

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**EFEITO DO MANEJO E DE VARIÁVEIS BIOCLIMÁTICAS
SOBRE A TAXA DE GESTAÇÃO EM VACAS
RECEPTORAS DE EMBRIÕES**

Kamyla Ayumi Katayama

**CAMPO GRANDE - MS
ABRIL / 2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**EFEITO DO MANEJO E DE VARIÁVEIS BIOCLIMÁTICAS
SOBRE A TAXA DE GESTAÇÃO EM VACAS RECEPTORAS
DE EMBRIÕES**

Kamyla Ayumi Katayama

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como pré-requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração: Produção Animal.

**CAMPO GRANDE - MS
ABRIL / 2006**

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida
nova no livro do tempo. Aquilo que colocamos nela,
corre por nossa conta.”

Chico Xavier

Ao meu marido, Ernesto Shiota , com amor

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Lili, pela paciência e pelos ensinamentos para a realização deste trabalho, e pela ótima convivência nestes anos de trabalho.

Aos bolsistas: Anajô, Wagner, Paola, Thaíse, Fernanda, Winy, Carlos, Livia e em especial ao Gustavo, pois sem a ajuda de vocês não conseguiria realizar este trabalho, além da grande amizade que eu formei com cada um.

Ao Urbano Abreu pelas análises estatísticas.

Aos meus amigos de Mestrado, em especial à Daniela Brandão e Ana Lúcia pela amizade, Ailson e Cristiano, pelo companheirismo, e Luiz Otávio, por tornar nossas aulas tão engraçadas.

À Fana, por ajudar no meu enriquecimento profissional e pela compreensão.

À disciplina de Bioestatística, por ajudar a conhecer as pessoas.

À Marilete Otaño Peixoto Ferescz por estar sempre pronta para ajudar os alunos, e sem dúvida por ser tão querida por nós.

À Fazenda Sete Estrelas Embriões e aos funcionários pela paciência.

Ao Fundect pelo apoio financeiro.

Aos meus alunos da Unigran e ex-alunos da UFMS pela compreensão de vocês.

Aos técnicos Luizão e Ludomir pela ótima convivência no laboratório e pelos cafezinhos.

À técnica Sandra Oliveira e Prof. João Negrão por ter cedido o laboratório para realização das análises hormonais e por serem tão atenciosos.

Ao professor Marcel, pela ajuda neste momento.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu marido, Ernesto Shiota, pelo companheirismo e apoio nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais pelo incentivo em buscar o aprendizado e pelo amor que sempre me conferiram.

Aos meus irmãos Roberta e Alexandre e minha sobrinha Rafaela que chegou para tornar nossa família mais feliz.

Aos meus sogros Youiti e Helena, por serem tão amáveis.

À minha amiga Mariana pela melhor amizade, por ter passado momentos alegres e difíceis e por sempre estar por perto quando eu preciso.

Aos amigos, Débora e Phaena pela amizade que começou desde a faculdade e continua até hoje e em especial ao Robson pela compreensão como coordenador e amigo.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	10
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1. Reconhecimento Materno da Gestação.....	11
2.2. Fisiologia da Termorregulação.....	12
2.3. Caracterização de Estresse.....	16
2.4. Influência do Estresse na Reprodução.....	18
2.4.1. Respostas fisiológicas ao estresse.....	18
2.4.2. Eficiência reprodutiva sob estresse por calor.....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
CAPÍTULO 2 - EFEITO DO MANEJO E DE VARIÁVEIS BIOCLIMÁTICAS SOBRE A TAXA DE GESTAÇÃO DE RECEPTORAS BOVINAS DE EMBRIÕES	30
Resumo.....	30
Abstract.....	32
1. INTRODUÇÃO.....	34
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3. RESULTADOS.....	41
4. DISCUSSÃO.....	46
5. CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Distribuição do ITGU nos diferentes horários da inovulação (ITGU_{in}) em fêmeas bovinas receptoras de acordo com o lote trabalhado: Lote 1 (26/02/04), lote 2 (02/03/04) e lote 3 (16/03/04). Letras diferentes no mesmo horário indicam diferença significativa em nível de 5% de significância pelo teste de tukey..... 43
- FIGURA 2. Média do tempo de espera no curral (*t* curral), do tempo de espera no corredor de acesso à sala de transferência (*t* corredor) em minutos das fêmeas diagnosticadas como gestantes e não gestantes. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste *t de student* ($p > 0,05$)..... 43
- FIGURA 3. Probabilidade de prenhez de vacas receptoras de embriões em relação ao horário de entrada na sala de transferência em uma propriedade no Brasil Central..... 44
- FIGURA 4. Curva da concentração média de cortisol plasmático (ng/ml) das receptoras de embriões do lote 2 nos dias D0, D9 e D16. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste *t de student* ($p < 0,05$)..... 45
- FIGURA 5. Concentração média de progesterona e cortisol plasmático (ng/ml) do lote 2 no dia da inovulação das receptoras de embriões gestantes e não gestantes. Letras diferentes indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste *t de student*)..... 46

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Reatividade do animal de acordo com os escores de tensão, respiração e mugido.....	38
--	----

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Variáveis meteorológicas referentes aos dias de inovulação das receptoras de embrião..... 41
- Tabela 2. Correlação entre temperatura do ar e diferença de temperatura da pele e retal (DifT), Índice de temperatura de globo e umidade da tarde (ITGUt) e DifT, ITGU do dia e DifT, e velocidade do vento (VV) e DifT das receptoras não gestantes e gestantes..... 41
- Tabela 3. Valores médios dos índices de temperatura de globo e umidade (ITGU) e índice de temperatura e umidade (ITU) referentes ao dia da inovulação das receptoras..... 42
- Tabela 4. Caracterização do manejo (tempo de espera no curral e tempo de espera no corredor de acesso à sala de transferência – média e desvio padrão) de fêmeas bovinas receptoras de embriões de acordo com o diagnóstico de gestação..... 44
- Tabela 5. Dados clínicos no momento da inovulação de embriões Nelore de receptoras bovinas de acordo com resultado de prenhez..... 45

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Com a crescente demanda de proteína animal para a alimentação humana, criadores e técnicos vêm buscando cada vez mais, melhorias nos níveis de produtividade. Além da implantação de tecnologia e intensificação do sistema produtivo, têm sido aprofundados os estudos relacionados ao estresse, sobretudo a sua correlação com o desempenho animal.

É muito comum relacionar o impacto do ambiente sobre a produção de bovinos considerando somente com os efeitos das variações climáticas em indivíduos pouco adaptados. No entanto, a ciência tem demonstrado que outros componentes do ambiente também influenciam o desempenho produtivo. São considerados fatores estressantes: os de origem física, química, biológica, sociais, além da interação homem-animal.

Considerando a resistência aos efeitos ambientais como um critério para seleção de animais, torna possível produzir linhagens que demonstrem menor sensibilidade aos agentes estressores ou maior capacidade de adaptação ao meio ambiente. A adoção de boas práticas de manejo que ofereçam ao animal um ambiente adequado, com presença de árvores para o sombreamento, aguadas para minimizar os efeitos do calor ou até mesmo capões para proteção contra o frio são algumas das medidas que se pode tomar para proporcionar mais conforto térmico aos animais (PARANHOS DA COSTA & CROMBERG, 1997), salientando que, para que isso ocorra é imprescindível a observação freqüente do comportamento animal,

para que se possa identificar possíveis estereótipos anormais causados pelo estresse.

O manejo reprodutivo demanda contato constante com os animais, justamente em momentos em que o estresse pode ter efeitos negativos sobre a eficiência reprodutiva. O comportamento de cio pode ser diminuído ou suprimido em diferentes circunstâncias tais como tipo de piso, inibição social, calor intenso, barulho, etc. (ORIUHELA, 2000; LANDAETA-HERNÁNDEZ et al., 2002). Em programas de transferência de embriões existem poucos estudos dos efeitos do ambiente e do manejo das vacas receptoras sobre os resultados reprodutivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de variáveis ambientais sobre a taxa de gestação aos 60 dias, após a inovulação de embriões.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Reconhecimento Materno da Gestação

O reconhecimento materno da gestação é o termo usado para descrever como a mãe responde fisiologicamente à presença do concepto no seu trato reprodutivo (DEMMERS et al., 2001), e requer que o concepto alongue-se de uma forma esférica para tubular e finalmente filamentosa para produzir interferon *tau* (IFN τ). O embrião deve sinalizar sua presença para o organismo materno e bloquear a regressão do CL (luteólise) para que haja produção de progesterona (GEISERT & MALAYER, 2004; MANN & LAMMING, 2001) e manutenção da gestação. As células mononucleares do trofoblasto no início do estágio de desenvolvimento secretam o

IFN τ (THATCHER et al., 2001) que age localmente no útero inibindo a secreção de PGF2 α (DEMMERS et al., 2001). O efeito antiluteolítico do IFN τ resulta da inibição do endométrio aos receptores de para ocitocina (ROBINSON et al., 1999; DEMMERS et al., 2001; ROBINSON et al., 2001; SPENCER et al., 2004) e para estrógeno no epitélio luminal (SPENCER et al., 2004), além disso, o endométrio produz um inibidor de PGF2 α - EPSI, que reduz especificamente a síntese de PGF2 α (GEISERT & MALAYER, 2004). O IFN τ é secretado entre no dia 12 de prenhez, mas sua concentração no lúmen uterino atinge o pico somente entre os dias 15-17 de gestação (FARIN et al., 1990). Portanto, o comprometimento do desenvolvimento embrionário é responsável pela luteólise prematura (SANTOS et al., 2004).

MANN & LAMMING, 2001 observaram que vacas que apresentaram embriões pouco desenvolvidos no dia 16 de gestação, ou que produziram pouco ou nenhum IFN τ também apresentaram falha no aumento da concentração de progesterona depois da ovulação. GARRET et al.(1988) demonstraram que o tratamento com progesterona no início da fase luteínica aumentam a produção de IFN τ e o desenvolvimento do embrião.

2.2. Fisiologia da Termorregulação

Os mamíferos são considerados homeotérmicos, ou seja, mantêm a temperatura constante diante de alterações ambientais (CUNNINGHAN, 1999). Para isso, precisam ter um alto índice metabólico para fornecer o calor necessário à

manutenção da temperatura corpórea, através do consumo de alimento (CUNNINGHAN, 1999).

Para que a temperatura se mantenha constante, o calor produzido por um animal deve ser transferido à superfície corporal antes que possa ser conduzido ao meio ambiente. Portanto, a superfície do corpo deve estar a uma temperatura mais baixa que a interna, pois, se a temperatura externa for a mesma ou superior, não ocorrerá transferência de calor (DUKES, 1996).

A produção de calor aumenta com a atividade e, a menos que a perda de calor aumente na mesma proporção, a temperatura corpórea se elevará rapidamente. Além disso, as condições para a perda de calor variam com fatores externos, como a temperatura do ar, umidade relativa do ar e vento (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

Na radiação, a transferência de calor de um corpo ao outro ocorre através de ondas eletromagnéticas (SILVA, 2000), e ocorre na ausência de um contato direto (SCHMIDT-NIELSEN, 2002), pois todos os objetos sólidos emitem radiação eletromagnética faixa infravermelha, invisível ao olho humano. Quando estas emissões se chocam com outro objeto, algumas são absorvidas e, desta maneira, transferem calor, ou seja, isto ocorre quando o animal fica exposto ao sol ou perto de objetos sólidos mais quentes que a temperatura corpórea (CUNNINGHAN, 1999).

