomes an important tool to assist in this process. The work described in Chapter 2 used animals Girolando (n = 6) and Pantaneira (n = 12) in the Cerrado-Pantanal region to undergo follicular aspiration in different weather conditions, for the day of collection, with Index temperature and humidity (ITU) > or <than 72, featuring

the acute HS. In order to assess the quality of the recovered oocyte and compare between the races. The results showed that Pantaneira race, taurine seed, was with the same roughness Girolando. The rectal temperature (RT) differentiated between races with isolated effect, and interaction with the weather conditions, featuring the average RT moorland, higher than the Girolando. Respiratory rate there is no difference between races, however suffers effect of weather conditions. These two physiological variables, were not enough to cause reproductive effects. Acute HS directly influence the respiratory rate, and playback. Chronic HS established 15, 30 and 60 days prior to aspiration, noted that the animal was in ETC or not in order, if more than 50% of the hours of this period, the animal was in ITU conditions above 72. The total COCs retrieved suffered effect of ETC 60, and viability was affected by all the ETCs.

Keywords: Reproduction, Environment, oocyte, cattle

CAPITULO 1-CONSIDERAÇÕES GERAIS

1-INTRODUÇÃO

Os bovinos são animais domesticados pelo homem desde os primórdios da civilização para obtenção de carne e leite. Com a evolução dos homens passaram a não ser criados extensivamente mas sim intensivamente, como produto comercial. Atualmente existem duas espécies bovinas: os *Bos taurus* (*taurinos*) e o *Bos taurus indicus* (*zebuínos*). Os animais taurinos, tem descendência europeia e são adaptados em clima temperado continental. Estes são famosos por seus altos índices de rendimento de carcaça, produtividade de leite, e precocidade reprodutiva. Os zebuínos tem descendência asiática e são menos produtivos que os taurinos, porem são adaptados a condições tropicais, apresentando maior resistência a ambientes hostis.

Raças zebuínas foram introduzidas no Brasil por conta de sua boa adaptabilidade frente as condições de clima e pasto. Cruzamentos entre essas duas espécies bovinas têm sido utilizadas com a intenção de equilibrar índices produtivos e reprodutivos, com rusticidade para enfrentar as condições as quais estão sendo submetidas. A raça Girolando, raça sintética proveniente do cruzamento do Holandês, taurino de alta capacidade leiteira e o Gir, zebuíno de grande rusticidade e potencial leiteiro, é um bom exemplo dessa situação. A crescente utilização dessa raça no Brasil, tem despertado cada vez mais interesse sobre o seu potencial em condições adversas.

Os bovinos da raça Pantaneira são de antiga ocupação na região do Pantanal. São o resultado de muitos anos de seleção natural, que, por sua vez, teve o papel de selecionar os melhores e mais adaptados genes. Por muito tempo a raça Pantaneira predominou na produção extensiva de gado na região, com alta adaptação ao clima, vegetação e à constante dinâmica de inundações e secas do Pantanal, e ainda pela sua resistência em relação a parasitos e doenças. No entanto, pouco se sabe sobre o seu real potencial de produção de carne e leite, bem como sobre seu desempenho reprodutivo.

32 O clima Tropical é predominante no Brasil, principalmente nas regiões
33 Centro-Oeste, parte do Norte, Nordeste e Sudeste, onde está concentrado o
34 maior rebanho do país. Esse tipo de clima é caracterizado, por elevadas
35 temperaturas e uma grande variação diária da temperatura, não tendo bem
36 definido inverno e verão, sendo dividido em período seco e chuvoso. Nessas
37 regiões, os animais são comumente submetidos a situações de estresse
38 térmico calórico (ETC), sendo definido como condição ambiental (Temperatura
39 do ar e umidade relativa do ar) com valores acima do conforto para o animal.
40 Animais em ETC sofrem aumento da temperatura retal, frequência respiratória,
41 sudorese e salivação, além de outras alterações fisiológicas. Tais alterações
42 promovem a redução da ingestão de alimentos pelo animal, e alterações
43 reprodutivas, como: queda de qualidade do oócito, alterações na
44 espermatogênese, não nidação do embrião.

45 **2-OBJETIVOS**

46 **2.1-Objetivo geral**

47 Avaliar a qualidade dos complexos cumulus oophorus (COCs) oriundos
48 de vacas das raças Pantaneira e Girolando em diferentes condições de
49 temperatura e umidade.

50 **2.2-Objetivos específicos**

51 Avaliar a qualidade oocitária de fêmeas da raça Pantaneira e Girolando
52 a partir da aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU), em diferentes
53 condições de temperatura e umidade.

54 Avaliar o efeito do estresse térmico calórico agudo e crônico sobre a
55 viabilidade de complexo cumulus oophorus (COCs) de fêmeas das raças
56 Girolando e Pantaneira.

57 Avaliar o efeito do estresse térmico calórico agudo e crônico sobre
58 parâmetros fisiológicos de fêmeas das raças Girolando e Pantaneira

1 **3-REVISÃO DE LITERATURA (Redigida nas normas da Revista brasileira**
2 **de Reprodução Animal, Qualis capes B4)**

3 **O uso de PIVE como ferramenta de manejo de animais em ETC**

4 **The use of IVP as a management tool in animal ETC**

5 André Luiz Leão Fialho¹, Fabiana de Andrade Melo Sterza¹

6 ¹Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS, Brasil

7

8 **Resumo**

9 A influência do estresse térmico calórico (ETC) sobre a reprodução já está bem
10 documentada, no entanto, frente as constantes mudanças climáticas ocorridas em
11 consequência aos fenômenos que tem culminado com o aquecimento global, tem-se
12 buscado alternativas que elucidem mais claramente tais mecanismos e que possam
13 favorecer o aumento da produção animal nas condições de ETC. A produção *in vitro* de
14 embriões (PIVE) é uma biotécnica por meio da qual as fenômenos reprodutivos mais
15 sensíveis ao ETC, como ovulação, maturação oocitária, fecundação e desenvolvimento
16 embrionário inicial, aconteçam sob ambiente controlado de temperatura e umidade. A
17 presente revisão tem como objetivo esclarecer como o estresse calórico pode afetar os
18 eventos reprodutivos e como a PIVE pode ser utilizada como um método para contornar
19 o ETC.

20 **Palavra-chave:** ambiente, bovinos, reprodução

21

22

23 **Abstract**

24 The influence of caloric heat stress (ETC) on reproduction are well documented,
25 however, face the constant climate changes due to phenomena that has culminated with
26 global warming, have sought alternatives to more clearly elucidate these mechanisms
27 and that may encourage increased animal production in the conditions of ETC. The in
28 vitro production of embryos (IVP) is a biotech through which the most sensitive
29 reproductive phenomena to ETC, as ovulation, oocyte maturation, fertilization and early
30 embryonic development, happen under temperature and humidity controlled
31 environment. This review aims to clarify how heat stress can affect the reproductive
32 events and how the IVP can be used as a method to circumvent the ETC

33 **Keyword:** environment, cattle, reproduction

34 **Introdução**

35 O Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com cerca de 200
36 milhões de cabeças (Mapa, 2014), e a maior parte está em regiões de climas tropicais,
37 com temperaturas médias acima da zona de termoneutralidade ficando expostos ao
38 estresse térmico calórico (ETC) (Pires & Campos, 2008).

39 A maior parte desse rebanho é constituído por animais zebuínos, conhecidos por
40 sua resistência a condições estressantes (Ribeiro *et al*, 2006). No entanto estudos
41 relatam que mesmo esses animais sofrem perdas reprodutivas com o ETC, porém menos
42 evidenciado que animais taurinos (Paula-Lopes *et al*, 2003).

