

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

JULIA MORGANA VIEIRA DADA

**DESENVOLVIMENTO PLACENTÁRIO E TERMORREGULAÇÃO DE OVELHAS
GESTANTES MANTIDAS EM SISTEMA SILVIPASTORIL DURANTE O VERÃO**

DOIS VIZINHOS

2022

JULIA MORGANA VIEIRA DADA

**DESENVOLVIMENTO PLACENTÁRIO E TERMORREGULAÇÃO DE OVELHAS
GESTANTES MANTIDAS EM SISTEMA SILVIPASTORIL DURANTE O VERÃO**

**PLACENTAL DEVELOPMENT AND THERMOREGULATION OF PREGNANT
EWES KEPT IN A SILVOPASTORAL SYSTEM DURING THE SUMMER**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Flavia Regina Oliveira De Barros
Coorientador(a): Frederico Marcio Correa Vieira.

DOIS VIZINHOS

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos**



JULIA MORGANA VIEIRA DADA

DESENVOLVIMENTO PLACENTÁRIO E TERMORREGULAÇÃO DE OVELHAS GESTANTES MANTIDAS EM SISTEMA SILVIPASTORIL DURANTE O VERÃO

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Produção Animal.

Data de aprovação: 27 de Abril de 2022

Dra. Flavia Regina Oliveira De Barros, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Liege Cristina Garcia Da Silva, Doutorado - Universidade Anhembi Morumbi (Uam)

Matheus Deniz, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 04/05/2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus professores e orientadores Flávia Regina Oliveira de Barros e Frederico Márcio Corrêa Vieira, pelos ensinamentos e servirem de exemplo, por me orientarem com competência e dedicação, criando um ambiente seguro e confortável para o meu desenvolvimento profissional e pessoal;

À minha família, que mesmo longe, deram total apoio sempre que precisei; aos meus pais que nunca deixaram de me incentivar quando me sentia desmotivada;

Ao prof. Vicente de Paulo Macedo pela parceria com a UNEPE Ovinocaprinocultura da UTFPR, e oferecendo o suporte necessário para o desenvolvimento dessa pesquisa;

Ao amigo Matheus Luquirini Penteado dos Santos, por estar presente em todas as fases desse projeto, desde o planejamento até a escrita dos trabalhos.

Aos colegas Leonardo Piffer de Borba e Jakciane Andrieli de Miranda Foss, pela cooperação durante a parte prática do experimento que, juntos com Matheus, estavam presentes “sob chuva ou sol”;

Às amigas Ana Paula Schneiders Dani, Letícia Pinto e Luciane Xavier, pela companhia nos laboratórios e as caronas;

Às amigas que, direta ou indiretamente, estiveram sempre presentes: Roselaine Souza, Vitória Alves, Rúbia Andrade e Luciane Xavier;

Aos grupos de estudos Lab Barros e GEBIOMET e seus integrantes, pelos momentos de descontração e os conhecimentos compartilhados;

À UTFPR e ao corpo docente pelos ensinamentos e o suporte aos alunos; aos laboratórios LACEL e BiolMol;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

RESUMO

Animais expostos à altas temperaturas por períodos prolongados passam por uma série de alterações comportamentais, fisiológicas e reprodutivas. Assim, este estudo teve como objetivo analisar diferentes aspectos reprodutivos e alterações fisiológicas em ovelhas expostas à condições ambientais estressantes durante a gestação no verão. Este experimento foi realizado na unidade de pesquisa de ovinos da UTFPR, em Dois Vizinhos, PR. Foram utilizadas 24 ovelhas mestiças Dorper x Santa Inês prenhas, que foram divididas em dois grupos (n=12) e permaneceram durante o período de gestação em dois diferentes sistemas de pastagem: Sistema Silvipastoril (SSP) e Pleno Sol (PS). Ao longo desse período, foram registradas as variáveis fisiológicas das ovelhas e os dados ambientais a cada duas semanas, totalizando 6 coletas. Ao final da prenhez, as ovelhas foram mantidas em aprisco suspenso para acompanhamento dos partos. Ao nascimento, as placentas e os cordeiros foram pesados. Em laboratório, as placentas foram fotografadas para análise biométrica. Os cordeiros também foram pesados aos 10 dias de vida. Considerando todas as variáveis microclimáticas, ambos os sistemas foram caracterizados como estressantes para as ovelhas, porém o Sistema Silvipastoril apresentou menor temperatura do ar que o pleno sol (PS= $26,9 \pm 0,41$ °C, SSP= $26,0 \pm 0,38$ °C; $p=0,0288$). Além disso, a carga térmica radiante dos dois sistemas representou uma diferença de 34 Wm^{-2} entre eles ($p=0,0288$) e a temperatura da relva também foi diferente entre os sistemas (PS= $25,6 \pm 0,44$ °C, SSP= $23,4 \pm 0,37$ °C; $p=0,0043$). Durante o período do estudo, não houve diferença ($p=0,4777$) na mobilização dos leucócitos totais em ambos os sistemas. Além disso, não foi observado efeito de tempo (ao longo do período experimental) ($p=0,8109$) ou interação entre as variáveis ($p=0,4150$). Para a quantificação de monócitos circulantes, não foram observadas diferenças entre os grupos ($p>0,05$). Os neutrófilos sofreram efeito de tempo apenas ($p<0,0001$). No grupo Silvipastoril, foi observada diferença entre as coletas 4 e 1, 5 e 1, 6 e 1 ($p=0,0174$; $p=0,0093$; $p=0,0065$, respectivamente), entre 4 e 2, 5 e 2, 6 e 2 ($p=0,0096$; $p=0,0050$; $p=0,0035$; respectivamente). Enquanto que no grupo Pleno Sol, diferenças foram observadas entre coletas 5 e 1, 6 e 1 ($p=0,0328$; $p=0,0204$). A frequência respiratória e cardíaca dos animais expostos ao sol foi maior ($p<0,001$) para o grupo do pasto aberto do que a das ovelhas que permaneceram na sombra. Em relação à duração da gestação, não houve efeito de sistema ($p=0,4987$). Curiosamente, os dois sistemas apresentaram maior número de cordeiros fêmeas (PS: macho 40%, fêmea 60%; SSP: macho 38%, fêmea 61,54%). Foi observado apenas efeito do tipo de gestação (gemelar vs simples) sobre a massa corporal dos cordeiros aos 10 dias ($p=0,0273$), o que não foi observado ao nascimento ($p=0,9455$). Em relação à biometria placentária, as gestações gêmeas apresentaram uma maior área de membrana ($p=0,0223$), mas não apresentaram diferenças em relação à massa ($p=0,1522$) e número de cotilédones ($p=0,5457$). Desse modo, pode-se concluir que o tipo de sistema de criação de ovinos afeta o conforto térmico de ovelhas prenhas e o sistema silvipastoril pode oferecer condições microclimáticas que resultam em maior conforto durante a gestação.

Palavras-chave: Ovinocultura; sistema de criação; estresse térmico.

ABSTRACT

Animals subjected to high temperatures for prolonged periods undergo a series of behavioral, physiological and reproductive changes. Thus, this study aimed to analyze different reproductive aspects, and physiological changes in ewes subjected to heat stress during pregnancy in the summer. This experiment was carried out at the Sheep Research Unit at UTFPR, in Dois Vizinhos, PR. 24 pregnant crossbred Dorper x Santa Inês ewes were divided into two groups: Silvipastoral System (SPS) and Open Pasture (OP), where they were kept throughout pregnancy. During this period, physiological variables and environmental data were registered every two weeks for a total of 6 time points. At the end of pregnancy, the ewes were kept in a suspended pen for better supervision of parturition. At birth, placentas and lambs were weighed. In the laboratory, the placentas were photographed for biometrical analysis. The lambs were also weighed at 10 days postpartum. Considering all microclimatic variables, both systems were found stressful for the sheep, but the Silvipastoral System had lower Air Temperature than Open Pasture (OP= 26.9 ± 0.41 °C, SPS= 26.0 ± 0.38 °C; $p = 0.0288$). Moreover, the radiant thermal load of the two groups presented a difference of 34 Wm^{-2} ($p=0.0288$), and the Temperature of the Grass was also different between the systems (PS= 25.6 ± 0.44 °C, SSP= 23.4 ± 0.37 °C; $p=0.0043$). During the study, no difference was observed regarding the mobilization of white blood cells in both systems ($p=0.4777$), nor was there any effect of time or interaction between variables ($p=0.8109$ and $p=0.4150$, respectively). For the quantification of circulating monocytes, no differences were observed between the groups ($p>0.05$). Neutrophils were only affected by time ($p<0.0001$). In the Silvipastoral group, a difference was observed between timepoints 4 and 1, 5 and 1, 6 and 1 ($p=0.0174$; $p=0.0093$; $p= 0.0065$, respectively), between 4 and 2, 5 and 2, 6 and 2 ($p=0.0096$; $p=0.0050$; $p=0.0035$; respectively). While in the Open Pasture group, differences were observed between timepoints 5 and 1 and 6 and 1 ($p= 0.0328$; $p= 0.0204$). The Respiratory and Heart Rates of the animals exposed to the sun were higher than that of the sheep that remained in the shade ($p<0.001$). Regarding the duration of pregnancy, there was no effect of treatment ($p= 0.4987$). Interestingly, both systems had higher numbers of female lambs (PS: male 40%, female 60%; SSP: male 38%, female 61.54%). Only an effect of the type of pregnancy (single vs. twin) was detected on the body weight of lambs at 10 days ($p=0.0273$), which was not observed at birth ($p=0.9455$). Regarding placental biometry, twin pregnancies had a greater membrane area ($p=0.0223$), but no differences were observed in placenta weight ($p=0.1522$) and the number of cotyledons ($p=0.5457$). Therefore, it can be concluded that the type of Sheep Rearing System affects the thermal comfort of pregnant ewes, and the Silvipastoral System can offer more amenable microclimate conditions resulting in more comfort during pregnancy.