A condução ocorre entre corpos físicos que estão em contato entre si, resultante da transferência direta de energia pela movimentação das moléculas, e ocorre sempre de uma região de temperatura mais elevada para uma mais baixa (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

Na convecção, a transferência de calor ocorre pela substituição de moléculas quentes por outras frias, ocorrendo quando há aquecimento do ar ou da

água em contato com a pele. Estas moléculas fluem para outro local, expondo a pele a meios mais frios (CUNNINGHAN, 1999).

A evaporação caracteriza-se pela conversão de água em vapor de água, o que ocorre quando há perda de calor através da água contida no suor, na saliva e em secreções respiratórias (CUNNINGHAN, 1999).

O calor é produzido no corpo pela atividade metabólica (termogênese), mas também pode advir do exterior por meio de radiação, condução e convecção. A termólise refere-se ao calor perdido do corpo para o meio ambiente, e pode ocorrer através da radiação, convecção, condução e evaporação (CUNNINGHAN, 1999).

Variações na temperatura corporal são resultado do equilíbrio entre calor produzido e calor dissipado. A vaporização respiratória e a dissipação do calor corpóreo por convecção ajudam a manter o balanço térmico (LEGATES et al., 1991).

A percepção da temperatura é mediada por termorreceptores periféricos e unidades termossensíveis do Sistema Nervoso Central (SNC). Existem dois tipos de termorreceptores, para calor e frio. As informações provenientes dos neurônios termossensíveis são integradas à sistemas neuronais que regulam a perda ou conservação do calor (CUNNINGHAN, 1999; DUKES, 1996). Neurônios termossensíveis localizam-se na área pré-óptica do diencefalo, e quando estes neurônios aumentam a frequência de disparo em resposta a algum estímulo, o aquecimento desta região ativa todos os mecanismos comportamentais e fisiológicos disponíveis para perder calor, causando sudorese, vasodilatação periférica e diminuição da taxa metabólica (CUNNINGHAN, 1999; DUKES, 1996). O resfriamento local do hipotálamo provoca vasoconstrição periférica e pode provocar calafrios, mesmo em um ambiente termicamente neutro, além de ereção dos pêlos e aumento da taxa metabólica (CUNNINGHAN, 1999; DUKES, 1996).

A zona de conforto térmico ou termoneutralidade é a faixa de temperatura ambiental dentro da qual o animal não demonstra qualquer sinal de desconforto térmico, ou seja, não há sensação de frio ou calor. Esta zona é limitada pelas temperaturas críticas inferior e superior (SOUZA et al., 1999). A Temperatura Crítica Inferior é a temperatura ambiente abaixo da qual os animais são incapazes de manter a temperatura fisiológica normal, aumentando a taxa metabólica basal. Ao contrário, a Temperatura Crítica Superior é aquela que requer mecanismos de perda de calor corpóreo (SOUZA et al., 1999).

Nos bovinos, a taquipnéia e a sudorese são importantes processos utilizados para perda de calor. A taquipnéia ocorre quando o bovino atinge temperaturas retais acima de 40°C, sendo esta um indicador da temperatura corporal profunda. Em bovinos de corte, a temperatura retal varia de 36,7 a 39,1°C e em bovinos de leite de 38,0 a 39,3°C (DUKES, 1996). Entretanto, a idade, sexo, estação do ano, horário do dia, temperatura ambiente, exercício, alimentação, digestão e ingestão de água são capazes de causar variações normais na temperatura corporal dos homeotérmicos (DUKES, 1996). No entanto, a temperatura da pele que reflete melhor a sensação de conforto ou estresse dos animais também pode ser utilizado como indicador (ROMA JÚNIOR et al., 2000).

A natureza da superfície cutânea é um aspecto que afeta a resistência dos bovinos ao calor. O pelame representa a fronteira entre o animal e o ambiente; assim, características como espessura e densidade numérica podem influenciar o balanço térmico do animal, protegendo-o contra a absorção de radiação ou promovendo a dissipação de calor corporal. Segundo MORAIS et al. (2004a) nas épocas do ano que promovem estresse térmico por calor, os animais apresentaram diminuição na espessura e densidade do pelame para facilitar a dissipação de calor.

Nos períodos de maior carga térmica radiante a espessura do pelame e comprimento dos pêlos aumentaram, servindo como proteção mecânica contra a penetração da radiação solar (MORAIS et al., 2004b).

Quanto à adaptação à temperatura, os ajustes fisiológicos às exposições prolongadas ao frio podem ser separados em três categorias: as variações que ocorrem durante a exposição ao frio por poucas semanas, quando outros fatores permanecem invariáveis, é chamado de aclimatação; as modificações que se desenvolvem durante as variações sazonais lentas é definido como aclimatização e as alterações genéticas no decurso de várias gerações como resultado da seleção dos indivíduos melhor ajustados para sobreviver é chamado de adaptação (DUKES et al., 1996).

2.3. Caracterização de Estresse

“Estresse é um efeito ambiental sobre um indivíduo que coloca uma sobrecarga sobre o seu sistema de controle e reduz seu *fitness*, que envolve aumento na mortalidade e insucesso no crescimento ou na reprodução” (BROOM & JOHNSON, 1993).

O termo estresse se refere ao estado do organismo, o qual, após atuação de agentes ambientais de qualquer natureza, responde com uma série de reações não específicas de adaptação (SELYE, 1936 apud ENCARNAÇÃO, 1997), ativando mecanismos físicos e fisiológicos, na tentativa de restabelecer a homeostase. Dentre

elas, destaca-se a hiperatividade do córtex da adrenal com conseqüente aumento de seus hormônios (ENCARNAÇÃO, 1997). O estresse também pode se referir às reações fisiológicas causadas pela percepção de situações adversas ou ameaçadoras (CARLSON, 2002).

Embora ocorram mudanças em quase todo o sistema endócrino, a córtex da adrenal desempenha a mais importante função no mecanismo de adaptação, por meio da liberação de glicocorticóides, controlada pelo hipotálamo. O agente estressor atua, via sistema nervoso central, sobre as células neuro-secretoras do hipotálamo, as quais reagem aumentando a secreção do neuro-hormônio denominado hormônio liberador de corticotrofina (CRH), e este por sua vez, age na adenohipófise e estimula a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) ou corticotrofina. O ACTH age no córtex da adrenal e aumenta a secreção de glicocorticóides. Com a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, ocorrem mudanças em quase todo o sistema endócrino. Assim, em um indivíduo estressado, a hipófise secreta menores concentrações de hormônios gonadotróficos (FSH, LH) conduzindo à redução da atividade gonadal (ENCARNAÇÃO, 1997). Portanto, em um organismo sob estresse, os glicocorticóides da adrenal podem interferir negativamente nas funções reprodutivas do animal. ENCARNAÇÃO (1997) cita que os principais glicocorticóides são o cortisol e a corticosterona e que a concentração média de cortisol em bovinos oscila entre 2 e 12 ng/ml.

Todo fator exógeno que provoca o estresse denomina-se estressor (ENCARNAÇÃO, 1997). Os agentes estressores podem ser de natureza mecânica (traumatismos cirúrgicos ou não), física (calor, frio, som), química (drogas) ou biológica (agentes infecciosos, fatores psíquicos, condição nutricional, etc.). O calor ou frio provocam estresse climático que aciona mecanismos fisiológicos no

organismo em resposta aos agentes térmicos, para promover sua adaptação (SOUZA et al., 1999).

Estresse agudo ou crônico causam mudanças nos sistemas endócrino, nervoso e imune, induzindo alterações no comportamento animal. Alguns reflexos do estresse são: redução do tamanho da ninhada, incapacidade de exibir o estro e baixa taxa de concepção (VARLEY & STEDMAN, 1994).

2.4. Influência do Estresse na Reprodução

2.4.1. Respostas fisiológicas ao estresse

O transporte, agindo como um estressor, pode aumentar os níveis de cortisol plasmático em macacos (AOYAMA et al., 2003). EDWARDS et al. (1987) observaram que novilhas doadoras de embriões transportadas por 15 a 60 minutos a cada 12 horas por quatro dias, apresentaram menor número de corpos lúteos em resposta à superovulação ($15,4 \pm 1,7$ vs $20,4 \pm 2,1$; $p < 0,1$) e a concentração plasmática de cortisol foi maior nas fêmeas “estressadas” em comparação as fêmeas controle ($34,8 \pm 2,2$ vs $28,4 \pm 2,5$ ng/ml; $p < 0,1$).

RINGSTROM & SCHWARTZ (1984) apud VARLEY & STEDMAN, (1994) demonstraram que implantes de cortisol em ratos machos resultaram em diminuição da resposta da hipófise ao GnRH. Níveis elevados de cortisol também têm efeito inibitório na secreção de GnRH pelo hipotálamo e reduz o número de receptores para GnRH na hipófise.

O cortisol interfere nos eventos endócrinos da fase folicular da ovelha por suprimir a secreção pulsátil de LH (BREEN et al., 2005), que é essencial à subsequente fase pré-ovulatória. Similarmente, administrações crônicas de ACTH

em novilhas no 19º dia do ciclo estral causaram alteração no modelo pulsátil de liberação do LH: a secreção de estradiol foi mais baixa que o normal, a onda de LH foi retardada e a ovulação foi atrasada ou não ocorreu (DOBSON et al., 2001). A baixa concentração de estradiol pode reduzir a intensidade do comportamento do estro (DOBSON et al., 2001). POOL et al. (1983) observaram que administrações de ACTH aumentaram a duração do ciclo estral por suprimir o desenvolvimento folicular e aumentar o intervalo entre o declínio da progesterona e o estro. Fêmeas do grupo controle entraram em cio dois dias após o declínio da progesterona e fêmeas que receberam ACTH entraram em cio cinco dias e meio após o declínio da progesterona.

O aumento do número de receptores para GnRH na hipófise, em ovinos orquiectomizados, pode ser dependente do aumento dos níveis de estrógeno (DALEY et al., 2000). Essa resposta hipotalâmica pode ser suprimida por altas concentrações de cortisol. Entretanto, esse efeito supressivo do cortisol pode ser reversível se a secreção de estrógeno for aumentada (tanto pelo tempo quanto pelo aumento da concentração de estrógeno) (ADAMS et al., 1999; DALEY et al., 2000). Com essa diminuição na frequência da secreção de GnRH, a secreção de gonadotrofinas também fica comprometida, afetando a atividade reprodutiva (DALEY et al., 1999; DALEY et al., 2000; BREEN & KARSCH, 2004). O cortisol também atua diretamente na hipófise, diminuindo a resposta das gonadotrofinas ao GnRH, efeito que parece ser mediado pelo receptor de glicocorticóide tipo II (BREEN et al., 2004).

Quando o ACTH foi administrado em porcas durante a fase folicular do ciclo ovariano, observou-se atraso no início do estro e diminuição da sua duração (LIPTRAP, 1970). Este tratamento resultou na inibição ou alteração da secreção de LH, resultando em inadequada luteinização dos folículos maduros e finalmente na

formação de cisto folicular.

Em estudo com ovelhas MACFARLANE et al. (2000) avaliaram o efeito do cortisol no desenvolvimento folicular e na onda pré-ovulatória do LH. Foi demonstrado que concentrações de cortisol similares às causadas por estresse, quando administrados continuamente durante a fase lútea e fase folicular do ciclo estral, suprimem o crescimento e o desenvolvimento folicular e bloqueiam ou retardam a onda pré-ovulatória do LH. Observaram que o cortisol exógeno teve maior efeito supressivo no desenvolvimento folicular durante a fase folicular do que na fase lútea. Estes resultados demonstraram que a administração de níveis de cortisol, similares aos níveis provocados pelo estresse, começando durante a fase lútea e continuando através da fase folicular do ciclo estral de ovinos, suprime a secreção de estradiol e impede a onda pré-ovulatória de LH. A supressão da secreção de estradiol indicou que níveis aumentados de cortisol podem inibir o desenvolvimento folicular antes do estágio de maturação.