43 ETC é um fator importante que contribui para a baixa fertilidade de vacas
44 leiteiras inseminadas no verão (Ray *et al*, 1992). Em vacas Holandesas, o ETC parece
45 reduzir a competência do oócito (Al-Katanani *et al*, 2002) e a taxa de fertilização

(Sartori *et al*, 2002), bloqueando o desenvolvimento do embrião. Esses fatores contribuem para a baixa fertilidade dos animais nos trópicos, uma vez que o clima dessa região proporciona com frequência condições de ETC para os animais.

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) evoluiu muito nos últimos anos. O Brasil é o líder mundial nessa biotecnologia, tendo apresentado um aumento de 500% da produção de embriões em 10 anos (Viana *et al*, 2012). Dessa forma, o Brasil é responsável por aproximadamente 80% da PIVE no mundo (IETS, 2012). O mercado interno de embriões hoje é constituído de 90% de PIVE contra menos de 10 % de MOET (Múltiplas Ovulações e Transferência de Embriões) (Viana *et al*, 2012).

Objetivou-se com essa revisão mostrar a relação do ETC e a eficiência da Aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) e PIVE.

Efeitos do ETC no organismo e Adaptação

Vários fatores estão envolvidos na determinação do conforto térmico, tais como: o ambiente (temperatura do ar, temperatura radiante, radiação solar, umidade do ar e pressão atmosférica), a capa externa do animal (espessura, estrutura, isolamento térmico, penetração pelo vento, ventilação, emissividade, absorvidade e refletividade) e características corporais (forma corporal, tamanho, área de superfície, área exposta à radiação solar, emissividade e absorvidade da epiderme) (Silva, 2000). Dessa forma, fica claro, a influência da raça sobre a sensibilidade ao ETC.

As alterações adaptativas que possibilitam resistência térmica são provavelmente resultado de alterações na expressão gênica e/ou na atividade de sistemas bioquímicos que regulam as funções celulares frente a alguma agressão como, no caso das altas temperaturas (Edwards, 2001).

69 As proteínas de choque térmico (HSP) promovem a proteção celular contra os
70 efeitos causados pelo calor, impedindo a desnaturação de proteínas, e bloqueando a
71 apoptose (Kregel, 2002). Sua transcrição é aumentada em ocasião de choques pelo
72 calor, bem como por outros estímulos de estresse e pode ser um indicador de estresse
73 em embriões bovinos e oócitos imaturos.

74 A HSP 70 contribui com um importante papel no que diz respeito a resistência
75 das células ao aumento da temperatura, mantendo estável a estrutura proteica, quer seja
76 reparando as proteínas desnaturadas, estabilizando o citoesqueleto e preservando a
77 função normal dos ribossomos e dessa forma impedindo a apoptose (Hansen, 2002).

78 Em oócitos imaturos expostos a temperatura min de 19 °C e max 30 °C, a
79 transcrição de RNAm Hsp70 aumentou em raças mais sensíveis (Holandeses) do que
80 em raças mais adaptadas (Gir), bem como a taxa de blastocistos foi maior para doadora
81 da raça Gir do que para doadoras da raça Holandês (Camargo *et al*, 2007).

82 **Método de avaliação da ETC**

83 O Índice de Temperatura e Umidade relativa do ar (ITU) é o índice mais
84 utilizado segundo Azevedo & Alves, 2009. Faz uma combinação entre temperatura e
85 umidade, é calculado através do seguinte modelo: $ITU = (0,8 \times T + (UR(\%)/100) \times (T -$
86 $14,4) + 46,4)$, onde: T = temperatura °C e UR = umidade relativa do ar (Thom, 1959).

87 A partir do cálculo do ITU o resultado obtido poderá ser comparado com os
88 valores de referência que classificam o ETC de acordo com a variação de ITU em
89 ameno ou brando (72 a 78), moderado (79 a 88) e severo (89 a 98). ITU abaixo de 72
90 caracterizaria um ambiente sem ETC (Armstrong, 1994). Com o cálculo do ITU é
91 possível, observar se os animais passaram por períodos de ETC, se o ETC foi agudo ou
92 crônico, e ainda quantificar o tempo em ETC. Esses valores de referência foram

93 propostos para bovinos em geral, ou seja, sem considerar as especificidades de cada
94 raça.

95 Nos climas tropicais há grande variação diária nos valores de T e de UR,
96 atingindo variações de 10 °C facilmente (Ayoade, 1983), fato que promove alterações
97 significativas dos valores do ITU ao longo do dia. Nesse sentido, o ITU médio do dia
98 não representa o ETC real ao qual um animal é submetido durante um dia, se fazendo
99 necessário portanto, a avaliação dos valores máximos e mínimos, que diferem
100 significativamente entre si nas diferentes épocas do ano (Fialho *et al*, 2013)

101 **Influência do ETC na reprodução e Estratégias para amenizar o ETC**

102 A associação entre elevadas temperaturas, alta umidade do ar e radiação solar
103 acarretam alterações comportamentais e fisiológicas, que resultam em diminuição da
104 ingestão de alimentos e redução no desempenho dos animais de produção (Silva, 2010).

105 O ETC pode causar diversos efeitos deletérios sobre a função reprodutiva dos
106 mamíferos, incluindo mudanças na espermatogênese, com redução quantitativa e
107 qualitativa da produção de espermatozoides nos machos; alterações no desenvolvimento e
108 maturação oocitária, levando a redução da fertilidade nas fêmeas; alterações no
109 desenvolvimento embrionário inicial, no crescimento fetal e na lactação (Hansen, 2009).

110 Em fêmeas, esta situação é mais complexa, pois o ETC interfere no
111 desenvolvimento do oócito alterando a sua função, provavelmente por comprometer sua
112 qualidade em função da alteração do desenvolvimento folicular (incluindo ausência de
113 dominância), a produção e secreção de esteroides, a secreção de gonadotrofinas e a
114 expressão gênica. Como resultado, o processo de maturação oocitária é interrompido em
115 elevadas temperaturas e a competência do oócito para a fertilização fica comprometida
116 (Hansen, 2007; Hansen, 2009).

117 Fêmeas sofrendo condições de ETC, por apresentarem redução na ingestão de
118 alimentos, entram em balanço energético negativo mais acentuado. Este fato eleva a
119 utilização de glicose pelas células, diminuindo sua utilização como fonte de energia
120 para manutenção da produção de leite. No entanto, este processo implica sobre a
121 fertilidade, pois o oócito, o embrião e o feto necessitam de glicose como fonte de
122 energia, e a taxa de clivagem e o desenvolvimento inicial dos embriões são reduzidos
123 quando mantidos em ambientes com baixo teor de glicose (Bilby *et al*, 2009).

124 Oócitos que passam por condições de ETC podem ser prejudicados desde as
125 fases iniciais do desenvolvimento do folículo (Britt, 1992). No entanto, outros estudos
126 demonstraram que as consequências são mais evidentes quando o aumento de
127 temperatura ocorre próximo do momento do estro, sugerindo que o processo de
128 maturação final do oócito é mais afetado pelo ETC do que as outras fases de
129 desenvolvimento (Edwards *et al*, 1996).

130 Ao longo dos anos e maior conhecimento científico, estratégias para amenizar o
131 ETC tem sido propostas buscando o aumento de índices produtivos e reprodutivos dos
132 animais de interesse.

133 Além da busca por genética mais adaptada aos trópicos, medidas ambientais
134 vêm sendo tomadas para amenizar o estresse dos animais, como a implantação de
135 sombreamento adequado das pastagens, pintura de telhados e resfriamento evaporativo
136 das construções onde estes animais sejam manejados (Silva *et al*, 2010).

