

Associação da temperatura vaginal com estabelecimento de prenhez em receptoras Girolando sob estresse térmico¹

Sheila Costa de Souza Marques², Clara Slade Oliveira³, Célio de Freitas³, Viviane L. Feuchard⁴, Luiz Sergio de Almeida Camargo⁵, Bruno Campos de Carvalho^{5,6}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. Parte de Atividade liderada por Bruno Campos de Carvalho.

²Graduanda em Medicina Veterinária, UBM. Bolsista PIBIC CNPq. e-mail: sheilacs.marques@gmail.com

³Analista, Embrapa Gado de Leite. e-mail: clara.oliveira@embrapa.br; celio.freitas@embrapa.br

⁴Graduada em Medicina Veterinária, USS. e-mail: Viviane.lfeuchard22@gmail.com

⁵Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. e-mail: luiz.camargo@embrapa.br

⁶Orientador. e-mail: Bruno.carvalho@embrapa.br

Resumo: O estresse térmico está diretamente relacionado à diminuição dos índices produtivos e reprodutivos dos rebanhos leiteiros. Porém, pouco sabemos sobre os limites de temperatura e como esta afeta o estabelecimento da gestação. Delineamos um estudo para entender como ocorre a regulação térmica no início da gestação e se a mesma afeta o diagnóstico inicial de prenhez. No dia 7, receptoras sincronizadas com análogo de prostaglandina que tivessem apresentado cio 8 dias atrás receberam embrião blastocisto grau 1 e foi inserido no momento da transferência um termômetro *datalogger* programado para mensurar a temperatura vaginal a cada 10 minutos. O termômetro permaneceu por 3 a 4 dias de verão intenso nos animais. Os dados de temperatura ambiente e umidade foram coletados em estação meteorológica do CEMM para cálculo do ITU. Os dados foram analisados de acordo com a curva de resfriamento dos animais (17 h – 4h), através das médias de cada hora para cada animal. Foi realizada transformação de Johnson e Anova (GLM). Também foi analisado as temperaturas médias da hora mais quente do dia da transferência por Anova (GLM). Os fatores: diagnóstico de prenhez, pelagem, peso e idade foram considerados, no nível de 5% de significância. O estresse térmico moderado, caracterizado pelo ITU maior que 79, esteve presente entre 13h e 20h. O pico de temperatura vaginal nas receptoras esteve presente entre 16h e 17h. A pelagem escura determinou maiores temperaturas vaginais durante o resfriamento (17 h-4h). O diagnóstico de gestação, peso e idade não afetaram as temperaturas vaginais nesta análise. Na análise de pico de temperatura no dia da TE (16 h), houve interferência da temperatura vaginal no estabelecimento de prenhez, sendo as temperaturas dos animais que se tornariam gestantes maiores. Também foram observadas maiores temperaturas vaginais em animais mais novos. Os fatores peso e pelagem não afetaram as temperaturas vaginais nesta análise. Conclui-se que as temperaturas vaginais podem ser influenciadas pela pelagem e idade dos animais, e podem estar associadas com o futuro estabelecimento de gestação.

Palavras-chave: embrião, estresse térmico, fertilização *in vitro*, regulação térmica, temperatura corpórea

Association of vaginal temperature with pregnancy establishment in Girolando recipients under thermal stress

Abstract: Thermal stress is directly related to the decrease of productive and reproductive performance in dairy herds. However, we know little about temperature limits and how this affects the establishment of gestation. We outline a study to understand how thermal regulation occurs at the beginning of gestation and whether it affects pregnancy establishment. On day 7, recipients synchronized with prostaglandin analogues who had displayed heat signs 8 days before received a grade 1 blastocyst. A datalogger thermometer programmed to measure the vaginal temperature every 10 minutes was inserted at the moment of the embryo transfer. The thermometer remained for 3 to 4 days of intense summer in the animals. Ambient temperature and humidity data were collected in CEMM meteorological station to calculate ITU. The data were analyzed according to the cooling curve of the animals (17h - 4h), using hourly means for each animal. Johnson transformation and Anova (GLM) was performed to analyze means. Mean vaginal temperatures of the hottest hour of the day of embryo transfer were also analyzed using Anova (GLM). The factors: pregnancy diagnosis, coat color, weight and age were considered at the 5% level of significance. Moderate thermal stress, characterized by ITU greater than 79, was present between 1 pm and 4 am. The peak of vaginal temperature in the recipients was present between 4 pm and 5 pm. The dark coat determined higher

XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019

vaginal temperatures during the cooling curve (17 h-4 h). The diagnosis of gestation, weight and age did not affect vaginal temperatures in this analysis. In the analysis of temperature peak on the day of the ET (4 pm), there was interference of the vaginal temperature in the establishment of pregnancy, being the temperatures of the animals that would become pregnant higher. Vaginal temperatures were also increased in younger animals. The weight and coat factors did not affect vaginal temperatures in this analysis. We conclude that vaginal temperatures may be influenced by the coat color and age of the animals, and may be associated with the future establishment of gestation.

