

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**EFEITO DA OBSTRUÇÃO DOS DUCTOS INCISIVOS  
SOBRE AS CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS  
E PRODUTIVAS EM MACHOS NELORE  
NO PERÍODO PRÉ PUBERAL**

**LUCAS LUZ EMERICK**

**BELO HORIZONTE  
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG  
2012**

**LUCAS LUZ EMERICK**

**EFEITO DA OBSTRUÇÃO DOS DUCTOS INCISIVOS  
SOBRE AS CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS  
E PRODUTIVAS EM MACHOS NELORE  
NO PERÍODO PRÉ PUBERAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal da Escola de Veterinária da  
Universidade Federal de Minas Gerais, como  
requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em  
Ciência Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal  
Orientador: Vicente Ribeiro do Vale Filho  
Co-Orientador: Prof. Germán Arturo Bohorquez  
Mahecha  
Co-Orientador: Prof. Venício José de Andrade

**Belo Horizonte**  
**Escola de Veterinária – UFMG**  
**2012**

E53e Emerick, Lucas Luz, 1979-  
Efeito da obstrução dos ductos incisivos sobre as características reprodutivas e produtivas em machos Nelore no período pré-puberal/ Lucas Luz Emerick.- 2012.  
134 p.: il.  
Orientador: Vicente Ribeiro do Vale Filho  
Co-orientadores: Germán Arturo Bohorquez Mahecha, Venício José de Andrade  
Tese (doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

1. Nelore (Zebu) – Reprodução - Teses. 2. Comportamento sexual dos animais – Teses. 3. Testosterona – Teses. 4. Reprodução animal - Teses. 5. Nelore (Zebu) - Carcaças Teses. I. Vale Filho, Vicente Ribeiro do. II. Bohorquez Mahecha, Germán Arturo. III. Andrade, Venício José de. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

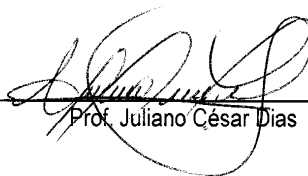
CDD - 636.2089 26

Tese defendida e aprovada em 22 de maio de 2012, pela Comissão Examinadora  
constituída por:



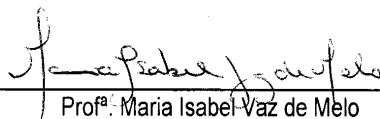
---

Prof. Vicente Ribeiro do Vale Filho  
Presidente



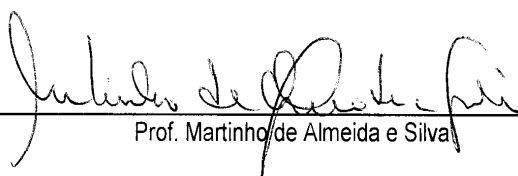
---

Prof. Juliano César Dias



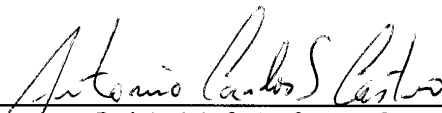
---

Prof.ª Maria Isabel Vaz de Melo



---

Prof. Martinho de Almeida e Silva



---

Prof. Antônio Carlos Santana Castro





UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- C E T E A -

**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo nº 159/2009**, relativo ao projeto intitulado "**Efeito da cauterização dos ductos incisivos no touro sobre as características andrológicas, de comportamento sexual, de histologia dos testosteroes sérica e intratesticular**", que tem como responsável(is) **Vicente Ribeiro do Vale Filho**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **28/ 10/2009**.

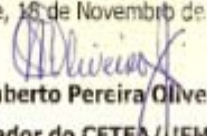
Este certificado expira-se em **28/ 10/ 2014**.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the **Protocol nº 159/2009**, related to the project entitled "**Bull incisive ducts cauterization on andrologic characteristics, sexual behavior, testis, bones and vomeronasal organs histology and seric and intratesticular testosterone concentrations**", under the supervisors of **Vicente Ribeiro do Vale Filho**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **October 28, 2009**.

This certificate expires in **October 28, 2014**.

Belo Horizonte, 18 de Novembro de 2009.

  
**Prof. Humberto Pereira Oliveira**  
**Coordenador do CETEA/UFMG**

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II - 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil  
Telefone: (31) 3499-4516 - Fax: (31) 3499-4592  
[www.ufmg.br/bioetica/cetea](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

(Mod.Cert. v1.0)



À minha família e amigos

Dedico.



---

## AGRADECIMENTOS

---

À Deus pela existência e saúde.

Ao CNPq pela concessão da bolsa e financiamento desse estudo.

À FAPEMIG.

Aos meus familiares pelo apoio incondicional, ensinamentos, base e convívio.

Ao Professor Vicente Ribeiro do Vale Filho, pela orientação, oportunidade, amizade, paciência, pelos momentos agradáveis e difíceis (a final ao seu lado todos são prazerosos), pelos conselhos, sugestões, confiança, meu eterno agradecimento.

Ao professor Venício José de Andrade pela paciência, serenidade, confiança, ensinamentos e amizade.

Ao professor Germán Arturo Bohórquez Mahecha pelo seu conhecimento, paciência, serenidade, confiança, amizade e por ser duro, quando necessário, sem medir esforços na execução desse estudo.

Ao professor Martinho de Almeida e Silva, pela simpatia, que sempre me recebeu e pelas valiosas sugestões ao trabalho.

À professora Maria Isabel Vaz de Melo por aceitar a participar da banca e pelo exemplo de pessoa e profissional, além das preciosas sugestões fornecidas a esse estudo.

Ao professor Antônio Carlos Santana Castro por ter colaborado e aceito a participar da banca de defesa.

Ao professor Juliano Cesar Dias, exemplo de estudante e profissional que venceu. Agradeço a Deus por estar sempre perto, desde o mestrado até agora, transferindo seus conhecimentos, através de valiosos conselhos.

Ao professor Afonso pelos ensinamentos e por realizar as avaliações das carcaças desse experimento.

Ao pessoal do LABRE e do laboratório de fisiologia do ICB-UFMG, nas pessoas dos prof(a)s. Cleida, Adelina, Candido e da técnica Janine por trazer preciosas informações, por receber e aceitar a minha presença, além de exercer colaboração imprescindível na execução desse trabalho.

Aos demais professores do setor de reprodução animal da EV-UFMG pelas aulas, sugestões e respeito.

Ao professor Antônio de Pinho Marques Júnior pelas sugestões e participação na banca de qualificação.

Ao professor Helton Matana Saturnino por estar sempre solícito, em passar conhecimento e bibliografias, que de muito valeram, para entender um pouco esse estudo.

Ao grupo de pesquisa, nas pessoas dos(as) colegas Paulo, Jorge, Ticiano, Fernando, José Eduardo, Pablo, Marcela Ramos, Carlos Eugênio pelo convívio, colaboração e informações concedidas.

Aos demais colegas da pós-graduação pela amizade e convívio.

Ao amigo Dário Dias pela amizade, conselhos, paciência e dedicação prestada sempre que necessárias.

Às funcionárias do colegiado de pós graduação pelo respeito, disposição e tranquilidade em nos atender.

Aos demais professores da Escola de Veterinária da UFMG pelos ensinamentos, afinal “nunca recebi um não”.

Aos companheiros de república pela convivência.

Ao Dr. Nilson Antônio de Azevedo pela colaboração e convívio.

Ao pessoal da fazenda Granja Reunidas nas pessoas do Dr. João Henrique (proprietário), Helton, Robson, Pereira, Osmir e demais pelos auxílios nas avaliações desse estudo.

Aos animais que participaram de forma direta e indireta na execução desse trabalho.

À Adriana Franco de Almeida pelo convívio, colaboração e carinho fornecidos durante todo o período, estando longe ou perto.

*Muito obrigado.*

*“Se eu vi mais longe, foi por estar de pé sobre ombros de gigantes”*

**Isaac Newton**

*“O único homem que está isento de erros, é aquele que não arrisca acertar.”*

**Albert Einstein**



| <b>Sumário</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Lista de Tabelas</b>                                                                                                                                                                                                                                                                          | 15 |
| <b>Lista de Figuras</b>                                                                                                                                                                                                                                                                          | 16 |
| <b>Lista de Abreviaturas</b>                                                                                                                                                                                                                                                                     | 17 |
| <b>Capítulo 1- Fatores que influenciam as características de carcaça, a secreção de testosterona, o comportamento e desenvolvimento sexual em machos mamíferos: uma revisão</b>                                                                                                                  | 19 |
| Resumo                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 19 |
| Abstract                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 19 |
| 1.0-Introdução                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 19 |
| 2.0 - Revisão de Literatura                                                                                                                                                                                                                                                                      | 21 |
| 2.1 – A função testicular                                                                                                                                                                                                                                                                        | 21 |
| 2.2 - Controle endócrino da espermatogênese                                                                                                                                                                                                                                                      | 28 |
| 2.3 - Controle autócrino e parácrino da espermatogênese                                                                                                                                                                                                                                          | 32 |
| 2.4 – O epidídimo                                                                                                                                                                                                                                                                                | 36 |
| 2.5 – Testosterona                                                                                                                                                                                                                                                                               | 37 |
| 2.6 – Puberdade                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 39 |
| 2.7 – O eixo somatotrópico e o desenvolvimento sexual                                                                                                                                                                                                                                            | 42 |
| <b>2.8 - Endocrinologia do desenvolvimento sexual</b>                                                                                                                                                                                                                                            | 45 |
| 2.9 - Maturidade sexual                                                                                                                                                                                                                                                                          | 49 |
| 2.10 - Comportamento sexual em touros                                                                                                                                                                                                                                                            | 51 |
| 2.11 - Regulação do comportamento sexual                                                                                                                                                                                                                                                         | 54 |
| 2.12 - Órgão vomeronasal e o sistema olfatório                                                                                                                                                                                                                                                   | 61 |
| 2.13 – Qualidade de carcaça e castração                                                                                                                                                                                                                                                          | 64 |
| 3.0-Consideração final                                                                                                                                                                                                                                                                           | 66 |
| 4.0- Referências bibliográficas                                                                                                                                                                                                                                                                  | 66 |
| <br><b>Capítulo 2- Características andrológicas, histologia testicular, altura do epitélio neuro sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore (<i>Bos taurus indicus</i>) pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos</b> | 80 |
| Resumo                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 80 |
| Abstract                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 80 |
| 1.0-Introdução                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 81 |
| 2.0-Material e Método                                                                                                                                                                                                                                                                            | 83 |
| 3.0-Resultados e Discussão                                                                                                                                                                                                                                                                       | 86 |
| 4.0-Conclusão                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 96 |
| 5.0-Referências bibliográficas                                                                                                                                                                                                                                                                   | 96 |

| <b>Sumário</b>                                                                                                                                                                                                                                                  |                |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <b>Capítulo 3- Comportamento sexual, altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos</b>                                     | <b>100</b>     |
| Resumo                                                                                                                                                                                                                                                          | 100            |
| Abstract                                                                                                                                                                                                                                                        | 101            |
| 1.0-Introdução                                                                                                                                                                                                                                                  | 102            |
| 2.0-Material e Método                                                                                                                                                                                                                                           | 103            |
| 3.0-Resultados e Discussão                                                                                                                                                                                                                                      | 107            |
| 4.0-Conclusão                                                                                                                                                                                                                                                   | 116            |
| 5.0-Referências bibliográficas                                                                                                                                                                                                                                  | 117            |
| <br><b>Capítulo 4- Características de carcaça, desenvolvimento ponderal, altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos</b> | <br><b>120</b> |
| Resumo                                                                                                                                                                                                                                                          | 120            |
| Abstract                                                                                                                                                                                                                                                        | 120            |
| 1.0-Introdução                                                                                                                                                                                                                                                  | 121            |
| 2.0-Material e Método                                                                                                                                                                                                                                           | 123            |
| 3.0-Resultados e Discussão                                                                                                                                                                                                                                      | 126            |
| 4.0-Conclusão                                                                                                                                                                                                                                                   | 132            |
| 5.0-Perspectivas                                                                                                                                                                                                                                                | 132            |
| 6.0-Referências bibliográficas                                                                                                                                                                                                                                  | 132            |

---

### Lista de Tabelas

---

#### **Capítulo 2- Características andrológicas, histologia testicular, altura do epitélio neuro sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore (*Bos taurus indicus*) pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos**

---

|                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Variáveis avaliadas na histologia testicular nos animais inteiros e bloqueados ao abate                                                                                                | 91 |
| Tabela 2 – Altura do epitélio sensitivo do OVN (mm) dos animais inteiros e bloqueados ao final do experimento                                                                                     | 92 |
| Tabela 3 – Concentração sérica de testosterona (ng/mL) nos animais dos dois tratamentos, ao longo do experimento, registrados em dois diferentes turnos                                           | 93 |
| Tabela 4 – Concentração sérica de IGF-I (ng/mL) nos animais inteiros e bloqueados durante o experimento                                                                                           | 94 |
| Tabela 5 – Correlações de Spearman entre as variáveis andrológicas, as concentrações séricas de testosterona pela manhã, pela tarde e de IGF-I nos animais inteiros                               | 95 |
| Tabela 6 – Correlações de Pearson entre a circunferência escrotal, as concentrações séricas de testosterona pela manhã, do IGF-I e dos diâmetros tubulares e luminais nos animais inteiros        | 95 |
| Tabela 7 - Correlações de Spearman entre as variáveis andrológicas e as concentrações séricas IGF-I nos animais bloqueados                                                                        | 96 |
| Tabela 8 - Correlações de Pearson entre a circunferência escrotal, a concentração sérica de testosterona pela manhã e o diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero nos animais bloqueados | 96 |

---

#### **Capítulo 3- Comportamento sexual, altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos**

---

|                                                                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1 – Atitudes manifestadas pelos animais no teste de libido em curral, durante cinco minutos de observação                                                                                   | 105 |
| Tabela 2 – Mediana da frequência dos eventos sexuais e escores da libido manifestados durante os testes de comportamento sexual nos animais dos três tratamentos ao longo do experimento           | 109 |
| Tabela 3 – Mediana da frequência dos eventos sexuais nos animais de alta, média e baixa Libido do grupo inteiro nos quarto e quinto testes de libido                                               | 112 |
| Tabela 4 – Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal (mm) dos animais dos três tratamentos ao final do experimento                                                                         | 113 |
| Tabela 5 – Concentração sérica de testosterona (ng/mL) nos animais dos três tratamentos ao longo do experimento, registrados em dois diferentes turnos                                             | 114 |
| Tabela 6 – Concentrações séricas de IGF-I (ng/mL) nos animais dos três tratamentos durante o experimento                                                                                           | 114 |
| Tabela 7 - Correlações de Spearman entre os eventos de comportamentos sexuais, a escore da libido, as concentrações séricas de testosterona pela manhã, pela tarde e de IGF-I nos animais inteiros | 116 |

---

| <b>Lista de Tabelas</b>                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 8 - Correlações de Spearman entre os eventos de comportamentos sexuais, a escore da libido, a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, as concentrações séricas de testosterona pela manhã e de IGF-I nos animais bloqueados               | 116 |
| <b>Capítulo 4- Características de carcaça, desenvolvimento ponderal, altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos</b> |     |
| Tabela 1 – Pesos corporais no início e final do experimento e o ganho médio diário (Kg) para os animais dos três tratamentos                                                                                                                                | 127 |
| Tabela 2 – Características de carcaça dos animais dos três tratamentos ao final do experimento                                                                                                                                                              | 128 |
| Tabela 3 – Altura do epitélio sensitivo do OVN (mm) dos animais dos três tratamentos ao final do experimento                                                                                                                                                | 128 |
| Tabela 4 – Concentração sérica de testosterona dos três tratamentos ao longo do experimento, avaliados em dois diferentes turnos                                                                                                                            | 130 |
| Tabela 5 – Concentrações séricas de IGF-I (ng/mL) nos animais dos três tratamentos durante o experimento                                                                                                                                                    | 130 |
| Tabela 6 – Correlações entre a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal (Altovn), o peso da carcaça quente eviscerada (Peso frig.) e da concentração sérica do fator de crescimento semelhante a insulina do tipo I (IGF-I)                        | 131 |
| <b>Lista de Figuras</b>                                                                                                                                                                                                                                     |     |
| <b>Capítulo 2</b>                                                                                                                                                                                                                                           |     |
| Figura 1 – Circunferência escrotal, motilidade espermática, defeitos espermáticos menores, maiores e totais dos animais inteiros e com o ducto incisivo bloqueado durante o período experimental                                                            | 89  |
| Figura 2 – Frequência de animais impúberes, púberes e maduros dos grupos inteiros (A) e com o ducto incisivo bloqueado (B) durante o experimento                                                                                                            | 91  |
| Figura 3 – Perfis séricos de leptina nos animais inteiros e bloqueados durante o experimento                                                                                                                                                                | 94  |
| <b>Capítulo 3</b>                                                                                                                                                                                                                                           |     |
| Figura 1 – Perfil sérico de leptina nos animais dos três tratamentos durante o experimento                                                                                                                                                                  | 115 |
| <b>Capítulo 4</b>                                                                                                                                                                                                                                           |     |
| Figura 1 – Pesos corporais (Kg) dos animais dos três tratamentos durante o experimento                                                                                                                                                                      | 127 |
| Figura 2 – Perfil sérico de leptina nos animais dos três tratamentos durante o experimento                                                                                                                                                                  | 131 |