Keywords: Sheep farming; breeding system; thermal stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação do esquema de estação de monta, coletas periódicas (principal e microclimática) e período de partos. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	21
Figura 2. Valores médios (média \pm DP) da Temperatura do ar (Tar), Umidade Relativa (UR), Velocidade do Vento (VV), Temperatura da Relva (Trel) e Carga Térmica Radiante (CTR) entre os sistemas de criação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	31
Fotografia 1. Sistemas de criação em que as ovelhas foram submetidas. A) Pleno sol. B) Sistema silvipastoril. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	20
Fotografia 2. Posicionamento de um dispositivo data logger no Sistema Silvipastoril. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	22
Fotografia 3. Armazenamento do sangue coletado das ovelhas. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	24
Fotografia 4. A) Preparo do esfregaço para análise de leucograma; B) Lâmina em microscopia óptica utilizando lente objetiva de 100x. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	25
Fotografia 5. Parto em aprisco suspenso. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	26
Fotografia 6. Organização do material para análise da biometria placentária. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	27
Fotografia 7. Representação da mensuração de área. A) Placenta de ovelha de gestação simples. B) Marcações (linhas amarelas) e numeração de área e cotilédones no ImageJ. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	28
Gráfico 1. Leucograma de ovelhas mantidas em Sistema Silvipastoril e Pleno Sol durante a gestação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	33
Gráfico 2. Gráficos relacionados ao tipo de gestação, ao número de placentas e a duração a gestação de ovelhas	35
Gráfico 3. Dados sobre o nascimento e o ganho de peso dos cordeiros de ovelhas mantidas em PS e SSP durante a gestação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	36
Gráfico 4. Dados referentes à análise de biometria placentária de ovelhas mantidas em PS e SSP durante a gestação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios (média \pm DP) da Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Temperatura Retal (TR) e Temperatura Superficial Média (TSM) entre os sistemas PS e SSP. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022.....	34
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CTR	carga térmica radiante
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
LACEL	laboratório de biologia celular
PS	pleno sol
SSP	sistema silvipastoril
Tar	temperatura do ar
Tgn	temperatura do globo negro
Tpo	temperatura do ponto de orvalho
TR	temperatura retal
Trel	temperatura da relva
TRM	temperatura radiante média
TSM	temperatura superficial média
UR	umidade relativa do ar
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
VV	velocidade do vento

LISTA DE UNIDADES

%	porcentagem
°C	graus Celsius
bpm	batimentos por minuto
cm ²	centímetros quadrados
cm ³	centímetros cúbicos
m	metros
ms ⁻¹	metros por segundo
m ²	metros quadrados
r/min	respirações por minuto
wm ⁻²	watt por metro quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Tipos de criação de animais de produção	15
3.2 Estresse térmico	16
3.3 Placenta e desenvolvimento fetal	17
3.4 Perfil leucocitário	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Área de estudo, animais e delineamento	19
4.2 Caracterização do microclima	21
4.3 Índice de conforto térmico	22
4.4 Avaliação das variáveis fisiológicas	23
4.5 Coleta de sangue periférico e caracterização dos leucócitos circulantes...	24
4.6 Nascimento e coleta das placentas	25
4.7 Biometria placentária.....	26
4.8 Análise estatística	28
4.8.1 Variáveis contínuas e discretas	29
4.8.2 Variáveis categóricas	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Caracterização do microclima	30
5.1.1 Variáveis ambientais	30
5.2 Variáveis fisiológicas.....	31
5.3 Dados reprodutivos	35

5.4 Outras observações dignas de nota ao longo do estudo.....	38
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

O principal sistema de criação de ovinos utilizado no Brasil é o pasto aberto, caracterizado, no qual os animais permanecem a céu aberto, com pouca ou nenhuma disponibilidade de sombra. Considerando as altas temperaturas observadas no verão e muitas vezes nas demais épocas do ano em determinadas regiões do país, os animais são expostos a condições de desconforto térmico por período prolongados, incluindo a gestação.

Ovinos apresentam desenvolvimento embrionário placentário e, durante a gestação, diversos fatores podem afetar a formação da placenta. A placenta é o órgão que permite a troca de gases, nutrientes e resíduos entre os sistemas materno e fetal. Assim, o desenvolvimento placentário desempenha um papel fundamental na garantia de trocas adequadas e, portanto, na determinação da massa corpórea fetal ao nascimento, que por sua vez tem papel crítico no desempenho inicial do recém-nascido. Fatores ligados à mãe como idade, genética e número de partos, assim como variáveis externas como a nutrição, o sistema de criação e o microclima podem afetar a formação da placenta.

Como alternativa ao sistema de pastagem a pleno sol, o sistema silvipastoril preconiza a utilização de árvores. O sistema silvipastoril propicia a diversificação da produção e redução da degradação ambiental, a medida que fornece áreas de sombra e microclima mais confortável aos animais. Contudo, ainda é um sistema pouco utilizado na ovinocultura, sendo mais popular na bovinocultura.

Animais expostos a condições ambientais favoráveis são mais aptos a expressar seu máximo potencial produtivo, além de permitir o desenvolvimento normal da gestação, pois as fêmeas não precisaram desviar energia para ativar mecanismos de termorregulação. No entanto, o modo como o estresse térmico afeta a reprodução de ovelhas ainda carece de trabalhos na área, em especial estudos que determinem os benefícios potenciais do sistema de criação silvipastoril durante a gestação em meses quentes.

Diante do exposto, os objetivos desse estudo foram: (1) avaliar a influência do ambiente térmico no desenvolvimento placentário de ovelhas mantidas em sistema silvipastoril e pastagem sem árvores; e (2) avaliar a influência do sistema silvipastoril no conforto térmico de ovelha ao longo do período gestacional durante o verão

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência do sistema silvipastoril na termorregulação e desenvolvimento placentário de ovelhas prenhas em comparação com uma pastagem sem árvores durante o verão.

2.2 Objetivos específicos

Comparar as respostas de ovelhas prenhas mantidas em Sistema Silvipastoril ou a pasto à Pleno Sol durante o verão, em relação às seguintes variáveis:

- Variáveis fisiológicas: frequência cardíaca e respiratória, temperatura retal e temperatura superficial média; mobilização de leucócitos por leucograma;
- Biometria placentária, mensuração de área e massa.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Tipos de criação de animais de produção

O Brasil é caracterizado por ter a maior parte da sua produção pecuária em pastagens plantadas e/ou naturais (produção extensiva), que possuem papel fundamental na garantia de baixos custos de produção, por serem a forma mais econômica e prática de produzir alimento para ruminantes (DIAS E SILVA *et al.*, 2016). Todavia, a atividade agropecuária em pasto aberto leva ao empobrecimento da qualidade do solo, afetando suas características químicas, físicas e biológicas, diminuindo, assim, a sua produtividade (ALMEIDA; ALVES, 2020; NETO *et al.*, 2021).

A maioria dos rebanhos de pequenos ruminantes são criados em sistema à pasto, não havendo o controle das condições ambientais. Para Batista *et al.* (2015), é necessário que os animais sejam mantidos em condições térmicas adequadas a cada espécie, a fim de que se tenha máxima eficiência produtiva e reprodutiva. Dessa forma, o sombreamento, natural e/ou artificial, é fundamental para uma criação que se

A implementação do Sistema Silvipastoril, propicia a manutenção e conservação do solo, com a redução da erosão do solo, pois a copa das árvores o protege da chuva direta, suas raízes impedem o arraste de partículas e absorvem os nutrientes das camadas mais profundas do solo (SILVA *et al.*, 2011).

Os animais mantidos em pastagens com árvores podem ser também beneficiados por um maior fornecimento de alimento dado que este tipo de sistema de criação favorece a manutenção da fertilidade e produtividade do solo (DE OLIVEIRA FASSIO *et al.*, 2009). Uma vez que o Sistema Silvipastoril reduz a erosão e a compactação do solo, aumenta a atividade microbiana, melhora a estabilidade do solo (NETO *et al.*, 2021).

As árvores do sistema silvipastoril proporcionam um microclima mais ameno, que beneficia tanto os animais quanto as plantas. O solo apresenta-se mais úmido em períodos de estiagem, podendo proporcionar gramíneas de melhor qualidade e maior quantidade (SILVA *et al.*, 2011).

3.2 Estresse térmico

Um ambiente é definido como confortável, quando o animal está em equilíbrio térmico, ou seja, o calor produzido pelo metabolismo (termogênese) é perdido (termólise) para o ambiente sem prejuízo ao seu rendimento (ALMEIDA; ALVES, 2020). Quando esse processo não ocorre adequadamente e nota-se uma manutenção de temperatura corpórea mais elevadas, caracteriza-se por estresse térmico por calor e, então, é necessário que o animal utilize de artifícios capazes de restabelecer o equilíbrio térmico com o ambiente. Para ovinos, a temperatura ambiente ideal se estabelece entre 15 a 20°C (VICENTE - PÉREZ *et al.* 2020).

O estresse térmico por calor é decorrente da combinação de altas temperaturas e umidade relativa do ar, resultando em mudanças comportamentais e fisiológicas nos animais, afetando a ingestão de alimentos e água, crescimento, reprodução, produção leiteira, além de alterações hematológicas e nas concentrações plasmáticas de cortisol e hormônios tireoidianos (SILVA *et al.*, 2006; COELHO *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2021).

Ovinos deslançados são considerados animais rústicos, porém em ambientes com temperaturas altas, elevada umidade do ar e radiação solar direta, podem apresentar alterações fisiológicas e comportamentais (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Ovelhas em condições de estresse por calor apresentam alterações nos parâmetros fisiológicos (temperatura retal, frequências cardíaca e respiratória), hemato-bioquímicos, enzimáticos, reprodutivos e hormonais (KARTHIK *et al.*, 2021).

Em animais homeotérmicos, os primeiros mecanismos para a perda de calor corporal, quando a temperatura ambiente está elevada, é a mudança de comportamento, seguido pelo aumento das frequências respiratória e cardíaca (RATHWA *et al.*, 2017; WOJTAS; CWYNAR; KOŁACZ, 2014). Logo, os principais parâmetros utilizados para identificar o desconforto térmico de ovelhas são as frequências respiratória e cardíaca, além da temperatura retal (HYDER *et al.*, 2017).

O estresse prolongado induz a uma resposta complexa no animal, que se traduz em menor desempenho. O estresse leva à perda de peso, reduz a resistência a infecções, reduz o crescimento tanto pela menor produção de hormônios, como pela redução da ingestão de alimento e inibição geral do trato gastrintestinal (ENCARNAÇÃO, 1997).

A hipertermia materna é comum em ovelhas que estejam prenhes no verão, podendo desenvolver uma placenta menor e com menor capacidade de transporte de glicose, aminoácidos e oxigênio (LIMESAND *et al.*, 2018). As reduções na função placentária, juntamente com outras alterações na fisiologia materna causadas pelo estresse térmico, restringem o desenvolvimento da glândula mamária e diminuem o rendimento potencial para a lactação subsequente. Além das perdas na produção e qualidade do leite, o estresse térmico no final da gestação afeta os processos imunológicos associados à má transição para a lactação, incluindo: menor atividade fagocítica e diminuição da sinalização de prolactina hepática durante o período seco (DO AMARAL *et al.*, 2011).

3.3 Placenta e desenvolvimento fetal

A placenta ovina é classificada como epiteliocorial, o que significa que o córion fetal está em contato direto com o epitélio uterino materno. Macroscopicamente, a placenta da ovelha possui 60-100 estruturas, conhecidas como placentomas, que são espaçadas de maneira relativamente uniforme sobre a superfície das membranas fetais (REYNOLDS *et al.*, 2005). Cada um desses placentomas consiste em porções carunculares maternas e cotiledonares fetais, que se conectam (REYNOLDS *et al.*, 2005). Curiosamente, as carúnculas estão presentes na superfície endometrial logo após o nascimento da fêmea, e seu número e localização permanecem constantes ao longo da vida, embora cresçam durante cada gestação e depois regridam ao tamanho não grávido durante cada pós-parto (REYNOLDS *et al.*, 2005).

O fluxo sanguíneo adequado para a placenta é fundamental para o desenvolvimento fetal normal e as condições que afetam o crescimento fetal, como genótipo materno e fetal, número de fetos, excesso ou privação de nutrientes maternos e estresse térmico ambiental, normalmente têm efeitos no tamanho da placenta. Tais alterações placentárias estão associadas à taxas reduzidas de oxigenação do feto e absorção de nutrientes pelo mesmo por conta da redução na angiogênese placentária e fluxo sanguíneo (LIMESAND *et al.*, 2018; REYNOLDS *et al.*, 2005). Além de mais leves ao nascer, bezerros de vacas sob estresse térmico exibiram efeitos imediatos e prolongados em sua imunidade passiva, crescimento, padrões de atividade e termotolerância (MEHABA *et al.*, 2021).