Keywords: embryo, thermal stress, in vitro fertilization, thermal regulation, body temperature

Introdução

O estresse térmico ocorre quando as cargas calóricas do ambiente são adicionadas ao calor do metabolismo do animal (Coppock., 1985) e a capacidade de dissipar essa carga para o ambiente se torna menor (Bohmanova et al., 2007). A interferência do estresse térmico na qualidade oocitária, no desenvolvimento inicial do embrião, e também nos mecanismos referentes à liberação de gonadotrofinas e hormônios é descrita (Vasconcelos e Demetrio, 2011; Costa et al., 2016), e na implantação do embrião (Rensis e Scaramuzzi, 2003), por efeito de corpo lúteo de má qualidade (Grunert et al., 2005). Segundo Wolfenson et al. (2000), durante o verão as taxas de concepção e prenhez são reduzidas por aumento de temperatura uterina (Gwazdauskas et al., 1981).

Delineamos um estudo para entender a regulação térmica no início da gestação e se a mesma afeta o diagnóstico inicial de prenhez, correlacionando a média da temperatura vaginal com o índice de temperatura e umidade ambiental, a cor da pelagem, peso e idade dos animais.

Material e Métodos

Foram utilizados oócitos coletados de 15 doadoras F1 (1/2 Gir e 1/2 Holandês) do Campo Experimental Santa Mônica, por aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU, ovum pick up), fertilizados *in vitro* com sêmen sexado de touro Holandês para a produção de embriões 3/4 Holandês. A metodologia detalhada para produção *in vitro* de embriões está descrita em (Oliveira et al., 2016). Todos os procedimentos foram realizados após aprovação pela CEUA (protocolo n° 3956180316). Os embriões foram transferidos para 66 receptoras mestiças Gir-Holandês em duas replicatas, que tiveram temperatura acompanhada com um termômetro (iButton®). Cada termômetro foi alocado em um dispositivo vaginal, e envolto por um filme de parafina plástica. Os termômetros foram previamente programados no *software Thermo Data Viewer*, versão 3.2.0, 2008, para obter dados da temperatura vaginal a cada 10 minutos por 72-96 horas, quando os implantes foram removidos. As receptoras foram diagnosticadas 30 dias após a TE, por ultrassonografia transretal (DPS Mindray 2200 Vet.). Os dados foram analisados de acordo com a curva de resfriamento dos animais (17 h – 4 h), através das médias de cada hora para cada animal. Para tanto, foi realizada transformação de Johnson e Anova (GLM). Também foi analisado as temperaturas médias da hora mais quente do dia da transferência por Anova (GLM). Os fatores: diagnóstico de prenhez, pelagem, peso e idade foram considerados, no nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Observamos índices de temperatura e umidade (ITU) elevados (>79) entre 13 e 20 horas. As temperaturas vaginais tiveram pico entre 16 e 17 horas (Figura 1).

XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019

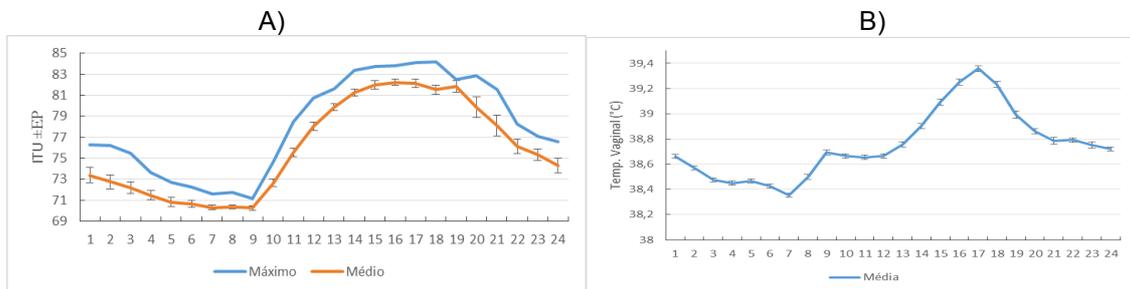


Figura 1. A) ITU observado durante os sete dias de experimento com relação as horas do dia. B) Temperatura vaginal média dos animais no período.

O estresse térmico afeta a produção de leite e provoca perdas reprodutivas (Bilby et al., 2009), reduzindo a fertilidade do rebanho (Wolfenson et al., 2000). No período experimental, podemos afirmar que o estresse térmico esteve presente.

Durante a análise de curva de resfriamento, as médias de temperatura vaginal não variaram com o diagnóstico de gestação ($p=0.423$), peso ($p=0.905$) ou idade ($p=0.289$), mas foram maiores ($p=0.003$) em animais de pelagem escura (Figura 2).

As condições fisiológicas ambientais e diferentes características de pelagem interferem na transferência de energia térmica do ambiente para a pele do animal, assim como o controle da temperatura corpórea (Pinto, A. F. B. P. 2016).