Endotoxinas bacterianas são comumente usadas como um modelo de estresse imuno-inflamatório, inibindo a atividade neuroendócrina reprodutiva e, simultaneamente, estimulando o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (BATTAGLIA et al., 1997; DEBUS et al., 2002). Estudo com ovelhas demonstraram que o cortisol exógeno, em concentrações que simulam o choque endotoxêmico, é suficiente para suprimir a secreção de LH. A baixa dose de cortisol reduziu a concentração sérica média de LH em 28% (média do pré-tratamento versus pós-tratamento), que foi equivalente àquela produzida pela baixa dose de endotoxina. A alta dose de cortisol produziu maior supressão da concentração média de LH (45%) que foi comparável àquela produzida por altas doses de endotoxinas (40%), entretanto, o grupo controle a concentração de LH não foi significativamente influenciada em nenhum aspecto.

2.4.2. Eficiência reprodutiva sob estresse por calor

Em ambientes tropicais a temperatura do ar tende a ser próxima ou maior que a corporal, tornando ineficaz a perda de calor e com isso incrementando o estresse térmico do animal (SILVA & GAUDIOSI, 1995) e se tornando limitante ao desenvolvimento, à produção e à reprodução (CAMPOS et al., 2002). Estes sinais se refletem como aumento da temperatura retal, respiração ofegante, sudorese excessiva, etc. A capacidade do animal de resistir ao estresse por calor em função de altas temperatura e umidade relativa do ar, tem sido avaliada fisiologicamente por alterações na temperatura retal e na frequência respiratória, explicando a tentativa do animal perder o calor absorvido (PIRES et al., 2004, MORAIS et al., 2004a).

Está claro que há diferenças genéticas na resistência ao estresse por calor, pois raças zebuínas são mais eficientes em regular a temperatura corporal do que as raças de origem europeia. HAMMOND et al. (1996) demonstraram que *Bos taurus* (Angus) apresentaram temperatura retal maior do que *Bos indicus* (Brahman) e *Bos taurus* adaptada (Senepol e Romosinuano) ($p < 0,001$) e que a raça Angus apresentou frequência respiratória mais rápida que Brahman, Senepol e Romosinuano.

O estresse por calor compromete eventos reprodutivos pela diminuição da expressão do comportamento do estro, alteração do desenvolvimento folicular e inibição do desenvolvimento embrionário (HANSEN et al., 2001). Vacas holandesas expostas ao estresse por calor, com média diária de temperatura máxima $>29^{\circ}\text{C}$ de 20-50 dias antes da inseminação artificial, tiveram taxa de gestação menor (23% vs 31,3%) que vacas não expostas a essa condição ambiental ($p < 0,001$) (CHEBEL et al., 2004).

O estresse por calor dificulta o desenvolvimento folicular de fêmeas

bovinas, pela suscetibilidade dos folículos ovarianos às altas temperaturas internas. A dinâmica folicular é alterada e a dominância folicular é deprimida (WOLFENSON et al., 1995). As alterações da dinâmica folicular, resultantes do estresse térmico, podem causar danos no folículo pré-ovulatório afetando subseqüentemente a função do corpo lúteo e a secreção de progesterona (BREUEL et al., 1993).

ROCHA et al. (1998) observaram que vacas Holandesas (*Bos taurus*) produziram maior porcentagem de oócitos normais durante a estação fria ($75,9 \pm 8,0$) do que durante a estação quente ($41,0 \pm 9,5$). A porcentagem de oócitos fertilizados se desenvolvendo até o estágio de duas células (82,4), oito células (65,4) e mórula (46,6) também foi maior ($p < 0,06$) na estação fria do que na estação quente (45,0; 21,2; 6,0, respectivamente), diferindo do observado em *Bos indicus* (Brahman), e isto pode ser explicado por sua habilidade em regular melhor a temperatura corporal. Similarmente, BORGES et al. (1998) observaram aumento do número de embriões não viáveis e de oócitos coletados de novilhas mestiças holandês-zebu, no período de maior temperatura ($p < 0,10$), mas não houve efeito sobre o número total de estruturas e de embriões viáveis. AL-KATANANI et al. (2002) verificaram que a competência dos oócitos de vacas Holstein foi menor em estações quentes do que em estações frias.

Experimentos *in vivo* demonstraram que o estresse por calor no primeiro dia de prenhez reduziu a sobrevivência do embrião e a taxa de prenhez, entretanto, a partir do terceiro dia o estresse por calor não afetou essa taxa (EALY et al., 1993), indicando que embriões bovinos se tornam mais resistentes aos efeitos prejudiciais do estresse por calor materno com o avanço do seu estágio de desenvolvimento.

Heat-Shock é um termo que se refere a uma elevação extrema de temperatura relativa às escalas fisiológicas normais, podendo afetar níveis celulares.

MALAYER & HANSEN (1990) demonstraram em culturas de endométrio e oviduto que o estresse por calor diminuiu a síntese de DNA, sendo essa diminuição maior em vacas Holstein do que Brahman, e que a secreção de proteína pelo endométrio foi maior em vacas estressadas do que em vacas controle, indicando um comprometimento tanto do oviduto quanto do endométrio. PAULA-LOPES et al. (2003) observaram efeito deletério do *Heat-Shock* sobre a formação dos blastocistos e número de células por embrião, sendo este efeito menos pronunciado em vacas da raça Brahman do que Holstein, indicando que há diferenças na resistência térmica entre raças. Neste mesmo estudo foi verificado que linfócitos de vacas Brahman e Senepol foram mais resistentes à apoptose induzida pelo calor do que aquelas de vacas Holstein e Angus. De acordo com JU et al. (2005) a exposição de oócitos a 42°C/4 horas diminuiu a taxa de formação de blastocistos (27% vs 44%) e o número total de células por blastocisto (82 ± 21 vs 108 ± 36) em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$).

BRIDGES et al. (2005) verificaram em cultura de folículos que, em novilhas Holstein, o estresse por calor diminuiu a secreção de androstenediona e estradiol pelas células foliculares e que essa diminuição foi maior a 41°C que a 37°C ou 39°C ($p < 0,05$). Entretanto, a secreção de progesterona foi maior a 41°C que 37°C ou 39°C ($p < 0,05$). Verificaram também que os folículos responderam ao tratamento com gonadotrofinas (LH, FSH) em todas as temperaturas. Mudanças na esteroidogênese basal e a resposta às gonadotrofinas sugerem que células foliculares podem se luteinizar *in vitro* a elevadas temperaturas e que a luteinização prematura das células foliculares *in vivo* tem sido associada à diminuição da fertilidade em bovinos.

VASCONCELOS et al. (2006) observaram que em vacas Holstein

receptoras de embriões o aumento da temperatura retal diminuiu a taxa de prenhez no dia 25 pós inovulação ($p < 0,05$) e aumentou a perda embrionária ($p < 0,10$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, T.E.; SAKURAI, H.B.; ADAMS, B.M. Effect of stress-like concentrations of cortisol on estradiol-dependent expression of gonadotropin-releasing hormone receptor in orchietomized sheep. **Biol. Reprod**, v.60, p.164-168, 1999.

AL-KATANANI, Y.M.; PAULA-LOPES, F.F.; HANSEN, P.J. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. **J. Dairy Sci**, v.85, p.390-396, 2002.

AOYAMA, M.; NEGISHI, A.; ABE, A et al. Sex differences in stress responses to transportation in goats: Effects of gonadal hormones. **Anim. Sci. Journal**, v.74, p.511-519, 2003.

BATTAGLIA, D.F.; BOWEN, J.M.; KRASA, H.B. et al. Endotoxin inhibits the reproductive neuroendocrine axis while stimulating adrenal steroids: A simultaneous view from hypophyseal portal and peripheral blood. **Endocrinology**, v.138, n.10, p.4273-4281, 1997.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Influência da temperatura na qualidade de embriões de novilhas mestiças. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998. Botucatu. **Anais...**Barueri-SP: Videolar Multimídia Ltda, 1998. CD-ROM. Manejo e reprodução. MAN024.

BREEN, K.M.; KARSCH, F.J. Does cortisol inhibit pulsatile luteinizing hormone secretion at the hypothalamic or pituitary level. **Endocrinology**, v.145, n.2, p.692-698, 2004.

BREEN, K.M.; STACKPOLE, C.A.; CLARKE, I.J. et al. Does the type I glucocorticoid receptor mediate cortisol-induced suppression in pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone? **Endocrinology**, v.145, n.6, p.2739-2746, 2004.

BREEN, K.M.; BILLINGS, H.J.; WAGENMAKER, E.R. et al. Endocrine basis for disruptive effect of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**, v.146, n.4, p.2107-2115, 2005.

BREUEL, K.F.; LEWIS, P.E.; SCHRICK, F.N. et al. Factors affecting fertility in postpartum cow: Role of oocyte and follicle in conception rate. **Biol. Reprod**, v.48, p.655-661, 1993.

BRIDGES, P.J.; BRUSIE, M.A.; FORTUNE, J.E. Elevated temperature (heat stress) *in vitro* reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles. **Dom. Anim. Endoc**, NO PRELO, 2005.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. **Stress and animal welfare**. London: Chapman & Hall, 1993. 211p.

CAMPOS, A.T.; PIRES, M.F.A.; CAMPOS, A.T. et al. Efeito do estresse calórico sobre a produção de leite de vacas holandesas na região de Coronel Pacheco-MG. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife-PE. **Anais...** Caucaia-CE: CD+, 2002. CD-ROM. Bioclimatologia e Etologia.

CARLSON, N.R. **Fisiologia do Comportamento**. 7. ed. São Paulo: Ed. Manole, 2002. 699p.

CHEBEL, R.C.; SANTOS, J.E.P.; REYNOLDS, P.P. et al. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Anim. Reprod. Sci**, v.84, p.239-255, 2004.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, 528p.

DALEY, C.A.; SAKURAI, H.; ADAMS, B.M. et al. Effect of stress-like concentrations of cortisol on gonadotroph function in orchietomized sheep. **Biol. Reprod**, v.60, p.158-163, 1999.

DALEY, C.A.; SAKURAI, H.; ADAMS, B.M. et al. Effect of stress-like concentrations of cortisol on the feedback potency of oestradiol in orchietomized sheep. **Anim. Reprod. Sci**, v.59, p.167-178, 2000.

DEBUS, N.; BREEN, K.M.; BARRELL, G.K. et al. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion. **Endocrinology**, v.143, n.10, p.3748-3758, 2002.

DEMMERS, K.J.; DERECKA, K.; FLINT, A. Trophoblast interferon and pregnancy. **Reproduction**, v.121, p.41-49, 2001.

DOBSON, H.; TEBBLE, J.E.; SMITH, R.F. et al. Is stress really all that important? **Theriogenology**, v.55, p.65-73, 2001.

DUKES, H.H. **Dukes- Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 856p.

EALY, A.D.; DROST, M.; HANSEN, P.J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **J. Dairy Sci**, v.76, p. 2899-2905, 1993.

EDWARDS, L.M.; RAHE, C.H.; GRIFFIN, J.L. et al. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated Hereford heifers. **Theriogenology**, v.28, n.3, p.291-299, 1987.