Como a placenta é o órgão por meio do qual gases respiratórios, nutrientes e resíduos são trocados entre os sistemas materno e fetal, acredita-se que o desenvolvimento vascular placentário desempenhe um papel fundamental na garantia das trocas adequadas de nutrientes e oxigênio e, portanto, na determinação, em última análise, do peso da fetal ao nascimento (KAUFMANN; MAYHEW; CHARNOCK-JONES, 2004; REYNOLDS *et al.*, 2005). Contudo, ainda existem poucos estudos sobre como os desenvolvimentos placentários e fetais são afetados pelo sistema criação, especialmente relacionado ao estresse térmico e como um ambiente com microclima agradável pode ser benéfico.

3.4 Perfil leucocitário

Em mamíferos, os leucócitos, ou glóbulos brancos, são presentes na circulação sanguínea, porém exercem suas funções principalmente nos tecidos e aparecem em quantidade menor que os eritrócitos; em ovinos a proporção é de 1200 eritrócitos para um leucócito circulante (REECE, 2014).

Os leucócitos desempenham funções nos processos inflamatórios e imunológicos nos tecidos, são classificados em granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), caracterizados por possuírem grânulos em seu citoplasma, e os agranulócitos (linfócitos e monócitos), que não possuem esses grânulos (GARCIA-NAVARRO, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo e todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, PR, Brasil, sob o protocolo nº 2020-18/2020 – CEUA e processo nº: 23064.037144/2020-24.

4.1 Área de estudo, animais e delineamento

A pesquisa foi desenvolvida na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão de Ovinocaprinocultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, situada nas coordenadas: latitude 25° 53' 49" S e longitude 53° 04' 61" W, em altitude de 577m em relação ao nível do mar. De acordo com a classificação de Köppen, o clima predominante da região é o tipo Cfa (subtropical úmido mesotérmico).

O sistema silvipastoril foi implantado em setembro de 2013, no sentido Leste-Oeste. As árvores utilizadas foram da espécie nativa louro pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud.), que foram dispostas em plantio de linhas duplas, com 2m entre plantas e 1,5m entre linhas.

Foram utilizadas 24 ovelhas mestiças Dorper x Santa Inês, prenhes em estação de monta realizada no período de 02 de novembro a 16 de dezembro de 2020, com idade entre 3 e 4,5 anos e massa corpórea média de $48,71 \pm 11,67$ Kg (Apêndice A). As fêmeas foram divididas em dois grupos com 12 animais cada, sendo o primeiro mantido no Sistema Silvipastoril (SSP) e o segundo em Pleno Sol (PS) ao final da estação de monta. Cada sistema era composto de 6 piquetes com área de 400 m², sendo duas ovelhas alocadas por piquete. No grupo PS as fêmeas permaneceram a céu aberto, sem sombreamento. Todos os animais foram mantidos em seus respectivos piquetes durante a gestação, ou seja, não foi realizada rotação entre os piquetes (Fotografia 1)

A divisão dos animais nos dois grupos foi feita de modo que ambos permanecessem homogêneos em relação à massa corpórea, idade e número de partos (Apêndice A). A separação das duplas de ovelhas em cada piquete também foi aleatória.

Fotografia 1. Sistemas de criação em que as ovelhas foram submetidas. A) Pleno sol. B) Sistema silvipastoril. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



Fonte: Autoria própria (2021)

Os animais foram mantidos a pasto (*Panicum maximum* Jacq cv. Aruana) e suplementados com 1% (m/m) de concentrado em relação ao peso vivo. Sal mineral e água foram oferecidos *ad libitum*. Devido à degradação do pasto e a consequente baixa disponibilidade de alimento, também foi ofertada silagem de milho *ad libitum*, para que não houvesse déficit nutricional.

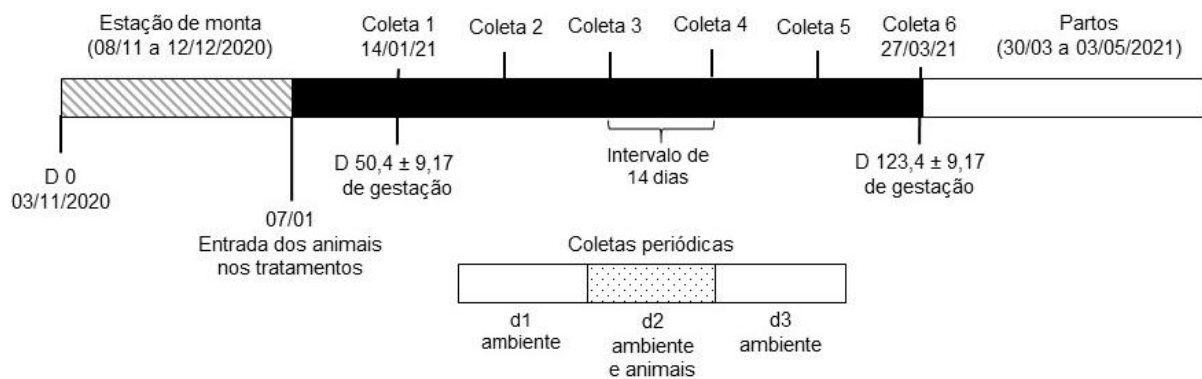
Para evitar o estresse no manejo durante o período experimental, a estação de monta foi utilizada como período de aclimatação às pessoas responsáveis pelas coletas e o manejo como um todo ao longo do estudo. Os animais foram acompanhados diariamente durante todo o estudo.

Uma semana antes do início previsto dos partos, as ovelhas foram transferidas para um aprisco suspenso, respeitando-se a divisão dos tratamentos, sendo alocadas 3 ovelhas por baía (6,25 m²). Durante o período pré-parto, as fêmeas foram alimentadas com silagem de milho e receberam a mesma suplementação (concentrado de milho e soja e sal mineral) e água *ad libitum*.

4.2 Caracterização do microclima

Para obtenção do microclima em ambos os sistemas de pastagem (SSP e PS) foram aferidas as variáveis: temperatura do ar (Tar, °C), temperatura do globo negro (Tgn, °C), temperatura do ponto de orvalho (Tpo, °C), velocidade do vento (VV, m/s), umidade relativa do ar (UR, %) e temperatura da relva (Trel). Essas variáveis foram coletadas durante 12 horas (07h às 19h) por 3 dias, próximo às coletas das variáveis fisiológicas e amostras de sangue dos animais (coleta principal). O primeiro dia de registro foi realizado no dia anterior à coleta principal, no dia da coleta nos animais e no dia seguinte (Figura 1). Esse processo foi repetido 6 vezes ao longo do estudo.

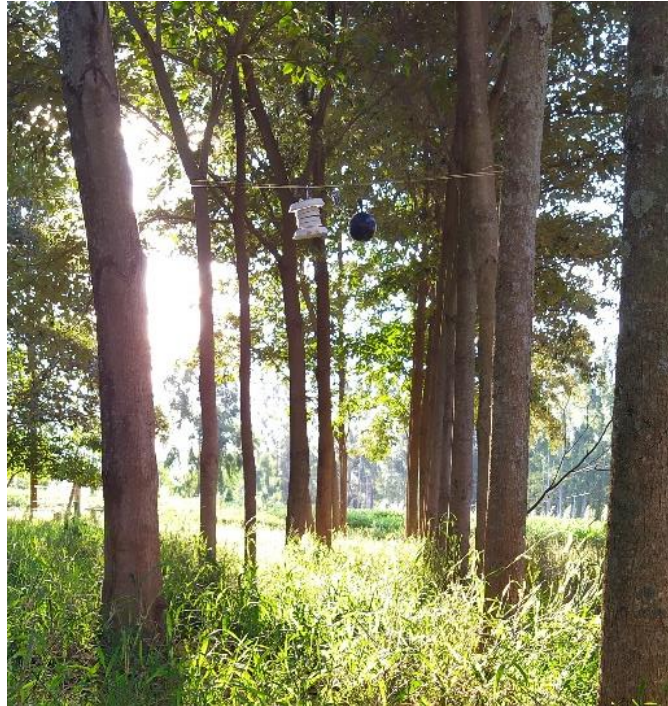
Figura 1. Representação do esquema de estação de monta, coletas periódicas (principal e microclimática) e período de partos. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



Fonte: Autoria própria (2021)

As variáveis Tar, Tgn e UR foram mensuradas através de *data loggers*, da marca Onset®, modelo HOBO U12-013, com faixa de medição de temperatura entre -20 e 70 °C, com acurácia de $\pm 0,35$ °C, faixa de medição de umidade relativa entre 5 e 95%, com acurácia de $\pm 2,5\%$. Os equipamentos foram instalados a 1,5m de altura (Fotografia 2), posicionados no interior dos piquetes nas áreas do SSP (5 aparelhos) e PS (1 aparelho) posicionado no centro do piquete central, e possuíam um canal interno e dois canais externos, sendo o interno utilizado para acoplar um cabo (sensor) termopar com o globo negro (esfera oca de polietileno de 15 cm de diâmetro pintada com tinta preta fosca). A VV foi aferida utilizando um anemômetro digital Mastech®, modelo MS6252A posicionado manualmente a 1,5 m do chão.

Fotografia 2. Posicionamento de um dispositivo data logger no Sistema Silvipastoril. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



Fonte: Autoria própria (2021)

4.3 Índice de conforto térmico

Com as variáveis microclimáticas foi determinado a carga térmica radiante (CTR) para os dois sistemas de pastagem (SSP e PS), de acordo com a equação proposta por Esmay (1978):

$$CTR = \sigma(TRM)^4$$

Onde, CTR é a carga de calor radiante ($W\ m^{-2}$), σ é a constante de Stefan-Boltzmann ($5,67 \times 10^{-8}, W\ m^{-2}\ K^{-4}$) e TRM, a temperatura radiante média (K), obtida pela fórmula (BOND *et al.*, 1954 apud RIBEIRO *et al.*, 2008):

$$TRM = 100\{[2,51\sqrt{v}(T_{gn} - T_a)] + [(T_{gn}/100)^4]\}^{1/4}$$

Onde, TRM: temperatura radiante média (K), VV: velocidade do vento (m/s^{-1})
Tgn: a temperatura do globo negro (K) e Ta: temperatura do ar (K).

4.4 Avaliação das variáveis fisiológicas

Ao longo da gestação foram avaliadas as seguintes variáveis fisiológicas: temperatura superficial média (TSM, °C), frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR, °C). As aferições foram realizadas na seguinte ordem: temperatura superficial, frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal e, por último, coleta sanguínea. Sendo o grupo do SSP feita primeiro, à partir de 10h e o PS à partir de 13h.

A fim de não interferir na coleta das variáveis fisiológicas, a contenção manual dos animais foi realizada conforme descrito por Feitosa (FEITOSA, 2014), de modo a reduzir o estresse durante a manipulação. Para a contenção e coleta de dados foram necessárias quatro pessoas, onde uma delas foi posicionada ao lado direito do animal segurando com uma das mãos na região do flanco e a outra na mandíbula do animal, mantendo-o parado, enquanto uma segunda pessoa realizava a aferição da temperatura superficial; depois, a terceira pessoa aferiu as frequências cardíaca e respiratória, a temperatura retal e a coleta de sangue; uma quarta pessoa ficou responsável por fazer a anotação dos dados e observações feitas ao longo das coletas. Com os animais do grupo SSP, as coletas foram realizadas no piquete em que estavam. Já no PS, os animais foram levados em duplas para um aprisco e isoladas em baias, sendo uma dupla avaliada por vez.