137 Foi demonstrado que o resfriamento estratégico do ambiente de fêmeas no início
138 da gestação, quando o embrião é mais sensível ao ETC, pode aumentar em 10% a taxa
139 de gestação. Porém o uso desta tecnologia não ameniza totalmente o efeito do calor

140 severo, que quando crônico pode causar mortalidade embrionária em estádios mais
141 avançados da gestação (Hansen & Ealy, 1991).

142 **Produção *in vitro* de embriões (PIVE) como estratégia para minimizar o ETC**

143 A PIVE tem sido utilizada como ferramenta importante para exploração
144 maximizada do potencial reprodutivo dos animais, diminuindo o intervalo entre
145 gerações e acelerando o melhoramento genético animal.

146 Para melhor entender as consequências do ETC sobre o desenvolvimento
147 embrionário *in vitro*, estudos tem sido realizados por meio de indução do estresse em
148 oócitos e embriões (Hansen, 1991; Hansen, 2007; Hansen, 2009).

149 Complexo cumulus oophorus (COCs) bovinos foram expostos a temperatura
150 elevada durante as primeiras 12 h de maturação *in vitro* (MIV). Observou-se alteração
151 da arquitetura do citoesqueleto, reduzindo a maturação nuclear dos oócitos e
152 provocando sua morte induzida através da apoptose e consequente redução da taxa de
153 blastocistos (Roth *et al*, 2005; Roth *et al*, 2004).

154 A termo tolerância das raças Holandês, Angus e Brahman foi avaliada após a
155 indução do ETC durante o cultivo *in vitro* de zigotos (41° C durante 6h após a FIV). A
156 taxa de blastocistos foi significativamente maior no grupo de oócitos aspirados de
157 fêmeas da raça Brahman, confirmando sua maior termo tolerância (Paula-Lopes *et al*,
158 2003).

159 **Aspiração Folicular Guiada por ultrassonografia (OPU)**

160 A OPU sigla que no inglês significa "ovum pick up" baseia-se na coleta de
161 oócitos a partir da punção folicular guiada por ultrassom. Na espécie bovina essa

162 técnica é chave para a produção *in vitro* de embriões. Atualmente, a OPU tem sido
163 realizada em momentos aleatórios do ciclo estral (Seneda *et al*, 2006).

164 Um achado prático, dito por muitos no campo, é que existe uma grande variação
165 nos resultados da OPU, tais resultados refletem a capacitação profissional, a população
166 folicular da raça e alta variação individual.

167 O grande avanço da OPU no Brasil se dá pelo grande uso de fêmeas zebuínas
168 como doadoras, estas possuem alta população folicular (Carvalho *et al*, 2007; Pontes *et*
169 *al*, 2009; Pontes *et al*, 2010) e sua rusticidade se adequa as condições adversas. Na raça
170 Nelore o número de oócitos obtidos por OPU foi entre 10 e 40 (Pontes *et al*, 2009). Na
171 raça Girolando verificou-se que quanto maior o grau de sangue zebuino, maior a
172 recuperação de oócitos totais (1/2=31; 3/4=20; 7/8= Holandês = 11 (Merton *et al*, 2009;
173 Pontes *et al.*, 2009)

174 Foi relatado que doadoras da raça Gir, submetidas a condição de ETC durante 28
175 dias, no período noturno em câmaras climáticas. Apresentaram alterações em sua
176 dinâmica folicular, com folículos maiores (ausência de dominância) e redução da
177 competência oocitária nas OPU/PIVE semanais, até 119 dias depois do ETC (TORRES-
178 JUNIOR *et al*, 2008).

179 **Conclusão**

180 A PIVE é a uma excelente ferramenta para contornar o ETC, evitando perdas
181 embrionárias, uma vez que o período mais crítico ocorre *in vitro*, em condições
182 controladas de temperatura e umidade. O controle das condições climáticas por
183 metodologias como o ITU e a avaliação de alterações da biologia celular, como a
184 expressão da proteína HSP, podem auxiliar no entendimento dos fenômenos que levam
185 à redução da eficiência de biotécnicas como a PIVE. O uso da expressão ou transcrição

186 da proteína HSP 70, é hoje o melhor método de confirmação de choque térmico em
 187 oócitos e embriões, comprovado em trabalhos um aumento em sua expressão ou
 188 transcrição está relacionado com um animal em ETC, e vice-versa.

189 **Bibliografia**

190 **Al-Katanani YM, Paula-Lopes FF, Hansen PJ.** Effect of season and exposure to heat
 191 stress on oocyte competence in Holstein cows. J Dairy Sci 2002; 85:390–6.

192 **Armstrong DV.** Heat stress interaction with shade and cooling. Journal of Dairy
 193 Science, v.77, p.2044-2050, 1994.

194 **Azêvedo AMMR, Alves AA.** Bioclimatologia aplicada a produção de bovinos leiteiros
 195 nos trópicos. Teresina: Embrapa meio-norte (Comunicado técnico,188), 2009

196 **Ayoade JO.** Introduction to climatology for the tropics. Chichester, John Wiley& Sons,
 197 1983.

198 **Britt, JH.** Reproductive performance as affected by nutrition and environment. In:
 199 FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 3, 1992, Gainesville.
 200 Proceedings...Gainesville, 1992. p.93-104.

201 **Bilby, TR.; Thatcher, WW; Hansen, PJ.**Estratégias farmacológicas, nutricionais e de
 202 manejo para aumentar a fertilidade de vacas leiteiras sob estresse térmico. In: XIII
 203 Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2009, Uberlândia, MG,
 204 2009, p. 59-71.

205 **Camargo LSA, Viana JHM, Ramos AA, Serapião RV, de SA WF, Ferreira AM,**
 206 **Guimarães MFM, do Vale Filho VR.** Developmental competence and expression of
 207 the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from Bosindicus and Bostaurus dairy cows in a
 208 tropical environment. Theriogenology 68 626–632, 2007

- 209 **Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS.** Effect of
 210 early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in Bos indicus, Bos indicus x
 211 Bos taurus, and Bos taurus heifers. Theriogenology, 2007
- 212 **Edwards JL, Hansen PJ.** Elevated temperature increases heat shock protein 70
 213 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing
 214 oocytes. Biol. Reprod., v.55, p.340–346, 1996.
- 215 **Edwards JL, King WA, Kawarsky SJ, Ealy AD.** Responsiveness of early embryos to
 216 environmental insults: potential protective roles of HSP 70 and glutathione.
 217 Theriogenology, v. 55, p. 209-23, 2001
- 218 **Gonçalves PDB, Figueiredo JR, Freitas VJF.** Biotécnicas aplicadas a reprodução
 219 animal. Varela editora e livraria LTDA. São Paulo 2002.
- 220 **Hahn GL.** Management and housing of farm animals in hot environment. In: YOUSEF,
 221 M. K. Stress physiology in livestock. v.2, 1985. p. 151-174.
- 222 **Hansen, P.J.** Exploration of genetic and physiological determinants of embryonic
 223 resistance to elevate temperatures to improve embryonic survival in dairy cattle during
 224 heat stress. Theriogenology, v.68, p.242-249, 2007.
- 225 **Hansen, P.J.** Effects of heat stress on mammalian reproduction. Phil. Trans. R. Soc. B,
 226 v. 364, p. 3341-3350, 2009.
- 227 **Hansen PJ, Ealy AD.** Effects of heat stress on the establishment and maintenance of
 228 pregnancy in cattle. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 1, p.
 229 108-119, 1991.
- 230 **Ingraham RH, Gillette DD, Wagner WD.** Relationship of temperature and humidity
 231 to conception rate of Holstein cows in subtropical climate. J DairySci 1974; 57:476–81