ENCARNAÇÃO, R. O. **Estresse e produção animal**. 3 reimp. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1997. 32p.

FARIN C.E.; IMAKAWA, K.; HANSEN, T.R. et al. Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. **Biol. Reprod**, v. 43, p. 210-218, 1990.

GARRET, J.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. **J. Reprod. Fertil**, v. 84, p.437-446, 1988.

GEISERT, R.D.; MALAYER, J.R. Implantação. In:HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7^a.ed. Barueri-SP: Manole, 2004, p.127-140.

HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; CHASE, C.C.Jr. et al. Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano, compared with Brahman, Angus and Hereford cattle in Florida. **J. Anim Sci**, v.74, p.295-303, 1996.

HANSEN, P.J.; DROST, M.; RIVERA, R.M. et al. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, v.55, p.91-103, 2001.

JU, J.-C.; JIANG, S.; TSENG, J.-K. et al. Heat shock reduces developmental and alters spindle configuration of bovine oocytes. **Theriogenology**, NO PRELO, 2005.

LANDAETA-HERNANDEZ, A.J.; YELICH, J.; LEMASTER, J.W. Enviromental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. **Theriogenology**, v.57, p.1357-1370, 2002.

LEGATES, J.E.; FARTHING, B.R.; CASDY, R.B. et al. Body temperature and respiratory rate of lactating dairy cattle under field and chamber conditions. **J. Dairy Sci**, v.74, p.2491-2500, 1991.

LIPTRAP, R.M. Effect of corticotrophin and corticosteroides on oestrus, ovulation and oestrogen excretion in the sow. **J. Endocr**, v.47, p.197-205, 1970.

MACFARLANE, M.S.; BREEN, K.M.; SAKURAI, H. et al. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. **Anim. Reprod. Sci**, v.63, p.167-175, 2000.

MALAYER, J.R.; HANSEN, P.J. Differences between Brahman and Holstein cows in heat-shock induced alterations of synthesis and secretion by oviducts and uterine endometrium. **J. Anim. Sci**, v.68, p.266-280, 1990.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p.175-180, 2001.

MORAIS, D.A.E.; SILVA, R.G.; SOUZA JÚNIOR, S.C. et al. Correlações entre variáveis ambientais e parâmetros físicos e fisiológicos de adaptação de vacas leiteiras na região semi-árida. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004a. Campo Grande-MS. **Anais...**Campo Grande: Unipress Disc Records, 2004.CD-ROM. Ambiência, Bioclimatologia e Etologia. AMB029.

MORAIS, D.A.E.; SILVA, R.G.; LIMA, P.O. et al. Variação anual de características do pelame de vacas Holandês X Guzerá no sertão central do estado do Ceará. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004b. Campo Grande-MS. **Anais...**Campo Grande: Unipress Disc Records, 2004.CD-ROM. Ambiente, Bioclimatologia e Etologia. AMB028.

ORIHUELA, A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v.70, n.1, p.1-16, 2000.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; CROMBERG, V.U. Alguns aspectos a serem considerados para melhorar o bem estar dos animais em sistemas de pastejo rotacionado. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, Piracicaba. **Palestras...** Fundamentos do Pastejo Rotacionado, p.273-296, 1997.

PAULA-LOPES, F. F.; CHASE JR, C. C.; AL-KATANANI, Y. M. et al. Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. **Reproduction**, v.125, p.285-294, 2003.

PIRES, M.F.A.; MARTINEZ, M.F.; SILVA, M.V.G.B. et al. Temperatura retal e frequência respiratória de bezerros mestiços em ambiente controlado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande-MS. **Anais...** Campo Grande: Unipress Disc Records, 2004. CD-ROM. Ambiente, Bioclimatologia e Etologia. AMB058

POOL, S.H.; INGRAHAM, R.H.; GODKE, R.A. The effect of exogenous ACTH and pen-confinement on estrous cycle length, plasma steroid levels and ovarian function of beef heifers. **Theriogenology**, v.20, n.3, p.257-265, 1983.

ROBINSON, R.S.; MANN, G.E.; LAMMING, G.E. et al. The effect of pregnancy on the expression of uterine oxytocin, oestrogen and progesterone receptors during early pregnancy in the cow. **Journal of endocrinology**, v.160, p.21-33, 1999.

ROBINSON, R.S.; MANN, G.E.; LAMMING, G.E. et al. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. **Reproduction**, v.122, p.965-979, 2001.

ROCHA, A.; RANDEL, R.D.; BROUSSARD, J.r. et al. High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.49, p.657-665, 1998.

ROMA JUNIOR, L. C., LIMA, M. L. P., PINHEIRO, M.G. et al. Efeito do grau de sangue na temperatura da pele de vacas leiteiras mestiças. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, XXXVII, Viçosa, MG. **Anais...**Viçosa: SBZ, p.10, 2000.

SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W.; CHEBEL, R.C. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 82-83, p.513-535, 2004.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal – Adaptação e Meio Ambiente**. 5.ed. São Paulo: Livraria Santos Editora, 2002. 611p.

SILVA, R.G. **Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 450p, 2000.

SILVA, R.G.; GAUDIOSI, M.C. Termólise evaporativa em ovinos sob altas temperaturas. In: CONGRESSO DE BIOMETEROLOGIA, 1., 1995, Jaboticabal-SP. **Anais...** Jaboticabal: Anais do Primeiro Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 1995. p.193- 214.

SOUZA, C.F.; FAÇANHA, D.A.E.; COSTA E SILVA, E.V. **Influência do ambiente sobre o desempenho de bovinos de corte**. Seminário (Disciplina de Bovinos de Corte, Programa de Pós Graduação em Zootecnia) – Unesp, Jaboticabal, 1999.

SPENCER,T.E.;BURGHARDT, R.C.; JOHNSON, G.A. et al. Conceptus signals for stablishment and maintenance of pregnancy. **Anim. Reprod. Sci**, v.82-83, p.537-550, 2004.

THATCHER, W.W.; GUZELOGLU, A.; MATTOS, R. et al. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1435-1450, 2000.

VARLEY, M.; STEDMAN, R. Stress and reproduction. In: COLE, D.J.A.; WISEMAN, J. and VARLEY, M.A. (ed). **Principles of pigs science**. Nottingham, UK: Nottingham University Press, 1994. p. 277-297.

VASCONCELOS, J.L.M.; DEMÉTRIO, D.F.B.; SANTOS, R.M. et al. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cows recipients. **Theriogenology**, v.65, p. 192-200,2006.

WOLFENSON, D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L. et al. A. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. **Biol. Reprod**, v.52, p.1106-1113, 1995.

CAPÍTULO 2 - EFEITO DO MANEJO E DE VARIÁVEIS BIOCLIMÁTICAS SOBRE A TAXA DE GESTAÇÃO EM VACAS RECEPTORAS DE EMBRIÕES

RESUMO

Verificou-se o efeito do manejo, de variáveis ambientais e clínicas sobre a taxa de gestação de receptoras bovinas de embriões, registrando-se dados comportamentais, clínicos e climáticos de 94 fêmeas no dia da inovulação e plasma para determinação das concentrações de cortisol em 36 animais nos dias D0, D9 e D16 do protocolo hormonal para sincronização do cio e de progesterona no dia da inovulação. Não houve diferença significativa pelo teste X^2 ($p>0,05$) entre as fêmeas gestantes e não gestantes com relação ao estágio de maturação do embrião, classificação do embrião, pelagem, reatividade, postura, mugido, respiração, tensão e entre embriões congelados e a fresco, Com relação aos sinais clínicos, as médias de frequência respiratória, temperaturas retal, e a diferença entre temperatura da pele e retal das fêmeas diagnosticadas como gestantes e não gestantes foram de $48,44 \pm 9,50$ e $49,14 \pm 9,48$; $39,75 \pm 0,47$ e $39,79 \pm 0,51$; $2,53 \pm 0,75$ e $2,54 \pm 0,96$ respectivamente, não havendo diferença significativa pelo teste *t de student* ($p>0,05$). Entretanto, houve diferença significativa entre temperatura da pele de gestantes e não gestantes ($37,31 \pm 0,63$ e $37,78 \pm 1,05$), respectivamente ($p<0,05$). O tempo de manejo destas fêmeas em minutos foi de $417,22 \pm 70,09$ e $394,11 \pm$

46,47, não tendo havido diferença significativa pelo teste *t de student* ($p>0,05$) no tempo de corredor para as fêmeas gestantes e não gestantes. As concentrações médias de cortisol para os dias D0, D9 e D16 das fêmeas gestantes foram $19,91 \pm 7,44$; $16,25 \pm 7,96$ e $14,66 \pm 7,83$ ng/ml respectivamente e das fêmeas não gestantes foram $17,89 \pm 7,77$; $16,45 \pm 8,12$ e $14,38 \pm 8,73$ ng/ml respectivamente, não havendo diferença significativa pelo teste *t de student* ($p>0,05$). As concentrações médias de progesterona no dia D16 das fêmeas gestantes e não gestantes foram $35,78 \pm 19,07$ e $28,59 \pm 17,55$ ng/ml ($p<0,05$) respectivamente. Os valores de ITGU encontravam-se em limites muito elevados, indicando que todos os animais estavam em estresse por calor. A temperatura da pele representa um fator de desconforto térmico e seu aumento influenciou negativamente na taxa de gestação das receptoras de embriões. A concentração plasmática de progesterona no momento da inovulação variou de acordo com o estado fisiológico de cada receptora de embriões. A diminuição dos níveis de cortisol no decorrer mostra a habituação dos animais ao manejo da fazenda.

Palavras-chaves: estresse por calor; cortisol, gado de corte; manejo; taxa de gestação; transferência de embriões.

ABSTRACT

It was verified the effect of the handling, ambient variables and clinicals on the pregnancy rate of bovine receiving embryos, it was registered behavior, clinical and climatic data of 94 females in the day of the embryo transfer; plasma for analysis of cortisol of 36 animals in the days D0, D9 and D16 of the hormonal protocol for estrus synchronization, and progesterone analysis on day of the embryo transfer. It did not have significant difference for the X^2 test ($p>0,05$) between the pregnant and not pregnant females with relation to the embryo stage of maturation, classification of the embryo, coat, reactivity, position, moo, breath, tension and between frosted embryos and the cool. With relation to the clinical signals, the averages of respiratory frequency, rectal temperatures, and the difference between skin temperature and rectal temperature, of females diagnosed as pregnant and not pregnant was $48,44 \pm 9,50$ and $49,14 \pm 9,48$; $39,75 \pm 0,47$ and $39,79 \pm 0,51$; $2,53 \pm 0,75$ and $2,54 \pm 0,96$ respectively, not having significant difference for the t student test ($p>0,05$). However, it had significant difference between skin temperature of pregnant and not pregnant ($37,31 \pm 0,63$ and $37,78 \pm 1,05$), respectively ($p<0,05$). The time handling of these females in minutes was $417,22 \pm 70,09$ and $394,11 \pm 46,47$ ($p = 0,08$), not having significant difference at the time aisle ($p>0,05$) for the pregnant and not pregnant females, respectively. The average of cortisol level for the days D0, D9 and D16 of the pregnant females had been $19,91 \pm 7,44$; $16,25 \pm 7,96$ and $14,66 \pm 7,83$ ng/ml respectively, and the not pregnant females was $17,89 \pm 7,77$; $16,45 \pm 8,12$ and $14,38 \pm 8,73$ ng/ml respectively, not having significant difference for the t student test ($p>0,05$). The average concentrations of progesterone in the day D16 of the pregnant and not pregnant females had been $35,78 \pm 19,07$ and $28,59 \pm 17,55$ ng/ml ($p<0,05$) respectively. The values of BGHI met in very high limits, indicating that all the

animals were in heat stress. The skin temperature represents a factor of thermal discomfort and its increase influenced negative in the pregnancy rate of the receiving embryos. The plasma progesterone level at the moment of the embryo transfer in accordance with varied the physiological state of each receiving embryos. The reduction of the levels of cortisol in elapsing shows the habit of the animals to the handling of the farm

Keys word: heat stress; cortisol, cattle beef; handling; pregnancy rate; embryo transfer

1. INTRODUÇÃO

O manejo reprodutivo demanda contato constante do homem com os animais, justamente em momentos em que o estresse pode ter efeitos negativos sobre a eficiência reprodutiva. O comportamento de cio pode ser diminuído ou suprimido em diferentes circunstâncias tais como tipo de piso, inibição social, calor intenso, barulho, etc. (ORIUHELA, 2000; LANDAETA-HERNÁNDEZ et al., 2002). Em programas de transferência de embriões pouco se tem estudado a respeito do efeito do ambiente sobre as taxas de gestação das receptoras.