---

### Lista de abreviaturas

---

ACTH= Hormônio adeno-corticotrófico  
Altovn = Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal  
AM = Amídalas mediais  
AMPc = Adenosina monofosfato cíclico  
CBRA = Colégio Brasileiro de Reprodução Animal  
CE = circunferência escrotal  
CETEA = Comitê de Ética em Experimentação Animal  
CH/L = Cheirar e lambar a genitália da fêmea  
D2 = Receptores de dopamina do tipo II  
DM = Defeitos espermáticos maiores  
Dm = Defeitos espermáticos menores  
DNA = Ácido desoxirribonucleico  
DT = Defeitos espermáticos totais  
ECP<sup>®</sup> = Cipionato de estradiol  
EGC = Espessura de gordura de cobertura  
ESCL = Escore da libido  
FCE = Fator de crescimento epidermal  
FCF-a = Fator de crescimento fibroblástico ácido  
FCF-b = Fator de crescimento fibroblástico básico  
FCN-  $\beta$  = Fator de crescimento nervo  $\beta$   
FCSCS = Fator de crescimento secretado pela célula de Sertoli  
FCTS = Fator de crescimento do túbulo seminífero  
FCT- $\alpha$  = Fator de crescimento transformador  $\alpha$   
FCT- $\beta$  = Fator de crescimento transformador  $\beta$   
FSH = Hormônio folículo estimulante  
GABA = Ácido amino gama butírico  
GH = Hormônio do crescimento  
GnRH = Hormônio liberador de gonadotrofinas  
HACT = Hormônio adrenal corticotrófico  
hCG = Gonadotrofina coriônica humana  
HEM = Hormônio estimulador do melanócito  
ICB = Instituto de Ciências Biológicas  
IGF-I = Fator de crescimento semelhante a insulina do tipo I  
IGF-II = Fator de crescimento semelhante a insulina do tipo II  
IGFBP = Proteína ligadora do fator de crescimento semelhante a insulina do tipo I  
IL-I = Interleucina 1  
IM = Impulso de monta  
LABRE = Laboratório de Biologia da Reprodução  
LH = Hormônio luteinizante  
LH-R = Receptor do hormônio luteinizante  
MA = Monta incompleta ou abortada  
MC = Monta completa  
MG – Minas Gerais

---

### **Lista de abreviaturas**

---

MOT = percentual de espermatozoides móveis  
MPOA = Área pré óptica medial do hipotálamo  
NO = Óxido nítrico  
OVN = Órgão vomeronasal  
PA = Perseguição ativa  
Peso frig. = Peso da carcaça quente eviscerada  
POMC = Pro-ópiomelanocortina  
RE $\alpha$  = Receptores de estrógeno alfa  
RF = Reflexo de Flehmen  
RIE = radioimunoensaio  
RIGF-I = Receptor do fator de crescimento semelhante a insulina do tipo I  
RNAm = Ácido ribonucleico mensageiro  
RP = Receptores de progesterona  
SC = Septo cerebral  
TM = Tentativa de monta  
UFMG = Universidade Federal de Minas Gerais  
VCL = volume nuclear das células de Leydig

## Capítulo 1

### **Fatores que influenciam as características de carcaça, a secreção de testosterona, o comportamento e desenvolvimento sexual em machos mamíferos: uma revisão**

#### **Factors affecting carcass characteristics, testosterone secretion, behavior and sexual development in male mammals: a review**

##### **Resumo**

A concentração sérica de testosterona influencia as características de carcaça, o comportamento e o desenvolvimento sexual de machos. O reflexo de flehmen é um comportamento facilitador na condução de feromônios sexuais para o órgão vomeronasal. Este órgão possui conexões com o sistema nervoso central influenciando a secreção de testosterona e o comportamento sexual em machos, no entanto, esse efeito depende da espécie e idade. A prevalência de estímulos olfatórios, sobretudo, o reflexo de flehmen, manifestados por animais machos *Bos taurus indicus* em testes de comportamento sexual, sugere que esse órgão é importante nesses animais. Assim, o estudo desse órgão e as influências de seu bloqueio são de relevância, por acarretar modificações fisiológicas e modular o desempenho produtivo em machos zebuínos.

Palavras chave: *Bos taurus indicus*, eixo somatotrópico, libido, órgão vomeronasal, reflexo de flehmen.

##### **Abstract**

The serum testosterone levels influences carcass characteristics, behavior and sexual development of males. The Flehmen reflex is a behavior facilitator in conducting sex pheromones to the vomeronasal organ. This organ has connections to the central nervous system affecting the secretion of testosterone and sexual behavior in males, but depends of the species and age. The prevalence of olfactory stimuli mainly Flehmen reflect manifested by *Bos taurus indicus* males on tests of sexual behavior, suggests that this organ is important in these animals. Thus, the study of the vomeronasal organ and the influences of its blockade are of relevance, since it can results in physiological changes and modulating productive performance of zebu male.

Key-words: *Bos taurus indicus*, Flehmen reflex, libido, somatotropic axis, vomeronasal organ.

### **1.0 – Introdução**

Buscando atender a demandas de mercado cada vez mais exigentes os frigoríficos têm estabelecido estratégias de pagamentos diferenciados, objetivando estimular a produção de bovinos que, ao abate, apresentem carcaças dentro dos padrões de qualidade exigidos pelo mercado (Silva, 2000).

Dentre as principais exigências destacam se aquelas relacionadas à idade ao abate e ao grau de terminação dos animais, dando-se preferência às carcaças produzidas por bovinos castrados, por apresentarem um maior grau de acabamento em idade inferior. Tal atributo dificulta o escurecimento da carcaça e favorece quedas de temperaturas mais lentas na câmara de refrigeração fazendo com que ocorra adequados rigor “mortis” e transformação do músculo em carne, proporcionando carnes com melhor

aspecto, maciez e melhor aceitação comercial (Listoni, 1998; Silva, 2000).

Entretanto, a produção de animais castrados leva a redução no peso da carcaça ao abate, pelo maior depósito de gordura em detrimento a músculo, havendo menor produção proteica (com menor área de olho de lombo), e consequentemente, de menor lucro em relação aos animais inteiros. Contudo, pela maior dificuldade de manejo comportamental em animais inteiros, principalmente em confinamentos, alguns pecuaristas optam pela castração, objetivando vantagens no tocante ao manejo (Silva, 2000), uma vez que, a castração torna os animais mais dóceis e fáceis de manejar, em função da diminuição drástica da produção e secreção de testosterona (Listoni, 1998).

Outro fato de relevância no sistema de produção de machos castrados é com relação a idade para realizar a castração, pois esta, influencia significativamente o peso da carcaça. De acordo com Feijó et al. (2001), a puberdade constitui o período limítrofe para realizar-se a castração promovendo maior ou menor influência sobre o ganho de peso e nas características sexuais secundárias. Portanto, se a castração for praticada após a puberdade seus efeitos serão menos expressivos, ocorrendo regressão de algumas características como mudanças comportamentais e de desempenho em função da diminuição da testosterona circulante.

Essas controvérsias no sistema de produção de animais castrados conduzem a introdução de técnicas menos cruentas para que os animais possuam adequados desenvolvimentos ponderais com grau de cobertura de gordura satisfatórios.

Desta forma, o estudo do bloqueio do órgão vomeronasal que é um órgão tubular dotado de células sensoriais, que formam o epitélio neuro sensitivo, situado em sua superfície

côncava medial, que detectam ferormônios sexuais, conduzindo estímulos a áreas do sistema nervoso central, mais especificamente com o sistema límbico, que é responsável pela modulação do reconhecimento materno e comportamento reprodutivo, modulando a secreção de andrógenos, através da inibição da secreção de GnRH (Klemm, 1996; Doving e Trotier, 1998; Dulac e Wagner, 2006), surge como ideia na tentativa de produzir carcaças que atendam as demandas de mercado, sem acarretar prejuízos na produção.

O órgão vomeronasal está localizado abaixo do canal nasal e acima da cavidade oral. Possui comunicação com a cavidade nasal, que se dá através do forame nasal que está posicionado na parede medial, na base do septo nasal, cuja abertura é posicionada de forma caudal em relação a entrada do focinho. A abertura dos ductos incisivos constitui sua comunicação com a cavidade oral e está situada próximo aos lábios, lateralmente às papilas incisivas (Salazar et al., 1997). Acredita-se que sob o ponto de vista adaptativo, alguns mamíferos adquiriram comportamentos específicos que sejam um mecanismo facilitador na condução de feromônios sexuais ao órgão vomeronasal. Dentre os quais, em machos ungulados e felídeos, destaca-se um comportamento em que o animal exerce forte inalação após elevar-se a cabeça e os lábios superiores, expondo a abertura dos ductos incisivos em íntimo contato com secreções vaginais. Este comportamento é denominado de reflexo de Flehmen (Doving e Trotier, 1998).

Desta forma, visto a ligação do órgão vomeronasal ao hipotálamo (Klemm, 1996; Doving e Trotier, 1998; Dulac e Wagner, 2006), da facilidade de acesso aos ductos incisivos e a frequência do comportamento sexual do reflexo de Flehmen em touros zebuínos (Oliveira et al., 2007 e Dias et al., 2009a) o bloqueio dos ductos incisivos surge como ideia plausível na tentativa de

incrementar a produção no sistema de recria e engorda em machos zebuínos.

A testosterona sérica possui múltiplas funções fisiológicas como os desempenhos ponderais, através de sua ação nos sistemas musculares e ósseos (Isidori et al., 2005), de características andrológicas (Pruitt et al., 1986), de comportamento sexual (Dias et al., 2009a) e ainda do grau de cobertura de gordura (Feijó et al., 2001; Isidori et al., 2005). Portanto, o estudo do bloqueio do órgão vomeronasal e seus efeitos sobre esses aspectos fisiológicos tornam-se de suma importância zootécnica a fim de possibilitar o melhor entendimento de sua função em animais zebuínos, dado a escassez de informação.

Contudo, é sabido que vários são os fatores que influenciam e controlam os níveis séricos de testosterona, do comportamento sexual e dos desenvolvimentos reprodutivos em machos bovinos. Portanto, em vista disso, o objetivo dessa revisão é de discutir sobre alguns mecanismos fisiológicos que influenciam estes, bem como, aspectos relevantes sobre o órgão vomeronasal, que possam possibilitar o melhor entendimento dos resultados obtidos nesse estudo.

Hipótese geral:

Desta forma, a hipótese geral desse estudo é que o bloqueio dos ductos incisivos promova alterações no órgão vomeronasal acarretando na redução da concentração sérica da testosterona, afetando a expressão do comportamento sexual e desempenho reprodutivo. A diminuição da testosterona sérica e a redução do comportamento sexual em machos acarretarão em incremento no grau de cobertura de gordura da carcaça sem prejuízo no desenvolvimento ponderal dos animais.

## **2.0 - Revisão de Literatura**

### **2.1 – A função testicular**

- O testículo:

A maior massa do testículo se refere ao parênquima. Este é formado por uma massa mole que é constituído de compartimento tubular (túbulos seminíferos) e o compartimento intersticial (vasos sanguíneos, nervos, tecido linfático e células de Leydig). O mediastino é o tecido conjuntivo central do testículo que abriga ductos chamados de rede testicular (“rete testis”). A rete testis são canalículos através dos quais os espermatozóides deixam os testículos (Barth e Oko, 1989).

Os túbulos seminíferos compreendem o compartimento tubular do parênquima e são microscópicos e contorcidos, sendo que em uma das extremidades confluem-se para formar a “rete testis”. Cada volta é composta da porção contorcida e uma porção reta. A espermatogênese ocorre predominantemente na porção contorcida. O túbulo seminífero é composto de uma membrana basal e uma camada do epitélio seminífero, também chamada de epitélio germinativo. O túbulo é circundado pelas células contráteis peritubulares. Suas contrações e o fluxo de fluido secretado pela célula de Sertoli permitem os recém formados espermatozóides se moverem em direção a rete testis (Barth e Oko, 1989).

A célula de Sertoli é a única célula somática do epitélio seminífero. Elas fornecem suporte e elementos necessários para as células germinativas, sendo considerado o elemento chave que governa a gametogênese. Cada célula de Sertoli hospeda um determinado número de células germinativas, característico de cada espécie. Portanto, testículos com alto e baixo número de célula de Sertoli produzem grande e pequeno número de espermatozóides, respectivamente (Barth e Oko, 1989).

A célula de Sertoli possui receptores para ambos os hormônios, o FSH e a testosterona, sendo então, capaz de sintetizar uma

variedade de substâncias, tais como: a proteína ligadora de andrógeno (uma proteína que transporta andrógeno), glicoproteínas sulfatadas 1 e 2 (função detergente que permiti que as células e fluidos se movimentem nos túbulos da “rete testis”), a transferrina (proteína de transporte de íons) e a inibina (inibidor de FSH) (Barth e Oko, 1989).

As células de Sertoli são ligadas umas as outras em suas superfícies lateral-basal através de junções especializadas, chamadas de junções ocludentes (“tight junctions”). Esse complexo juncional também separa o epitélio seminífero em dois, são eles: o compartimento basal e o adluminal. O primeiro abriga as espermatogônias e os espermátócitos pré-leptóteno e leptóteno e localizam-se próximo (justaposto) à membrana basal. O segundo abriga os demais tipos celulares de espermátócitos primários e secundários e as espermatídes e se localiza na região adjacente ao lúmen do túbulo seminífero (Barth e Oko, 1989).

As junções ocludentes (“tight junctions”) formam ainda uma barreira especializada, semelhante a um zíper, que separam as moléculas de grande peso molecular e o sistema imunológico das células haploides, formando o principal constituinte do que se dá o nome de barreira hematotesticular. Assim sendo, material do compartimento intersticial são primeiramente escaneados pela camada de células peritubulares e a membrana basal que circundam o epitélio germinativo (primeira barreira hematotesticular) para que num segundo momento sejam escaneados pelas junções ocludentes (“tight junctions”) (Barth e Oko, 1989).

Russell e Clermont (1977) registraram que a célula de Sertoli exerce uma ativa função em segregar as células germinativas do compartimento basal e adluminal sem romper as junções ocludentes (“tight junctions”). Isso se torna possível, porque

através do acompanhamento do desenvolvimento do ciclo do epitélio seminífero, foi possível observar que uma nova série de junção ocludente é criada imediatamente antes do espermátócito primário (pré leptóteno). Sendo assim, em um determinado momento verifica-se uma junção ocludente antes e depois do espermátócito primário, sendo que a última será absorvida posteriormente.

- O desenvolvimento das células de Leydig e de Sertoli:

Em touros, a população de células intertubulares é composta de células mesenquimais, fibroblastos, células de Leydig, células peritubulares e mononucleadas. Do período que compreende quatro a oito semanas de idade, as células mesenquimais são as mais populosas do tecido intersticial. As células pluripotentes proliferam por meio de frequentes mitoses e são as precursoras das células de Leydig, das contráteis peritubulares e dos fibroblastos. A diferenciação de dois principais componentes da lâmina própria tubular, exemplo, a lâmina basal e a bainha de células peritubulares não ocorrem concomitantemente. A espessura da lâmina basal é de aproximadamente 3µm nas 16 semanas de idade e diminui continuamente a 1,2 µm nas 20 semanas de idade. As células mesenquimais transformadas nas células peritubulares possuem o núcleo alongado nas 16 passando à redondo nas 24 semanas de idade (Wrobel et al., 1988).

Nas quatro semanas de idade as células de Leydig constituem 6 % das células peritubulares, sendo que, grande parte destas, está em estado avançado de degeneração (células de origem fetal). Até as oito semanas de idade coexistem células de Leydig fetal e as originadas no período pós natal. Nas 16 semanas de idade as células mesenquimais cessam sua proliferação e transformam-se nas células peritubulares

contráteis ou nas de Leydig, reduzindo a proporção de células mesenquimais a 20 %. Nas 20 semanas de idade, as células mesenquimais são raras e as populações das células de Leydig aumentam sua atividade mitótica e se degeneram progressivamente. Nas 30 semanas, as populações remanescentes de célula de Leydig representam as da fase adulta, sendo que a partir desse período a mitose é rara (Wrobel, 1990; Mendis-Handagama e Ariyarante, 2001), salvo se o testículo for exposto a algum fator deletério (Mendis-Handagama e Ariyarante, 2001).

O diâmetro nuclear e o volume da célula de Leydig até as 16 semanas de idade aumentam lentamente, sendo que, a partir dessa data, permanecem praticamente constantes até as 52 semanas. A partir desse período até a fase adulta jovem, existiu considerável aumento do diâmetro nuclear e do volume. Esse aumento do volume tem sido atribuído preferivelmente à hipertrofia em detrimento a hiperplasia. A maturação funcional da célula de Leydig envolve a expressão de enzimas esteroidogênicas e alta capacidade de síntese de testosterona (Waites et al., 1985).

Existem três principais tipos de linhagem de célula de Leydig. São elas: a célula de Leydig progenitora, a imatura e a adulta. No primeiro estágio, a célula de Leydig progenitora é originada a partir da ativa proliferação de células tronco mesenquimais presentes no interstício testicular, isso ocorre durante o período que compreende do 21º ao 28º dia de vida pós natal (Hardy et al., 1990).

No segundo estágio, a célula de Leydig imatura é morfologicamente conhecida como célula de Leydig. Ela possui um abundante retículo endoplasmático liso e é esteroidogenicamente ativa, entretanto, sintetiza preferivelmente andrógenos 5  $\alpha$  reduzidos (dihidrotestosterona, 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ , 17 $\beta$ -diol (3 $\alpha$ -diol) e o 5 $\alpha$ -

androstane-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -diol (3 $\beta$ -diol) a testosterona. A célula de Leydig imatura divide uma vez dando origem a população total de célula de Leydig adulta. No terceiro estágio, as células de Leydig adultas tornam-se totalmente diferenciadas produzindo, principalmente, testosterona (Hardy et al., 1990).

O LH e os andrógenos atuam em conjunto para estimular a diferenciação das células de Leydig progenitoras para originar as células imaturas (Hardy et al., 1990). Sendo que o LH é essencial no estágio avançado de diferenciação (Célula de Leydig adulta) promovendo proliferação, hipertrofia e estabelecendo a organização de organelas intracelular necessária para a função esteroidogênica. A testosterona e o estradiol, em altas doses, são inibitórios no início de diferenciação da célula de Leydig precursora, sendo, portanto, importantes para manter a concentração constante das células de Leydig adulta (Mendis-Handagama e Ariyarante, 2001).