- 232 **Kregel KC.** Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses
233 and acquired thermotolerance. *J ApplPhysiol* 2002; 92:2177–86.
- 234 **MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento)** Disponível em:
235 <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em 30 out.
236 2014.
- 237 **Merton JS, Ask B, Onkundi DC, Mullaart E, Colenbrander B, Nielen M.** Genetic
238 parameters for oocyte number and embryo production within a bovine ovum pick-up-in
239 vitro production embryoproduction program. *Theriogenology*, 72:885-893, 2009
- 240 **Paula Lopes FF, Chase JCC, Al-Katanani YM, Krininger CE, Rivera RM, Tekin**
241 **S, Majewski AC, Ocon OM, Olson TA, Hansen PJ.** Genetic divergence in cellular
242 resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate
243 versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues
244 and lymphocytes to increased culture temperatures. *Reproduction*, v.125, n. 2, p. 285-
245 294, 2003.
- 246 **Pires MFA, Campos AT.** Conforto animal para maior produção de leite. Viçosa-
247 Centro de produções técnicas 2008 p. 252
- 248 **Pontes JHF, Nonato-Junior I, Sanches BV, Ereno -Junior JC, Uvo S, Barreiros**
249 **TRR, Oliveira JA, Hasler JF, SenedaMM.** Comparação da produção de embriões e
250 taxa de gravidez entre in vivo e in vitro da mesma raça Nelore (*Bosindicus*) doadores.
251 *Theriogenology* 71:690-7, 2009.
- 252 **Pontes JHF, Silva KCF, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GMG, Sanches**
253 **BV, Porcionato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterza FAM, Schenk JL, Seneda**
254 **MM.** Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos*

- 255 indicus, and indicus-taurus dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology* 74 1349–
256 1355, 2010.
- 257 **Ray DE, Halbach TJ, Armstrong DV.** Season and lactation number effects on milk
258 production and reproduction in dairy cattle in Arizona. *J DairySci* 1992; 75:2976–83
- 259 **Roth Z, Hansen PJ.** Disruption of nuclear maturation and rearrangement of
260 cytoskeletal elements in bovine oocytes exposed to heat shock during maturation.
261 *Reproduction* 2005; 129:235–44.
- 262 **Roth Z, Hansen PJ.** Involvement of apoptosis in disruption of developmental
263 competence of bovine oocytes by heat shock during maturation. *BiolReprod* 2004;
264 71:1898–906.
- 265 **Ribeiro ARB, Alencar MM, Negrão JA, Paranhos Da Costa MJR, Starling JMC.**
266 Avaliação das respostas fisiológicas de bezerros zebuínos puros e cruzados nascidos em
267 clima subtropical. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2006. 35:1146-1153
- 268 **Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC.**
269 Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer
270 and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 2002; 85:2803–12.
- 271 **Seneda MM, Santos GMG, Silva KCF, Spegiorin MR, Blaschi W, Pontes JHF.**
272 Situação atual da aspiração folicular e da fecundação in vitro. 2º Simpósio internacional
273 de reprodução animal aplicada, 2006
- 274 **Silva RG.** Introdução à bioclimatologia animal. São Paulo: Nobel, 2000. 286p.
- 275 **Silva EMN, Souza BB, Silva GA.** Estratégias para amenizar o efeito do estresse
276 térmico em animais de produção. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em:

277 http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/EstresseTermico/index.htm>. Acesso em:
278 3/3/2013

279 **Torres-Júnior JRdeS, Pires MdeFA, de Sa WF, Ferreira AdeM, Viana JHM,**
280 **Camargo LSA, Ramos AA, Folhadella IM, Polisseni J, Freitas Cde, Clemente**
281 **CAA, Filho MFdeS, Paula-Lopes FF, Baruselli OS.** Effect of maternal heat-stress on
282 follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 69 155–
283 166, 2008

284 **Thibier M.** Novos registros nos números de tanto in vivo e derivados em embriões
285 bovinos produzidos in vitro em todo o mundo, em 2006, IETS Transferência de
286 Embriões Novidades 2007; 25:15-20.

287 **Thom EC.** The discomfort index. *Weatherwise*. 1959;12:57–60

288 **Viana JH, Siqueira LG, Palhao M, Camargo LS.** Features and perspectives of the
289 Brazilian in vitro embryo industry. *AnimReprod*, v.9, p.12-18, 2012.

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

CAPITULO 2- ARTIGO CIENTÍFICO

Este Artigo está nas normas da revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Qualis capes B2)

**Qualidade oocitária de bovinos das raças Girolando e Pantaneira sob estresse
térnico calórico agudo e crônico**

André Luiz Leão Fialho¹, Fabiana de Andrade Melo Sterza¹

¹Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS, Brasil

Resumo

O estresse térmico calórico (ETC) afeta negativamente a eficiência reprodutiva de bovinos. Várias alternativas têm sido utilizadas para minimizar o efeito do ETC em regiões tropicais com o objetivo de melhorar a produtividade. Nesse sentido, quantificar o estresse em raças adaptadas e determinar o seu efeito sobre a reprodução torna-se uma ferramenta importante para auxiliar nesse processo. Animais da raça Girolando (n=6) e Pantaneiro (n=12), localizados na região do Cerrado-Pantanal, foram submetidos a aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) em diferentes condições climáticas, com o objetivo de avaliar a qualidade do oócito recuperado e alguns parâmetros fisiológicos indicadores de ETC. Os resultados mostraram que não houve efeito de raça sobre as variáveis estudadas. A raça Pantaneira, de descendência taurina, se mostrou com a mesma rusticidade da Girolando. A frequência respiratória não diferenciou entre as raças, e a temperatura retal teve diferença. A frequência respiratória se mostrou melhor para avaliação de ETC, porém sem afetar a reprodução. O estresse agudo afetou a viabilidade de COCs, principalmente na raça Pantaneira. O estresse crônico (30 e 60 dias) afetaram significativamente a queda da viabilidade de COCs da raça Girolando, quando comparada a Pantaneira.

Palavras-chave: Reprodução, Ambiente, oócito, bovinos

Abstract

The caloric heat stress (HS) adversely affects the reproductive efficiency of cattle. Several alternatives have been used to minimize the effect of the HS in tropical regions with the goal of improving productivity. Accordingly, to quantify the stress in races and adapted to determine its effect on reproduction becomes an important tool to assist in this process. Animals Girolando (n = 6) and Pantaneira (n = 12), located in the Cerrado-Pantanal region, underwent follicular aspiration guided by ultrasound (OPU) in different

31 climatic conditions, in order to evaluate oocyte quality recovered and some
32 physiological indicators of HS. The results showed no effect of race on the variables
33 studied. The Pantaneira race, taurine descent, was with the same hardiness Girolando.
34 Respiratory rate did not differ between the races, and rectal temperature was difference.
35 The respiratory rate was better than for evaluation of HS, but without affecting
36 reproduction. Acute stress affected the viability of COCs, especially in the Pantaneira
37 race. Chronic stress (30 and 60 days) significantly affected the fall of the feasibility
38 Girolando of COCs compared the Pantaneira.

39 Keywords: Reproduction, Environment, oocyte, cattle

40 **Introdução**

41 O Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com cerca de 200
42 milhões de cabeças (Mapa, 2014), e a maior parte está em regiões de climas tropicais,
43 com temperaturas médias acima da zona de termoneutralidade ficando expostos ao
44 estresse térmico calórico (ETC) constantemente (Pires *et al*, 2008).

45 A associação entre elevadas temperaturas, alta umidade do ar e radiação solar
46 acarretam alterações comportamentais e fisiológicas, que resultam em diminuição da
47 ingestão de alimentos e redução no desempenho dos animais de produção (Silva, 2010).