Em ambientes tropicais a temperatura do ar tende a ser próxima ou maior que a corporal, tornando ineficaz a perda de calor e com isso incrementando o estresse do animal (SILVA & GAUDIOSI, 1995) limitando o desenvolvimento, a produção e a reprodução (CAMPOS et al., 2002). A capacidade do animal de se ajustar fisiologicamente ao estresse por calor em função de altas temperaturas e umidade relativa do ar têm sido avaliada fisiologicamente por alterações da temperatura retal e da frequência respiratória, explicando a tentativa do animal em perder o calor absorvido (PIRES et al., 2004, MORAIS et al., 2004). Um ambiente é considerado confortável quando o animal está em equilíbrio térmico com o mesmo, ou seja, o calor produzido pelo metabolismo é perdido para o meio ambiente sem prejuízo para si mesmo. Alguns índices têm sido usados para medir o conforto ou o desconforto dos animais em relação às condições ambientais, entre eles estão o índice de temperatura e umidade (ITU), calculado a partir da combinação de temperatura e umidade, e o índice de temperatura de globo e umidade (ITGU) baseado na umidade e na radiação recebida pelo animal (SILVA, 2000).

Vacas holandesas expostas ao estresse por calor por pelo menos um dia

de temperatura máxima $>29^{\circ}\text{C}$ antes da inseminação artificial, obtiveram proporção de gestação menor ($p<0,001$) que vacas não expostas a este fator (CHEBEL et al., 2004). BORGES et al. (1998) observaram aumento do número de embriões não viáveis e de oócitos coletados de novilhas mestiças holandês-zebu no período de maior temperatura ($p<0,10$), mas não houve efeito sobre o número total de estruturas e de embriões viáveis. VASCONCELOS et al. (2006) observaram que em vacas Holstein receptoras de embriões o aumento da temperatura retal diminuiu a taxa de prenhez no dia 25 pós inovulação ($p<0,05$) e aumentou a perda embrionária ($p<0,10$).

A concentração plasmática de progesterona é um fator importante para obter êxito na transferência de embriões. GREGORY et al. (1986) demonstraram que receptoras que apresentaram níveis de progesterona acima de 4 ng/ml tiveram maior probabilidade de se tornarem prenhes, considerando embriões de mesma qualidade. Portanto, se forem usadas técnicas de manejo que propiciem melhores concentrações plasmáticas adequadas de progesterona, potencialmente se poderá melhorar os índices de prenhez.

As conseqüências do clima tropical do Brasil no desempenho reprodutivo de bovinos têm sido pouco estudadas, e em uma situação de manejo específico e constante como observado em programas de transferência de embriões, os fatores climáticos podem ter impacto maior. Este trabalho teve por finalidade testar a hipótese de que fatores bioclimáticos podem afetar a prenhez de receptoras bovinas de embriões.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Fazenda Sete Estrelas Embriões, localizada no município de Terenos, Mato Grosso do Sul (20°20'0" S, 55°2'52" W, altitude 301 metros) nos meses de Fevereiro e Março de 2004. Foram registrados dados de três lotes de receptoras mestiças provenientes de cruzamento industrial e com a mesma condição corporal: lote1 (n=38), lote2 (n= 26) e lote3 (n=30), totalizando 94 fêmeas, sendo que, deste total, 25 foram inovuladas com embriões congelados e 69 com embriões a fresco oriundos de doadoras da raça Nelore.

As receptoras foram submetidas a um protocolo hormonal de sincronização de cio com as doadoras até a inovulação do embrião. No dia zero (D0) foi inserido um dispositivo intravaginal Progesterona (Cidr[®], Pfizer) e aplicado 2 ml de Benzoato de Estradiol (Estrogin[®], Farmavet), no quinto dia (D5) foi aplicado 2 ml PGF² α (Ciosin[®], Coopers) + 2 ml de eCG (Novormon[®], Tecnopec), no oitavo dia (D8) foi retirado o Cidr[®], no nono dia (D9) aplicou-se 2 ml de Estrogin[®] e no décimo sexto dia (D16) as receptoras receberam os embriões.

No dia da inovulação (D16) as receptoras foram avaliadas através de exame ginecológico, via ultra-som, pela manhã, depois aguardavam em um piquete, e à tarde eram levadas para um corredor de acesso à sala de transferência. Foi calculado, em minutos, o **tempo de manejo** das receptoras (t manejo): considerando o intervalo entre o horário de chegada no curral de manhã até o horário de entrada no corredor, **tempo de espera** (t espera): intervalo de tempo do momento de chegada do piquete até o de entrada na sala de transferência e o **tempo de corredor** (t corredor): intervalo de tempo decorrido entre horário de entrada no

corredor e horário de entrada na entrada na sala de transferência. O horário de entrada na sala de transferência, (horadia) que foram divididas em três classes (13h, 15h e às 17h).

Na sala de transferência foram registrados: o número da receptora, hora de chegada, hora de saída (hh:mm), duração do processo de inovulação (DURAÇÃO), temperatura da sala (°C) e umidade relativa do ar (%) medidos através de um termômetro digital logo após a entrada do animal. Foram mensuradas as seguintes variáveis clínicas: frequência respiratória/minuto (FR), observada através das oscilações do flanco do animal contada em 15 segundos e multiplicado por quatro; temperatura retal (T Retal), medida através de um termômetro digital até que a temperatura se estabilizasse; temperatura da pele (T Pele), medida com termômetro digital de superfície, posicionado na região das costelas, cerca de 20 cm atrás da paleta, 20 cm abaixo da linha do dorso, distante 3 cm do animal e a diferença entre temperatura da pele e retal (DifT). Também foi registrada a pelagem do animal (branca, osco claro, osco escuro, brasina, vermelha, malhada de vermelho e branco e preta) (ANEXO 1).

Quanto ao embrião recebido, foram anotados: número do touro que as doadoras de embriões foram inseminadas (TOURO), partida do sêmen (PARTIDA), número da doadora do embrião (DOADORA), estágio de maturação do embrião (mórula compacta (MC), mórula (MO), blastocisto inicial (BI), blastocisto (BL) e blastocisto expandido (BX)), bem como a classificação da qualidade do embrião (excelente, bom, regular e pobre). O estágio de maturação do embrião e a classificação do embrião foram definidos de acordo com a International Embryo Transfer Society (IETS) (REICHENBACH et al., 2002).

No tronco de contenção foram registrados os comportamentos em relação

a **Mugidos**: escore 0 - sem ocorrência, escore 1 - ocorrência; **Respiração**: escore 1 - não audível, escore 2 - audível e profunda, escore 3 - bufando/ roncando (respiração forçada com emissão de sons); **Postura**: escore 1 - em pé, escore 2 - ajoelhada, escore 3 - deitada; **Tensão**: escore 1 - relaxada (não apresenta movimentos abruptos de cauda e/ou cabeça), escore 2 - tensa (movimentos abruptos de cauda e/ou cabeça), escore 3 - muito tensa (apresenta tremor muscular). Com base nestes dados foi dado um escore quanto à **Reatividade** do animal (Quadro 1), adaptado de PIOVEZAN, (1998) que utilizou esta metodologia para fêmeas durante a pesagem na balança.

QUADRO 1. Reatividade do animal de acordo com os escores de tensão, respiração e mugido.

Reatividade	Escore		
	Tensão	Respiração	Mugido
Sem reatividade aparente ou calmo	1	1 ou 2	0 ou 1
Baixa reatividade ou inquieto	1 (se respiração \geq 2)	1, 2 ou 3 (se mugido=0)	0 ou 1
Média reatividade ou perturbado	1 (se mugido \neq 0) ou 2	1, 2 ou 3 (se mugido=0)	0 ou 1
Reativo ou muito perturbado	2 (se mugido \neq 0) ou 3	1, 2 ou 3 (se mugido=0)	0 ou 1
Muito reativo ou perigoso	3 (se mugido \neq 0)	----	----

A transferência de embriões foi realizada pelo método cirúrgico, realizada no flanco, com sedação prévia e anestesia local. O diagnóstico de gestação e a sexagem fetal foi realizada pelo Médico Veterinário da fazenda, ao final de 60 dias, via palpação transretal e com o auxílio de um aparelho de ultra-som.

Além disso, foram registradas nos dias da inovulação as seguintes variáveis meteorológicas: a temperatura de bulbo seco e de bulbo úmido do local, a cada hora, com o auxílio de um psicrômetro e um globo negro, respectivamente. Com base nestes dados foi calculado o Índice de Temperatura e Umidade (ITU) nos

períodos da manhã (ITUm), tarde (ITUt) e do dia (ITUdia). O ITUm foi calculado das 08h às 11h, o ITUt das 13h às 17h e o ITUdia das 08h às 17h, calculados pela seguinte expressão (SILVA, 2000):

$$\text{ITU} = t_a + 0,36 t_{po} + 41,5 \text{ (expresso em kPa – quilo pascal)}$$

Onde:

t_a = temperatura do ar, °C

t_{po} = temperatura do ponto de orvalho, °C

41,5 = constante,

Também foi calculado o Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU) obtido pela seguinte expressão (SILVA, 2000):

$$\text{ITGU} = t_g + 0,36 t_{po} + 41,5 \text{ (expresso em kPa)}$$

Onde:

t_g = temperatura do termômetro de globo, °C

t_{po} = temperatura do ponto de orvalho, °C

41,5 = constante

Com base neste índice foi calculada a média do ITGU da manhã (ITGUm), da tarde (ITGUt), do dia inteiro (ITGUdia) e ITGU do horário da involução (ITGUin). O ITGUm foi calculado das 08h às 11h, o ITGUt das 13h às 17h e o ITGUdia das 08h às 17h. Este índice é considerado um dos mais precisos indicadores de conforto térmico, uma vez que a temperatura de globo negro expressa não só a temperatura radiante, mas também a ação conjunta de outros elementos climáticos, como umidade do ar e a velocidade do vento (SILVA, 2000). Outras variáveis como temperatura máxima, temperatura mínima, precipitação pluviométrica, velocidade do vento e umidade relativa do ar foram cedidas pela Embrapa Gado de Corte – Campo Grande-MS.

Foram coletadas em tubos heparinizados amostras de sangue das receptoras do lote 2, totalizando 36 receptoras, nos dias D0, D9 e D16 para determinação das concentrações de cortisol, e para progesterona somente no D16, imediatamente após a contenção do animal no tronco pela punção da veia caudal mediana. Após centrifugação a 1500 rpm/15 minutos, o plasma obtido foi estocado em duplicata à – 20°C para posterior determinação das concentrações plasmáticas de progesterona e cortisol.