O hormônio anti-mülleriano tem sido sugerido como negativo regulador na diferenciação da célula de Leydig. O fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I) atua na proliferação e transformação das células de Leydig imaturas nas adultas (Hardy et al., 1990; Mendis-Handagama e Ariyarante, 2001). Agentes mitogênicos como o fator de crescimento transformador alfa e beta também estimulam as células precursoras mesenquimais e as células de Leydig, respectivamente (Hardy et al., 1990).

As células de Sertoli indiferenciadas estão presentes nos túbulos seminíferos a partir do nascimento e são predominantes até a 20ª semana de idade. As células de Sertoli indiferenciadas são classificadas como basal e central. Esses dois tipos celulares não possuem diferenças ultra estruturais, apenas na posição do núcleo. As células de Sertoli indiferenciadas têm pouca atividade mitótica

durante as quatro semanas de idade, quando então, aumentam sua proliferação significativamente, atingindo seu platô entre a quarta a oitava semanas. Da oitava a 16ª semanas de idade a proliferação destas reduz até chegar o momento em que as mesmas não proliferam mais para o resto da vida do animal (Waites et al., 1985).

Com o fim da fase proliferativa, as células de Sertoli indiferenciadas (núcleo oval ou redondo) iniciam a transformação no tipo adulto que aumentam seu número rapidamente entre a 20ª a 40ª semanas de idade. Esse processo de diferenciação inclui mudanças morfológicas na forma celular, núcleo e organelas, na especialização da superfície e subsequente interação entre as mesmas e entre estas e as germinativas. A maturação funcional das células de Sertoli inclui a formação da barreira hematotesticular e aquisição de habilidade para secretar vários polipeptídeos, como a proteína ligadora de andrógeno, o fator ativador do plasminogênio, a transferrina e ceruloplasmina (acoplam ferro e cobre às proteínas de transporte, respectivamente) e a galactosil transferase (enzima envolvida na glicosilação de proteínas). As células de Sertoli também secretam combustíveis metabólicos para células germinativas como o lactato e o piruvato e aumentam sua capacidade de síntese logo que estabelece a espermatogênese (Waites et al., 1985).

Durante a quarta semana de idade, as membranas celulares das células de Sertoli possuem poucas interdigitações e nenhum complexo juncional. O citoplasma é caracterizado por grandes quantidades de retículo endoplasmático liso, mitocôndria e complexo de Golgi. Na 16ª semana de idade, as espermatogônias iniciam seu desenvolvimento juntamente com o complexo juncional e o núcleo se torna alongado e irregular. Na 20ª semana a porção basal dos túbulos e o complexo juncional entre as células de Sertoli iniciam o desenvolvimento. Na 24ª semana, a

prevalência do complexo juncional entre as células de Sertoli foi muito maior e dividiu as células no compartimento basal e adluminal. Nesse momento a barreira hematotesticular se encontra totalmente estabelecida, podendo, então, ser iniciado o processo meiótico. Após a 28ª semana, a maioria das células de Sertoli tem completado a diferenciação morfológica e adquire estrutura compatível com a fase adulta (Sinowatz e Amselgruber, 1986).

#### - A espermatogênese

A espermatogênese constitui os processos de transformações pelo qual a espermatogônia sofre, até dar origem uma célula complexa e altamente especializada, o espermatozóide. A espermatogênese ocorre em um único ambiente criado pelos testículos (Senger, 2003).

O processo de espermatogênese pode ser dividido em três distintas fases: (1) a fase espermatogonial, durante a qual a espermatogônia prolifera e origina o espermatócito primário, enquanto mantém a população espermatogonial necessária para continuação do processo conhecido como renovação das células tronco; (2) a fase meiótica, envolvendo divisões reducional de espermatócitos e formação de espermátides (células haplóides); e (3) a fase de diferenciação ou fase espermiogênica, na qual espermátides transformam em células altamente especializadas o espermatozóide. As duas primeiras fases são chamadas de espermatocitogênese e a última de espermiogênese (Senger, 2003).

O ciclo do epitélio seminífero é a progressão através de uma completa série de modificações celulares de localização definida, em forma de camadas graduais, ao longo do túbulo seminífero. O tempo requerido para esta progressão, ou seja, o tempo que uma espermatogônia iniciou-se o ciclo até gerar um espermatozóide é a duração do ciclo do epitélio seminífero e é

único para cada espécie, por exemplo, no touro é em torno de 61 dias. Deve-se ressaltar que o tipo celular mais imaturo se encontra próximo à membrana basal e os estádios mais avançados estão localizados na periferia da célula de Sertoli no compartimento adluminal (Senger, 2003).

Dependendo da referência utilizada a classificação do ciclo do epitélio seminífero possui de VIII a XIV estádios. Sendo que no estádio I são encontradas quatro gerações de células germinativas: uma geração de espermatogônia A, duas gerações de espermatócitos primários e uma geração de espermátide, já no estádio VIII são encontradas cinco gerações: uma geração de espermatogônia A, uma geração de espermatogônia B, uma geração de espermatócito primário e duas gerações de espermátides, lembrando que somente nesse último estádio as espermátides estão prontas para a espermição (processo pelo qual a espermátide madura, espermatozoide, está pronta para ser lançada no lúmen do túbulo seminífero). No caso do touro, cada espermatozoide passa 4,5 vezes pela sequência de estádio de I a VIII (Senger, 2003).

A necessidade de compreensão da duração do ciclo do epitélio seminífero é devido, principalmente, ao fato de que quando ocorre algum efeito deletério na fisiologia reprodutiva (por exemplo: stress térmico, transporte, febre e exposição a agentes tóxicos) o mesmo somente poderá ser observado nas características do ejaculado a partir de duas a quatro semanas seguintes. Da mesma forma, após a retirada do efeito deletério, seis a doze semanas são necessárias para que a espermatogênese normal, bem como, seus reflexos no ejaculado, seja restaurada (Senger, 2003).

Dentro de qualquer secção de um túbulo seminífero para avaliação microscópica pode observar-se quatro a cinco camadas de células germinativas que correspondem ao

número de gerações espermatogênicas dentro do epitélio seminífero (Senger, 2003). Esse número fixo de camadas celulares, possivelmente, possa justificar a semelhança observada entre os diâmetros tubulares dos oito estádios do ciclo do epitélio seminífero no touro (Swierstra, 1966).

A onda espermatogênica refere-se à orientação espacial ao longo do túbulo seminífero que muda a todo tempo, sendo que a distância dos sítios de espermição é relativamente constante. Durante a onda, cada estádio do túbulo seminífero torna-se um estádio sucessivamente mais avançado. De modo que, o sítio de espermição é constantemente modificado, sendo que num determinado local onde ocorreu a espermição em um dado tempo possui um período de "descanso" até a nova onda de espermição retornar ao mesmo local, fato que perdura mais tempo em relação ao ciclo do epitélio seminífero. O principal significado fisiológico da onda é o fornecimento constante de espermatozoides no epidídimo, criando sempre um "pool" de células para a ejaculação (Senger, 2003).

Após o nascimento o único tipo de célula germinativa presente é o gonócito que se divide por mitose lentamente até a 16ª semana de idade. A partir de então, os gonócitos se dividem para originar as espermatogônias A e em torno da 20ª semana os gonócitos já não foram vistos. Da 20ª a 30ª semanas a proliferação das espermatogônias A atinge o máximo (Sinowatz and Amselgruber, 1986).

Existem 13 distintos tipos celulares na espermatogênese de bovinos: as espermatogônias A0, A1, A2, A3, as intermediárias, as B1 e B2, os espermatócitos primários (pré leptóteno, leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno), os espermatócitos secundários e as espermátides (arredondadas e alongadas). Cada espermatogônia da linhagem A, a partir da A0 com exceção da A3, se divide por mitose e dá origem a uma célula

espermatogônia seguinte e outra igual a original (ex.: A0 se divide em A0 e A1) para repor o estoque de espermatogônias e garantir que o processo de espermatogênese seja um ciclo contínuo (renovação do estoque) (Barth e Oko, 1989).

As espermatogônias A3 se dividem sucessivamente para originar as espermatogônias intermediárias, B1, B2, e posteriormente, os espermátócitos pré-leptóteno. Essa é a última linhagem de célula que é derivada de divisão mitótica. Portanto, os espermátócitos pré-leptóteno consistem na fase em que a célula se prepara para iniciar a primeira divisão meiótica, ou seja, nesse estágio ocorre a duplicação do DNA (Barth e Oko, 1989).

Os espermátócitos leptóteno, zigóteno e paquíteno fazem parte da prófase da primeira divisão meiótica. Os primeiros são caracterizados por possuírem um vasto citoplasma contendo retículo endoplasmático liso e rugoso, complexo de golgi bem desenvolvido e mitocôndrias, pré-figurando mudanças subsequentes que irão ocorrer (Barth e Oko, 1989).

Os espermátócitos zigóteno e paquíteno são caracterizados pelo início e término, respectivamente, da formação do complexo sinaptonêmico que consiste na formação de três estruturas lineares paralelas que representam o pareamento dos cromossomos homólogos. Os espermátócitos diplóteno são caracterizados pela possibilidade de ocorrência de quiasma ou "crossing over", pela completa formação das tétrades dos pares de cromossomos homólogos e migração dos cromossomos condensados para a periferia do núcleo (Barth e Oko, 1989). Portanto, com a ocorrência de quiasma ou "crossing over" (ponto onde os cromossomos homólogos se cruzam), a prófase I da meiose garante que cada espermátócito secundário e espermátide sejam geneticamente distintos (Senger, 2003).

Desse modo, percebe-se que a prófase I da meiose é o mais longo processo da espermatogênese, ou seja, o espermátócito primário possui o maior tempo de vida, sendo que, no touro é em torno de 18 a 19 dias (de um total de 61 dias, 30 % de toda a espermatogênese) (Senger, 2003). Os espermátócitos primários são vistos pela primeira vez no período a partir da 20<sup>a</sup> a 24<sup>a</sup> semanas de idade (Evans et al., 1996).

Os espermátócitos secundários originados da prófase I da meiose passam rapidamente (1,1 a 1,7 dias) pela metáfase, anáfase e telófase da divisão I e II da meiose. Desse modo a meia-vida dos espermátócitos secundários é curta, por isso raramente são visualizados, e rapidamente originam quatro espermátides redondas haploides. Os espermátócitos secundários e espermátides redondas são vistos pela primeira vez em torno da 28<sup>a</sup> semanas de idade e as espermátides arredondadas da 30<sup>a</sup> a 32<sup>a</sup> semanas. A partir da 40<sup>a</sup> semana o número de espermátides aumenta rapidamente, quando também aparecem os primeiros espermatozoides maduros no lúmen dos túbulos seminíferos do touro (Evans et al., 1996).

As espermátides redondas haploides recém-formadas passarão por uma série complexa de transformação, a fim de formar espermátides maduras alongadas, que possuem cabeça e cauda nas quais estarão prontas para serem lançadas no lúmen dos túbulos seminíferos (espermição). A esse processo dá-se o nome de espermiogênese (Barth e Oko, 1989; Senger, 2003).

A espermiogênese é dividida em quatro fases: a de Golgi, a de boné (fase "cap"), a de acrossoma e a fase de maturação. A fase Golgi (estádio 1 a 3 do ciclo do epitélio seminífero) caracteriza-se pelo desenvolvido complexo de Golgi (originará o acrossoma), situado próximo ao núcleo, que formarão várias vesículas (chamadas de corpo vesicular) que irão se fundindo para formar

uma vesícula maior denominada de vesícula acrossômica na qual contém o grânulo acrossômico em seu centro. Paralelo a essas transformações do aparelho de Golgi os centríolos migram do citoplasma para a região inferior ao núcleo a fim de formar o dispositivo de implantação que permitirá a ancoragem do flagelo (corpúsculo de implantação) (Senger, 2003).

A fase "CAP" (boné, estádios 4, 5, 6 e 7) da espermiogênese inicia com o achatamento do núcleo abaixo das vesículas e do complexo de Golgi. O grânulo acrossômico dentro da maior vesícula de Golgi aumenta. A vesícula acrossômica forma uma espécie de boné que inicialmente cobre um terço até cobrir totalmente a membrana nuclear no final desta fase á medida que mais vesículas do Golgi vão se aderindo à vesícula acrossômica (Barth e Oko, 1989). Esta fase também marca a desintegração dos corpos de cromatina que se encontram na base do núcleo e a formação do flagelo primitivo a partir dos centríolos implantados no pólo distal, abaixo do núcleo. Posteriormente, o complexo de Golgi se desloca para o pólo oposto da célula para formar a membrana do flagelo (Senger, 2003).

Na fase acrossomal (estádios 8, 9, 10 e 11) a vesícula acrossômica continua a aumentar até ocupar dois terços da região anterior ao núcleo e formar as membranas acrossomais interna e externa. O núcleo começa a alongar-se para dar o formato da célula e originar as espermátides alongadas, acredita-se que a forma nuclear seja adquirido devido a formação do flagelo. Os centríolos formam um sistema de microtúbulos, manchete, que se desenvolve próximo da região posterior do núcleo, nos quais, se estende para formar e desenvolver o flagelo (Barth e Oko, 1989; Senger, 2003).

Na fase de maturação (estádios 13 e 14) as mitocôndrias formam um desenho espiral ao redor do flagelo para originar a peça intermediária. Assim esta fase completa o

estádio final de diferenciação do espermatozóide onde o mesmo finaliza a aquisição de sua forma, a formação do flagelo e da membrana plasmática que envolve toda a célula (Senger, 2003).

A cinética da espermatogênese é usualmente descrita como o processo que envolve todos os fenômenos citológicos e histológicos que ocorrem dentro dos túbulos seminíferos. As mudanças citológicas refletem em todos os passos da cadeia de divisões, diferenciações, e metamorfose das células troncos, enquanto mudanças histológicas são principalmente relacionadas com a evolução dos tipos celulares. O conhecimento da cinética da espermatogênese é fundamental para caracterizar a fisiologia reprodutiva das espécies particular, sob condições normais ou experimentais. Esse conhecimento pode ser usado com o significado de analisar a eficiência reprodutiva dos animais em estudo, como para permitir comparações entre espécies. Em adição, o conhecimento desta cinética permite determinar a fase da espermatogênese, ou tipos específicos de células nas quais são afetadas por uma determinada droga ou toxina. Isso faz possível apontar o passo ou tipo de célula que está passando por normal ou patológica degeneração (Castro, 1995).

Das alterações da espermatogênese destacam erros da proliferação e diferenciação das células germinativas que podem estar alteradas a vários níveis do ciclo do epitélio seminífero. Isso pode ocorrer como resultado de influências ambientais como aumento da temperatura, doenças, falta de nutrientes, agentes terapêuticos, drogas, hormônios e seus metabólitos, substâncias tóxicas e radiação. Sob influência de condições negativas o testículo responde pela redução da espermatogênese através de: (1) redução do número de espermátides maduras, (2) presença de espermátides anormais, (3) ausência de espermição, (4) alterações da meiose, (5) interrupção da espermatogênese

no estágio de espermátocito primário e (6) redução da multiplicação ou apoptose das espermatogônias (Barth e Oko, 1989).

Vale ressaltar que apoptose ocorre naturalmente durante fases específicas do desenvolvimento da célula germinativa e pode ser estimada comparando a proporção do número de célula germinativa antes e depois de uma determinada fase. Em mamíferos, somente 2 ou 3 de 10 espermatozoides possíveis são produzidos a partir de uma espermatogônia A1. Os maiores níveis de degeneração celular são registrados durante as fases proliferativas espermatogonial e durante a meiose (França e Russell, 1998), sendo que em caprinos 30 % das perdas foi observada na segunda divisão meiótica (Leal et al., 2004).

Avaliando cortes histológicos de touros (da raça Angus, com 12 meses de idade) com normal processo de gametogênese, Moura e Erickson (2001) encontraram 10,8 % de túbulos seminíferos seccionados sem a presença de nenhuma célula germinativa, 2,5 % de espermatogônia A1, 5,5 % de espermátocitos na fase de paquíteno, 37,5 % de espermátides arredondadas, 33 % de espermátides alongadas e 10 % das secções com espermátides maduras. Em touros com espermiogênese imperfeita os mesmos autores observaram que 90 % das secções dos túbulos não possuíam nenhuma célula germinativa e existiam apenas algumas espermatogônias A1.

Leal et al. (2004) reportaram que o número de célula germinativa suportada por célula de Sertoli é o melhor reflexo da eficiência funcional desta célula e é, usualmente, altamente correlacionada com a eficiência da espermatogênese. Em termos de eficiência por unidade de área do túbulo seminífero a mais importante relação com a alta eficiência da espermatogênese é o número de espermátide por célula de Sertoli. Sendo que, através do número total de célula de Sertoli por testículo e do número de

espermátide por célula de Sertoli obtêm-se a produção espermática diária. A densidade volumétrica do túbulo seminífero, o número de célula de Sertoli por grama de testículo e a duração do ciclo do epitélio seminífero também são altamente correlacionados com a eficiência da espermatogênese em caprinos (Leal et al., 2004).

O número de células de Sertoli por testículo não diferiu com a gametogênese normal e anormal, entretanto, o número de células de Leydig por testículo e o diâmetro dos túbulos seminíferos dos animais normais foram maiores, enquanto que o número de célula de Leydig por grama de parênquima foi menor para os animais normais quando comparado com os que apresentavam espermiogênese imperfeita (Moura e Erickson, 2001). Esses resultados evidenciam a eficiência do diâmetro tubular em destacar animais com normal função testicular. Pelo contrário, os níveis hormonais (testosterona, GnRH, e LH) não diferiram entre os animais, e ainda, animais com a espermiogênese normal possuíam níveis baixos de testosterona, da mesma forma que alguns com a gametogênese anormal possuíam níveis elevados desse hormônio, possivelmente esse resultado seja uma tentativa de compensar a baixa eficiência da célula de Sertoli. Outro fato de relevância, é que tais resultados podem ser explicados pelo fato de que são necessários baixos níveis de esteroide para manter a gametogênese normal (Moura e Erickson, 2001).