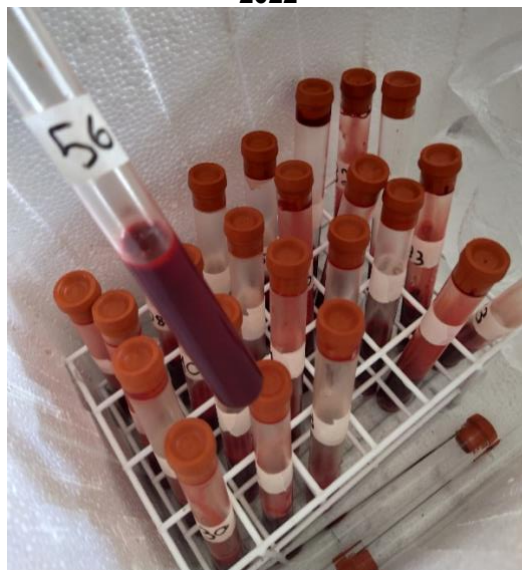
A FC foi aferida com o auxílio de um estetoscópio da marca Rappaport Premium, que foi posicionado na região torácica esquerda, à altura do arco aórtico; foi realizada a contagem dos batimentos durante 30 segundos e depois o valor foi multiplicado por dois, para a obtenção da frequência de batimentos por minuto (bpm). Já a frequência respiratória (FR), foi determinada pela auscultação através do mesmo estetoscópio posicionado na região laringo-traqueal, durante um período de 30 segundos, a contagem feita foi multiplicada por dois, para se obter o valor de respirações/minuto (r/min). A TSM foi obtida pela aferição da temperatura superficial de cinco pontos dos animais (cabeça, pescoço, dorso, flanco e membro posterior na altura da coxa) e feita a média aritmética simples das temperaturas obtidas. Foi utilizado um termômetro infravermelho da marca Flir, modelo TG165. A TR foi aferida por meio de um termômetro de mercúrio, introduzido no reto do animal, de modo que

a ponta metálica ficasse em contato com a mucosa retal, por um período de um minuto.

4.5 Coleta de sangue periférico e caracterização dos leucócitos circulantes

Amostras de sangue (10 ml) foram coletada através de venopunção da jugular, com a utilização de agulha 25mm x 0,8mm e tubo à vácuo contendo solução de citrato de sódio 3,2% (m/v), mantendo a proporção de 1:10, (citrato: sangue). Os tubos foram acomodados em recipiente de isopor com gelo até a análise realizada no mesmo dia no laboratório de biologia celular (LACEL), da UTFPR Campus Dois Vizinhos (Fotografia 3).

Fotografia 3. Armazenamento do sangue coletado das ovelhas. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



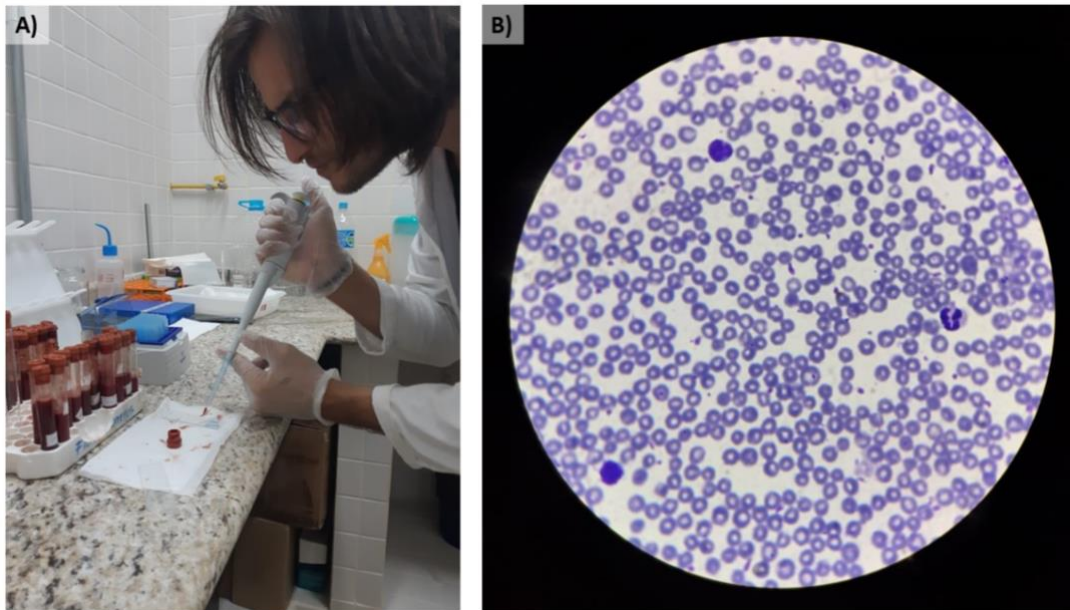
Fonte: Autoria própria (2021)

Para a análise de leucograma por comparação morfológica, foi realizada uma adaptação da metodologia descrita por Thrall (2007). Assim, foi feito um esfregaço de uma gota de sangue de aproximadamente 20 μ L em lâmina de microscopia. As lâminas com o esfregaço foram secas em chapa de aquecimento a 37°C, coradas por corante panótico (triarilmetano a 0,1%, xantenos a 0,1% e tiazinas a 0,1%) (Newprov, PA186) e lavadas em água destilada. A análise morfológica dos leucócitos foi

realizada por microscopia óptica, utilizando a lente objetiva de 100x em óleo de imersão (Laborclin, 98698).

A contagem das células foi feita pelo aplicativo Haematological Cell Counter (RBC/WBC Counter) (Sebastian Sleiman, 2.8©). A análise quantitativa foi realizada através da Câmara de Neubauer utilizando Líquido de Türk 4% (m/v) na proporção de 1:20 (sangue: líquido de Türk).

Fotografia 4. A) Preparo do esfregaço para análise de leucograma; B) Lâmina em microscopia óptica utilizando lente objetiva de 100x. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022

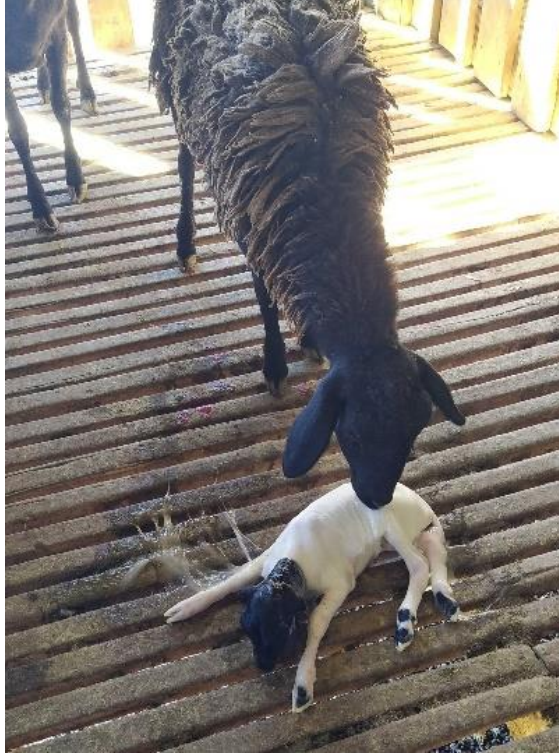


Fonte: Autoria própria (2021)

4.6 Nascimento e coleta das placentas

Uma semana antes da data prevista do parto as ovelhas foram levadas a um aprisco suspenso, onde permaneceram até o final da gestação, recebendo alimentação de silagem de milho e a mesma suplementação (concentrado de milho e soja e sal mineral) e água *ad libitum*. Os partos foram assistidos sempre que possível e as placentas coletadas foram levadas ao laboratório em recipientes plásticos. Também foi feita a pesagem dos cordeiros ao nascimento e aos 10 dias de idade.

Fotografia 5. Parto em aprisco suspenso. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022

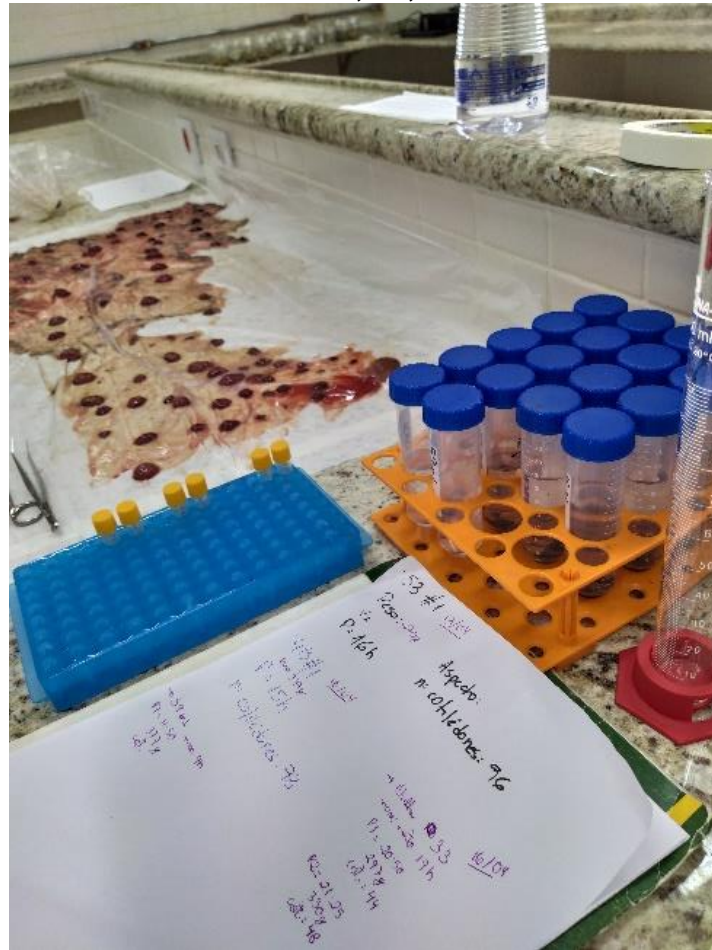


Fonte: Autoria própria (2021)

4.7 Biometria placentária

No laboratório, as placentas foram abertas em uma bancada, fotografadas e tiveram seus cotilédones contados (Fotografia 6). As fotografias foram realizadas de cima, utilizando uma régua para escala.