As análises de cortisol e progesterona foram feitas através de Kits de dosagens imunoenzimáticas (Diagnostic System Laboratories, Inc.) no Laboratório de Fisiologia Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos / USP, Campus de Pirassununga – SP. O coeficiente de correlação intra-ensaio foi de 3,9% e o interensaio foi de 2,2%.

A taxa de gestação obtida foi comparada de acordo com as variáveis: lote, touro, maturação do embrião, classificação do embrião, pelagem, reatividade, variáveis discriminadas quanto à reatividade e processamento do embrião por teste de dispersão de frequência (X^2) utilizando-se o pacote estatístico SAS (1995). As variações fisiológicas, clínicas e duração de manejo foram comparadas pelo teste t de student, considerando-se o nível de significância de 5%.

Para verificar possíveis variações ambientais entre os dias de coleta os dados foram submetidos à análise de variância, pelo Procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1995), considerando efeitos fixos de hora do dia (horadia), lote, diagnóstico de gestação e a interação horadia*lote sobre as características de ITGU do horário de inovulação (ITGUin), tcurral, tespera. A comparação entre médias foi feita pelo Teste de Duncan.

3. RESULTADOS

De um total de 94 fêmeas, 62,77% foram diagnosticadas como gestantes e 37,23% como não gestantes, ao final de 60 dias.

As médias de temperaturas de bulbo seco (TBS), bulbo úmido (TBU), globo negro (TGN), velocidade do vento (VV), precipitação pluviométrica (PPt), umidade relativa do ar (UR), temperaturas mínima (Tmin), máxima (Tmax) e média (Tméd) nos dias das inovulações, encontram-se sumarizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Variáveis meteorológicas referentes aos dias de inovulação das receptoras de embrião.

Data da inovulação	TBS (°C)	TBU (°C)	TGN (°C)	VV (m/s)	PPt (mm)	UR (%)	Tmin (°C)	Tmax (°C)	Tméd (°C)
26/02/04 (lote1)	32,25	25,6	49,0	3,1 ^a	0,0 ^b	59 ^c	21,5	33,9	26,5 ^b
02/03/04 (lote2)	29,73	25,86	47,78	3,0 ^b	0,0 ^b	63 ^b	23,7	35,2	28,35 ^a
16/03/04 (lote3)	31,27	26	46,24	1,2 ^c	11,7 ^a	74 ^a	21,7	32,7	26,2 ^b

TBS: Temperatura do bulbo seco; TBU: temperatura do bulbo úmido; TGN: temperatura do globo negro; (Variáveis coletadas na Fazenda); VV: velocidade do vento; PPt: precipitação pluviométrica; UR: umidade relativa do ar; Tmin: temperatura mínima; Tmax: temperatura máxima; Tméd: temperatura média; (Médias diárias obtidas em Relatórios da Embrapa Gado de Corte – CNPGC, no ano de 2004).

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste de Duncan.

Verificou-se correlação negativa entre temperatura do ar, velocidade do vento, ITGUt e ITGUdia e a DifT, sendo esta, significativa tanto para fêmeas gestantes como para as não gestantes (Tabela 2).

Tabela 2. Correlação entre temperatura do ar e diferença de temperatura da pele e retal (DifT), Índice de temperatura de globo e umidade da tarde (ITGUt) e DifT, ITGU do dia e DifT, e velocidade do vento (VV) e DifT das receptoras não gestantes e gestantes.

	Gestante (valor de p)	Não gestante (valor de p)
Temperatura ar vs DifT	-0,54 (p<0,0001)	-0,63 (p<0,0001)
ITGUt vs DifT	-0,40 (p<0,005)	-0,54 (p<0,001)
ITGUdia vs DifT	-0,40 (p<0,005)	-0,59 (p<0,001)
VV vs DifT	-0,41 (p<0,005)	-0,58 (p<0,001)

DifT: diferença entre temperatura da pele e retal; ITGUt: índice de temperatura de globo e umidade da tarde; ITGUdia: índice de temperatura de globo e umidade do dia; VV: velocidade do vento.

Os valores médios dos índices de temperatura de globo e umidade (ITGU) e de temperatura e umidade (ITU) referentes ao dia da inovulação das receptoras, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores médios dos índices de temperatura de globo e umidade (ITGU) e índice de temperatura e umidade (ITU) referentes ao dia da inovulação das receptoras.

Lotes	Data da inovulação	ITGU manhã	ITGU tarde	ITGU dia	ITU manhã	ITU tarde	ITU dia
Lote 1	26/02/04	94,47 ^c	97,61 ^a	96,21 ^a	77,65 ^b	81,61 ^a	79,18 ^a
Lote 2	02/03/04	95,63 ^b	94,99 ^b	96,21 ^a	78,47 ^a	78,78 ^c	76,49 ^a
Lote 3	16/03/04	97,74 ^a	89,80 ^c	93,77 ^b	77,52 ^b	80,00 ^b	78,63 ^a

Manhã: média dos índices de conforto térmico das 7:00h às 11:00h; Tarde: média dos ITUs das 12:00h às 17h; Dia: média do dia (7:00h às 17:00h).

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste de Duncan.

O modelo de análise adotado foi significativo para as seguintes variáveis: ITGU_{in} (Anova: $P < 0,0001$; $R^2 = 0,95$; $CV = 1,84$), comparando-se com lote ($p < 0,001$), horadia ($p < 0,001$) e interação lote*horadia ($p < 0,001$); tespera (Anova: $P < 0,0001$; $R^2 = 0,88$; $CV = 18,76$), comparando-se com lote ($p = 0,004$), horadia ($p < 0,001$) e interação lote*horadia ($p = 0,002$) e tmanejo (Anova: $P < 0,0001$; $R^2 = 0,64$; $CV = 10,47$) comparando-se com lote ($p < 0,004$), horadia ($p < 0,001$) e interação lote*horadia ($p = 0,002$); não sendo significativo para diagnóstico de gestação.

A distribuição do ITGU dos três lotes de acordo com o horário da inovulação é ilustrado na Figura 1.

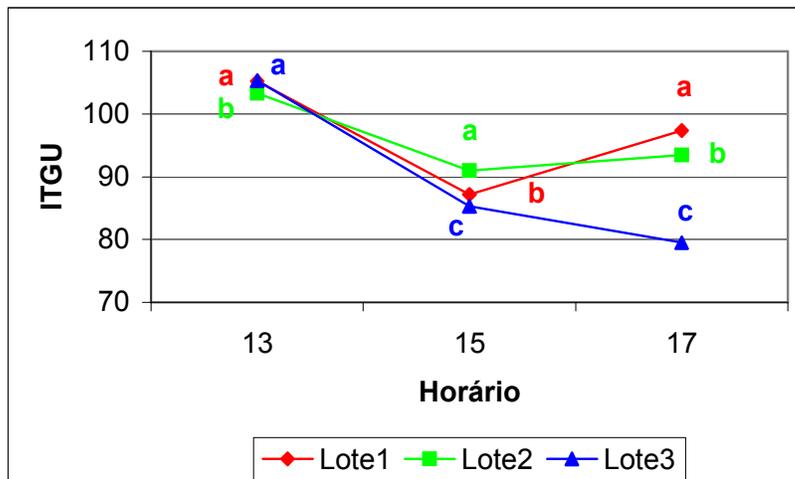


Figura 1. Distribuição do ITGU nos diferentes horários da inovulação (ITGUin) em fêmeas bovinas receptoras de acordo com o lote trabalhado: Lote 1 (26/02/04), lote 2 (02/03/04) e lote 3 (16/03/04). Letras diferentes no mesmo horário indicam diferença significativa em nível de 5% de significância pelo teste de tukey.

O manejo médio das fêmeas, em minutos, foi de $417,22 \pm 70,09$ e $394,11 \pm 46,47$ e o corredor foi de $65,86 \pm 48,06$ e $62,91 \pm 43,11$ para as fêmeas gestantes e não gestantes, respectivamente (Figura 2; Tabela 4), não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste *t de student*. A probabilidade de prenhez das receptoras de embriões em relação ao horário de entrada destas fêmeas na sala de transferência é ilustrado na Figura 3.

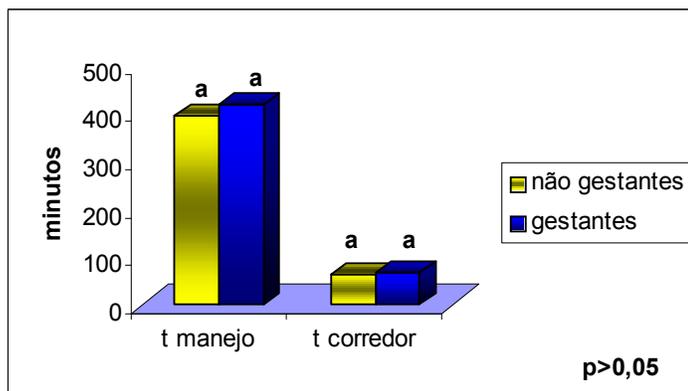


Figura 2. Média do tempo de espera no curral (t curral), do tempo de espera no corredor de acesso à sala de transferência (t corredor) em minutos das fêmeas diagnosticadas como gestantes e não gestantes. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste *t de student* ($p > 0,05$).

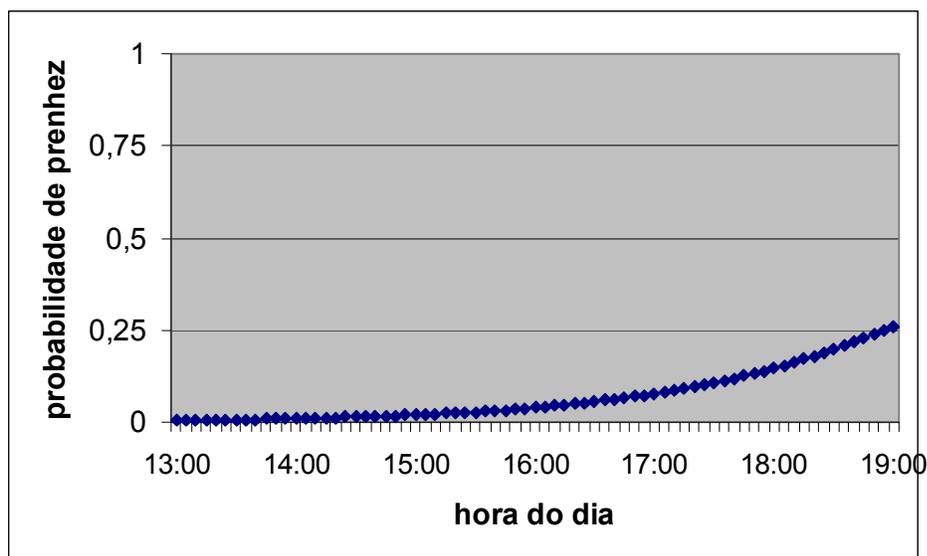


Figura 3. Probabilidade de prenhez de vacas receptoras de embriões em relação ao horário de entrada na sala de transferência em uma propriedade no Brasil Central.

Tabela 4. Caracterização do manejo (tempo de espera no curral e tempo de espera no corredor de acesso à sala de transferência – média e desvio padrão) de fêmeas bovinas receptoras de embriões de acordo com o diagnóstico de gestação.