Dessa forma, com base nesses números observados parece provável que uma das relevantes causas de reduzida fertilidade em touros esteja relacionado a fatores localizados intratesticular quando comparada a síntese hormonal hipotalâmico-hipofisário-gonadal em animais sexualmente maduros.

## **2.2 - Controle endócrino da espermatogênese**

A espermatogênese requer a ação de uma complexa ordenação de hormônios peptídeos e esteróides nos quais exercem uma importante função no epitélio seminífero. Esses mensageiros são críticos não somente para regulação do desenvolvimento das células germinativas, mas também atuam na proliferação e função das células somáticas necessárias ao desenvolvimento testicular. Tais células incluem as de Leydig, cuja função primária é a síntese de testosterona, as células mióides que circundam os túbulos seminíferos promovendo suporte físico e a contratilidade necessária às estruturas tubulares e as células de Sertoli responsável pela proliferação e diferenciação das células germinativas fornecendo suporte físico e nutricional para a espermatogênese (Griswold, 1995).

O controle endócrino da espermatogênese, bem como, o desenvolvimento testicular e o estabelecimento da espermatogênese, é regido, principalmente, pelos hormônios folículo estimulante (FSH), o luteinizante (LH) e a testosterona, apesar de que o grau de acometimento, de cada um desses, varia de acordo com a espécie e a idade dos animais (Barth e Oke, 1989).

O FSH e o LH são hormônios glicoprotéicos secretados pela hipófise anterior que atuam diretamente nos testículos estimulando a função das células somáticas fornecendo suporte à gametogênese. Em machos, a expressão dos receptores de FSH é limitada às células de Sertoli, enquanto que receptores de LH são encontrados primariamente nas células de Leydig, mas também pode ser observado em células da linhagem espermatogênicas (Griswold, 1995).

A principal importância do FSH parece ser o desenvolvimento testicular e iniciar a puberdade visto que tem sido estabelecido que a primária função deste seja a

proliferação da célula de Sertoli pré puberal (Griswold, 1995), apesar de que em algumas espécies o FSH pode restabelecer a espermatogênese em animais adultos independentemente da testosterona, sugerindo que o FSH aumenta a responsividade da célula de Sertoli frente a testosterona residual. Portanto, em adultos, o FSH parece ter preferivelmente uma função de otimização da testosterona em detrimento de uma ação direta sobre a espermatogênese. Por outro lado, o LH através do estímulo da secreção de andrógenos (testosterona) é importante tanto no desenvolvimento e iniciação da puberdade quanto na manutenção da gametogênese na fase adulta (Barth e Oke, 1989).

A testosterona, mesmo em baixas concentrações, quando comparada ao FSH, foi significativamente mais efetiva em manter o peso testicular e o número total de células no epitélio seminífero em animais adultos hipofisectomizados. Sendo que a eliminação da ação da testosterona residual em animais hipofisectomizados tratados com flutamida, Casodex (antagonistas de andrógenos) e FSH não provocaram aumento da viabilidade celular nas espermatogônias A, intermediárias e B, sugerindo que tais células sejam menos dependentes de ação gonadotrópica em animais adultos. Contudo, vale ressaltar que quando animais adultos hipofisectomizados receberam suplementação de ambos, testosterona e FSH, foram mais efetivos em prevenir perda celular do epitélio seminífero quando comparados àqueles que recebem administração de qualquer um desses hormônios separadamente (Shennawy et al., 1998).

A espermatogênese até a formação de espermatócitos pré leptóteno foi afetada, porém em menores proporções quando comparadas com as fases meióticas e espermiogênica, quando animais adultos foram submetidos à hipofisectomia. As células durante a meiose foram reduzindo

progressivamente. Uma lenta e também progressiva redução de espermatídes ocorreu até que nenhuma célula foi visualizada no final da espermiogênese. Portanto, a testosterona e o FSH são efetivos em manter a viabilidade celular em cada uma dessas fases da espermatogênese. Dessa forma, parece não haver especificidade de ação tanto para a testosterona quanto para o FSH, mas sim um efeito sinérgico em que o último ativa fatores de transcrição que mimetizam e potencializam a ação androgênica através da ligação dos mesmos sítios no DNA (Shennawy et al., 1998).

Tratamento de camundongos "Knockout", para ausência do gene receptor de LH, com testosterona exógena foi eficiente para recuperar integralmente a espermatogênese. Na ausência de reposição de testosterona, a espermatogênese tornou-se interrompida durante a meiose. Desse modo, verificou-se que a reposição de testosterona não seja dependente do estímulo de outros produtos da célula de Leydig, mas sim pela ação direta da mesma na recuperação da espermatogênese (Holdcraft e Braun, 2004).

Além disso, a eliminação da testosterona provocou efeitos imediatos na espermatogênese como perda de espermatídes no estágio intermediário entre as arredondadas e as alongadas, dos espermatozoides alongados e dos espermatócitos ressaltando o efeito do andrógeno na espermiogênese, na espermição e na divisão meiótica, respectivamente (Holdcraft e Braun, 2004).

A observação que a testosterona pode restaurar a espermatogênese em animais hipofisectomizados e pelo fato de que a imunização contra FSH não foi suficiente para interromper o ciclo do epitélio seminífero em animais adultos reforçam a ideia que o FSH não exerce função primordial na manutenção da espermatogênese em animais maduros (Shennawy et al., 1998).

Tem sido postulado que a testosterona possui efeito negativo na diferenciação e proliferação de células tronco espermatogoniais (gonócitos). Dessa forma, em condições naturais para contornar esse aparente problema a expressão de receptor de andrógeno nas células de Leydig e nas mióides sejam contínuas, mas nas células de Sertoli ocorre estágio dependente (Zhu et al., 2000) criando um mecanismo de auto regulação via síntese de receptor.

A injeção de agentes tóxicos para a célula de Leydig promoveu redução do número de espermatogônias, espermatócitos e espermatídes. Sob baixos níveis de testosterona os estádios de 1 a 7, as espermatídes arredondadas foram mantidas, contudo, do estágio 7 a 8, houve 15 % de redução da eficiência normal (O'Donnell et al., 2001). Portanto, em animais maduros, dependendo do estágio do ciclo do epitélio seminífero que se observa ação da testosterona na viabilidade das espermatogônias não pode ser descartada.

O início da segunda divisão meiótica (formação de espermatíde a partir de espermatócitos primários) ocorre após a 28ª semana de idade no touro e acredita-se que seja andrógeno dependente tanto em animais imaturos, quanto nos adultos. Essa fase da espermatogênese coincide com o desenvolvimento da barreira hematotesticular, término da divisão das células de Sertoli, formação do lúmen tubular e uma transição da dependência hormonal de FSH para testosterona (Barth e Oko, 1989), destacando a ação da testosterona no desenvolvimento sexual de touros.

Uma importante ação da testosterona em conjunto com o FSH é a de que no início do processo de alongamento das espermatídes é desenvolvida a especialização ectoplasmática, área juncional, que é responsável pela adesão entre as

espermátides e o citoplasma da célula de Sertoli, na qual, é altamente dependente de testosterona, visto que, quando o mesmo tornou-se reduzido foi observado desprendimento e surgimento dessas espermátides no epidídimo e, conseqüentemente, no ejaculado. O FSH, por sua vez, prepara a célula de Sertoli promovendo o alinhamento necessário dos filamentos de actina e vinculina para que a testosterona, no segundo momento, atue exercendo sua função de adesão (Mclachlan et al., 1996).

No período perinatal, em ratos, o FSH estimula a proliferação das células de Sertoli. Em ratos imaturos hipofisectomizados, a utilização de FSH exógeno promoveu o crescimento dos túbulos seminíferos, aumento do número de receptor de LH, maior capacidade de síntese de testosterona, estimulou a produção de proteína ligadora de andrógeno, controlou a secreção de fluidos dos túbulos seminíferos e reduziu a degeneração das espermatogônias (Barth e Oko, 1989).

Embora é conhecido que o FSH seja essencial para a função da célula de Sertoli, o período pelo qual ocorre sua diferenciação, coincide com o início da secreção de testosterona, indicando que a testosterona pode estar envolvido na maturação da célula de Sertoli. Dessa forma, a maturação da célula de Sertoli e o aumento da secreção de testosterona também estão associados com a diferenciação de gonócitos a espermatogônias (Amann, 1983). Tal observação constata que o sinergismo entre o FSH e a testosterona também está presente em animais imaturos.

Além disso, Russell et al. (1998) observaram que o grupo constituído de ratos pré púberes hipofisectomizados e tratados com flutamida, agonista dos receptores de andrógenos eliminando efeito residual da testosterona, possuíram o número de espermatogônias A e espermátocitos

primários significativamente reduzidos ( $P<0,05$ ). Vale ressaltar que o grupo de animais hipofisectomizados tratados com FSH obteve maior número de espermátocitos primários e espermátides do que aqueles tratados com FSH e flutamida demonstrando a importância do efeito sinérgico entre o FSH e a testosterona nas fases meióticas e na espermiogênese em animais imaturos.

Desse modo, o FSH e a testosterona atuam em animais imaturos nos mesmos estádios do ciclo do epitélio seminífero, sendo assim, o FSH atua potencializando os efeitos da testosterona, sobretudo, quando o último encontra-se em baixas concentrações (Russel et al., 1998), através da regulação dos receptores de andrógenos e ou pelo aumento do  $Ca^{++}$  intracelular nas células de Sertoli (Gorczyńska e Handelsman, 1995).

Em touros no período de desenvolvimento sexual até a pré puberdade, as concentrações de FSH e de seus receptores foram altas quando os túbulos seminíferos continham, principalmente, gonócitos e pré espermatogônias, sugerindo que o FSH seja mais importante na proliferação e diferenciação de células imaturas em espermátocitos primários (fase mitótica). Entretanto, para as baixas concentrações de LH e seu receptor, porém quando a testosterona estava presente em altas concentrações, os espermátocitos secundários e as espermátides arredondadas e alongadas foram os tipos celulares mais abundantes e maduros presentes no epitélio seminífero, respectivamente. Indicando que a testosterona atua, principalmente, nas fases meióticas e espermiogênicas da espermatogênese em touros imaturos (Bagu et al., 2006).

Contudo, vale ressaltar que quando a porcentagem de espermátides alongadas aumentou substancialmente nos túbulos seminíferos, a concentração de FSH plasmática foi baixa, mas as concentrações

do receptor de FSH intratesticular e a afinidade do FSH ao mesmo foram altas. Isso implica que a sensibilidade da célula de Sertoli ao FSH garante e sustenta a progressão da espermatogênese durante baixas concentrações deste (Bagu et al., 2006), sendo que a concentração plasmática de um hormônio possui valor limitado quando comparado a sua afinidade ou a concentração do receptor para determinar a importância na regulação da espermatogênese em um determinado momento.

O peso testicular, o número de receptores de andrógenos intracitoplasmático, o número e volume das células de Leydig, o diâmetro dos túbulos seminíferos, o volume e o tamanho do núcleo das células de Sertoli, bem como, o número de espermatogônia A1 e o número de espermátócitos primários são características que estão significativamente correlacionadas entre si, e ainda, demonstraram súbitas elevações no período pré puberal (Monet-Kuntz et al., 1984), quando também foi observada aumento da testosterona (Bagu et al., 2006), tais resultados sugerem que a testosterona exerce um controle “feedback” positivo em seus próprios receptores atuando como ação local, além da necessidade de altos níveis do mesmo, nesse período, para manter a espermatogênese (Monet-Kuntz et al., 1984).

Contudo, tanto a testosterona intratesticular quanto a sérica não foi altamente correlacionada com características associadas com a eficiência da gametogênese em coelhos maduros, como: o diâmetro do túbulo seminífero, número de células de Sertoli por túbulo, a proporção de células germinativas (espermatogônia, espermátócitos primário no paquíteno e espermátide arredondada e alongada) e a razão entre células de Sertoli e as células germinativas. Somente o percentual de volume nuclear das células de Leydig ( $r = 0,82$ ) e o número de células de Leydig por

grama de testículo ( $r = 0,83$ ) foi altamente relacionado com a concentração de testosterona sérica e intratesticular. Tais resultados suportam a hipótese de que, a partir da puberdade, reduzida concentração de testosterona ( $\approx 25\%$  da quantidade normal) é necessária para manter a espermatogênese normal em animais maduros (Castro et al., 2002). O sinergismo entre este, com o FSH, provavelmente, possa explicar essa hipótese.

Portanto, de modo geral, a testosterona e o FSH exercem importantes funções na regulação reprodutiva do macho possuindo efeitos sinérgicos independentemente da idade do animal. Contudo, o estágio do ciclo do epitélio seminífero, a espécie em estudo e as condições em que se processam o experimento devem ser consideradas.

### **2.3 - Controle autócrino e parácrino da espermatogênese**

Distúrbios do eixo hipotalâmico hipofisário gonadal explicam uma porcentagem limitada de casos de infertilidade no macho. Para tentar esclarecer a patofisiologia da infertilidade idiopática e também na tentativa de desenvolver novos métodos contraceptivos no macho, agentes reguladores intratesticulares tem sido foco de estudo (Bartlett et al., 1989).

O número de fatores implicados na regulação parácrina tem sido aumentado permanentemente. O processo de iniciação e manutenção da espermatogênese, embora resguardada a função reguladora primária da testosterona e do FSH, requer sintonia fina de substâncias produzidas a nível celular, dada a complexidade da arquitetura do tecido testicular (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

Moura e Erickson (2001) avaliaram perfis séricos e intratesticulares de testosterona em touros, assim como, Wagner et al. (1984) e Wagner e Von Zur Mühlen (1987) avaliaram

concentrações séricas de FSH e LH em camundongos. Estes trabalhos analisaram esses hormônios em animais com espermiogênese normal e imperfeita após administração de GnRH. Os resultados demonstraram que não houve diferença nas concentrações hormonais nem no padrão de resposta ao “feedback” frente a aplicação do GnRH entre os diferentes tratamentos. Tais resultados reforçam a hipótese que fatores extra eixo hipotalâmico hipofisário gonadal, provavelmente, fatores autócrinos e parácrinos, podem ser causa primária de reduzida fertilidade no macho, visto que, seus reguladores, por definição são fatores sintetizados por uma célula de determinado órgão possuindo efeito em outra e na mesma célula do mesmo órgão, respectivamente.

Entretanto, deve-se ressaltar que defeitos de receptores de FSH e andrógenos podem ocorrer tanto a nível de interação ligante receptor quanto a nível de resposta pós receptor. No último caso, podem ocorrer problemas no sítio de acoplamento no segundo mensageiro durante a fosforilação da proteína, sendo que, erros na transcrição, translação e pós-translacional também podem ocorrer (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

Peptídeos derivados do pro-ópiomelanocortina (POMC) tais como: a  $\beta$ -endorfina, o hormônio adrenal corticotrófico (HACT) e o hormônio estimulador do melanócito (HEM) têm sido identificados no fluido intersticial e são secretados pelas células de Leydig (Fabbri et al., 1988). Seus receptores são localizados nas células de Sertoli, mediando interações entre essas duas células, sendo que, a  $\beta$ -endorfina possui efeito negativo a ação do FSH, tal como, inibição da divisão da célula de Sertoli através da modulação da atividade da adenilato ciclase. O HACT e o HEM possuem efeito estimulador do FSH tais como aumento da divisão e função da célula de Sertoli, sobretudo, o incremento das produções da proteína ligadora de andrógeno

e da inibina. O HEM também estimula a produção do AMPc (adenosina monofosfato cíclico) e a atividade da aromatase, mas inibe a produção do fator ativador de plasminogênio (Boitani et al., 1988).

As concentrações da  $\beta$ -endorfina são baixas até os 20 dias de idade, período de multiplicação intensa da célula de Sertoli e altos dos 20 a 60 dias no rato, quando a divisão da célula de Sertoli cessa e adquire seus valores semelhantes ao da fase adulta (Adams e Cicero, 1989). As endorfinas também estimulam a produção de GnRH (Engelhardt, 1989), no qual, através das gonadotrofinas e os esteroides, regulam sua síntese no testículo de ratos adultos (Fabbri et al., 1989), isso explica, parcialmente, a renovação e a manutenção dos números relativamente constantes da célula de Sertoli nessa fase. Dessa forma, percebe-se que, paralelo ao eixo hipotalâmico hipofisário gonadal, há importantes mecanismos de regulação local da espermatogênese.

As encefalinas são produzidas pelas células germinativas, espermatócitos primários e espermatídes arredondadas e células de Sertoli. As células germinativas sintetizam as encefalinas, nas quais, auto regulam suas diferenciações e maturação através da modulação da função das células de Sertoli. As encefalinas também estimulam as células de Sertoli a produzir e secretar o fator semelhante ao hormônio liberador do hormônio luteinizante que, por sua vez, atua sobre as células de Leydig estimulando a produção de esteroide e inibe a secreção de  $\beta$ -endorfina (Fabri et al., 1989). Desse modo, altas concentrações de encefalinas são observadas quando os espermatócitos primários e espermatídes arredondadas são predominantes, sendo, portanto, facilmente explicado por esse circuito fechado de regulação a nível testicular (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993), uma vez que, nesse período são necessários maiores concentrações de testosterona (Barth e Oko, 1989; Holdcraft e Braun, 2004).