Fotografia 6. Organização do material para análise da biometria placentária. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



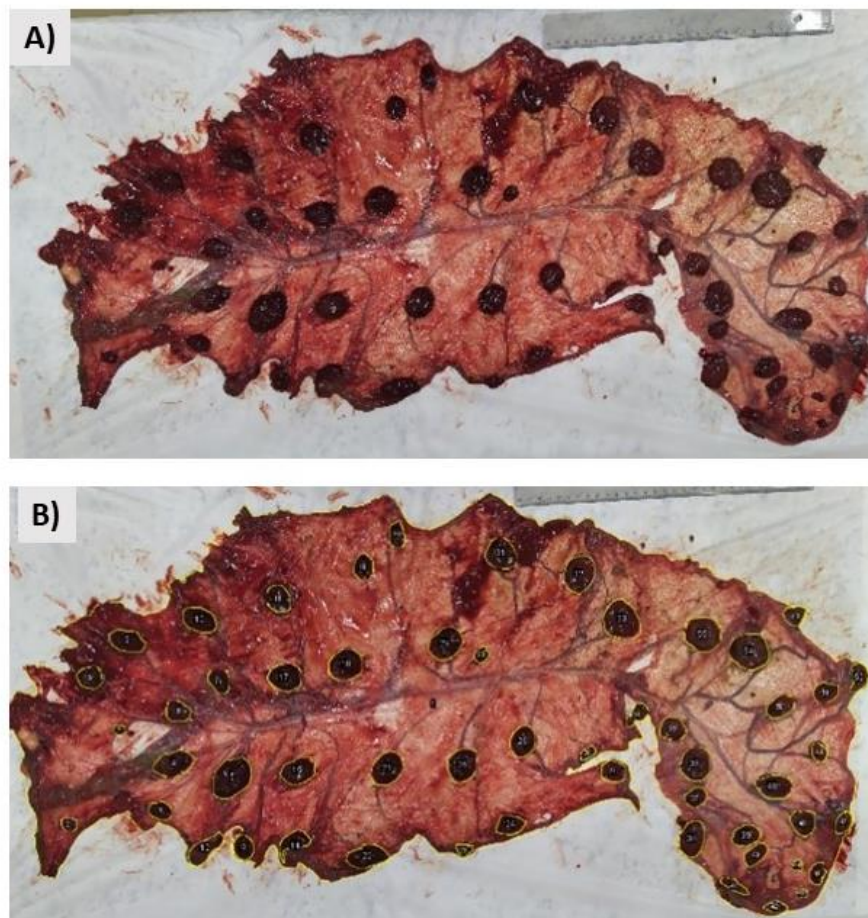
Fonte: Autoria própria (2021)

Para definir a área (membrana e cotilédones) foi utilizado o software gratuito ImageJ (SCHNEIDER, RASBAND E ELICEIRI, 2012). As áreas de interesse foram delimitadas manualmente por meio dos comandos “*freehand*” e “*brush tool*” (Fotografia 7), identificadas e armazenadas no programa. Os dados foram processados e a mensuração realizada fornecendo as áreas delimitadas em cm². As régua presentes nas fotografias foram utilizadas para criar uma escala em centímetros no software.

Ainda foram coletados fragmentos dos cotilédones placentários para a realização de análise histológica e expressão gênica de resposta ao estresse, que serão realizadas futuramente. Ao total foram coletados 6 fragmentos de aproximadamente 1 cm³ de cada placenta, sendo 3 fragmentos de topo e 3 de base de cotilédones.

Para a análise histológica, os fragmentos foram mantidos em solução de Formol a 10% (v/v) por 24h e depois mantidas em álcool 70° até as análises. Já para a análise de expressão gênica, os fragmentos foram armazenados individualmente em criotubos em freezer a -20C°, até o processamento para extração de RNA total utilizando o método de Trizol-Clorofórmio.

Fotografia 7. Representação da mensuração de área. A) Placenta de ovelha de gestação simples. B) Marcações (linhas amarelas) e numeração de área e cotilédones no ImageJ. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



Fonte: Autoria própria (2021)

4.8 Análise estatística

A análise estatística das variáveis reprodutivas, fisiológicas e de microclima assim como a produção de gráficos foram realizadas usando o software Prism GraphPad versão 7.0 para MacOS.

4.8.1 Variáveis contínuas e discretas

Para realizar a análise estatística todos os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade das variâncias (Shapiro-Wilk), considerando um sistema fatorial 2 x 6 (variável independente Sistema de Produção x variável independente Tempo). Nas análises fatoriais foram verificados os efeitos da interação Sistema de Produção x Tempo e efeitos isolados de cada variável independente. Os dados com distribuição normal foram analisados usando Anova de duas vias para amostras repetidas no tempo, adotando um modelo de efeito misto, seguido de pós-teste de Tukey ou Šídák para comparação de médias. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram analisados pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para efeitos isolados de cada variável independente. Foram consideradas como variáveis dependentes: dias de gestação, massa placentária, área de membrana placentária e número de cotilédones, massa corpórea dos cordeiros ao nascimento e aos 10 dias de idade, leucócitos totais, linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Por fim, para a caracterização do microclima e respostas fisiológicas foi realizado um teste t de Student considerando as médias obtidas para cada variável dependente (Tar, CTR, VV, UR, Trel, FC, FR, TSM e TR) com as 6 coletas ao longo do estudo.

4.8.2 Variáveis categóricas

Para a análise das variáveis tipo de gestação, tipo de placenta e sexo dos cordeiros foi utilizado o teste exato de Fisher para determinação do valor de p a partir de uma tabela de contingência 2 x 2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do microclima

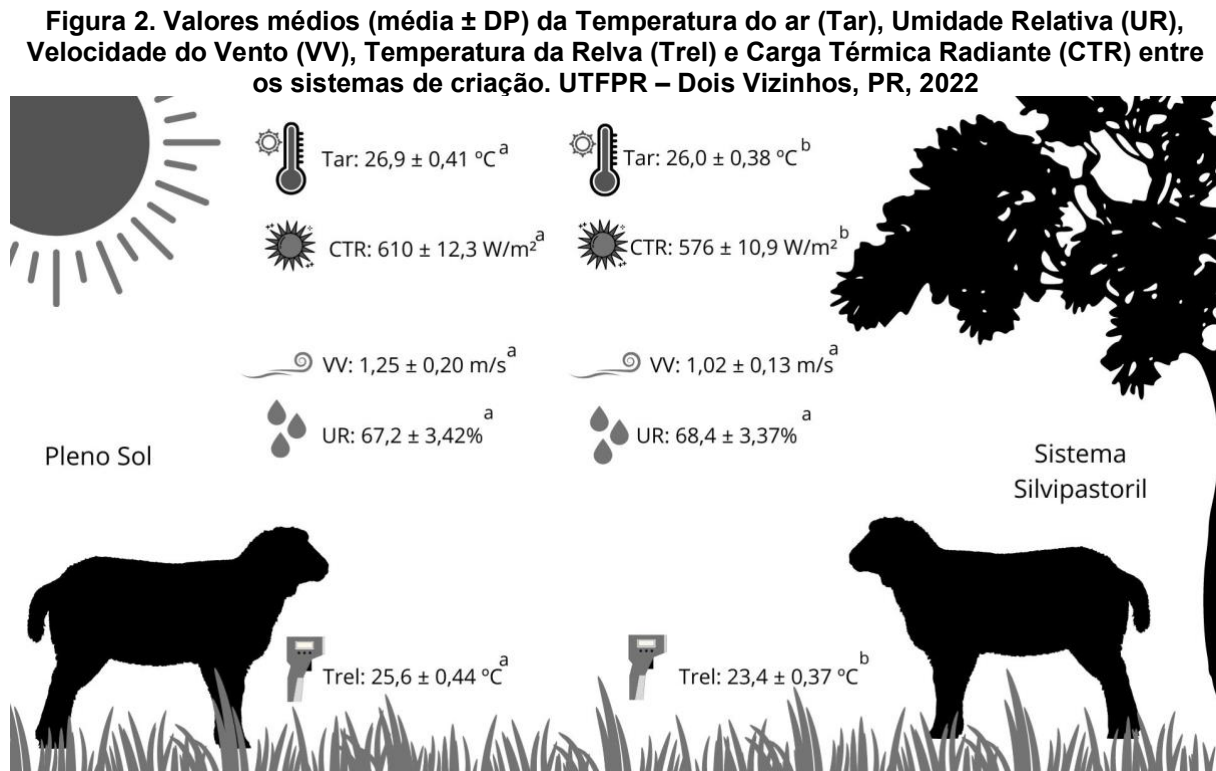
5.1.1 Variáveis ambientais

Quando consideramos apenas a Tar média, podemos dizer que ambos os sistemas apresentaram um microclima dentro da faixa de conforto térmico para ovelhas embora o SSP tenha propiciado um ambiente menos quente que o PS (PS= $26,9 \pm 0,41$, SSP= $26,0 \pm 0,38$; $p=0,0288$), ficando entre 20 e 30°C, como proposto por BAËTA e SOUZA, 2010. No presente estudo a Tar foi inferior a obtida em um estudo anterior realizado no mesmo local (DADA *et al.*, 2021), demonstrando uma variação anual. Contudo, os valores registrados de UR foram superiores aos de referência na literatura para a espécie (60%) (MONTEIRO; BRISOLA; FILHO, 2021) e não foi observada diferença entre os grupos experimentais ($p=0,4011$), outros estudos mostraram que o PS apresentou valores mais elevados tanto de Tar como de UR quando comparado ao SSP (LOPEZ-SANCHEZ *et al.*, 2016). O comparativo das variáveis microclimáticas pode ser observado na Figura 3.

Segundo Da Silva *et al.* (2017) valores de CTR acima de 570 Wm^{-2} indicam um ambiente adverso para fêmeas ovinas. A partir disso, pode-se afirmar que o microclima de ambos os sistemas foi estressante para os animais, apesar do PS apresentar valores significativamente maiores que o SP, com uma diferença de 34 Wm^{-2} entre os dois sistemas ($p=0,0288$). Tais dados só reforçam a importância de um monitoramento mais abrangente de variáveis microclimáticas e a adoção de índices de conforto ambiental ao invés da tomada de decisões ficar restrita a apenas um parâmetro, como a Tar.

A exposição prolongada ao sol pode causar desconforto para os animais também devido ao contato direto com a pastagem, pois a temperatura da mesma também é afetada. Um estudo recente (PENT *et al.*, 2021) foi analisado o comportamento de fêmeas adultas e seus cordeiros e relacionaram a exposição direta

ao sol com aumento de Trel e CTR, o que as afeta negativamente e corrobora a teoria de que o PS proporciona um ambiente mais estressante para os animais. Nossos dados também demonstraram diferença entre os microclimas em relação à Trel (PS= $25,6 \pm 0,44$, SSP= $23,4 \pm 0,37$; $p=0,0043$).



Fonte: Autoria própria (2021)

5.2 Variáveis fisiológicas

Durante o período do estudo, não foi observada variação em relação à mobilização dos leucócitos totais em ambos os sistemas ($p=0,4777$); assim como também não foi observado efeito de tempo ao longo de período gestacional ou interação entre as variáveis ($p=0,8109$ e $p=0,4150$, respectivamente). Para NICOLÁS-LÓPEZ *et al.* (2021), cordeiros machos submetidos ao estresse térmico, tiveram um aumento na contagem total de leucócitos, o que poderia ser justificado por um processo inflamatório, contudo o aumento de leucócitos circulantes é proporcional ao nível de cortisol circulante, o que levaria a um quadro de leucocitose. O cortisol aumenta o tempo de permanência das células, que se apresentam envelhecidas

hipersegmentadas, porém ativas. No entanto, não foi observada diferença nos leucócitos totais no presente estudo, que pode sugerir que as ovelhas, mesmo em microclima desafiador (PS), não apresentaram alteração na mobilização e circulação de leucócitos ao longo do estudo.