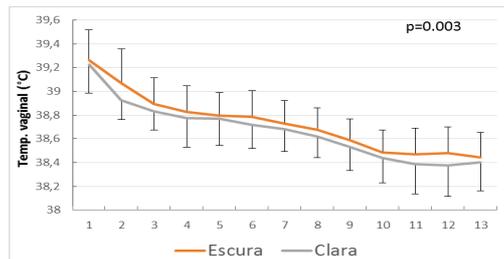


Figura 2. Resfriamento da temperatura vaginal a partir das 5 PM horas (1) até 6 AM (13), considerando o fator pelagem.

Ao analisarmos as diferenças das médias de temperatura vaginal na hora de maior temperatura da tarde da TE, os fatores pelagem ($p=0.26$) e peso ($p=0.14$) não influenciaram a temperatura. Porém, animais com idade mais nova apresentaram maiores ($p=0.01$) temperaturas vaginais, e animais que se tornariam gestantes também ($p=0.01$) (Figura 3).

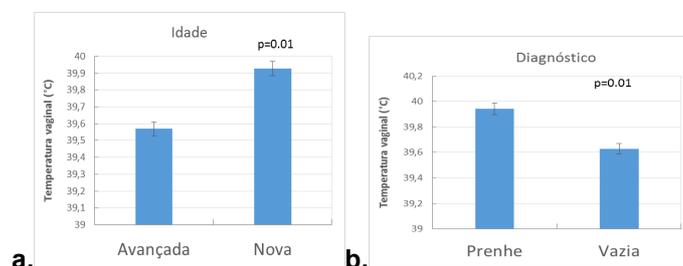


Figura 3. Análise das médias de temperatura vaginal durante a hora mais quente no dia da transferência de embriões. A) efeito da idade e B) efeito sobre o estabelecimento da gestação.

O fato de a análise se restringir a uma hora pode ter dificultado o reconhecimento da diferença entre a pelagem escura e clara. Porém, interessante, nossos resultados mostram que maiores temperaturas vaginais na tarde da TE podem resultar em maiores taxas de gestação. Este resultado pode estar relacionado ao fenômeno da aquisição de termotolerância, que torna os embriões mais resistentes (Hansen, 2015).

XXIV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora, MG – 11 de julho de 2019

Conclusões

Conclui-se que os fatores pelagem e idade podem influenciar as temperaturas vaginais. Nossos resultados sugerem que temperaturas vaginais elevadas no dia de transferência dos embriões podem estar associadas a maiores índices de prenhez.

Agradecimentos

Embrapa Gado de Leite, CNPq, Clara Slade Oliveira, Bruno Campos de Carvalho, Equipe CEM : Célio de Freitas, Viviane L Feuchard, Julio Cesar Ribeiro, Sidney dos Santos, Arthur Augusto de Castro Villela.

Referências

- BILBY, T. R.; BAUMGARD, L. H.; RHOADS, M. L.; COLLIER, R. J. **Estratégias farmacológicas, nutricionais e de manejo para aumentar a fertilidade de vacas leiteiras sob estresse térmico.** In: XIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Uberlândia, MG, p.59-71, 2009.
- BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. **Temperature-Humidity Indices as Indicators of Milk Production Losses due to Heat Stress.** Journal of Dairy Science, v. 90, n. 4, p. 1947–1956, 2007.
- COPPOCK, C. E.; WEST, J.W.; MOYA, J. R. et al. Effects of amount of whole cottonseed on intake, digestibility, and physiological responses of dairy cows. **Journal Dairy Sci.**, v.68, p.2248-2256, 1985.
- GRUNERT, E; BRIGE, H. E; VALE G. W. **Patologia clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia.** São Paulo: Varela, 2005.
- GWAZDAUSKAS, F. C.; THATCHER, W. W.; KIDDY, C. A.; PAAPE, M. J.; WILCOX, C. J. Hormonal patterns during heat stress following PGF₂ α – Tam salt induced luteal regression in heifers. **Theriogenology**, n.16, p.271-285, 1981
- HANSEN, P. Genetic variation in resistance of the preimplantation bovine embryo to heat shock. **Reproduction Fertility and Development**, v.27, p.22-20, 2015.
- PINTO, A. F. B. P. **Termotolerância de Vacas Leiteiras no Semiárido.** 2016. 53f. Monografia, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia AfroBrasileira – UNILAB, Redenção , Ceará.
- RENSIS FD, SCARAMUZZI JR. Heat Stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. **Theriogenology**, v.6, p.1139-1151, 2003.
- VASCONCELOS, J. L. M, GARCIA, D; DEMETRIO, B. Manejo reprodutivo de vacas sob estresse calórico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 2011, n. 2001, p. 396–401, 2011.
- WOLFENSON, D.; ROTH, Z.; MEIDAN, R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: Basic and applied aspects. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 535–547, 2000.
- OLIVEIRA, C. S. et al. Cell death is involved in sexual dimorphism during preimplantation development. **Mech Dev**, v. 139, p. 42-50, Feb 2016. ISSN 1872-6356.