A oxitocina e a vasopressina têm sido reportadas exercerem funções testiculares. No entanto, a origem testicular de tais estruturas não tem sido consistentes. Dessa forma, tais hormônios possuem preferivelmente ação endócrina em detrimento da parácrina. Sua função tem sido reportada atuar regulando a esteroidogênese. A oxitocina também pode aumentar a contratilidade do túbulo seminífero como foi observado em ratos neonatais regulando o trânsito e a concentração espermática (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

As inibinas e ativinas são produzidas principalmente pelas células de Sertoli e Leydig, respectivamente (Kaneko et al., 2001). A produção de inibina pode ser estimulada pelo FSH, androstenediona, insulina e fator de crescimento epidermal (FCE). Entretanto, tem sido reportado que o FSH seja o estimulador primário da produção de inibina, que por sua vez, controla por "feedback" negativo a liberação daquele, modulando a atividade da célula de Sertoli, sendo esta, sua célula alvo (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993; Bame et al., 1999; Kaneko et al., 2001), portanto, nesse caso a inibina possui uma função endócrina.

Dessa forma, tem sido observado que alguns animais, que possuem problemas reprodutivos, apresentam altas concentrações de FSH, sendo que, tal fato pode ser parcialmente justificado por algum distúrbio na síntese ou secreção de inibina. Portanto, ação parácrina da inibina sob células germinativas, principalmente os espermatócitos paquíteno e espermátides arredondadas, não pode ser excluída, uma vez que, quando essas células foram abundantes no epitélio germinativo a concentração de inibina foi alta (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

Tem sido demonstrado que a inibina inibe a incorporação da timidina pelo DNA. Desse

modo, além de promover inibição da liberação de FSH pela hipófise por "feedback" negativo, a inibina também restringe a ação do FSH a nível testicular. Tais efeitos podem ser a causa da redução do número de espermatogônias nos testículos de hamsters e camundongos adultos após injeção intratesticular de inibina (Kaneko et al., 2001). Desse modo, verifica-se que altas e baixas concentrações de inibina são prejudiciais na reprodução do macho.

Imunização de touros pré puberal contra inibina endógena provocou aumento da circunferência escrotal, das concentrações séricas de FSH e da produção espermática sem modificação na concentração sérica de LH e testosterona nos animais quando atingiram a fase adulta. Vale ressaltar que o incremento do estímulo da produção espermática foi dependente do aumento na concentração de FSH do animal (Bame et al., 1999).

Talvez a combinação de diferentes espécies, raças, idade e protocolos de imunização possam contribuir para explicar as diferenças nos resultados obtidos (Bame et al., 1999). Vale lembrar que no período puberal ocorre maior necessidade de esteroides e gonadotrofinas, visto que, ocorre intensa diferenciação e multiplicação das células de Leydig e de Sertoli (Monet-Kuntz et al., 1984), sendo possível, que nessa fase, o macho torne mais sensível aos efeitos inibitórios da inibina comparado com a imunização no período pós maturação sexual.

A ativina tem efeito oposto a inibina. Seletividade de ação da ativina e inibina em um determinado momento da espermatogênese tem sido conferida por alteração na expressão do gene para seus receptores. Além disso, a identificação de folistatina como uma proteína ligadora de ativina, tanto nas gônadas, quanto na hipófise (Phillips, 2005), sugere outro

possível mecanismo regulador da ação da ativina (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

Os fatores de crescimento têm sido reconhecidos por regular a divisão e diferenciação, tanto de células somáticas, quanto de células germinativas. Os fatores de crescimento que tem sido identificados no testículo incluem o fator de crescimento secretado pela célula de Sertoli (FCSCS), o fator de crescimento do túbulo seminífero (FCTS), o fator de crescimento epidermal (FCE), o fator de crescimento transformador  $\alpha$  e  $\beta$  (FCT- $\alpha$  e - $\beta$ ), fator de crescimento semelhante a insulina I e II (IGF-I e IGF-II), o fator de crescimento fibroblástico ácido e básico (FCF-a e FCF-b), o fator de crescimento nervo  $\beta$  (FCN-  $\beta$ ) e a interleucina 1 (IL-1). Entretanto, desses, aqueles que têm sido identificados como os principais que possuem função parácrina são os FCT- $\alpha$  e - $\beta$ , o IGF-I e o IGF-II (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

O FCT- $\alpha$  tem sido demonstrado ser produzido pelas células de Sertoli e peritubulares. Contudo, a principal função deste é a de induzir a proliferação e agregação das células peritubulares isoladas, regulando a função dessas. Outra importante função do FCT- $\alpha$  é que, o mesmo, induz as células peritubulares a sintetizarem a substância modificadora peritubular que, por sua vez, estimula a célula de Sertoli a secretarem transferrina, atuando, então, de forma indireta sob as células de Sertoli (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

Cinco isoformas do FCT- $\beta$  foram descritas. Expressão de RNAm(s) para o FCT- $\beta$ 1,  $\beta$ 2 e  $\beta$ 3 tem sido detectados em células peritubulares e de Sertoli, em testículos de ratos adultos e imaturos, respectivamente. Apesar de não ter sido detectado a presença de receptores de FCT- $\beta$  em células testiculares, não deve ser descartada, a existência de efeitos mediados por esses nas células de Sertoli (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

O FCT- $\beta$  aumenta a secreção de proteínas, estimulam a migração e a formação de colônias pelas células peritubulares. O FSH regula a expressão de FCT- $\beta$ 2, no qual, exerce função inibidora de crescimento de células germinativas. Em animais adultos, a expressão de receptores de FCT- $\beta$ 1 têm sido observado em espermátócitos e espermátides durante a meiose, enquanto que, receptores de FCT- $\beta$ 2 são encontrados na diferenciação de espermátides (espermiogênese) em ratos adultos (Bartlett et al., 1989).

- Fator de crescimento semelhante a insulina (IGF)

O IGF-I, no testículo, é secretado pelas células de Leydig, de Sertoli e pelos espermátócitos primários em ratos adultos. Receptores de IGF-I têm sido identificados nas células de Leydig, de Sertoli, espermátócitos secundários e espermátides arredondadas, desse modo, percebe-se que o IGF-I exerce função autócrina quando regula as funções das células de Sertoli e de Leydig e parácrina quando atua em células germinativas (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

No testículo, o IGF-I é controlado preferencialmente por outros fatores em detrimento do GH. O FSH, LH e testosterona atuam separadamente ou em conjunto regulando a expressão de RNAm em ratos maduros e imaturos regulando a síntese de IGF-I (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

O IGF-I, IGF-II e a insulina, apesar dos dois últimos não possuírem comprovada ação parácrina, se ligam nos receptores de IGF-I e estimulam a incorporação da timidina enquanto que, o IGF-II se liga no tipo II de receptores estimulando a incorporação de leucina pelas células de Sertoli (Borland et al., 1984). O FSH, o IGF-I e a insulina também promovem a captação da glicose e produção de lactato pela célula de Sertoli. O

IGF-I também exerce um efeito iniciador para que a célula de Sertoli adquira capacidade para responder ao FSH, além de estimular a atividade mitogênica das células de Leydig e de Sertoli imaturas (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993).

Desse modo, tratamento de células de Leydig de suínos com concentrações nanomolares de IGF-I aumentou o número de receptores hCG (gonadotrofina coriônica humana) e a esteroidogênese tanto diretamente quanto em resposta a gonadotrofinas (Kasson e Hsueh, 1987). Além disso, estudos "in vivo" têm demonstrado que o IGF-I possui correlação alta e positiva com espermatócitos paquíteno e espermatídes, mas não com espermatogônias (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993). Tais tipos celulares estão presentes nas fases meióticas e espermiogênicas onde a testosterona está presente em altas e o LH em baixas concentrações (Bagu et al., 2006), fato esse, que reforça a hipótese de que o IGF-I torna a célula de Leydig mais responsiva ao LH e, consequentemente, maior capacidade esteroidogênica.

## 2.4 – O epidídimo

Uma vez produzido, os espermatozoides passam pela rede "testis" e ductulos eferentes para chegarem ao epidídimo. O epidídimo possui as funções de estocagem e da manutenção de adequado ambiente para que os espermatozoides atinjam a fase final de maturação resultando na aquisição da motilidade progressiva e do potencial fértil. Este órgão é dividido em três porções distintas: cabeça, corpo e cauda, sendo que os primeiros estão relacionados com a maturação e o último com a estocagem (Senger, 2003).

A permanência do espermatozoide no epidídimo desde a porção proximal da cabeça à porção distal da cauda é denominada de tempo de trânsito epididimário e não é influenciado pela

excitação sexual, sendo que em touros esse tempo é estimado em torno de oito a onze dias. Contudo, o número de espermatozoides na porção distal do epidídimo é drasticamente reduzido pela alta frequência de ejaculação, promovendo redução na concentração dos espermatozoides ejaculados. Altos tempos de permanência espermática na cauda do epidídimo promovem baixa viabilidade, uma vez que, espermatozoides não são reabsorvidos nesta porção do órgão (Senger, 2003). A importância da determinação do tempo de trânsito epididimário é que marcadores seminais visualizados nos espermatozoides ejaculados após alguma injúria em um período inferior a esse tempo sugerem que o epitélio epididimário foi acometido e que esse marcador seja preferencialmente um sinalizador de disfunção desse órgão (Barth e Oko, 1989).

Os espermatozoides quando chegam à cabeça do epidídimo possuem um resquíio de metabólitos do citoplasma circundado em lisossomas do complexo de Golgi visualizados em microscopia óptica como uma esfera escura localizada na região do pescoço denominada de gota citoplasmática proximal. No trânsito epididimário ocorre translocação da gota ao longo da cauda do espermatozoide de modo que na cauda do epidídimo o espermatozoide possui a gota citoplasmática distal, localizada na porção distal da peça intermediária. Normalmente, os espermatozoides perdem a gota citoplasmática distal durante a ejaculação. Pelo contrário a manutenção de alta prevalência dos espermatozoides com a gota citoplasmática associada ou não a caudas dobradas podem indicar inadequada maturação epididimária (Barth e Oko, 1989; Senger, 2003).

A função epididimária é fortemente regulada por andrógenos 5 $\alpha$ -reduzidos como a 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, 5 $\alpha$ -androstano-3 $\alpha$  e o 17 $\beta$ -diol (Barth e Oko, 1989), prolongando a

vida útil dos espermatozoides (Guyton, 1992).

Estruturalmente, o epidídimo é dividido no seu tecido epitelial e lúmen. Os quatro principais tipos celulares que compõem o tecido epitelial são: as células principais, as basais, as claras e as com halo. As células principais estão associadas com a síntese proteica responsáveis para manter ambiente necessário à maturação espermática, as basais com a detoxificação, as claras com a remoção de material do lúmen e as com halo exercem função imunológica (Robaire e Viger, 1995).

Dentre outras proteínas secretadas pelas células principais epididimárias que exercem importantes funções destacam-se as clusterinas, as glutatonas e a ene esteroide  $5\alpha$ -redutase. As clusterinas são responsáveis pela maturação espermática, as glutatonas inibem o ataque de eletrólitos ao epitélio epididimário e as  $5\alpha$ -redutases com o controle endócrino da função epididimária (Robaire e Viger, 1995). Sendo que o controle dessas últimas foi exercido pelas proteínas ligadoras de andrógeno secretadas pelas células de Sertoli que, por sua vez, são controladas pela concentração sérica de testosterona (Scheer e Robaire, 1980). Desta forma, a regulação da expressão da enzima  $5\alpha$ -redutase na cabeça do epidídimo foi idade dependente, enquanto que, na cauda do epidídimo não houve variação da idade na sua expressão (Robaire e Viger, 1995). Esse fato contribui para explicar o motivo pelo qual a adequada função da cabeça do epidídimo está fortemente relacionada com a maturação sexual nos mamíferos (Barth e Oko, 1989; Senger, 2003).

Ainda com relação à regulação da enzima  $5\alpha$ -redutase estudos tem afirmado que a regulação da expressão dessa enzima na cabeça do epidídimo tem sido fortemente atribuída à proteína ligadora de andrógeno, enquanto que nas demais porções do epidídimo sua expressão tem sido mais

fortemente associada com a concentração sérica de testosterona (Viger e Robaire, 1991). Portanto, problemas relacionados à cabeça do epidídimo podem estar associados à deficiência de funcionamento da célula de Sertoli. Possivelmente, esses fatos possam justificar o motivo pelo qual a gota citoplasmática proximal seja um defeito espermático classificado como maior, uma vez que, este foi altamente associado à baixa fertilidade em touros (Blom, 1973) e altamente prevalentes em animais no período puberal (Barth e Oko, 1989; Martins et al., 2011), onde a célula de Sertoli encontra-se imatura. Por outro lado, defeitos menores como a gota citoplasmática distal e caudas dobradas, por estarem associados a disfunções da cauda do epidídimo são altamente sensíveis a flutuações nos níveis séricos de testosterona (Barth e Oko, 1989).

Durante o processo de maturação espermática proteínas específicas sintetizadas pelo epitélio epididimário, sob estímulo dos andrógenos  $5\alpha$ -reduzidos, adicionam ou modificam moléculas na superfície desta célula (Orgebin-Crist, 1983). Essas modificações na estrutura da membrana plasmática espermática possuem as funções básicas de modular o sistema imune e o ataque de ácidos do trato genital feminino, aumentam a motilidade e estabilizam a membrana plasmática espermática, além de adquirirem atributos necessários para interação com a zona pelúcida e o oolema (Kravets et al., 2000). Acredita-se que o íon zinco seja importante regulador da quantidade de proteínas transferidas à cabeça do espermatozóide no epidídimo, sendo que a regulação da concentração deste íon nesse órgão tem sido atribuída à próstata e independente da ação dos andrógenos (Frenette et al., 2002). Esse fato constitui em outro mecanismo de regulação da função da cauda do epidídimo em touros.

## 2.5 – Testosterona

O hormônio andrógeno testosterona é um esteróide produzido nas células de Leydig localizadas no interstício entre os túbulos seminíferos, constituindo cerca de 20 % da massa dos testículos, com limitada quantidade produzida pelo córtex da adrenal (Hafez, 1995). É essencial à função reprodutiva dos machos, atua estimulando os estádios finais da espermatogênese prolongando a vida útil dos espermatozóides no epidídimo e estimulando o crescimento, o desenvolvimento e a atividade secretora dos órgãos sexuais do macho, como próstata, glândulas vesiculares e bulbo uretrais, ductos deferentes e a genitália externa. Assim como a manutenção das características sexuais secundárias e o comportamento sexual do macho (Guyton, 1992).

O mecanismo de secreção da testosterona é iniciado pela liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo, que secreta esse hormônio em pulsos a cada 90-120 minutos de maneira frequente e intermitente ao longo do dia e da noite. O GnRH chega à adenohipófise e liga-se aos gonadotrofos estimulando a liberação do hormônio luteinizante (LH) e, em menor extensão, o hormônio folículo estimulante (FSH), para a circulação geral. O LH é captado pelas células de Leydig, onde se liga à receptores específicos da membrana. A ligação de LH ao receptor leva à ativação da adenilil ciclase e à geração de AMPc e outros mensageiros, resultando, assim, na secreção da testosterona (Braunstein, 2000). Barbosa (1987) observou que o pico de liberação de testosterona em machos da raça Nelore foi a cada oito horas.

A resposta da adenohipófise, frente a liberação do pulso de GnRH, liberando LH é quase que imediato. Os episódios de LH duram de 10 a 20 minutos e ocorrem entre 4 a 8 vezes ao dia. A concentração de FSH é mais baixa, mas os pulsos são mais longos em relação ao LH, provavelmente devido a secreção constante de inibina pelo testículo e

pelo fato de que a meia vida plasmática do FSH seja mais curta (Senger, 2003).

A célula de Leydig responde aos episódios do LH em torno de 30 minutos. A resposta celular é com a secreção de testosterona que se dá de maneira curta e pulsátil que perdura por um período de 20 a 60 minutos. Tem sido reportado que a liberação de LH em forma de pulsos tem dois motivos: altas concentrações de testosterona dentro dos túbulos seminíferos são necessárias para manter a espermatogênese e que a célula de Leydig é refratária a altas concentrações de LH resultando em baixa secreção de testosterona. A condição de refratariedade da célula de Leydig diz respeito a não responsividade da célula devido à redução substancial no número de receptores para LH, criando um mecanismo de auto regulação a altas concentrações desse hormônio (Senger, 2003).

A concentração de testosterona intratesticular é em torno de 100 a 500 vezes maior do que a sérica. Essa diluição, a relativamente baixa meia vida plasmática, associados com a forma pulsátil da liberação da testosterona talvez seja estratégica para que a mesma não exerça acentuado “feedback” negativo no hipotálamo. Tais fatos não permitem que a liberação do GnRH seja fortemente inibida fazendo com que as concentrações de LH/FSH se mantenham em níveis necessários para que a espermatogênese seja mantida de forma contínua, mantendo a tonicidade (Senger, 2003). Katongole et al. (1971) reportaram que as concentrações de testosterona variaram de 2 a 20 ng/mL de plasma em touros *Bos taurus taurus*.

A testosterona, após ser secretada pelos testículos, liga-se frouxamente à albumina plasmática ou mais fortemente a uma beta-globulina e circula na corrente sanguínea durante cerca de 30 minutos à uma hora, portanto, sua atividade biológica é realizada pelos 2 % de testosterona-livre. A enzima 5-

$\alpha$ -redutase, presente nos testículos, metaboliza a testosterona para diidrotestosterona, que é o andrógeno ativo nos tecidos (Senger, 2003).

O colesterol é o precursor da testosterona, que quando presente na corrente sanguínea atravessa com facilidade a parede da célula até chegar ao citoplasma. Exerce sua influência sobre as células ou tecidos-alvos específicos através da interação exclusiva entre o hormônio e os receptores específicos localizados no interior da célula formando o complexo testosterona-receptor androgênico que entra no núcleo onde está o DNA da célula promovendo a resposta de síntese proteica (Hafez, 1995).