48 ETC é um fator importante que contribui para a baixa fertilidade de vacas
49 leiteiras inseminadas no verão (Ray *et al*, 1992). Em vacas Holandesas, o ETC parece
50 reduzir a competência do complexo cumulus oophorus (COCs) (Al-Katanani *et al*,
51 2002) e a taxa de fertilização (Sartori *et al*, 2002), bloqueando o desenvolvimento do
52 embrião. Esses fatores contribuem para a baixa fertilidade dos animais nos trópicos,
53 uma vez que o clima dessa região proporciona com frequência condições de ETC para
54 os animais.

55 A produção *in vitro* de embriões (PIVE) evoluiu sobremaneira nos últimos anos.
56 O Brasil se tornou líder mundial de produção de embriões fecundados *in vitro*, tendo um
57 aumento aproximado de 500% em 10 anos (Viana *et al*, 2012).

58 Quedas na qualidade dos COCs estão associadas principalmente as condições
59 fisiológicas dos animais (Hansen, 2007; Bilby, 2009). Nesse sentido, a produção dos
60 embriões *in vitro* apresenta-se como uma alternativa para superar os efeitos que o ETC
61 causa sobre a doadoras, evitando que o estresse da mesma exerça efeito negativo sobre a
62 maturação dos oócitos e o desenvolvimento inicial dos embriões.

63 A utilização de animais adaptados aos trópicos representa uma extraordinária
64 área de expansão da atualidade, pois representam uma alternativa interessante de
65 manter a produção de proteína animal em países situados onde o clima é adverso e
66 apresenta com frequência condições de ETC.

67 Os bovinos da raça Pantaneira são de antiga ocupação na região do Pantanal.
68 São o resultado de muitos anos de seleção natural, que, por sua vez, teve o papel de
69 selecionar os melhores e mais adaptados genes. Por muito tempo a raça Pantaneira
70 predominou na produção extensiva de gado na região, com alta adaptação ao clima,
71 vegetação e a constante dinâmica de inundações e secas do Pantanal, e ainda pela sua
72 resistência em relação a parasitos e doenças (Juliano *et al*, 2007).

73 Um melhor entendimento a respeito de respostas fisiológicas e da qualidade
74 dos COCs obtidos em animais adaptados aos trópicos, pode auxiliar na busca de
75 resultados mais eficientes da OPU/PIVE.

76 O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do ETC agudo e crônico sobre o
77 número e viabilidade dos COCs e parâmetros fisiológicos de animais da raça Pantaneira
78 e Girolando, situados no ecótono Cerrado-Pantanal.

79 **Material e Métodos**

80 **Animais**

81 Animais das raças Girolando (n=6) e Pantaneira (n=12), foram selecionados de
82 acordo com a população folicular ovariana e características clínicas. As doadoras eram
83 livres de doenças infecciosas e reprodutivas, não gestantes, com idade média de 48
84 meses e escore corporal entre 3 e 3.5 (escala de 1 a 5).

85 O experimento foi realizado na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
86 situada em Lat. 20°30' S, Long. 55°50' W. Os animais estavam em regime de pastejo
87 rotacionado, cultivado com capim Tânzania (*Panicum maximum*, Jacq. cv. Tânzania),
88 com suplementação mineral e água *ad libitum* e de cana-de açúcar (*Saccharum spp.*) no
89 período de estiagem

90 **Aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU)**

91 Foram realizadas 8 sessões de OPU, com intervalo mínimo de 7 dias e máximo
92 de 54 dias, durante os meses de maio a outubro de 2014. Cada animal foi submetido há
93 no mínimo uma sessão e no máximo oito sessões de OPU. Todos os procedimentos de
94 OPU foram realizados com o mesmo número de doadoras para as duas raças, sendo no
95 mínimo 6 e no máximo 10 animais de cada raça por coleta. Todos os procedimentos
96 realizados foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais através do
97 Protocolo 0132013.

98 Para redução dos movimentos peristálticos e o menor desconforto do animal,
99 foram injetados 5 ml de lidocaína 2% no espaço epidural. Os procedimentos de
100 aspiração folicular transvaginal suporte próprio para utilização transvaginal. Para a
101 aspiração dos folículos foram utilizadas agulhas hipodérmicas descartáveis 40 mm x 20
102 G e mangueira de silicone com 2 mm de diâmetro interno e 80 cm de comprimento. A
103 pressão de vácuo foi de 80 mm de Hg, mantida com uma bomba de aspiração. O meio
104 de aspiração era constituído por DPBS acrescido de 20.000 UI/L de heparina sódica
105 mantido à 30 °C durante a aspiração. Os COCs recuperados foram classificados, e
106 considerados como viáveis os graus 1, 2 e 3.

107 **Temperatura retal (TR) e Frequência respiratória (FR)**

108 Antes da realização da OPU foi aferida a temperatura reta, com termômetro
109 digital de uso veterinário, e a FR de cada animal manejado, em movimentos por 15
110 segundos, para obter o resultado de movimentos por minuto. Tais procedimentos foram
111 realizados em todos os animais, em todas as coletas.

112 **Índice de Temperatura e Umidade (ITU)**

113 Para o cálculo do ITU foram utilizados os dados de temperatura do ar (T) e
114 Umidade Relativa (UR), provindos da estação meteorológica da Universidade Estadual
115 do Mato Grosso do Sul (UEMS). O cálculo do ITU foi feito de acordo com Thom
116 (1956) sendo: $ITU = (0,8 \times T + (UR(\%)/100) \times (T - 14,4) + 46,4)$, onde: T =
117 temperatura^oC e UR = umidade relativa do ar. Os valores obtidos a partir da equação
118 foram classificados no modelo definido por Armstrong (1994) em ameno ou brando (72
119 a 78), moderado (79 a 88) e severo (89 a 98). ITU abaixo de 72 caracterizaria um
120 ambiente sem estresse por calor.

121 Os animais foram divididos em 2 grupos para cada raça, o grupo sem ETC, com
122 ITU abaixo de 72, e o grupo ETC com valores de ITU superiores a 72 no período do dia
123 em que a OPU foi realizada, ou seja, das 8:00 as 12:00 O estresse identificado nesse
124 período foi considerado como estresse agudo. Além disso o ITU foi quantificado em
125 horas durante 15, 30 e 60 dias anteriores a coleta, sendo nomeados ETC15, ETC30 e
126 ETC60. Os períodos (15, 30 e 60 dias anteriores a coleta) nos quais o ITU apresentava-
127 se maior que 72 em mais de 50% do tempo eram considerados períodos de estresse
128 crônico.