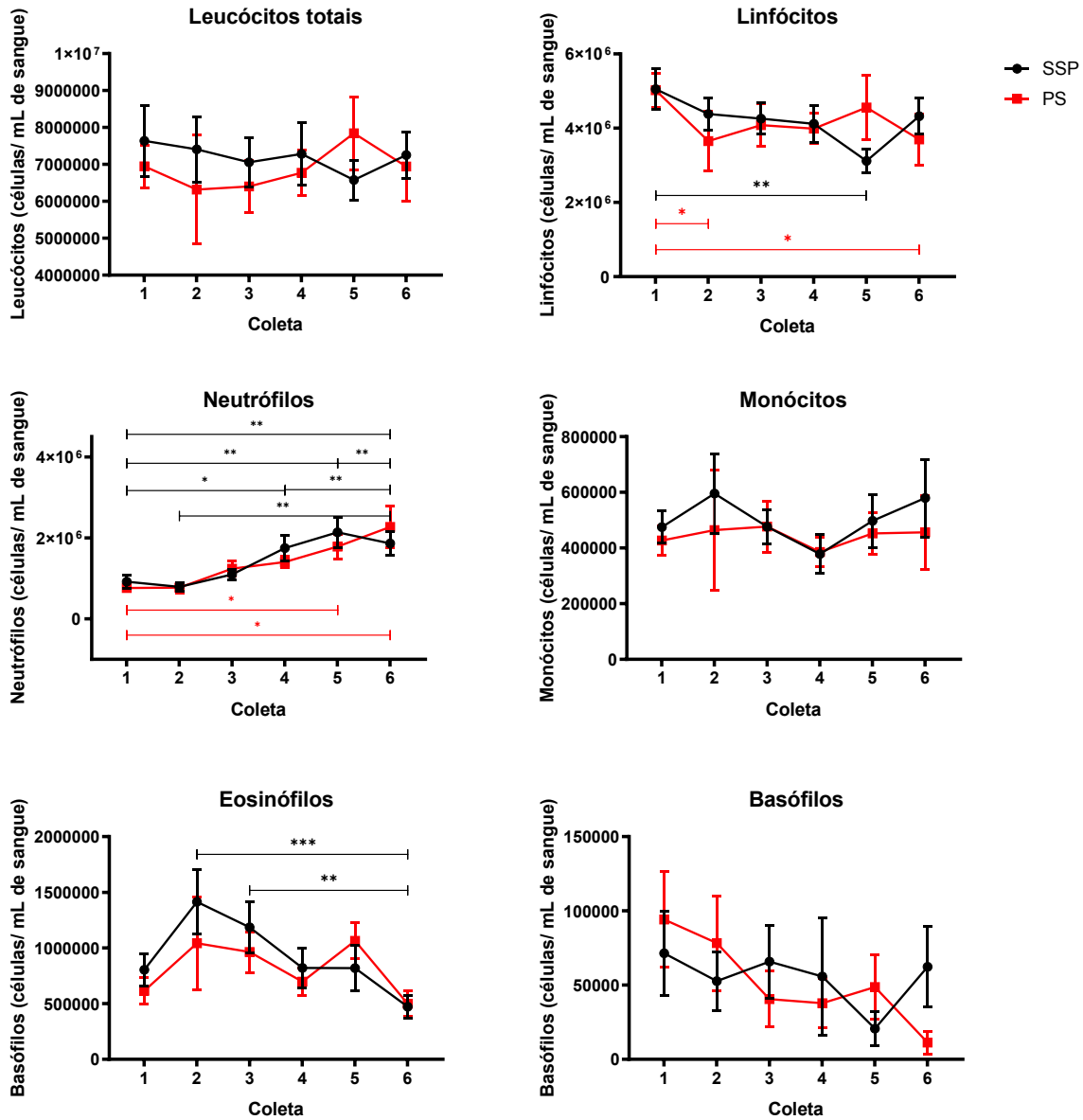
Em relação à quantidade de monócitos circulantes, não foram observadas diferenças entre os grupos, em relação ao efeito de sistema e tempo ($p > 0,05$). E para os Basófilos, foi observada apenas diferença na coleta 6 entre os sistemas (Gráfico 1)

A contagem de linfócitos sofreu efeito de tempo ($p = 0,0026$) e interação tempo x sistema ($p = 0,0355$) mas não efeito isolado de sistema de criação ($p = 0,6172$). Observou-se uma diferença na coleta 5 do grupo SSP comparada com os valores obtidos na primeira coleta ($p = 0,0026$) neste grupo. Para o grupo PS, houve diferença entre as coletas 2 e 1 ($p = 0,0111$) e entre 6 e 1 ($p = 0,0156$; Gráfico 1).

Os neutrófilos sofreram efeito de tempo apenas ($p < 0,0001$). No SSP, foi observada diferença entre as coletas 4 e 1, 5 e 1, 6 e 1 ($p = 0,0174$; $p = 0,0093$; $p = 0,0065$, respectivamente), entre 4 e 2, 5 e 2, 6 e 2 ($p = 0,0096$; $p = 0,0050$; $p = 0,0035$; respectivamente). Já no PS, as coletas que apresentaram diferenças foram 5 e 1, 6 e 1 ($p = 0,0328$; $p = 0,0204$, respectivamente). Embora não tenha sido observado um efeito isolado de sistema, pode-se notar que no grupo SSP já se observa diferença em relação à primeira coleta a partir da quarta coleta, enquanto tal diferença só é observada no grupo PS a partir da coleta 5.

A contagem de Eosinófilos sofreu somente efeito de tempo ($p = 0,0002$). Foi observada diferença apenas no grupo SSP, entre as coletas 6 e 2 ($p = 0,0004$) e 6 e 3 ($p = 0,0056$).

Gráfico 1. Leucograma de ovelhas mantidas em Sistema Silvipastoril e Pleno Sol durante a gestação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



Fonte: Autoria própria (2021)

As variáveis fisiológicas que rotineiramente podem ser utilizadas para avaliar se os animais estão sob estresse térmico são a frequência respiratória, a frequência cardíaca e a temperatura retal (HYDER *et al.*, 2017). No presente estudo, a FR dos animais expostos ao sol foi maior do que das ovelhas que tiveram acesso à sombra ($p < 0,001$), pois a exposição direta aumentou o número de movimentos por minuto em 38,5%. Além disso, a FC das ovelhas no SSP foi menor que a FC das ovelhas no PS ($p < 0,001$) (Tabela 1). Sabe-se que a taxa de bombeamento de sangue é proporcional à taxa de dissipação de calor.

Tabela 1. Valores médios (média \pm DP) da Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), Temperatura Retal (TR) e Temperatura Superficial Média (TSM) entre os sistemas PS e SSP. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022

Variáveis	Pleno Sol (PS)	Sistema Silvipastoril (SSP)	p-valor
FC (bpm)	116 \pm 4,85 a	100 \pm 4,84 b	<0,001
FR (r/ min ⁻¹)	104,1 \pm 10,0 a	76,4 \pm 10,1 b	<0,001
TR (°C)	39,35 \pm 0,06 a	39,33 \pm 0,06 a	0,6742
TSM (°C)	32,8 \pm 0,76 a	30,0 \pm 0,76 b	<0,001

Fonte: Autoria própria (2021)

As ovelhas do sistema PS apresentaram maior FC e FR, que são sinais de estresse por calor. Resultados semelhantes foram encontrados por GHASSEMI NEJAD e SUNG, (2017), ao analisarem os parâmetros fisiológicos de ovelhas submetidas a estresse por calor e restrição hídrica, observaram que ovelhas sem estresse por calor apresentaram menor valor de FR e escore de ofego (Valor de p= 0,02 e 0,03, respectivamente).

A exposição direta do animal ao sol também aumentou significativamente sua TSM em 2,8°C quando comparado aos animais de SSP (P<0,001). No entanto, a TR não foi afetada pela presença de sombra (p=0,6742; Tabela 1), o que contraria alguns trabalhos onde a TR dos animais sob o estresse térmico foi maior (DIAS E SILVA *et al.*, 2016; PEHLIVAN *et al.*, 2020)

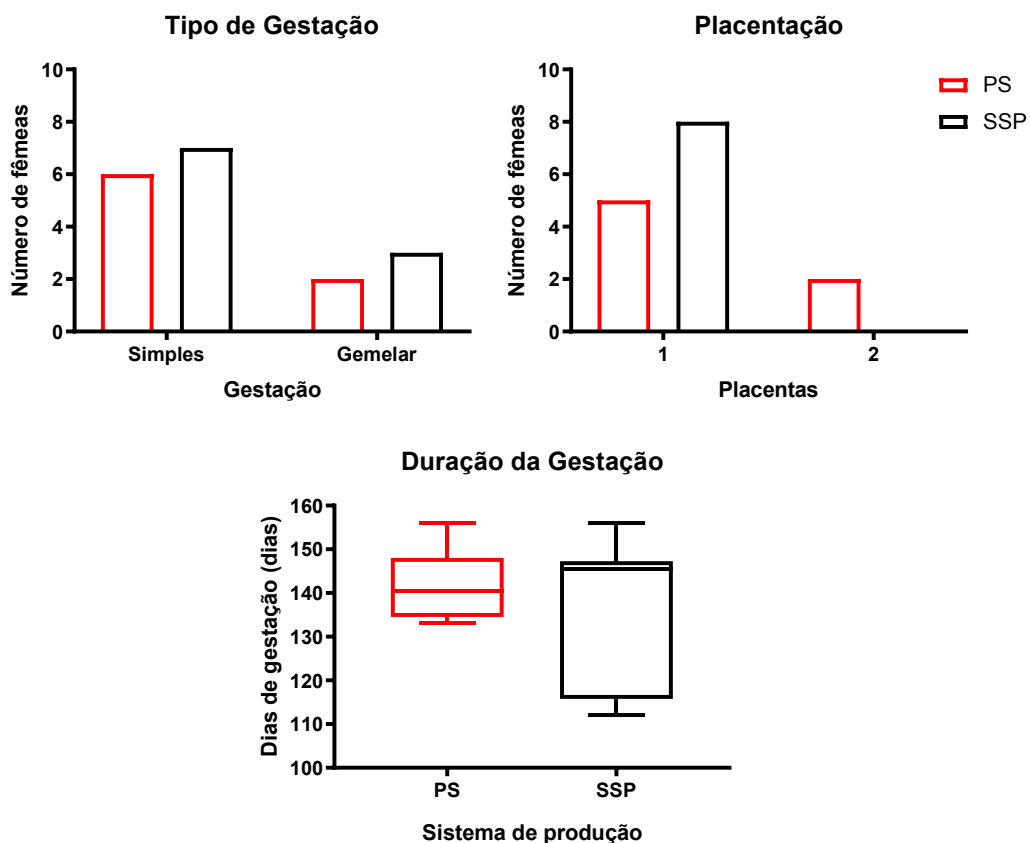
Apesar das diferenças entre as demais Variáveis Fisiológicas, a TR é a principal utilizada para identificar o estado de estresse térmico do animal. Logo, por mais que as ovelhas estivessem sob uma condição microclimática desafiadora, conseguiram manter a temperatura corporal dentro da faixa normal de acordo com essa variável, o que pode estar ligado ao aumento de FC e FR. A TR de ambos os sistemas foi semelhante, contrariando o que é apresentado na literatura, onde ovelhas sob estresse térmico apresentam alta RT (PEHLIVAN *et al.*, 2020; DIAS *et al.*, 2016)

5.3 Dados reprodutivos

Tanto gestações simples como gemelares foram observadas nos dois tratamentos. Dessa forma, os dados foram analisados estatisticamente considerando o tipo de gestação (simples vs gemelar). Curiosamente, no SSP houve apenas placentas simples (1 placenta), enquanto no PS apenas placentas duplas (2 placentas) nas gestações gemelares (Gráfico 2).