A PF2 $\alpha$  promove incremento na concentração de testosterona em touros de forma semelhante (níveis e duração) àquela provocada pelo LH, sugerindo que a PF2 $\alpha$  promove aumento da liberação de LH (Hafez et al., 1972). Entretanto, Kiser et al. (1978) observaram que a duração da onda de testosterona estimulada pela PF2 $\alpha$  foi prolongada e de maior concentração (1,6 vezes maior) quando comparada ao estímulo do LH, sugerindo que a estimulação da liberação de testosterona realizada pela PF2 $\alpha$  possui outra via de ação do que somente a estimulação do LH.

A PF2 $\alpha$  também provoca aumento na concentração de outros hormônios como o do crescimento e a prolactina. A prolactina pode ser uma via da estimulação da testosterona a partir da PF2 $\alpha$ , uma vez que, ativa a função secretora das células de Leydig, favorecendo a síntese de receptores para LH e, possivelmente, melhora a atividade enzimática da síntese de andrógenos a partir do colesterol (Hafez et al., 1972).

O estresse ocasiona aumento da secreção do hormônio adreno-corticotrófico (ACTH), o qual inibe a secreção de LH no macho, e, portanto a de testosterona, podendo inibir a

espermatogênese e a libido. Os glicocorticóides secretados pela ação de ACTH também parecem ter ação inibitória direta sobre a secreção das gonadotrofinas (González, 2002).

A adrenalina diminui a concentração de testosterona plasmática, talvez por diminuir o fluxo sanguíneo ao testículo. Por outro lado, a própria adrenalina estimula a secreção de testosterona nos testículos, quando se considera constante o volume de sangue (González, 2002).

Dessa forma, pode se notar que experimento que realizam a coleta contínua de testosterona ao longo do dia tem reportado sobre um possível ciclo circadiano na liberação de testosterona, encontrando maiores concentrações pela manhã e menores pela tarde (Dias, 2008). No entanto, vale ressaltar que ações conjuntas de cortisol e adrenalina provocados pelo maior estresse expostos aos animais perante um dia inteiro no curral sem alimentação e fornecimento hídricos adequados podem provocar redução na concentração de testosterona observada durante o dia dificultando a interpretação dos resultados.

## **2.6 – Puberdade**

### **- Conceitos e fatores relacionados**

Diversos estudos vem sendo efetuados em bovinos, para se avaliar o período puberal nos machos. Esta etapa da fisiologia desperta interesse talvez por constituir a fase mais importante dentro do aspecto reprodutivo, uma vez que, neste período ocorrerá a grande maioria das transformações que irão refletir no futuro desempenho do reprodutor (Garcia et al., 1987; Foster e Nagatani, 1999; Martins et al., 2011).

Vista por este angulo, a puberdade é, sem sombra de dúvida, o marco inicial do processo reprodutivo e produtivo, com

reflexos nos aspectos econômicos e no melhoramento genético, visto que, sua antecipação proporciona um retorno mais rápido do investimento, aumenta a vida útil, ao mesmo tempo em que permite uma maior intensidade de seleção e reduz o intervalo entre gerações, resultando, assim, em maior ganho genético (Senger, 2003).

A puberdade é o período no qual gametas viáveis são primeiramente produzidos e a atividade reprodutiva é iniciada. Alguns autores a definiram como sendo a idade na qual aparecem os primeiros espermatozoides no ejaculado (Almquist e Amann, 1962; Garcia et al., 1987). Outros adotaram a puberdade pelos primeiros espermatozoides no lúmen do epitélio seminífero (Cardoso, 1977; França, 1987). Já Amann e Walker (1983) consideram como indício de puberdade a produção de gametas suficientes para fecundar a fêmea. Enquanto, Wolf et al. (1965) considera a puberdade sendo a idade em que o animal apresenta no mínimo  $50 \times 10^6$  espermatozoides e 10 % de motilidade retilínea progressiva no ejaculado.

Esta transição é marcada por graduais alterações fisiológicas e anatômicas decorrentes de uma cascata de eventos: aumento da produção de esteróides sexuais pelas gônadas, em resposta a um aumento na liberação de gonadotrofinas (hormônios folículo estimulante e luteinizante) pela hipófise, que por sua vez é controlada pela secreção hipotalâmica de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina). A ativação desta cascata é regulada por uma série de mecanismos que controlam a liberação de GnRH, e alguns desses sinais são originados internamente e relacionam-se ao crescimento corporal, enquanto outros são dependentes de fatores externos (Hafez, 1995; Foster e Nagatani, 1999).

Destes conceitos pode-se dizer que a puberdade é o marco inicial do processo reprodutivo enquanto que, a maturidade

sexual o reprodutor vai atingir o seu potencial máximo. Entretanto, entre estas duas etapas da vida reprodutiva existem uma fase intermediária onde ocorrem eventos fisiológicos importantes que permitirão, ao final, classificar o animal como reprodutor adulto. Esta fase intermediária recebe o nome de período pós puberal e sua duração é em função da interação genética-meio ambiente, bem como, de fatores ligados ao meio ambiente, nos quais se destacam as condições nutricionais e o clima a que o animal é submetido (Fonseca et al., 1997).

Estudos realizados em bovinos de raças indianas (Cardoso, 1977; Garcia et al., 1987) demonstram que esses animais alcançam a puberdade mais tardiamente que os animais de raças taurinas (Lunstra et al., 1978). Fonseca et al. (2000) reportaram que esta diferença na idade à puberdade seja devida, principalmente, a fatores ligados às condições nutricionais e genéticas desses animais.

Considerando as características de desenvolvimento testicular, sob o ponto de vista histológico, a diferença da idade a puberdade entre animais zebuínos e taurinos tem sido atribuída a dois fatores: primeiro, os tourinhos zebuínos iniciam a espermatogênese 5,5 meses mais tarde e o segundo, é que os animais zebuínos possuem, em média, 15 dias de atraso entre o começo da espermatogênese e o início da puberdade (presença de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos), sendo que essa última diferença foi atribuída ao período mais longo de espermiogênese (Aponte et al., 2005).

No Brasil pesquisadores estudando animais da raça Nelore encontraram idade a puberdade variando de 17 meses, para animais criados sob diferentes condições extensivas (Cardoso, 1977; Brito et al., 2004). Em animais da raça Guzerá tem sido observada idade a puberdade variando de 18 a 19,5 meses (Trocóniz et al., 1991; Garcia

et al., 1987), alcançando a maturidade sexual aos 25,4 meses de idade (Garcia et al, 1987). Além disso, tem sido descrito, que quando animais taurinos são criados em clima tropical ou sub tropical, a cronologia dos eventos reprodutivos é desencadeada em idade mais tardia (Fonseca et al., 1997), provavelmente devido às condições climáticas desfavoráveis, sugerindo que o ambiente ao qual o animal está submetido, constitui em um importante fator que influencia a idade à puberdade.

Wolf et al. (1965) observaram baixa relação entre a idade a primeira monta com exposição do pênis e a idade a puberdade. Esse resultado demonstra que outros fatores, em detrimento da puberdade (estádio de desenvolvimento), exercem influência na demonstração do comportamento sexual. Os mesmos autores observaram ainda que a idade a puberdade foi altamente correlacionada com a presença dos primeiros espermatozoides móveis no ejaculado (0,75,  $P < 0,01$ ).

As características do sêmen variaram enormemente na puberdade e mostraram altas porcentagens de espermatozoides anormais (Wolf et al., 1965). A explicação para esse fato seja a baixa eficiência da espermatogênese nessa fase, visto que em animais sexualmente maduros, os quais possuem alta eficiência na espermatogênese e baixo percentual de espermatozoides anormais, a taxa de apoptose durante a meiose foi aproximadamente 5 % e na espermiogênese quase nula, enquanto que no início da puberdade a taxa de apoptose correspondeu a 70 %, ocorrida principalmente, durante a meiose (maior perda nos espermatócitos) (Aponte et al., 2005).

Gauthier e Berbigier (1970) observaram, em touros da raça Crioula, submetidos a três diferentes níveis nutricionais a idade a puberdade foi precoce naqueles criados em regime de alto nível energético. Resultados

semelhantes foram encontrados por Almquist (1982) em animais da raça Holandesa, observando atraso de duas semanas na idade a puberdade nos animais submetidos à dieta de baixo nível energético, quando comparados àqueles submetidos a altos teores de energia. Esses fatos demonstram que o nível nutricional constitui num importante fator ambiental que influencia a idade a puberdade.

Características como a circunferência escrotal, a motilidade espermática, os defeitos espermáticos totais e a idade a puberdade em touros Gir Leiteiro e Angus foram de 27,9 cm; 16,9 %; 77,8 %; 17 meses (Martins et al., 2011) e 30 cm; 31 %; 33 %; 11,7 meses (Wolf et al., 1965); respectivamente. Esses resultados demonstram que existe efeito genético sobre a idade e as características reprodutivas na puberdade, no entanto, o componente nutricional atenua esse efeito, uma vez que, ambos experimentos foram realizados com os níveis nutricionais satisfatórios, devendo-se lembrar que a raça Gir Leiteira é selecionada para característica leiteira e a Angus para corte, ou seja, possuem correlações negativas e positivas com características reprodutivas, respectivamente.

Aponte et al. (2005) caracterizaram o desenvolvimento das transformações histológicas testiculares durante o período puberal em touros da raça Brahman. Os mesmos observaram as seguintes modificações no período de transição pré puberal para puberal: aumento do diâmetro tubular de 94,8-197  $\mu\text{m}$ , formação do lúmen tubular que inicia o aparecimento das primeiras células, redução da espessura da lâmina basal, estabilização do número de célula de Sertoli ( $\approx$  14 meses, aumentando 2,5 vezes seu número de 8,5 a 14 meses) sendo que as mesmas adquirem sua forma matura cujo núcleo passa de uma forma oval com superfície regular para uma forma irregular aproximando-se da membrana

basal adquirindo nucléolo característico, aparecimento das primeiras espermatogônias A originadas a partir dos gonócitos, com iniciação da meiose.

Aos 11 meses de idade, os espermatócitos já estão presentes em 95 % e as espermátides arredondadas em 11 % dos túbulos seminíferos. Aos 16 meses, espermátides arredondadas e alongadas representam 30 % das células germinativas e estão presentes em 94 % dos túbulos, espermatozóides já aparecem no lúmen dos túbulos. As transformações celulares refletem no crescimento e peso testicular sendo altamente correlacionada com número de célula de Sertoli e germinativa (Aponte et al., 2005).

A eficiência da gametogênese foi avaliada pelas proporções de espermatogônias: espermatócitos, espermatogônias intermediárias: espermátides e pelos espermatócitos: espermátides. No período pré puberal (até aos 15 meses) a eficiência da espermatogênese é baixa provavelmente devido ao processo de apoptose, principalmente, nos espermatócitos, sendo que, as espermátides são as que sofrem menor perda. Após os 15 meses a eficiência da espermatogênese é em torno de 90 % (Aponte et al., 2005).

## **2.7 - O eixo somatotrópico e o desenvolvimento sexual**

Os mecanismos que controlam a reprodução e o balanço energético são intrinsecamente relacionados. Os mecanismos responsáveis para medir a taxa metabólica e o balanço energético têm sido denominados de sensor metabólico corporal. Este traduz os sinais sensoriais fornecidas pela circulação, como as concentrações de hormônios específicos, e finalmente, regulam os pulsos gerador de GnRH, controlando a reprodução. Hormônios indicadores metabólicos podem ser a leptina, a insulina, o hormônio do crescimento, o fator de crescimento

semelhante a insulina tipo I (IGF-I) que sinalizam o status nutricional para o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal controlando o desenvolvimento sexual (Blache et al., 2003).

O eixo somatotrópico é importante na regulação do crescimento. O hormônio do crescimento (GH), principal componente do eixo somatotrópico, interage com receptores de membrana primariamente no fígado, bem como, em outros tecidos alvos para estimular a produção de fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I). Existem seis proteínas ligadoras do IGF-I, na qual é responsável pelo transporte de IGF no sangue e regula sua ação biológica, são denominadas de proteínas ligantes do IGF (IGFBP's) (Jones e Clemmons, 1995).

A concentração de hormônios no soro associada com o eixo somatotrópico varia bastante durante o primeiro ano de vida do animal em resposta ao hormônio do crescimento. A concentração desse último diminui com a idade, sendo que, suas concentrações médias são maiores nos machos do que nas fêmeas devido ao fato de que nestes a redução do GH é atrasado em relação às fêmeas, e ainda que, é aumentado quando se incrementa a taxa de crescimento, demonstrando sua relação com a taxa de crescimento (Govoni et al., 2003).

Brito (2006), reportou que o GH diminui na 4<sup>a</sup> semana pré puberdade, ou seja, é necessário que o animal adquira um estágio de crescimento elevado para que se obtenha a puberdade. O autor sugeriu ainda que, em touros, os esteróides afetam negativamente na produção do GH. Tal fato não foi registrado em outras espécies, como os roedores e primatas, onde o GH aumentou períodos anteriores a puberdade (Wilson, 2001).

Efeito da alimentação em grupos de baixo, médio e alto nível nutricional foi avaliado sobre as concentrações de leptina, IGF-I,

insulina e GH. Desse modo, ocorreu atraso na elevação das concentrações desses com a redução do nível nutricional. Sugerindo que o atraso no desenvolvimento sexual em animais que ingerem dietas de baixo nível nutricional esteja relacionado a esses sensores metabólicos (Brito, 2006).

Efeito da nutrição tem sido observado sobre a concentração de FSH a partir de 61 semanas de idade, sendo que, os animais que ingeriram dieta de baixo nível nutricional possuíram menores concentrações deste quando se comparou os animais de médio e alto nível nutricional. A concentração de LH foi maior em touros que ingeriram dietas com baixos níveis nutricionais quando comparados aos demais grupos nas 39 semanas de idade, mas a frequência dos pulsos foi maior nos grupos de médios e altos níveis nutricionais após 14 semanas de idade e coincidiu com a redução da amplitude. Entretanto, a concentração de testosterona foi menor no grupo de baixo quando comparado aos de médios e altos níveis nutricionais a partir de 30 semanas de idade (Brito, 2006) e, provavelmente, por este motivo foi registrada maior concentração sérica de LH no grupo que recebeu dieta de baixo nível nutricional, uma vez que os andrógenos exercem “feedback” negativo à liberação hipotalâmica de GnRH no macho (Senger, 2003). Portanto, as frequências dos pulsos é melhor preditor de altas concentrações séricas de testosterona em relação a concentração sérica total de LH.

A Leptina é um hormônio proteico que foi recentemente descoberta e tem sido proposto que é produzida, principalmente, pelo tecido adiposo e regula a ingestão de alimento, sendo considerado como eficiente preditor da cobertura de gordura corporal (Brito, 2006) e do balanço energético (Diskin et al., 2003). Tratamentos com leptina exógena em camundongos ob/ob para expressão do gene leptina foi eficiente em restaurar a fertilidade, pois tais animais se tornaram

inférteis. Em vacas, jejum agudo provocou redução nas concentrações de leptina e de LH (Amstalden et al., 2002). Além disso, estudos “in vitro” em vacas demonstraram que a leptina pode aumentar as secreções hipotalâmica e da hipófise de GnRH e LH, respectivamente, (Amstalden et al., 2003).

Os hormônios metabólicos possuem efeitos diretos sobre os testículos e estão envolvidos na regulação da proliferação e maturação celular, na esteroidogênese e na secreção de fatores reguladores locais. A expressão de receptores de leptina indica que seus efeitos são espécie-específicos, visto que em camundongos foram observados receptores de leptina, principalmente, nos túbulos seminíferos (células germinativas) e variam com idade (El-Hefnawy et al., 2000), enquanto que, em ratos, seus receptores foram observados nas células de Leydig e de Sertoli e foram mais fortemente expressados no período pré puberal (Tena-Sempere et al., 2001), período esse, que foram observados maiores concentrações circulantes de Leptina sem acréscimo nas concentrações de gonadotrofinas. Essa observação suporta a hipótese que a Leptina em touros possui uma função permissiva na secreção de gonadotrofinas (Brito, 2006).

Além disso, restrição alimentar no período pré desmama não reduziu as concentrações de leptina, insulina e GH, mas afetou o desenvolvimento corporal e testicular. Verificou-se ainda que restrição alimentar de 75 % da manutenção resultou em concentrações de leptina e insulina suficiente para permitir aumento nas concentrações de LH. Portanto, redução severa nas concentrações de leptina e insulina são necessárias para promover diminuição na secreção de gonadotrofinas. Esses resultados demonstram que, não somente a leptina, como também a insulina e o GH, exercem uma função permissiva na secreção de gonadotrofinas (Brito, 2006).

A leptina, em ratos adultos, reduziu a concentração sérica de testosterona provavelmente por diminuir a expressão de enzimas esteroidogênicas como a P450 (Tena-Sempere et al., 2001). Em touros, a concentração de testosterona reduziu e a leptina permaneceu alta até 8 semanas pós puberdade (Brito, 2006). Esses resultados indicam que a leptina está envolvida na maturação e ou diferenciação total da célula de Sertoli tornando-a cada vez mais eficiente conduzindo o animal a maturidade sexual. Essa hipótese foi confirmada pelos fatos de que houve uma negativa associação da concentração de Leptina e a idade a maturidade sexual e um aumento na porcentagem de espermatozóides normais no período pós puberal (Brito 2006).

Receptores de insulina tem sido encontrado no hipotálamo de camundongos (Bruning et al., 2000) e carneiros (Blache et al., 2000). O aumento da secreção de GnRH, e, consequente LH, em resposta a melhora nutricional foi acompanhado pelo incremento da concentração de insulina no fluido cerebrospinal. Além disso, infusão de insulina no terceiro ventrículo de carneiros promoveu aumento da secreção de LH, sem, no entanto, nenhum incremento na concentração de glicose, sugerindo uma ação direta da insulina na secreção de GnRH (Blache et al., 2000).