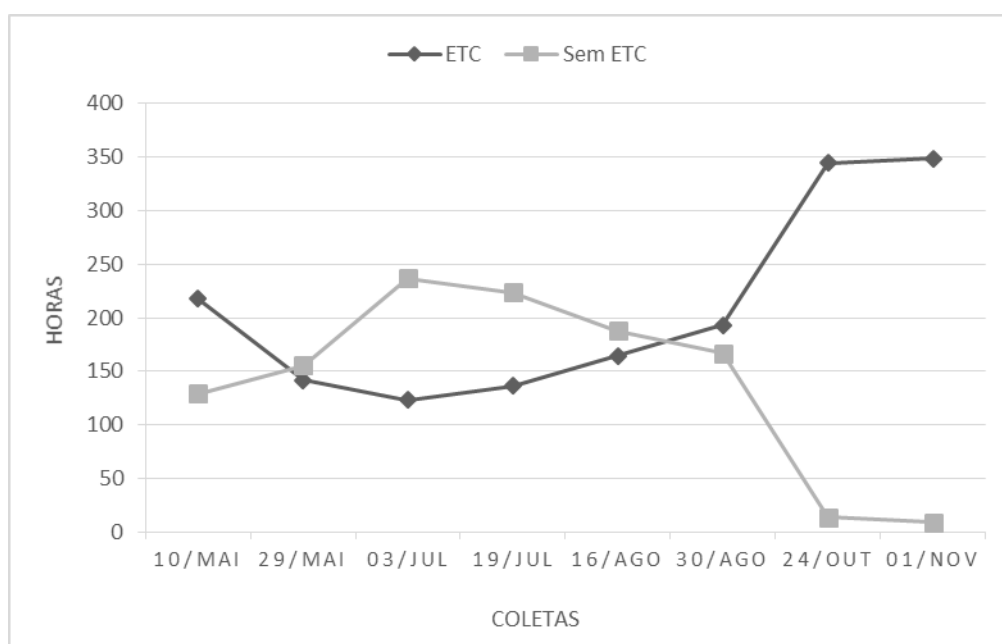
129 **Análise Estatística**

130 Para a análise estatística considerou-se os efeitos de raça, condição climática e
131 horas em ETC15, 30 e 60, e a interação entre eles, sobre as variáveis FR, TR, total de
132 COCs e número de COCs viáveis. Para isso os dados foram submetidos a análise de
133 variância pelo procedimento PROC GLM (SAS). Quando encontradas diferenças, as
134 médias foram ajustadas pelo programa estatístico e comparadas pelo teste de Tukey
135 com 5% de probabilidade.

136 Resultados e Discussão

137 As condições climáticas foram caracterizadas pelo número de horas em que os
 138 animais permaneceram sob ITU > ou < 72 durante o período experimental. Foram
 139 consideradas situações estressantes, aquelas nas quais os animais permaneceram por
 140 mais de 50% do tempo avaliado em ITU > 72. O Gráfico 1 demonstra o tempo em horas
 141 nos quais os animais permaneceram em estresse térmico calórico (ETC) entre a primeira
 142 e a última aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU). As condições
 143 observadas nesse experimento correspondem ao descrito por Ayoade (1983), que afirma
 144 que em ambiente tropical existe uma grande variação de temperatura do ar e umidade
 145 relativa ao longo do ano. Dessa forma, foi possível observar condições de ETC em
 146 períodos nos quais não se esperava essa situação, como na primeira OPU, que ocorreu
 147 meados de outono, e as horas em ETC foram consideravelmente mais altas que sem
 148 ETC.

149 Gráfico 1- Condições climáticas do período entre as sessões de aspiração folicular
 150 guiada por ultrassonografia.



151

152 *ETC = horas em que o valor de ITU estava acima de 72; Sem ETC: horas em que o
 153 valor de ITU estava abaixo de 72.

154 A influência do ETC sobre a reprodução, especialmente em raças bovinas com
 155 aptidão leiteira tem sido bastante evidenciada (Lima *et al*, 2013; Torres-Junior *et al*,
 156 2008; Camargo *et al*, 2007). No entanto, na maioria dos casos foram comparadas apenas

as estações do ano verão e inverno ou águas e seca. No entanto, considerando as grandes variações climáticas sofridas mundialmente em virtude do aquecimento global (MMA, 2014), e as variações climáticas observadas nesse estudo, acredita-se na grande importância da utilização de parâmetros mais específicos que definam as condições climáticas. As provas de campo, para avaliação de condições climáticas, utilizam basicamente Temperatura do ar e Umidade relativa do ar, como ITU e ITGU (Índice de temperatura de globo e umidade).

Em termos gerais, ao longo do período experimental, não houve diferença entre as raças Girolando e Pantaneira para os parâmetros fisiológicos e reprodutivos estudados. Apesar de ter sido constatada diferença na TR entre as raças, a mesma não superou a faixa de normalidade para a espécie, em nenhuma condição de ITU avaliada. Em estudos anteriores foi relatado que bovinos são considerados em situação de ETC quando a TR está com valores acima de 39°C (Vasconcelos & Demétrio, 2011; Pires & Campos, 2004), fato que não foi observado em nenhum dos dias em que a OPU foi realizada. Nesse sentido, infere-se que bovinos da raça Pantaneira possuem temperatura média corporal, mais elevada do que os da raça Girolando submetidos às mesmas condições ambientais (Tabela 1). O fato dos parâmetros fisiológicos (TR e FR) e reprodutivos (viabilidade de COCs) da raça Pantaneira (taurina) serem semelhantes aos animais de uma raça mestiça (*Bos Taurus* x *Bos indicus*) e adaptada às condições climáticas do alto pantanal sul matogrossense, confirmam a sua adaptação às condições climáticas da região, confirmando ainda a rusticidade da raça Pantaneira relatada anteriormente (Juliano *et al*, 2007).

Esse é o primeiro estudo que relata as características da produção de COCs de fêmeas bovinas da raça Pantaneira. O número de COCs obtidos de vacas dessa raça foi semelhante aos obtidos da raça Girolando nas condições do cerrado-pantanal. O número de COCs totais e viáveis obtidos da raça Girolando, no presente experimento, foram inferiores aos obtidos por Pontes *et al*. (2010), que obtiveram média de 15 COCs viáveis/doadora. Vale ressaltar que a grande variação individual de COCs aspirados dessa raça já havia sido relatada (Prado *et al*, 2007) e está relacionada a idade, categoria, condições ambientais, status nutricional e até mesmo àquelas inerentes à genética do próprio animal.

188 Tabela 1- Parâmetros fisiológicos e Qualidade de Complexos Cumulus Oophorus
 189 obtidos por aspiração folicular guiada por ultrassonografia das raças Girolando e
 190 Pantaneira.

Raça	Temperatura Retal	Frequência Respiratória	Total de COCs	Número de COCs Viáveis
Girolanda	38,31(±0,07) ^a	32,1(±1,4) ^a	6,7(±0,8) ^a	3,1(±0,4) ^a
Pantaneira	38,64(±0,07) ^b	28,6(±1,4) ^a	7,4(±0,8) ^a	3,7(±0,4) ^a

191 *Médias seguidas de letras distintas, nas colunas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

192 No presente estudo foi possível observar uma redução do número de COCs
 193 aspirados e sua qualidade, demonstrando que em condições de ITU 73,5±5,4, os
 194 mecanismos de termorregulação das raças estudadas, são capazes de manter TR e FR
 195 dentro da faixa de normalidade, mas não a viabilidade de COCs. Confirmando o que
 196 Rensis & Scaramuzzi (2003) descreveram, que para manter a homeostase corporal, o
 197 organismo prioriza algumas reações de manutenção, e reduz o que não é vital para a
 198 manutenção do organismo, como a qualidade reprodutiva dos animais.

199 Tabela 2- Parâmetros fisiológicos e de Qualidade de Complexos Cumulus Oophorus
 200 obtidos por aspiração folicular guiada por ultrassonografia em duas Condições
 201 climáticas .

Condição Climática	Temperatura Retal	Frequência Respiratória	Total de COCs	Número de COCs Viáveis
≥72	38,54(±0,06) ^a	31,1(±1,4) ^a	5,8(±0,7) ^a	2,5(±0,4) ^a
≤72	38,4(±0,07) ^a	29,6(±1,4) ^a	8,3(±0,8) ^b	4,3(±0,4) ^b

202 *Médias seguidas de letras distintas, nas colunas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

203 Ao associar o efeito da raça às condições climáticas foi possível observar que a
 204 TR não mudou entre as condições climáticas, considerando a mesma raça. A FR, por
 205 outro lado, aumentou significativamente em condição de ETC. A frequência respiratória
 206 normal em bovinos adultos varia entre 12 e 36 mov/min (Terra, 1993). Sob estresse
 207 térmico, a frequência respiratória começa a elevar-se antes da temperatura retal (Bianca,
 208 1965), como alternativa de dissipação de calor e controle da temperatura corporal. Na
 209 raça Girolando, o referido efeito foi observado, mas não nas Pantaneiras. De acordo

com Moraes (2010), quanto menor a FR mais adaptado é o animal ao ETC. O resultados desse estudo sugerem melhor adaptação da raça Pantaneira ao ambiente estudado.