Em relação à duração da gestação, não houve efeito de sistema ($p= 0,4987$), embora numericamente falando as ovelhas do SSP se aproximaram mais do tempo considerado normal de gestação (SSP= 142 dias; PS= 137,6 dias) (Gráfico 2).

Gráfico 2. Gráficos relacionados ao tipo de gestação, ao número de placentas e a duração da gestação de ovelhas

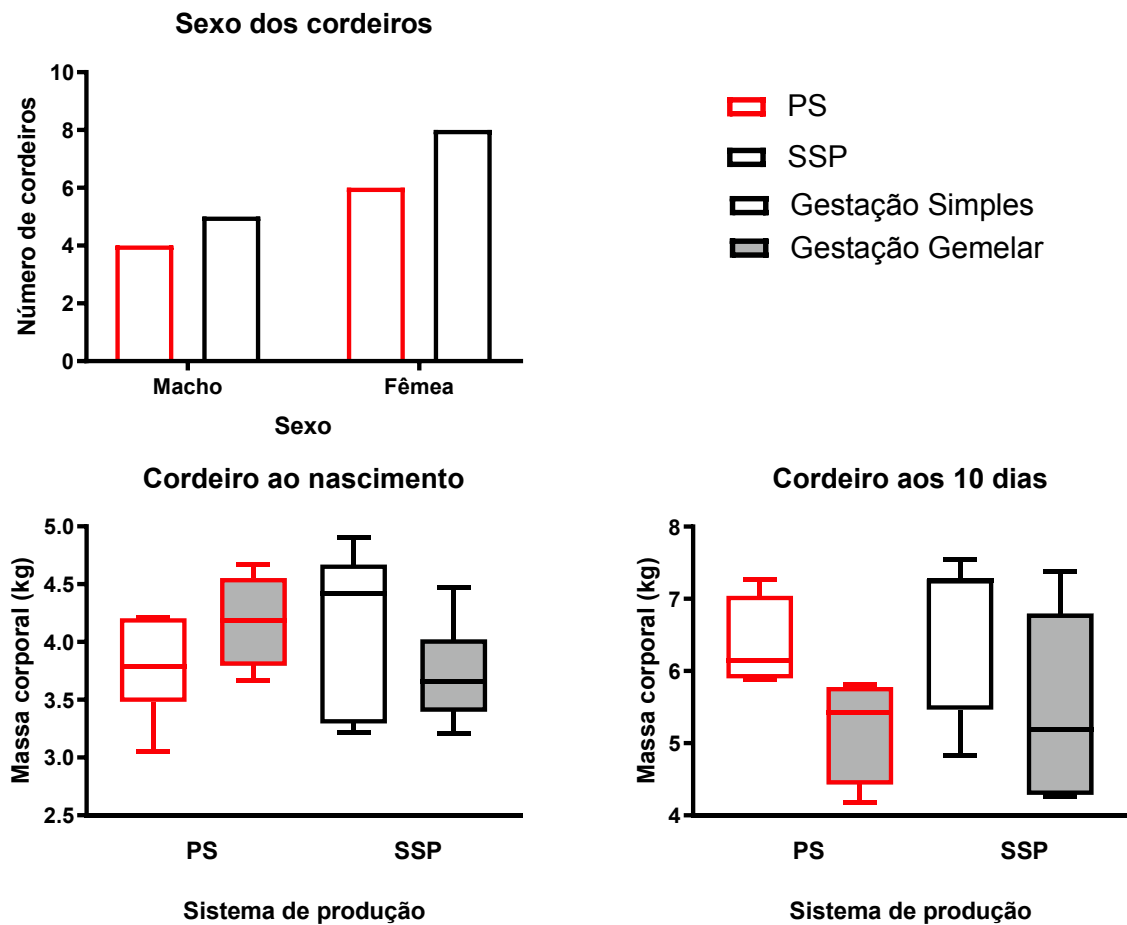


Fonte: Autoria própria (2021)

Não houve efeito do tipo de sistema sobre o sexo dos cordeiros ($p>0,9999$). Curiosamente, os dois sistemas apresentaram maior números de cordeiros fêmeas (PS: macho 40%, fêmea 60%; SSP: macho 38%, fêmea 61,54%) (Gráfico 3). Não

houve efeito de sistema sobre a massa corporal ao nascimento dos cordeiros ($p=0,7561$) ou efeito de tipo gestação (simples ou gemelar) sobre a mesma variável ($p=0,9455$). Todavia houve efeito de gestação sobre a massa corpórea dos cordeiros aos 10 dias de vida ($p=0,0273$), provavelmente devido a disputa pelo leite materno entre os cordeiros gêmeos.

Gráfico 3. Dados sobre o nascimento e o ganho de peso dos cordeiros de ovelhas mantidas em PS e SSP durante a gestação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022



Fonte: Autoria própria (2021)

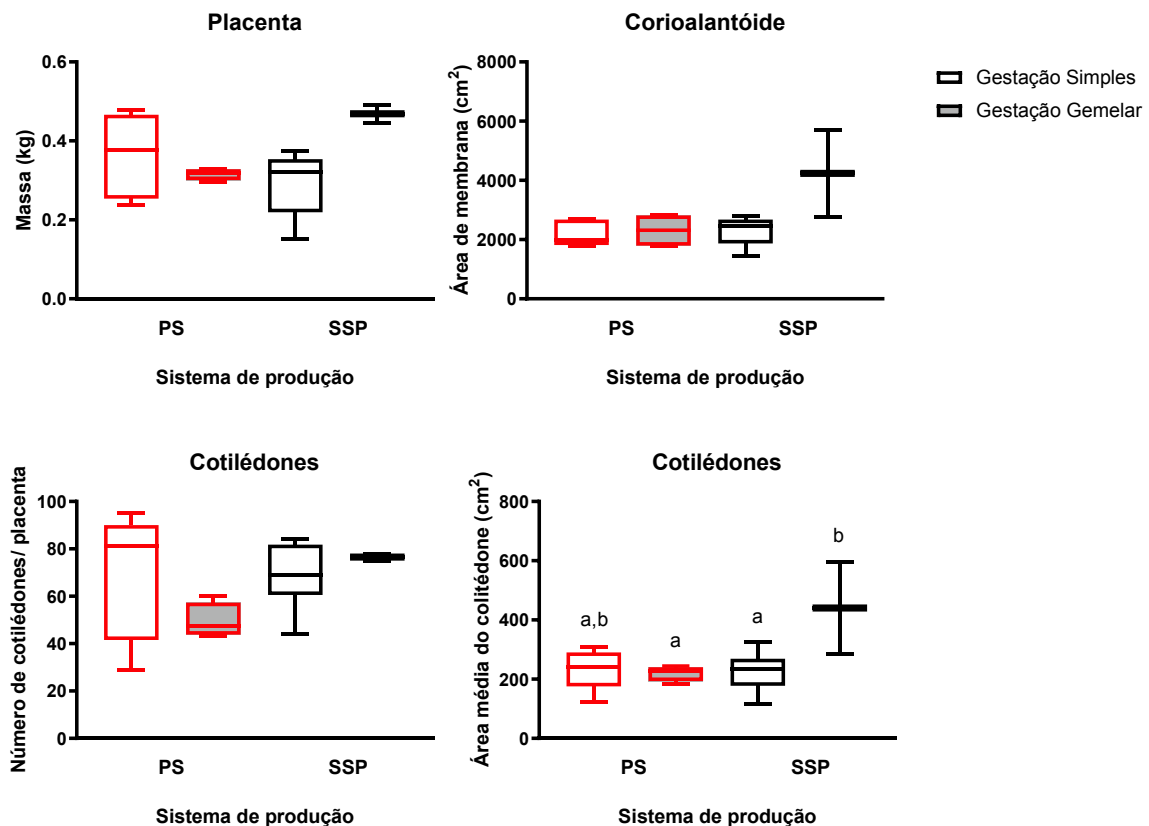
Na literatura foi observado que ao comparar-se o peso ao nascimento de cordeiros em ambiente termoneutro, com o mesmo peso ao nascimento de cordeiros nascidos de ovelhas expostas ao estresse térmico, notou-se um peso menor no segundo grupo, embora este estudo não apresente esse efeito de sistema. De acordo com MARAI *et al.*, (2007) essa diferença de peso se deve a um distúrbio no

crescimento placentário gerado pelo calor, afetando o crescimento fetal e consequentemente o peso ao nascer dos cordeiros. Em caprinos, o ganho de massa após 8 dias de nascimento é maior em relação a ovinos criados em microclimas estressantes termicamente, podendo essa diferença estar associada a baixa eficiência placentária (DIAS E SILVA *et al.*, 2016). Contudo, no presente estudo tal efeito não foi observado.

O estresse térmico pode reduzir a duração da gestação em vacas e cabras, causando diretamente uma redução do peso ao nascer (TAO; DAHL, 2013). Embora o presente estudo não mostrou um efeito de sistema sobre a duração da gestação das ovelhas, observou-se uma média numericamente inferior no sistema PS (140 dias) quando comparado ao grupo SSP (145,5 dias), sendo o SSP o grupo que mais aproximou-se do tempo normal de duração da gestação (150 dias). Além disso, em vacas, CASAMASSIMA *et al.* (2001) constatou-se que o estresse térmico reduz significativamente a produção e a qualidade do leite, o que também pode afetar o ganho de peso dos filhotes. Em vacas, CASAMASSIMA *et al.* (2001) constatou-se que o estresse térmico reduz significativamente a produção e a qualidade do leite, o que também pode afetar o ganho de peso dos filhotes.

Embora estudos como Dwyer *et al.*, (2005), Özyürek e Türkyilmaz (2020) sugerem que gestações gemelares apresentam placentas de maior massa e com maior número de cotilédones, o mesmo foi observado no presente estudo somente em relação à área de membrana ($p= 0,0223$), mas não para massa da placenta ($p= 0,1522$) e número de cotilédones ($p= 0,5457$). As placentas simples de gestações gemelares não apresentaram maior área de cotilédones ($p=0,444$). Para essa última variável, também foi verificado efeito de sistema ($p= 0,0349$) e interação sistema x tipo de gestação ($p=0,0247$) (Gráfico 4).

Gráfico 4. Dados referentes à análise de biometria placentária de ovelhas mantidas em PS e SSP durante a gestação. UTFPR – Dois Vizinhos, PR, 2022.



Fonte: Autoria própria (2021)

5.4 Outras observações dignas de nota ao longo do estudo

Além das variáveis estudadas, foi observado ao longo do experimento que as ovelhas do PS eram mais reativas ao contato com as pessoas; demonstrando sinais de medo ao se aproximar e mantendo a distância entre elas mesmas no piquete. O que não foi observado nos animais do SSP, que se demonstraram mais dóceis e se aproximavam.