As concentrações do hormônio do crescimento e do IGF-I aumentam durante o desenvolvimento sexual em humanos e esse fato tem sido sugerido estar envolvido na regulação de secreção de GnRH (Wilson, 2001). Receptores de IGF-I (RIGF-I) têm sido identificados no hipotálamo em roedores. A expressão dos RIGF-I no hipotálamo ocorre com abundância nas áreas pré óptica, na eminência média e médio basal e aumentam com a idade tanto em machos quanto em fêmeas de camundongos, sugerindo ação direta do IGF-I no hipotálamo. Além disso, neurônios GnRH expressam RNAm para IGF-I, IGF-II,

RIGF-I e IGFBP também idade dependente, sugerindo um mecanismo de regulação autócrina do sistema IGF na secreção de GnRH, uma vez que, tratamento com IGF-I aumentou a secreção de GnRH e LH em carneiros castrados (Miller e Gore, 2001).

Receptores de insulina têm sido observados em células de Leydig, enquanto os de IGF-I em células de Leydig e de Sertoli. O IGF-I aumentou a proliferação de precursores de células de Leydig em animais imaturos, a expressão de enzimas esteroidogênicas e a diferenciação de células mesenquimais em células de Leydig quando combinado com o LH. O IGF-I também potencializou a ação do LH sobre as células de Leydig através do incremento do número de seus receptores. Nas células de Sertoli o IGF-I aumentou a síntese de DNA e a secreção do fator ativador de plasminogênio (Borland et al., 1984). Portanto, o IGF-I foi descrito como o principal componente metabólico essencial para o desenvolvimento sexual de touros agindo diretamente tanto no hipotálamo quanto nas células de Leydig, uma vez que, restrição alimentar em bezerros acarretou em redução nas concentrações de GnRH, testosterona, IGF-I, puberdade tardia e redução da circunferência escrotal na puberdade (Brito, 2006).

Receptores de hormônio de crescimento (GH) têm sido identificados nas células de Leydig, Sertoli e germinativas em ratos, demonstrando uma possível ação direta do GH sobre os testículos. Tratamentos de IGF-I e GH em camundongos, deficientes em GH, produziu efeitos similares, sugerindo que os efeitos do GH são mediados pelo IGF-I. Contudo, o GH foi hábil para induzir diretamente a expressão de enzimas esteroidogênicas, como por exemplo, a 3 $\alpha$ -hidroxiesteróide desidrogenase (Hull e Harvey, 2000). Portanto, ação direta do GH sobre o desenvolvimento sexual de machos modulando a esteroidogênese não pode ser descartada (Brito, 2006).

As concentrações de leptina, insulina, GH, IGF-I e testosterona aumentam com a idade. A concentração de leptina aumenta no período que compreende 16 semanas pré a 8 semanas pós puberdade. A concentração de insulina aumentou do período puberal a 8 semanas pós puberdade. O GH diminui quatro semanas pré puberdade. A concentração de IGF-I aumenta no período que compreende 8 semanas pré e pós puberdade e diminui 20 semanas pós puberdade. A concentração de testosterona aumenta 4 semanas pré puberdade, mas a concentração de gonadotrofina permaneceu inalterada. Tais resultados permitiram o autor inferir que o eixo somatotrópico é um mecanismo que regula a secreção de testosterona independente do GnRH (Brito, 2006). Entretanto, vale ressaltar que nesse estudo o autor não trabalhou com animais hipofisectomizados, portanto como o LH estava presente na circulação, mesmo que não em elevadas concentrações, é mais coerente dizer que o eixo somatotrópico potencializa o efeito do LH/FSH.

Os resultados das correlações entre as concentrações de Leptina, IGF-I e insulina indicam uma possível associação positiva entre os fatores que regulam suas secreções e negativa, destes, com os de GH. Além disso, como as correlações entre suas concentrações foram positivas (Brito, 2006) é possível pensar que juntamente com a leptina, o IGF-I e a insulina possuem ação sinérgica aumentando a eficiência da célula de Sertoli e, conseqüente, maturidade sexual.

No período pré puberal, quando ocorreu aumento do IGF-I, o GH reduziu. Essa observação sugere que, a partir desse período, os testículos passam a ser a principal origem do IGF-I (Brito, 2006). Em suporte a isso, animais castrados possuíam menores concentrações de IGF-I quando comparados à animais controle (Lee et al., 1991). Gonadotrofinas estimulam a secreção de IGF-I pelas células de Leydig e Sertoli

(Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993). Contudo, vale ressaltar que quando a concentração do IGF-I aumentou as das gonadotrofinas não. Receptores de IGF-I e insulina foram identificados em células de Leydig, além disso, o IGF-I tem sido reportado estimular a proliferação e maturação de células de Leydig imaturas, além de aumentar a atividade de enzimas esteroideogênicas (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993). Portanto, há forte evidência de um mecanismo de regulação autócrina e parácrina da síntese de IGF-I no testículo (Brito, 2006), apesar de que maior sensibilidade hepática ao GH também tem sido reportado (Tena-Sempere et al., 2001).

## **2.8 - Endocrinologia do desenvolvimento sexual**

Amann (1983) registrou que altas frequências dos pulsos de LH ocorrem em bezerros após um mês de idade iniciando a diferenciação e maturação das células de Leydig progenitoras que por volta de 12-16 semanas de idade iniciam o incremento na secreção de testosterona em detrimento da androstenediona. A elevação da concentração de testosterona intratesticular acarreta na maturação das células de Sertoli cujo período de ocorrência se dá por volta de 16-28 semanas de idade.

Durante o desenvolvimento pré natal a testosterona "defeminiza" o cérebro no macho. Para que isso ocorra é necessário que a testosterona passe a barreira hemato encefálica e seja convertida em estradiol (aromatização) permitindo que o mesmo atinja o hipotálamo e minimiza a função do centro de surto (defeminização). Na fêmea o estradiol não passa a barreira hemato encefálica devido a ação de uma proteína chamada de alfa-fetoproteína (produzida pelo saco embrionário) que se liga a molécula de estradiol impedindo sua permeabilidade através da barreira (Senger, 2003).

Portanto, a teoria que confirma essa hipótese é que machos castrados próximo ao nascimento possui habilidade para produzir o surto de GnRH. Desse modo, parece que, continuada exposição a andrógenos seja necessário para que o centro de surto se torne inativado (Senger, 2003).

A "defeminização" do surto hipotalâmico do macho constitui a diferença fundamental endócrina entre machos e fêmeas, visto que no primeiro não ocorre surto de LH, mas sim um relativamente constante padrão de secreção mantendo uma permanente liberação pulsátil de testosterona (padrão tônico de liberação de LH). Em machos pós puberal os episódios ocorrem em torno de 2 a 6 horas (Senger, 2003).

Foi verificado que a androstenediona foi um importante andrógeno sintetizado pelas células de Leydig, em resposta à liberação de LH, até os seis meses de idade possuindo rápida meia vida. O pico da concentração de androstenediona foi aos quatro meses de idade ( $\pm 17^{\text{a}}$  semana) (Bedair e Thibier, 1979) que foi o momento onde se registrou valores mais elevados de IGF-I (Govoni et al., 2003). A partir de seis meses de idade a relação androstenediona: testosterona diminui consideravelmente, sendo que, os maiores valores da testosterona foram registrados de 8 a 10 meses de idade, época em que ocorreu a puberdade nesse grupo de animais (Bedair e Thibier, 1979). Tal fato permite inferir que a puberdade está associada com o incremento primeiro da androstenediona e num segundo momento da testosterona (período puberal).

Aos quatro meses de idade, ocorre aumento súbito do IGF-I (Govoni et al., 2003) e início do incremento de androstenediona (Bedair e Thibier, 1979). Esse período coincide com a época em que a concentração e a frequência dos pulsos de LH aumentam, sendo a partir do qual, a concentração de testosterona se torna significativamente responsiva a liberação de LH, onde também

a correlação de ambos andrógenos se torna alta e positiva (McCarthy et al., 1979). Talvez o incremento de IGF-I nessa fase, faça com que ocorra maturação enzimática necessária da célula de Leydig, com concomitante hiperplasia e hipertrofia, tornando-a capaz de secretar testosterona frente ao estímulo de LH (Hooker, 1970).

Esse fato também pode ser confirmado por meio do incremento da prolactina, que é responsável pela maturação da célula de Leydig, bem como, o início do estabelecimento da gametogênese (McCarthy et al., 1979) que também ocorre nessa fase. Possivelmente, essas transformações sejam necessárias para que a célula de Leydig responda ao LH sintetizando preferivelmente testosterona, em altas concentrações, em detrimento da androstenediona, uma vez que, nesse período foi registrado aumento da atividade da 17 – hidroxisteroide desidrogenase (enzima responsável pela conversão da androstenediona à testosterona). Essa modificação de responsividade da célula de Leydig ao LH, pode ser visualizado através da alta responsividade desta célula, para secretar testosterona, frente a moderados estímulos de LH (maior sensibilidade da mesma) (Lacroix et al., 1977), visto que com o aumento da concentração de testosterona ocorre “feedback” negativo a secreção de GnRH, sendo assim, a concentração sérica do andrógeno aumenta, enquanto a do LH diminui (Lacroix et al., 1977; McCarthy et al., 1979).

Na análise desses conhecimentos, pode-se inferir que um dos mecanismos determinante para que ocorra a puberdade em machos bovinos seja, preferencialmente, a capacidade da célula de Leydig em secretar testosterona frente a menores concentrações de LH, ocasionado pelo incremento de IGF-I, que por sua vez, conduz ao aumento gradativo das concentrações de testosterona (Lacroix et al., 1977), em detrimento da responsividade de célula de Leydig à

liberação do LH ou da adenohipófise frente ao GnRH.

Além disso, Brito (2006) reportou que considerando os eventos celulares no testículo e o período onde ocorrem as maiores concentrações do IGF-I, juntamente com a insulina e leptina, estariam envolvidos na maturação e multiplicação da célula de Leydig como também na maturação da célula de Sertoli e na multiplicação das células germinativas, demonstrando que fatores intratesticulares realmente constituem em fatores determinantes no desenvolvimento sexual.

Senger (2003) reportou que a maturidade do hipotálamo em produzir quantidade suficiente do GnRH é o maior fator limitante do início da puberdade. Sendo assim, o macho possui um sistema de “feedback” negativo simples. Como a testosterona no cérebro é convertida em estradiol (aromatização) o “feedback” negativo é estabelecido preferencialmente pelo estradiol em detrimento da testosterona. No momento da puberdade, os neurônios produtores de GnRH tornam-se menos sensível ao “feedback” negativo da testosterona/estradiol, ou seja, uma maior concentração de testosterona/estradiol é necessário para inibir a liberação do GnRH. Com esta redução da sensibilidade ao “feedback” negativo da testosterona/estrogênio, o hipotálamo pode produzir cada vez mais GnRH, e, portanto, cada vez mais LH/FSH são secretados e os machos atingem a puberdade, uma vez que, nesse momento ocorre o pico da concentração de testosterona. No entanto, foi registrado que, em touros, quando inicia o aumento da concentração de testosterona a do LH diminui (Lacroix et al., 1977; McCarthy et al., 1979).

Além disso, alguns autores descreveram que em fases precoce do período pós natal (até a 4ª semana) o hipotálamo de bezerros libera um transitório aumento na concentração do

hormônio GnRH, promovendo concomitante aumento na concentração de LH liberado pela adenohipófise (Mongkonpunya et al., 1975; Rodriguez e Wise, 1989; Evans et al., 1996; Bagu et al., 2006). Tal fato revela que tanto o hipotálamo quanto a hipófise possui capacidade de sintetizar e secretar o GnRH e o LH, respectivamente, no período pós natal precoce (Evans et al., 1996). Ressaltando, que se há algum grau de maturação do hipotálamo e da hipófise requerido para que ocorra a puberdade o mesmo, provavelmente, não se refere à capacidade de produzir e secretar os hormônios GnRH e LH.

Tem sido reportado que o principal objetivo do aumento de gonadotrofina precoce (4 semanas) seja para promover diferenciação e maturação na célula de Leydig necessária para ocorrer alta concentração de testosterona (esteroidogênese) após as 12 semanas de idade (Evans et al., 1996; Bagu et al., 2006). Evans et al. (1996) registraram que animais que não possuíam esse precoce incremento de LH eram aqueles que tiveram a puberdade tardia e o crescimento testicular prejudicado, sendo, provavelmente, uma característica presente em animais precoces, destacando-se, que talvez, esse fato possa ser um importante fator, que diferencia animais taurinos e zebuínos e uma possível explicação para o fato de que a falta de alimentação adequada, nesse período, comprometa o desenvolvimento reprodutivo dos animais. Desse modo, pode observar-se que a maturação de célula de Leydig, possivelmente, seja um dos principais mecanismos limitantes à ocorrência da puberdade em machos bovinos.

Desse modo, aplicação de GnRH no período pós natal precoce tem sido proposto em animais “*Bos taurus indicus*” com o objetivo de mimetizar o aumento transitório pós natal de LH (Jiménez-Severiano et al., 2005) em animais taurinos (Evans et al., 1996). No entanto, a utilização de agonista GnRH possui efeito distinto no desenvolvimento

testicular, que depende da duração e idade no início do tratamento (Jiménez-Severiano et al., 2005). Tourinhos da raça Brahman tratados com agonistas de GnRH, a partir de três meses de idade, possuíram circunferência escrotal, porcentagem de espermátides nos túbulos seminíferos, volume do epitélio seminífero, produção espermática diária reduzidos em relação aos animais controle e aos que foram tratados a partir de 6 meses (Jiménez-Severiano et al., 2005).

Talvez, a explicação para esse fato seja devido a inibição ou atraso da liberação episódica do LH, uma vez que, a aplicação contínua de GnRH promove redução da frequência e amplitude dos pulsos de LH (sem a aguda liberação) (Jiménez-Severiano et al., 2005) reduzindo o número de espermatócitos e espermátides (Chandolia et al., 1997), conseqüentemente, a produção de espermatozoides diária. Outro fato que deve ser ressaltado é que os andrógenos inibiram a diferenciação e aumentaram os fatores apoptóticos das células espermatogoniais, principais células germinativas presentes nos túbulos seminíferos, no período que abrange o nascimento até a pré puberdade (Jiménez-Severiano et al., 2005). Portanto, vale destacar que nesse estudo o autor poderia ter trabalhado com infusões de GnRH em períodos pontuais e ter iniciado, quando os animais possuíram 30 dias de idade, visto que foi descrito que a janela de defeminização no período pós natal seja até o primeiro mês de vida (Godfrey et al., 1992).

Alguns trabalhos reportam que a célula de Leydig, antes de os animais possuírem cinco meses de idade, não respondem ao incremento da concentração de LH, pois antes dessa, o incremento de LH não é correspondido com aumento proporcional da concentração de testosterona (Mongkonpunya et al., 1975; Lacroix et al., 1977), no entanto, vale ressaltar que tais

autores não dosaram a concentração de androstenediona plasmática.

Rodriguez e Wise (1989) observaram que secreções pulsáteis de GnRH ocorre a partir de duas semanas de nascimento, mas os pulsos de LH ocorre a partir de cinco semanas de idade. Tal fato permitiu os autores concluírem que a maturação da hipófise, mas não do hipotálamo, com concomitante capacidade de resposta da mesma ao GnRH, pode ser um fator limitante ao início da puberdade em touros. Contudo, vale salientar que tais autores trabalharam com diferentes animais em idades distintas, sendo que, alta variabilidade individual de perfis hormonais pode conduzir a distorções na interpretação desses resultados.

Altas concentrações de receptores testiculares de LH (LH-R) no período pós natal e o declínio dos mesmos no período que abrange 8 a 20 semanas de idade tem sido observado em bezerros. Isso se deve, provavelmente, ao fato que as células de Leydig fetais e progenitoras possuem mais LH-R em relação às células de Leydig adultas, uma vez que há necessidade que a concentração sérica de testosterona seja mantida constante, para que esta não exerça forte “feedback” negativo. Contudo, no período de 8 a 20 semanas de idade (maturação das células de Leydig) a concentração de testosterona aumenta subitamente, a concentração de LH diminui e a afinidade do LH ao receptor permanece o mesmo. Tais fatos revelam o incremento da eficiência da secreção e resposta das células de Leydig, frente a estímulos moderados da concentração de LH, com a aquisição da maturação das mesmas quando se aproxima a puberdade (Bagu et al., 2006).

Foi observado um incremento na concentração do LH-R no testículo a partir de 56 semanas de idade. Esse fato foi justificado devido à finalização no processo de maturação da célula de Sertoli e,

consequente, maturidade sexual, com aumento no número de células de Leydig. A alta e positiva correlação encontrada entre a concentração dos LH-R com os receptores de FSH sugere que o FSH estimula o desenvolvimento das células de Leydig, atuando via células de Sertoli (Bagu et al., 2006), visto que a administração de FSH em sistemas in vitro de cultura de células de Leydig de porco aumentou os sítios de ligação (receptores) do LH/hCG (gonadotrofina coriônica humana), promovendo maior secreção de testosterona (Tabone et al., 1984).

## 2.9 - Maturidade sexual

Apesar de ocorrerem de maneira cronologicamente diferente, os fenômenos da puberdade e da maturidade sexual, apresentam componentes que seguem a mesma ordem para animais de origem taurina e indiana (Guimarães, 1993).

Após a fase puberal, marcadas mudanças quantitativas e qualitativas no sêmen ocorrem com o objetivo de conferir aos reprodutores um potencial reprodutivo que esteja na média de sua raça ou espécie. Essas modificações incluem: aumentos do volume seminal, da motilidade, do vigor e da concentração e diminuição das patologias espermáticas. Tais características são aprimoradas até que alcançam um platô (maturidade sexual), tendendo a estabilização na vida adulta reprodutiva normal dos animais, com o decréscimo na senilidade (Fonseca et al., 1997; Guimarães, 1993).

A maturidade sexual em machos bovinos é definida quando os animais apresentam-se com os espermatozoides contendo no mínimo 50 % de motilidade e morfologia com no máximo 10 % de defeitos espermáticos maiores e 20 % de defeitos menores (Garcia et al., 1987; Freneau, 1991).