O número total de oócitos e sua viabilidade não sofreu influência das condições climáticas em doadoras raça Girolando, porém as doadoras da raça Pantaneira produziram significativamente mais COCs em períodos sem ETC. Esses dados corroboram, com os de Azevedo *et al.* (2005) que afirmaram que animais de descendência Europeia são mais produtivos em ambientes de clima ameno.

Tabela 3 - Parâmetros fisiológicos e Qualidade de Complexos Cumulus Oophorus obtidos por aspiração folicular guiada por ultrassonografia entre raças em diferentes condições climáticas .

Raça* Condição Climática	Temperatura Retal	Frequência Respiratória	Total de COCs	Número de COCs Viáveis
GO*>72	38,42(±0,1) ^{ab}	35,1(±2,0) ^a	6,1(±1,0) ^a	3,2(±0,6) ^a
GO*<72	38,2(±0,1) ^a	29,1(±2,0) ^b	7,2(±1,1) ^{ab}	3(±0,6) ^a
PANT*>72	38,7(±0,1) ^b	27,1(±2,0) ^b	5,4(±1,0) ^a	1,8(±0,6) ^a
PANT*<72	38,6(±0,1) ^b	30,1(±2,0) ^{ab}	9,4(±1,1) ^b	5,5(±0,6) ^b

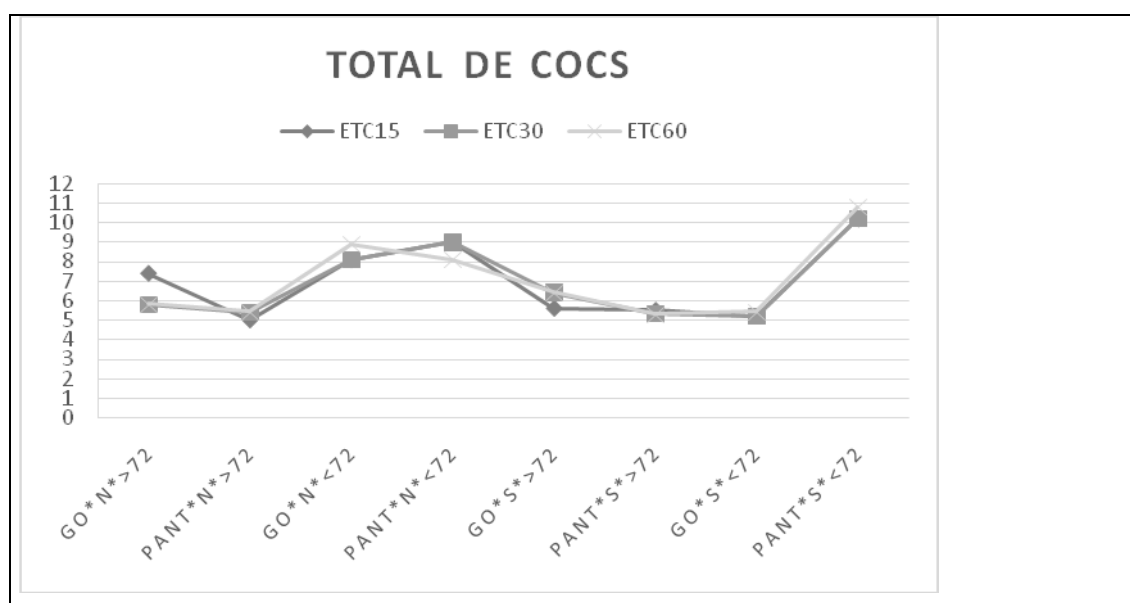
*Médias seguidas de letras distintas, nas colunas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

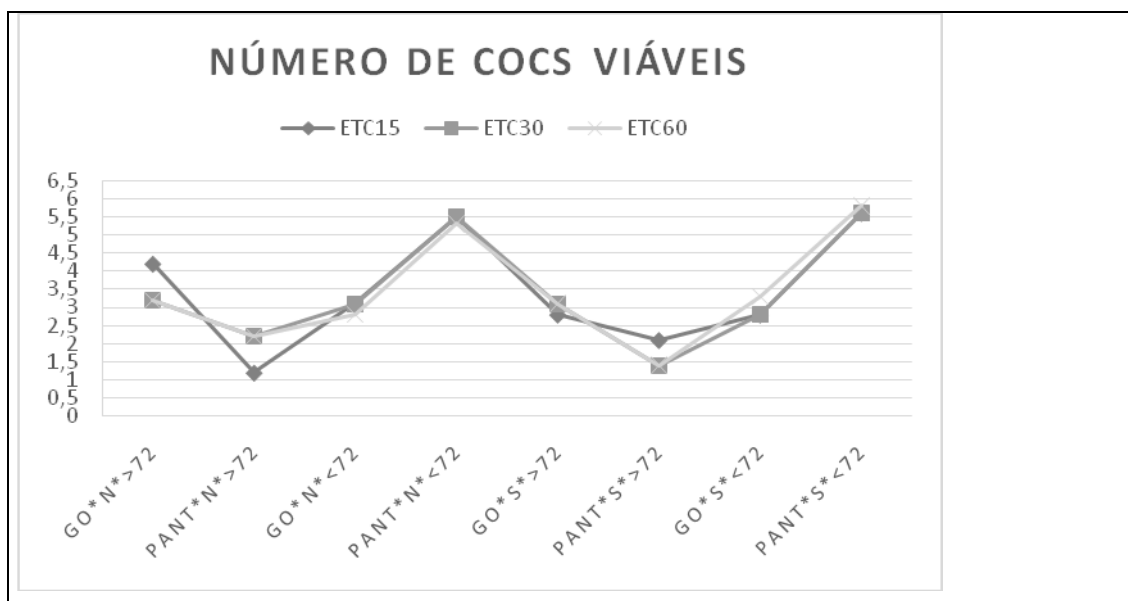
Segundo as observações de Lussier et al. (1987), na vaca, um folículo antral de 0,13mm de diâmetro levaria 42 dias, ou seja, aproximadamente 2 ciclos estrais para atingir o tamanho pré-ovulatório, por esse motivo optou-se por verificar a influência do ETC em períodos que antecederam a OPU e que pudessem, portanto, influenciar na viabilidade oocitária. Relatos de campo (comunicação pessoal) associam com frequência as condições climáticas aos resultados de OPU e MOET. No entanto, são escassas informações científicas a esse respeito. Na tentativa de melhor caracterizar as condições climáticas, o ITU foi calculado a cada hora do dia, sendo ao final do período de 15, 30 e 60 dias que antecederam a OPU somadas todas as horas, nas quais o ITU foi > 72. Foram considerados períodos de ETC aqueles que permaneceram mais de 50% do tempo com ITU > 72. Considerou-se na análise a influência da

condição climática do momento da aspiração e a eventual ETC nos períodos supracitados (figura 1). O total de COCs aspirados só foi alterado significativamente em ETC 60. Quando avaliada as 3 interações (raça x ETC crônico x ETC agudo), verificou-se que a viabilidade oocitária da raça Pantaneira foi mais afetada quando houve ETC crônico nos dias que antecederam a OPU, porém não houve ETC agudo (no dia da OPU). Esses dados corroboram com o de outro estudo quando foi relatado que oócitos imaturos de raças mais adaptadas, sofrem menos danos em situações de estresse agudo (Camargo *et al*, 2007).

243

Figura 1- Produção e qualidade de COCs de doadoras das raças Girolando e Pantaneira em diferentes condições climáticas no momento da aspiração e 15, 30 e 60 dias antes da OPU.