Também ocorreu um aborto espontâneo no PS, porém não foi possível a coleta da placenta; e uma das ovelhas paridas rejeitou o cordeiro nascido logo após o parto, demonstrando sinais de agressividade com o mesmo.

Ao final do experimento, no total foram coletadas 17 placentas oriundas do parto de 18 ovelhas. As gestações foram classificadas em simples (um cordeiro) ou gemelar (2 cordeiros).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mesmo os dois sistemas podendo ser caracterizados como desconfortáveis de acordo com o registro de variáveis microclimáticas, as ovelhas gestantes mantidas no SSP apresentaram menor Frequência Cardíaca, Frequência Respiratória e Temperatura Superficial média. Portanto, esses animais gastaram menos energia para manter a temperatura corpórea, que pode ser direcionada para o desenvolvimento placentário. Contudo, no presente estudo, não observamos diferenças entre os tratamentos em relação à mobilização de leucócitos, ao nascimento dos cordeiros e seu desenvolvimento pós-natal, ou em relação a biometria placentária. Possivelmente, com um espaço amostral maior, essas variáveis poderiam apresentar diferença estatística.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. G. DE; ALVES, F. V. Diretrizes Técnicas para Produção de Carne com Baixa Emissão de Carbono Diretrizes Técnicas para Produção de Carne com Baixa Emissão de Carbono Certificada em Pastagens Tropicais : Carne Baixo Carbono (CBC). **Documentos 280-Embrapa Gado de Corte**, n. March, p. 36, 2020.

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais conforto térmico**. 1. ed. Viçosa: UFV, 1997. 246p.

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. Viçosa, MG: UFV, 2010. 269 p.

BATISTA, J. N., SOUZA, B. B., BORGES, L. D., LIMA, L. A. & SILVA, E. M. N. Termorregulação em ruminantes. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 11, p. 39-46. 2015.

CASAMASSIMA, D. *et al.* Effects of two different housing systems on behavior, physiology and milk yield of Comisana ewes. **Small Ruminant Research**, v. 41, n. 2, p. 151–161, 2001.

COELHO, L.A. *et al.* Concentrações plasmáticas de testosterona, triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) em bodes submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.6, p.1338-1345, 2008.

ComputingR Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019.

CUNNINGHAM, J.G. & KLEIN, B.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**, 4 a Edição, Rio de Janeiro: Editora Elsevier Guanabara Koogan S.A., 2008, 710p.

DA SILVA, W. E. *et al.* Daily rhythmicity of the thermoregulatory responses of locally adapted Brazilian sheep in a semi-arid environment. **International Journal of Biometeorology**, v. 61, n. 7, p. 1221–1231, 2017.

DADA, J. M. V. *et al.* Postpartum behavioural response of Santa inês x dorper ewes and lambs in a silvopastoral system. **Small Ruminant Research**, v. 203, n. August, 2021.

DE OLIVEIRA FASSIO, P. *et al.* Sistema Silvopastoril e Ambiência Animal. **Jornada científica**, v. 2, p. 5, 2009.2021.

DIAS E SILVA, T. P. *et al.* Effect of multiple stress factors (thermal, nutritional and pregnancy type) on adaptive capability of native ewes under semi-arid environment. **Journal of Thermal Biology**, v. 59, p. 39–46, 2016.

DO AMARAL, B. C. *et al.* Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p. 86–96, 2011.

DWYER, C. M. *et al.* Breed, litter and parity effects on placental weight and placentome number, and consequences for the neonatal behaviour of the lamb. **Theriogenology**, v. 63, n. 4, p. 1092–1110, 2005.

ENCARNAÇÃO, E. Estresse e produção animal. Campo Grande: Embrapa Gado Gado de Corte. 1997 (Documentos, 34. 3ª. reimpr.).

ESMAY, M. L. Convective Heat transfer coefficient for poultry excreta. **Transactions of the ASAE**, v. 21, n. 3, p. 534-0536, 1978.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária**. 3ª ed. Ed. Roca, São Paulo, 2014.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2005.

GHASSEMI NEJAD, J.; SUNG, K.-I. Behavioral and physiological changes during heat stress in Corriedale ewes exposed to water deprivation. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 1–6, 2017.

HYDER, I. *et al.* **Thermotolerance in Domestic Ruminants: A HSP70 Perspective.** [s.l: s.n.].

KARTHIK, D. *et al.* Adaptive profiles of Nellore sheep with reference to farming system and season: physiological, hemato-biochemical, hormonal, oxidative-enzymatic and reproductive standpoint. **Heliyon**, v. 7, n. 5, p. e07117, 2021.

KAUFMANN, P.; MAYHEW, T. M.; CHARNOCK-JONES, D. S. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. **Placenta**, v. 25, n. 2–3, p. 114–126, 2004.

LIMESAND, S. W. *et al.* Impact of thermal stress on placental function and fetal physiology. **Animal Reproduction**, v. 15, n. lrrs, p. 886–898, 2018.

LOPEZ-SANCHEZ, A.; SAN MIGUEL, A.; DIRZO, R.; ROIG, S. Scattered trees and livestock grazing as keystones organisms for sustainable use and conservation of Mediterranean dehesas. **Journal for Nature Conservation**, v. 33, p. 58-67, 2016.

MARAI, I. F. M. *et al.* Physiological traits as affected by heat stress in sheep-A review. **Small Ruminant Research**, v. 71, n. 1–3, p. 1–12, 2007.

MEHABA, N. *et al.* Heat stress affects some physiological and productive variables and alters metabolism in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 1099–1110, 2021.

MONTEIRO, M. G.; BRISOLA, M. V.; FILHO, J. E. R. V. TD 2660 - Diagnóstico da Cadeia Produtiva de Caprinos e Ovinos no Brasil. **Texto para Discussão**, p. 1–31, 2021.

NETO, R. F. *et al.* Estudo Da Consorciação De Práticas Agropecuárias Para O Desenvolvimento De Sistemas Sustentáveis E Eficientes Na Produção De Ovinos De Corte / Consortium Study of Agricultural Practices for the Development of Sustainable and Efficient Systems in the Produ. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 1108–1129, 2021.

NICOLÁS-LÓPEZ, P. *et al.* Growth performance and changes in physiological, metabolic and hematological parameters due to outdoor heat stress in hair breed

male lambs finished in feedlot. **International Journal of Biometeorology**, v. 65, n. 8, p. 1451–1459, 2021.

OLIVEIRA, S. E. O; COSTA, C. C. M. Respiratory heat loss in Morada Nova sheep in Brazilian semi-arid regions. **Journal Animal Behavior and Biometeorology**, v.1, p.17-20, 2013.

ÖZYÜREK, S.; TÜRKYILMAZ, D. Determination of relationships between placental characteristics and birth weight in Morkaraman sheep. **Archives Animal Breeding**, v. 63, n. 1, p. 39–44, 2020.

PEHLIVAN, E. *et al.* Effect of shearing on some physiological and hormonal parameters in Akkaraman sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 5, p. 848–855, 2020.

PENT, G. J. *et al.* Lamb performance in hardwood silvopastures, II: Animal behavior in summer. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 1, p. 363–375, 2021.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical.**

Rasband, W.S., ImageJ, U. S. **National Institutes of Health**, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2018.

REECE, J. B. *et al.* **Biologia de Campbell**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

REYNOLDS, L. P. *et al.* Placental angiogenesis in sheep models of compromised pregnancy. **Journal of Physiology**, v. 565, n. 1, p. 43–58, 2005.

RIBEIRO, N. L.; FURTADO, D. A.; MEDEIROS, A. N.; RIBEIRO, M. N.; SILVA, R. C.; SOUZA, C. Avaliação dos índices de conforto térmico, parâmetros fisiológicos e gradiente térmico de ovinos nativos. **Engenharia Agrícola**, v.28, n.4, p.614-623, 2008.

SANTOS, M. L. P. DOS *et al.* Physiological responses of Santa Inês x Dorper ewes

and lambs to thermal environment of silvopasture and open pasture systems. **Small Ruminant Research**, v. 205, n. March, 2021.

SCHNEIDER, C. A., RASBAND, W. S., & ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, 9(7), 671–675. 2012.

SILVA, E.M.N. *et al.* Avaliação da adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.3, p.516-521, 2006.

SILVA, J. A. R. D.; ARAÚJO, A. A. D.; LOURENÇO JÚNIOR, J. D. B.; SANTOS, N. D. F. A. D.; GARCIA, A. R.; NAHUM, B. D. S. Conforto térmico de búfalas em sistema silvipastoril na Amazônia Oriental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 10, p. 1364-1371, 2011.

REECE W.O. **Dukes - Fisiologia Dos Animais Domésticos**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2014. 926p.

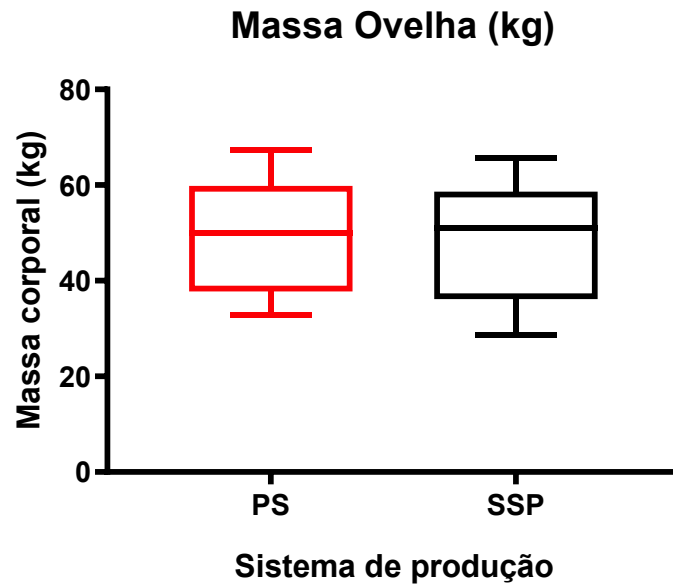
TAO, S.; DAHL, G. E. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 7, p. 4079–4093, 2013.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2007.

WOJTAS, K.; CWYNAR, P.; KOŁACZ, R. Effect of thermal stress on physiological and blood parameters in merino sheep. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 58, n. 2, p. 283–288, 2014.

APÊNDICE A - Distribuição do peso inicial das ovelhas separadas nos tratamentos: Pleno Sol (PS) e Silvipastoril (SSP)

Gráfico. Distribuição do peso inicial das ovelhas separadas nos tratamentos: Pleno Sol (PS) e Silvipastoril (SSP)



Apêndice B - Valores de Referência para Ovelhas

Tabela. Valores de Referência para Ovelhas

Variável	Valor	Referência
FC	70 – 110 bpm	REECE, 2015
FR	20 – 34 r/min	REECE, 2015
TR	38,5 - 39,9°C	CUNNINGHAM, 2008
Zona de conforto térmico	25 – 30°C	BAETA e SOUZA 1997

**Apêndice C - Número total de leucócitos por microlitro de sangue e
porcentagem de cada leucócito em ovinos**

Quadro. Número total de leucócitos por microlitro de sangue e porcentagem de cada leucócito em ovinos

Leucócitos totais	7000-10000
	Porcentagem de cada leucócito
Neutrófilo	25-30%
Linfócito	60-65%
Monócito	5%
Eosinófilo	2-5%
Basófilo	<1%

Fonte: adaptado de REECE (2015)