	Gestantes	Não Gestantes
t curral (minutos)	417,22 ± 70,09 ^a	394,11 ± 46,47 ^a
(min – max)	(398,95 - 435,49)	(378,15 - 410,08)
t corredor (minutos)	65,86 ± 48,06 ^a	62,91 ± 43,11 ^a
(min – max)	(53,34 - 78,39)	(48,11 - 77,72)

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste *t de student* em nível de 5% de significância.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$), pelo teste do χ^2 entre as fêmeas gestantes e não gestantes com relação ao estágio de maturação do embrião, classificação da qualidade do embrião, pelagem, reatividade, postura, mugido, respiração, tensão e entre embriões congelados e a fresco (ANEXO 2 e 3).

Com relação aos sinais clínicos, as médias de frequência respiratória, temperaturas retal, e a diferença entre temperatura da pele e retal, não diferiram ($p > 0,05$) pelo teste *t de student* entre as fêmeas diagnosticadas como gestantes e não gestantes, entretanto houve diferença significativa entre temperatura da pele de

gestantes e não gestantes ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Dados clínicos no momento da inovulação de embriões Nelore de receptoras bovinas de acordo com resultado de prenhez.

Dados clínicos	Gestantes	Não gestantes
Frequência respiratória (mov/min)	48,44±9,50 ^a	49,14±9,48 ^a
Temperatura retal (°C)	39,75±0,47 ^a	39,79±0,51 ^a
Temperatura da pele (°C)	37,31±0,63 ^b	37,78±1,05 ^a
DifT (°C)	2,53±0,75 ^a	2,54±0,96 ^a

DifT: diferença entre temperatura de pele e retal (°C). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste *t de student* em nível de 5% de significância.

As concentrações médias de cortisol para os dias D0, D9 e D16 foram $19,13 \pm 7,48$; $16,32 \pm 7,89$ e $14,56 \pm 8,02$ ng/ml, respectivamente (Figura 4). Não houve diferença significativas ($p > 0,05$) entre os dias D0 e D9, D9 e D16, entretanto houve diferença significativa entre os dias D0 e D16 ($p < 0,05$).

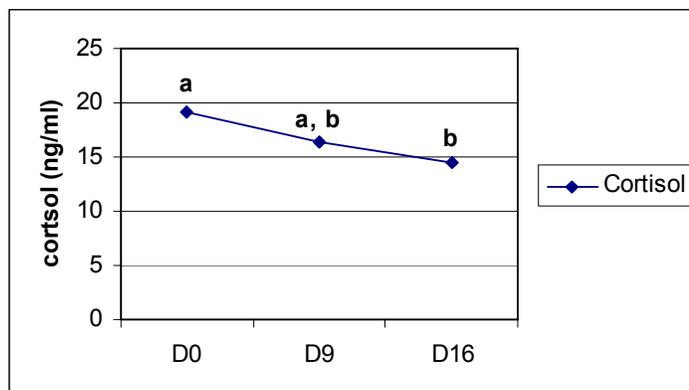


Figura 4. Curva da concentração média de cortisol plasmático (ng/ml) das receptoras de embriões do lote 2 nos dias D0, D9 e D16. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste *t de student* ($p < 0,05$).

As concentrações médias de cortisol para os dias D0, D9 e D16 das fêmeas gestantes foram $19,91 \pm 7,44$; $16,25 \pm 7,96$ e $14,66 \pm 7,83$ ng/ml, respectivamente e das fêmeas não gestantes foram $17,89 \pm 7,77$; $16,45 \pm 8,12$ e $14,38 \pm 8,73$ ng/ml respectivamente, não havendo diferença significativa pelo teste *t de student* ($p > 0,05$).

As concentrações médias de progesterona no dia D16 das fêmeas gestantes e não gestantes foram $35,78 \pm 19,07$ e $28,59 \pm 17,55$ ng/ml ($p < 0,05$) respectivamente e de cortisol foram $14,66 \pm 7,83$ e $14,38 \pm 8,73$ ng/ml ($p > 0,05$), (Figura 5). Não houve correlação ($p > 0,05$) entre cortisol e progesterona no dia da inovulação para gestantes (0,39) e não gestantes (0,27), respectivamente.

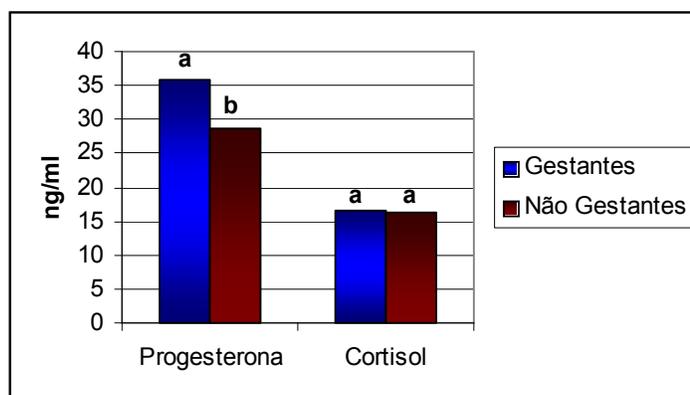


Figura 5. Concentração média de progesterona e cortisol plasmático (ng/ml) do lote 2 no dia da inovulação das receptoras de embriões gestantes e não gestantes. Letras diferentes indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste *t de student*.

4. DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi avaliado o efeito do manejo, de variáveis ambientais e fisiológicas sobre a taxa de gestação de receptoras de embriões. Em relação à taxa de gestação aos 60 dias pós inovulação (62,77%), encontrou-se valor acima dos relatados, aos 45 dias pós-inovulação por VASCONCELOS et al. (2006), de 45,8% e DROST et al.(1999) de 35,4%, e compatíveis aos encontrados por REICHENBACH et al. (2003) que observaram em transferências de embriões a fresco e classificados de 1 a 3, conforme a IETS, obtiveram taxas médias de

gestação em torno de 60%.

A capacidade do animal de resistir ao estresse por calor em função de altas temperatura e umidade relativa do ar, tem sido avaliada fisiologicamente por alterações na temperatura retal e na frequência respiratória, explicando a tentativa do animal perder o calor absorvido (PIRES et al., 2004, MORAIS et al., 2004).

Quanto à frequência respiratória não houve diferença significativa entre fêmeas gestantes e não gestantes, entretanto ambas estavam superiores à normalidade, que é de 29 movimentos por minuto para vacas leiteiras em estação (DUKES, 1996) indicando que estas fêmeas ativaram mecanismos fisiológicos para perda de calor para atingir a homeostase. A temperatura da pele pode ser utilizada como um indicador da sensação de conforto ou estresse dos animais. Os achados encontrados neste estudo demonstraram que a temperatura da pele influenciou negativamente na taxa de gestação, demonstrando que a dificuldade em perder calor, com conseqüente aumento de temperatura interna pode ter prejudicado o desenvolvimento embrionário como já observado por MALAYER & HANSEN (1990). A temperatura retal não diferiu estatisticamente entre gestantes e não gestantes, como já havia sido observado por KATAYAMA et al. (2004) nesta mesma propriedade no mês de novembro, contrastando com VASCONCELOS et al. (2006) que observaram, em vacas Holandesas receptoras de embriões, que o aumento da temperatura retal no sétimo dia após o estro diminuiu a taxa de prenhez no dia 25 ($p < 0,05$) e aumentou a perda embrionária ($p < 0,10$). Entretanto, a média da temperatura retal das receptoras estiveram acima da normalidade citada por DUKES (1996) em que os valores máximos para bovinos de corte é de 39,1°C. Experimentos *in vivo* demonstraram que o estresse por calor no primeiro dia de prenhez reduziu a sobrevivência do embrião e a taxa de prenhez, entretanto, a partir do terceiro dia o

estresse por calor não afetou essa taxa (EALY et al., 1993), indicando que embriões bovinos se tornam mais resistentes aos efeitos prejudiciais do estresse por calor materno com o avanço do seu estágio de desenvolvimento.

A diferença entre temperatura da pele e retal indicaram que não houve diferença significativa, contrastando com os dados encontrados por KATAYAMA et al. (2004), nesta mesma propriedade no mês de novembro, onde encontraram diferença significativa entre fêmeas gestantes e não gestantes (4,64°C e 3,62°C, respectivamente $p < 0,05$), mostrando uma maior eficiência para perda de calor das fêmeas gestantes.

Foi avaliado o tempo de manejo das fêmeas e tempo de corredor de acesso à sala de transferência, como um fator estressante para essas fêmeas. Não houve diferença significativa entre as gestantes e não gestantes tanto para tempo de manejo quanto para tempo de corredor, diferindo dos resultados encontrados por KATAYAMA et al. (2004), que encontraram diferença significativa ($p < 0,05$) no tempo de espera no curral, (3h28m e 2h50m para fêmeas não gestantes e gestantes, respectivamente). Provavelmente, porque os animais do experimento realizado por KATAYAMA et al. (2004), após o exame ginecológico aguardavam em um curral sem sombra e sem água até o momento da inovulação, e neste experimento, as fêmeas aguardavam em um piquete com condições opostas às anteriormente. Esta diferença no manejo muito provavelmente minimizou o efeito do estresse, o que pode ser reforçado pelo fato das fêmeas que foram trabalhadas no final da tarde, horários com ITGU significativamente mais baixo terem apresentado maior probabilidade de prenhez (Figura 3).

Vacas expostas ao estresse por calor ao menos um dia de temperatura máxima $> 29^{\circ}\text{C}$ antes da inseminação artificial, tiveram taxa de gestação menor

($p < 0,001$) que vacas não expostas a este fator (CHEBEL et al., 2004). Entretanto, nos achados deste experimento, apesar da temperatura e umidade relativa do ar estarem elevadas, não houve diferença significativa quanto à taxa de prenhez.

O ITU leva em consideração apenas temperatura e umidade, e é um índice bastante utilizado para medir o desconforto térmico dos animais. De acordo com HAHN (1985) citado por SILVA (2000), a escala de aceitabilidade para ITU, feita para condições de clima temperado, um valor de ITU menor que 70 é considerada uma condição de conforto térmico; valores entre 71 e 78 são considerados críticos; entre 79 e 83 indicam perigo; acima de 83 já constitui uma situação de emergência. Os valores de ITU encontrados neste trabalho foram acima de 77, indicando uma situação de desconforto térmico para os animais, independente da condição de prenhez positiva ou não.

Quanto ao ITGU, não existem escalas para avaliar o desconforto térmico dos animais (SILVA, 2006), mas neste estudo os valores estavam acima de 93 e atingiram picos entre as 0 e 14 horas, quando o desconforto foi mais intenso.

O estudo mostrou um declínio nas concentrações de cortisol nos dias D0, D9 e D16, e a diferença significativa entre o primeiro dia de manejo e o dia da inovulação (D0 vs D16) sugerindo que houve uma habituação dos animais ao manejo da fazenda.

De acordo com ENCARNAÇÃO (1997) os níveis de cortisol em bovinos oscilam entre 2 e 12 ng/ml e as concentrações plasmáticas nas receptoras de embriões estavam acima destes parâmetros, tanto para gestantes como para não gestantes, não havendo diferença quanto aos dias (D0, D9 e D16) em relação ao diagnóstico de gestação, demonstrando, que todas as receptoras estavam provavelmente sob condições de estresse elevados.

A progesterona tem a função reguladora do ciclo estral e representa o hormônio essencial da gestação. Em todas as espécies, a fonte de progesterona está garantida no início da gestação pelo corpo lúteo, que na vaca conserva sua função durante toda a gestação. A alta concentração de progesterona está relacionada com baixos níveis de estrógeno e com a inibição da secreção de hormônios luteolíticos como a prostaglandina (DUKES, 1996; GALIMBERTI et al., 2001).