247

248 **Conclusão**

249 Animais da raça Pantaneira tem TR média superior a de animais da raça
 250 Girolando, no entanto em nenhuma das raças a TR foi alterada em função da TR. Por
 251 outro lado a FR de fêmeas Girolando foi mais sensível a condições com temperaturas
 252 elevadas.

253 A reprodução foi diretamente influenciada pela condição climática. Girolandos
 254 sofrem menos perdas reprodutivas com as variações de ITU. Pantaneiros sofrem mais
 255 com ETC agudo. Em condições de ETC 15, 30 e 60 a viabilidade de COCs das
 256 Girolandos é afetada negativamente quando comparada com a raça Pantaneira. O
 257 número total COCs, sofre apenas com ETC60.

258

259 **Referências**

260 **Al-Katanani YM, Paula-Lopes FF, Hansen PJ.** Effect of season and exposure to heat
 261 stress on oocyte competence in Holstein cows. J Dairy Sci 2002; 85:390–6.

262 **Armstrong DV.** Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy**
 263 **Science**, v.77, p.2044-2050, 1994.

264 **Azêvedo AMMR, Alves AA.** Bioclimatologia aplicada a produção de bovinos leiteiros
 265 nos trópicos. Teresina: Embrapa meio-norte (Comunicado técnico,188), 2009.

- 266 **Ayoade JO.** Introduction to climatology for the tropics. Chichester, John Wiley &
267 Sons, 1983.
- 268 **Bilby TR, Tatcher WW, Hansen PJ.** Estratégias farmacológicas, nutricionais e de
269 manejo para aumentar a fertilidade de vacas leiteiras sob estresse térmico. In: XIII
270 Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2009, Uberlândia, MG,
271 2009, p. 59-71.
- 272 **Camargo LSA, Viana JHM, Ramos AA, Serapião RV, de SA WF, Ferreira AM,**
273 **Guimarães MFM, do Vale Filho VR.** Developmental competence and expression of
274 the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from Bos indicus and Bos taurus dairy cows in a
275 tropical environment. Theriogenology 68 626–632, 2007.
- 276 **Eppig JJ, Schroeder AC, O'Brien MJ.** Developmental capacity of mouse oocytes
277 matured in vitro: effects of gonadotrophic stimulation, follicular origin and oocyte size.
278 J. Reprod. Fertil. 1992; 95:119-27.
- 279 **Ferreira F, Pires MFA, Martinez ML, Coelho SG, Carvalho AU, Ferreira PM,**
280 **Facury Filho EJ, Campos WE.** Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados
281 submetidos ao estresse calórico. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, n.5, p.732-738,
282 2006.
- 283 **Hansen PJ.** Exploration of genetic and physiological determinants of embryonic
284 resistance to elevate temperatures to improve embryonic survival in dairy cattle during
285 heat stress. Theriogenology, v.68, p.242-249, 2007.
- 286 **Juliano RS, Abreu UGP, Santos SA.** Embrapa trabalha preservação do gado
287 pantaneiro. Embrapa Pantanal. 2007.
- 288 **Lima RSde, Assumpção MEOD, Visintin JA, Lopes FFP.** Alterações celulares
289 induzidas pelo estresse térmico em embriões bovinos. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., São
290 Paulo, v. 50, n. 4, p. 257-264, 2013.
- 291 **MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento)** Disponível em:
292 <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em 30 out.
293 2014.

- 294 **MMA** (Ministério do Meio Ambiente) disponível em:
 295 <http://www.mma.gov.br/clima/adaptacao>
- 296 **Moraes JB.** Termorregulação e adaptabilidade climática de caprinos no semiarido
 297 piauiense. 2010 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal
 298 do Piauí, Teresina, 2010
- 299 **Pinstrup-Andersen P, Pandya-Lorch R, Rosegrant MW.** World food prospects:
 300 critical issues for the early twenty-first century. Disponível em:
 301 <<http://www.cgiar.org/ifpri/index1.htm>>. Acesso em: 15 set. 2008.
- 302 **Pires MFA, Campos AT.** Modificações ambientais para reduzir o estresse calórico em
 303 gado de leite, EMBRAPA, Juiz de Fora, MG, p. 1-6. Dez 2004. (Comunicado técnico,
 304 42).
- 305 **Pires MFA, Campos AT.** Conforto animal para maior produção de leite. Viçosa-
 306 Centro de produções técnicas 2008 p. 252
- 307 **Pontes JHF, Silva KCF, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GMG, Sanches**
 308 **BV, Porcionato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterza FAM, Schenk JL, Seneda**
 309 **MM.** Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos*
 310 *indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology* 74 1349–
 311 1355, 2010.
- 312 **Prado FRA, Toniollo GH, Oliveira JA.** Superestimulação ovariana em vacas da Raça
 313 Gir leiteiro com uso de diferentes Concentrações de fsh. *ARS VETERINARIA*,
 314 Jaboicabal, SP, Vol. 23, nº3, 172-177, 2007.
- 315 **Ray DE, Halbach TJ, Armstrong DV.** Season and lactation number effects on milk
 316 production and reproduction in dairy cattle in Arizona. *J DairySci* 1992; 75:2976–83
- 317 **Rensis Fde, Scaramuzzi RJ.** Heat stress and seasonal effects on reproduction in the
 318 dairy cow—a review. *Theriogenology* 60 (2003) 1139–1151
- 319 **Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC.**
 320 Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer
 321 and lactating and drycows in winter. *J Dairy Sci* 2002; 85:2803–12.

322 **Silva EMN, Souza BB, Silva GA.** Estratégias para amenizar o efeito do estresse
323 térmico em animais de produção. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em:
324 http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/EstresseTermico/index.htm>. Acesso em:
325 3/3/2013

326 **Soto-Suazo M, Zorn TM.** Primordial germ cells migration: morphological and
327 molecular aspects. Animal Reproduction 2005; 3:147-60.

328 **Torres-Júnior JRdeS, Pires MdeFA, de Sa WF, Ferreira AdeM, Viana JHM,**
329 **Camargo LSA, Ramos AA, Folhadella IM, Polisseni J, Freitas Cde, Clemente**
330 **CAA, Filho MFdeS, Paula-Lopes FF, Baruselli OS.** Effect of maternal heat-stress on
331 follicular growth and oocyte competence in Bos indicus cattle. Theriogenology 69 155–
332 166, 2008

333 **Viana JH, Siqueira LG, Palhao M, Camargo LS.** Features and perspectives of the
334 Brazilian in vitro embryo industry. AnimReprod, v.9, p.12-18, 2012.

335 **Vasconcelos JLM, Demetrio DGB.** Manejo reprodutivo de vacas sob estresse calórico.
336 Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 40, n. 1, p 396-401, 2011

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

CAPITULO 3- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir desse trabalho, conseguimos mostrar que os animais Pantaneiros descendentes de taurinos, passados apenas pela seleção natural, sem nenhum melhoramento genético, obtiveram uma semelhança em índices reprodutivos, com animais da raça Girolando adaptado a condições dos trópicos, uma raça sintética a partir do cruzamento entre *Bos indicus* (Gir) e *Bos taurus* (Holandês), com anos de melhoramento genético.

Estes animais passaram pelas mesmas adversidades climáticas, caracterizando mais uma vez o Pantaneiro como um taurino adaptado as condições de ETC dos trópicos, visto que frente a condições de ETC crônico a Pantaneira se mostrou superior aos Girolandos.

Estudos, com melhoramentos genéticos para a raça Pantaneira, devem ser feitos, afim de tirar esses animais do risco de extinção, e mostrar suas possibilidades produtivas e reprodutivas. Para assim inserir cruzamentos com essa raça entre os produtores, e usufruir comercialmente esta genética adaptada as variações climáticas, formando animais mais resistentes e produtivos.