DROST et al. (1999) consideravam a prenhez aos 22 dias pós inovulação quando níveis de progesterona estivessem acima de 1ng/ml, já PINHO et al. (1988) consideraram níveis acima de 2,0 ng/ml aos 17 dias pós inseminação artificial. GREGORY et al. (1986) citaram que receptoras que apresentaram níveis de progesterona acima de 4 ng/ml tiveram maior probabilidade de se tornarem prenhes, considerando embriões de mesma qualidade. Neste trabalho, as concentrações de progesterona foram significativamente diferentes para as receptoras gestantes e não gestantes, assim como encontrado por PINHO et al. (1988) e em ambas, gestantes e não gestantes, as concentrações estavam superiores a 4 ng/ml. O aumento da progesterona se deve a um estímulo da função luteínica dos corpos lúteos resultante da ovulação de folículos estimulados pelo eCG (BINELLI et al., 2005;), e também pela secreção da adrenal, como encontrado por WILLARD et al. (2005), os quais verificaram que o aumento agudo de ACTH elevou a progesterona de origem adrenal no meio da gestação ($139,0 \pm 5$ dias) de novilhas Brahman. NASSER et al. (2004) verificaram que houve aumento da progesterona plasmática decorrente do tratamento com eCG no quinto dia do ciclo estral, aumentando a taxa de prenhez de receptoras de embriões.

Níveis elevados de cortisol inibem a secreção de GnRH pelo hipotálamo e

de LH pela hipófise, essencial na fase pré-ovulatória (BREEN et al., 2005; MACFARLANE et al., 2000). O cortisol pode agir negativamente sobre a função lútea, e conseqüentemente nas concentrações de progesterona, como encontrado por LEYVA-OSCARIZ. et al. (1996), que observaram que cortisol associado com a estação seca pode diminuir a progesterona secretada pelo corpo lúteo em vacas Carora em clima tropical. EDWARDS et al. (1987) observaram que novilhas doadoras de embriões transportadas por 15 a 60 minutos a cada 12 horas por quatro dias, que a concentração plasmática de cortisol foi maior nas fêmeas “estressadas” em comparação as fêmeas controle ($34,8 \pm 2,2$ vs $28,4 \pm 2,5$ ng/ml) ($p < 0,1$). Entretanto, neste estudo, não houve correlação entre cortisol e progesterona no dia da inovulação para gestantes e não gestantes como encontrado por WILLARD, et al., (2005).

5. CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que os índices de conforto térmico, tanto as fêmeas gestantes como não gestantes, estavam em um nível de estresse elevados. A temperatura da pele representa um fator de desconforto térmico e influenciou na taxa de gestação das receptoras de embriões. Houve diferença significativa na concentração plasmática de progesterona no momento da inovulação de receptoras de embriões gestantes e não gestantes. Quanto aos níveis de cortisol, não afetou a taxa de prenhez, mas mostrou que os animais tendem a se habituar ao manejo da fazenda. Receptoras que entraram por último na sala de transferência, ou seja, que aguardavam até o momento da inovulação em um ambiente com menos fatores

estressantes (disponibilidade de capim e sombra), obtiveram maior probabilidade de prenhez. Novos estudos devem ser realizados para avaliar se a taxa de prenhez de receptoras de embriões aumentaria se os efeitos do estresse por calor fossem suprimidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BINELLI, M.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.; BERTRAN, C.M. et al. Estratégias para inibir a luteólise e aumentar a fertilidade em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia-GO. **Anais...** 2005. CD-ROM. Palestras.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. Influência da temperatura na qualidade de embriões de novilhas mestiças. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998. Botucatu. **Anais...** Barueri-SP: Videolar Multimídia Ltda, 1998. CD-ROM. Manejo e reprodução. MAN024.

BREEN, K.M.; BILLINGS, H.J.; WAGENMAKER, E.R. et al. Endocrine basis for disruptive effect of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**, v.146, n.4, p.2107-2115, 2005.

CAMPOS, A.T.; PIRES, M.F.A.; CAMPOS, A.T. et al. Efeito do estresse calórico sobre a produção de leite de vacas holandesas na região de Coronel Pacheco-MG. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife-PE. **Anais...** Caucaia-CE: CD+, 2002. CD-ROM. Bioclimatologia e Etologia.

CHEBEL, R.C.; SANTOS, J.E.P.; REYNOLDS, P.P. et al. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Anim. Reprod. Sci**, v.84, p.239-255, 2004.

DROST, M.; AMBROSE, J.D.; THATCHER, M-J. et al. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. **Theriogenology**, v.52, p.1161-1167, 1999.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 856p.

EALY, A.D.; DROST, M.; HANSEN, P.J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **J. Dairy Sci**, v.76, p. 2899-2905, 1993.

EDWARDS, L.M.; RAHE, C.H.; GRIFFIN, J.L. et al. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated Hereford heifers. **Theriogenology**, v.28, n.3, p.291-299, 1987.

ENCARNAÇÃO, R. O. **Estresse e produção animal**. 3. reimp. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1997. 32p.

GALIMBERTI, A.M.; FONSECA, F.A.; ARAÚJO, M.C.C. et al. Taxa de gestação e níveis plasmáticos de progesterona, em receptoras de embrião bovino, tratadas com busarelina após a inovulação. **Rev. Bras. Zootec**. v.30, n.2, p.353-359, 2001.

GREGORY, R.M.; GAMBARINI, M.L.; BOLZONI, P.A. Concentração de progesterona sérica e índice de gestação em vacas receptoras de embriões. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE

EMBRIÕES, 1, 1986. Jaboticabal-SP. **Anais...Jaboticabal**: SBTE, p.98, 1986.

KATAYAMA, K.A.; MACEDO, G.G.; TZEIMAZIDES, S.P.; RUEDA, P.M.; REZENDE, C.R.L.; ZÚCCARI, C.E.S.N.; COSTA e SILVA, E.V. Manejo de receptoras bovinas em programas de transferência de embriões e taxas de gestação – Resultados preliminares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande-MS. **Anais...Campo Grande**: Unipress Disc Records, 2004.CD-ROM. *Ambiência, Bioclimatologia e Etologia*. AMB048.

LANDAETA-HERNANDEZ, A.J.; YELICH, J.; LEMASTER, J.W. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. **Theriogenology**, v.57, p. 1357-1370, 2002.

LEYVA-OSCARIZ, H.; QUERALES, G.; SAAVEDRA, J. et al. Hábeas luteum activity, fertility, and adrenal cortex response in lactating Carora cows during rainy and dry seasons in tropics of Venezuela. **Domest. Anim. Endocrinol.** v. 13, n. 4, p. 297-306, 1996.

MACFARLANE, M.S.; BREEN, K.M.; SAKURAI, H. et al. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. **Anim. Reprod. Sci.**, v.63, p.167-175, 2000.

MALAYER, J.R.; HANSEN, P.J. Differences between Brahman and Holstein cows in heat-shock induced alterations of synthesis and secretion by oviducts and uterine endometrium. **J. Anim. Sci.**, v.68, p.266-280, 1990.

MORAIS, D.A.E.; SILVA, R.G.; SOUZA JÚNIOR, S.C. et al. Correlações entre variáveis ambientais e parâmetros físicos e fisiológicos de adaptação de vacas leiteiras na região semi-árida. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande-MS. **Anais...Campo Grande**: Unipress Disc Records, 2004.CD-ROM. *Ambiência, Bioclimatologia e Etologia*. AMB029.

NASSER, L.F.; REIS, E.L.; OLIVEIRA, M.A. et al. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* X *Bos taurus*. **Theriogenology**, v.62, n. 9, p. 1577-1584, 2004.

ORIHUELA, A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v.70, n.1, p. 1-16, 2000.

PINHO, T.G.; MUCCIOLO, R.G.; VERRESCHI, T.T.N. Níveis de progesterona no plasma sanguíneo durante o ciclo estral e início de prenhez em bovinos mestiços leiteiros (*Bos taurus* x *Bos indicus*). **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.12, n.1, p.17-26, 1988.

PIOVEZAN, U. **Análise de fatores genéticos e ambientais na reatividade de quatro raças de bovinos de corte ao manejo**.1998. 51f.Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP, Jaboticabal, 1998.

PIRES, M.F.A.; MARTINEZ, M.F.; SILVA, M.V.G.B. et al. Temperatura retal e frequência respiratória de bezerros mestiços em ambiente controlado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande-

MS. **Anais...**Campo Grande: Unipress Disc Records, 2004.CD-ROM. Ambiência, Bioclimatologia e Etologia. AMB058

REICHENBACH, H.D.; ARNOLD, G.J.; BAUERSACHS, S. et al. **Mortalidade embrionária na TE: Redução através da melhor compreensão dos mecanismos da comunicação materno embrionária?** In: O Embrião, n.17, p.3-6, Jaboticabal – SP: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2003.

SAS – Statistical Analysis system user's guide: Stat., Version 6.11. Cry: SAS Institute, 1995.

SILVA, R.G. **Introdução à bioclimatologia animal.** São Paulo: Nobel, 450p, 2000.

SILVA, R.G. **ITGU.** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por: kamylakatayama@yahoo.com.br em 7 jan. 2006.

SILVA, R.G.; GAUDIOSI, M.C. Termólise evaporativa em ovinos sob altas temperaturas. In: CONGRESSO DE BIOMETEROLOGIA, 1., 1995, Jaboticabal-SP. **Anais...**Jabotical: Anais do Primeiro Congresso Brasileiro de Biometerologia, 1995. p.193- 214.

VASCONCELOS, J.L.M.; DEMÉTRIO, D.F.B.; SANTOS, R.M. et al. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cows recipients. **Theriogenology**, v.65, p. 192-200, 2006.

WILLARD, S.T.; LAY, D.C.Jr.; FRIEND, T.H. et al. Plasma progesterone response following ACTH administration during mid-gestation in pregnant Brahman heifer. **Theriogenology**, v.63, n.4, p. 1061-1069, 2006.

ANEXOS

ANEXO 2. Estágio de maturação e classificação dos embriões recebidos por receptoras bovinas em uma central de transferência de embriões (Fazenda Sete Estrelas Embriões) de acordo com o diagnóstico de gestação.

	n° receptoras gestantes	n° receptoras não gestantes	Valor p
Estágio de maturação do embrião			
Blastocisto inicial	9	4	
Blastocisto	26	14	>0,05
Blastocisto expandido	7	5	
Mórula compacta	17	12	
Classificação do embrião			
Bom	8	4	
Regular	31	19	>0,05
Pobre	20	12	

ANEXO 3. Distribuição da pelagem e de dados comportamentais tais como: reatividade, postura, mugido, respiração e tensão de receptoras bovinas da Fazenda Sete Estrelas Embriões de acordo com o diagnóstico de gestação.

	n receptoras gestantes	n receptoras não gestantes	Valor p
Pelagem			
Branca e Osco claro	39	22	>0,05
Brasina, Osco escuro e Vermelha	8	9	
Preta	12	4	
Reatividade			
Sem reatividade aparente (calmo)	42	25	>0,05
Média reatividade (perturbado)	17	10	
Postura			
Em pé	58	33	>0,05
Ajoelhada	0	2	
Deitada	1	0	
Mugido			
Sem ocorrência	57	33	>0,05
Ocorrência	2	2	
Respiração			
Não audível	49	31	>0,05
Audível	10	4	
Tensão			
Relaxada	45	26	>0,05
Tensa	14	9	