Garcia (1971) verificou que animais das raças Gir e Nelore alcançam a maturidade sexual aos 24 meses de idade, já Garcia et al., (1987) encontraram, para animais da raça Guzerá, maturidade sexual aos 25,4 meses de idade.

Vale Filho, (1988), estudando os efeitos do meio ambiente na maturação sexual, encontraram, nos animais criados sob boas condições nutricionais, apenas 53,3% com características seminais nos padrões compatíveis com a maturação do sêmen aos 24 meses de idade em touros da raça Nelore.

Da mesma forma, que na puberdade, o nível nutricional parece afetar a qualidade seminal dos animais na fase pós puberal. Alguns trabalhos mencionam o efeito negativo dos baixos níveis nutricionais sobre as características seminais dos ejaculados de touros da raça Nelore, criados em regime extensivo (Fonseca et al., 1975; Salvador, 2001). Salvador (2001) encontrou alta porcentagem de animais com imaturidade sexual aos dois anos de idade (49,4 %), atribuindo isto à deficiente condição nutricional que os animais estavam submetidos.

Apesar da grande potencialidade da raça Nelore para alta produção e reprodução em ambiente tropical, muitas vezes, o meio ambiente inadequado, notadamente nutricional, pode atrasar a puberdade e a maturidade sexual, principalmente em animais geneticamente superiores (Vale Filho, 1988; Vale Filho et al., 1994). Parâmetros tais como peso corporal, circunferência escrotal e demais parâmetros de mensurações testiculares, bem como, das glândulas vesiculares, coadjuvados com análises das características físicas e morfológicas do sêmen, expressas pelo índice de classificação andrológica por pontos (CAP), podem ser tomadas como referência para a avaliação de touros em fase de maturação sexual (Vale Filho, 1988; Dias et al., 2009b).

Animais que receberam dietas com restrição proteica possuíram redução nos pesos dos testículos, epidídimos, glândulas vesiculares e nos diâmetro e altura do epitélio seminífero, no volume e no número de espermatozoides totais no ejaculado. No entanto, não houve alteração na morfologia e na motilidade espermática (Meacham et al., 1961). Esses resultados sugerem que a espermatocitogênese foi mais sensível à deficiência proteica, em relação a espermiogênese em touros jovens de 8, 10 ou 12 meses. Entretanto, vale ressaltar que esses animais podem estar na fase puberal, sem, portanto, ter adquirido totalmente a maturação da célula de Sertoli não sendo capaz de detectar efeitos negativos maiores na morfologia e na motilidade espermáticas antes que o animal adquira a maturidade sexual.

Baixa ingestão de proteínas resulta em redução da produção espermática em touros (Rekwot et al., 1988). Essa redução da eficiência da espermatogênese também foi observada por Glass et al. (1979) em ratos com deficiência em proteínas, os quais apresentaram redução no conteúdo hipotalâmico de GnRH, e, consequentemente de LH, FSH e testosterona.

Varrões consumindo baixo teor de proteína (7 % de proteína bruta) na dieta não apresentaram diferença ( $P>0,05$ ) nas características seminais (concentração, motilidade e morfologia) comparados à animais que consumiram dieta rica em proteína (16 %). Os autores atribuem esse resultado ser devido a não diferença observada entre as concentrações plasmáticas de LH, FSH e da testosterona entre ambos os grupos. Possivelmente, a maior digestibilidade da proteína, incrementando a energia metabolizável, no grupo de animais que ingeriram 7 % de proteína bruta pode ter interferido na

interpretação dos resultados (Louis et al., 1994).

Touros das raças Simental e Hereford foram testados nas idades que compreendem 212 a 422 dias de idade durante um período de 38 dias. Dessa forma, os grupos foram divididos em baixa, média e alta ingestão de energia (14, 18 e 23 Mcal/animal/dia, respectivamente). Foram observado efeito de tratamento apenas nos animais da raça Simental, ou seja, os animais que ingeriram a dieta com altos níveis energéticos possuíram maiores peso corporal, circunferência escrotal e concentração sérica de testosterona comparada ao grupo de baixa ingestão de energia, sendo que, as características do sêmen não foram afetadas. A capacidade de serviço foi maior para touros da raça Hereford que ingeriram dietas com altos níveis energéticos (Pruitt et al., 1986). Contudo as condições de manejo, dentre os quais os animais foram submetidos, nos períodos precedentes ao experimento, ou mecanismos locais da função testicular agindo de forma compensatória, possam ter interferido nos resultados, visto que o período experimental foi curto.

Além disso, Brito (2006) observou que touros que sofrem restrição alimentar no período pré desmama possuem atraso nos desenvolvimentos corporais e testiculares mesmo quando são restaurados condição nutricional adequada no período peripuberal, ou seja, restrição alimentar durante período precoce na vida do animal não é compensada pela suplementação nutricional durante o período pós puberal. Talvez a explicação para tais resultados seja o fato de que a diferenciação e proliferação das células de Leydig e de Sertoli ocorrem em períodos anteriores ao da puberdade.

Portanto, Corrêa et al. (2006) avaliaram o efeito de três manejos alimentares (extensivo, suplementação na seca e confinado), em tourinhos da raça Tabapuã

sexualmente maduros, sobre a circunferência escrotal (CE) e as características seminais como a motilidade espermática, os defeitos espermáticos maiores e totais e a classificação andrológica por pontos. Os autores observaram que apesar de haver efeito de tratamento sobre a CE, o mesmo não foi observado para as características seminais. Esses resultados suportam a hipótese que após o período peripuberal reduzidas concentrações de gonadotrofinas e esteróides, bem como, fatores locais, são necessárias para manter a espermatogênese normal, uma vez que, as células de Leydig e Sertoli se encontram maduras.

Dietas com alta energia pós desmama são associadas com prejuízo da eficiência reprodutiva. Tal fato tem sido justificado pela alteração da termorregulação testicular, uma vez que, a deposição de gordura, provocada pela alta energia na dieta, ao redor dos testículos e do funículo espermático inibem a troca térmica através das glândulas sudoríparas do escroto e do plexo pampiriforme, acarretando em aumento e redução dos defeitos e motilidade espermáticas, respectivamente (Guimarães, 1993).

## **2.10 - Comportamento sexual em touros**

A conduta sexual envolve uma sequência de manifestações a partir do despertar sexual e seguida pelo cortejo (exibição sexual), ereção, protrusão do pênis, monta, introdução, ejaculação (arranque final), desmonta e refratariedade (saciedade) (Hafez, 1995). Todos os machos passam por estas etapas até alcançar o acasalamento, no entanto, variações dentro de cada etapa podem ser observadas entre as subespécies bovinas, entre raças e indivíduos, quanto a duração, categorias comportamentais, mecanismos fisiológicos e estruturais envolvidos (Costa e Silva et al., 1999).

A organização sensitiva da conduta sexual envolve interações de comportamento que levam a cópula e que podem ser divididas, conforme a seguir (Hafez, 1995; Chenoweth et al., 1984;) (texto copiado):

a) a procura mútua do parceiro sexual: nos bovinos, dá-se pela visão do grupo sexualmente ativo ou pelo olfato (feromônios), ou por ambos, o que é mais comum. O touro aproxima-se da vaca em cio, ou por vê-la assediada por outros animais e pelas companheiras de rebanho;

b) identificação do estado fisiológico da parceira: é de iniciativa do touro que está sempre disponível para o sexo identificar a parceira em cio. Uma vez próximo, ele explora todas elas até identificar aquela em cio mais positivo. Havendo outros touros no grupo, o dominante exerce preferencialmente esta atividade. Entretanto, se houver muitas fêmeas receptivas, as atividades serão divididas com os subordinados e várias vacas serão cortejadas ao mesmo tempo;

c) sequência de intervenções comportamentais que resultam na adoção da posição de cobrição pela fêmea: é o momento em que ela se entrega ao macho, influenciada pelas altas concentrações de estrógeno circulante que a levam ao máximo do desejo, submissa aos caprichos do touro cortejador;

d) reação de monta pelo touro: a reação de monta ocorre dentro da sequência da conduta sexual e culmina com a cópula que pode ser imediata ou demorar algum tempo, dependendo do estado de saciedade do touro. Quanto maior o tempo de repouso sexual, mais ávido estará e mais montas realizarão.

Costa e Silva et al. (1999) caracterizaram o comportamento social dos zebuínos como agrupamentos com vários machos num sistema de acasalamento promíscuo, com

touros compartilhando o espaço físico e também as atividades sexuais de cortejo, sendo o acasalamento garantido ao dominante, quando a oferta de cio for baixa e, consequentemente, maior competição entre os touros. Observaram ainda o compartilhamento do cortejo das fêmeas entre dominantes e subordinados, no entanto, o serviço era realizado exclusivamente pelo dominante quando a oferta de incidência de cio era baixa.

Os testes desenvolvidos para avaliar o comportamento sexual enfatizam métodos cuja finalidade compreende a quantificação do desejo e da capacidade sexual na tentativa de classificar os reprodutores (Santos, 2001). Entretanto, o comportamento sexual envolve fatores sociais, hormonais, nutricionais, ambientais, individuais, idade, experiência e hierarquia social, além do componente genético (Blockey, 1975).

Osborne et al. (1971) propuseram um teste da libido para avaliar a capacidade reprodutiva de touros que consistiram na utilização de fêmeas estroginizadas livres como estímulo, em um teste de cinco minutos, e classificavam os touros em escores de zero a quatro, conforme a manifestação sexual: (0) nenhum interesse sexual; (1) algum interesse sem tentativas de monta; (2) montas ou tentativas de monta ao menos uma vez; (3) montas ou tentativas de monta mais de uma vez; (4) um serviço completo.

Posteriormente, este teste sofreu modificações aumentando o tempo de cinco para dez minutos de observação e o aumento do escore, inicialmente até quatro, para dez níveis (Chenoweth et al., 1984). Esse escore é obtido a partir de observações da atividade e conduta do reprodutor de acordo com a escala: 0) o touro não mostra interesse sexual pela fêmea; 1) interesse sexual mostrado apenas uma vez (ex: cheirar a vulva); 2) interesse sexual mostrado em mais de uma ocasião; 3) ativa perseguição

da fêmea com persistente interesse sexual; 4) uma monta ou tentativa de monta, mas nenhum serviço; 5) duas montas ou tentativas de monta, mas nenhum serviço; 6) mais de duas montas ou tentativas de monta, nenhum serviço; 7) um serviço seguido por nenhum interesse sexual; 8) um serviço seguido por interesse sexual, incluindo montas ou tentativas de monta; 9) dois serviços, seguidos por nenhum interesse sexual; 10) dois serviços ou mais, seguidos por interesse sexual, incluindo montas, tentativas de monta e serviços.

Foram observadas correlações significativas entre os testes da libido e capacidade de serviço, trabalhando com fêmeas contidas em estro (0,45;  $P < 0,01$ ) ou não (0,63;  $P < 0,01$ ), sugerindo ser o teste de libido a melhor opção por requerer menor tempo de avaliação que os testes de capacidade de serviço (Chenoweth et al., 1979).

Além das pontuações aferidas durante os testes da libido, tem sido usado o tempo de reação de cada touro para avaliar seu desempenho sexual caracterizado pelo intervalo de tempo entre o início do teste até a realização do serviço completo (Fraser, 1960).

A avaliação do comportamento de zebuínos no Brasil tem sido feita, principalmente, por teste da libido. Entretanto, os resultados das avaliações desses reprodutores nos testes idealizados para touros "*Bos taurus taurus*" não são eficientes, devido à dificuldade de adequação destes para reprodutores zebuínos (Costa e Silva, 1994; Pineda et al., 1997; Costa e Silva et al., 1999).

Os touros zebuínos apresentam baixa frequência de monta durante a realização dos testes (Costa e Silva, 1994; Pineda et al., 1997; Oliveira et al., 2007), o que interfere diretamente na pontuação alcançada no teste por estes animais. O local de realização do teste pode ser fator limitante devido ao possível estresse causado nos touros

zebuínos (Dias et al., 2009a). A hierarquia social que atua de forma acentuada nos teste de capacidade de serviço, devido a inibição do comportamento dos touros na presença de um animal dominante, parece ser outro fator (Santos, 2001; Costa e Silva et al., 1999). Outro aspecto de importância é a necessidade de fêmeas em cio durante o teste de touros “*Bos taurus indicus*” (Santos, 2001), sendo que estas devem estar soltas para que não haja interferência nos resultados (Fonseca et al., 1997).

Avaliando o comportamento sexual em teste de libido de touros Nelore e Pantaneiro (*Bos taurus taurus*) sexualmente experientes, realizados em curral e a campo, criados extensivamente, Costa e Silva et al. (1999) evidenciaram baixas frequências de comportamentos copulatórios, serviços completos, sugerindo associação destes comportamentos com a adaptação dos animais para menor desgaste nas montas a campo em condições tropicais. Cheirar e lambe a genitália da fêmea foi o comportamento mais frequente observado pelos autores, tendo sido encontrada correlação significativa com monta completa a campo ( $P < 0,05$ ), concluindo-se, então, que animais zebu devem-se dar melhor pontuação, nos testes comportamentais para tal evento sexual. O efeito de ano influenciou ( $P < 0,05$ ) a maioria dos comportamentos observados, sugerindo baixa repetibilidade dessas variáveis em teste de libido realizados em curral.

Santos (2001) analisando o comportamento sexual de touros Nelore a pasto, observou que o comportamento de impulso de monta foi o evento de maior importância na conduta sexual dos touros, sugerindo ser este um comportamento estratégico para se testar a receptividade das fêmeas sem maiores demanda energética, por se tratar de um evento sexual leve e súbito do macho em direção à fêmea. O autor ressalta ainda, que o período de maior atividade sexual observado, foi de 18 e 24 horas, sendo que o

estado reprodutivo da fêmea foi determinante como estímulo ao comportamento sexual do touro. Além disso, Costa e Silva et al. (1999) observaram correlações significativas entre esse evento sexual e monta completa, destacando a característica determinante na conduta sexual do touro que o leva ao serviço completo. Essas observações confirmam a hipótese de que touros zebu, por adaptação às condições tropicais, tendem a realizar menor número de serviço completo por vaca em cio.

Tem sido demonstrado que touros que apresentam altas classificações quanto a libido, em testes realizados em curral durante dez minutos, e de razoáveis a alta pontuações nos sistemas de classificação andrológica, podem servir a um maior número de fêmeas (até 1:100), dependendo das condições de manejo do rebanho, sem prejuízo da eficiência reprodutiva, durante a estação de monta, possibilitando, assim, maior pressão de seleção (Vale Filho, et al., 1994; Fonseca, et al., 1997), aliado à redução dos custos com os mesmos (Neville et al., 1988; Fonseca et al., 1997). Portanto, animais zebuínos possuem padrão próprio de comportamento sexual quando comparados aos taurinos.

Em experimento conduzido com tourinhos da raça Hereford pós desmama (= 196 dias de idade) foram avaliados os teste de libido, capacidade de serviço e eficiência de serviço em animais criados em grupo (G1) e estabulados (G2) em baias individuais, realizando-se os testes de duas em duas semanas, observaram que os animais G2 obtiveram melhor performance em todos os testes. A metodologia utilizada foi a introdução de um touro com uma novilha em cio sincronizado num curral durante 30 minutos e a pontuação da libido foi interpretada segundo Chenoweth et al., (1979). A capacidade de serviço foi computada pelo número total de serviços completos e a eficiência do serviço foi

contada pela razão entre os números de montas totais pelo de serviços completos (Lane et al., 1983). Dessa forma, vale ressaltar que a metodologia empregada pode ter contribuído para se obter tais resultados, uma vez que, a utilização de apenas uma vaca em cio pode ter estimulado a competição e o estabelecimento da hierarquia social entre os touros.

Foram realizadas avaliações da capacidade de serviço, eficiência de serviço e montas desordenadas em animais em testes individuais (G3) e coletivos (G4) utilizando cinco a seis animais. Dessa forma, observaram que para todos os testes mencionados os animais G3 apresentaram maior número de montas no primeiro teste, sendo que a partir do segundo teste realizado não houve diferença entre os tratamentos para nenhuma característica avaliada. Tal resultado pode ser explicado pelo fato de que à medida que os animais em teste coletivo adquiriram experiência sexual os mesmos deixam de realizar interações sexuais entre si e iniciam a procura de fêmeas em cio, já que no primeiro, observaram-se interações homo sexuais. Os mesmos autores ainda mencionam altas correlações entre o teste de libido e de capacidade de serviço e baixas correlações entre os mesmos e interações homossexuais (Lane et al., 1983). Entretanto, deve-se ressaltar que a metodologia empregada para avaliação das interações homossexuais, todos os animais avaliados em conjunto no curral, pode não ter sido adequada para identificação individual das atitudes sexuais manifestadas pelos animais.

Oliveira et al. (2007) utilizando touros Nelore de 35 a 46 meses de idade observaram que o tempo que melhor prediz a avaliação do teste de libido a campo em curral foi o de 30 minutos, sendo que 53,8 % desses, atingiram a condição de aprovação no mesmo. Os mesmos autores comparando o teste da libido em curral e a observação de monta a campo, com seus respectivos

índices de prenhez, concluíram que o teste da libido realizado em curral por um período de tempo de 10 minutos não foi satisfatório em possuir relação com a taxa de gestação, já que à medida que se observa mais tempo em curral os animais vão adquirindo melhora progressiva. Vale ressaltar que a idade dos animais, a qualidade de sêmen, a duração da estação de monta e a proporção touro/vaca devem ser consideradas.

Dias et al. (2009a) em trabalho realizado na região de Unai – MG, utilizando tourinhos da raça Guzerá, de 20 a 22 meses sexualmente inexperientes, não observaram diferenças em testes da libido realizados sob três tempos diferentes (cinco, dez e quinze minutos). O mesmo autor também não registrou diferença para testes realizados individualmente ou em dupla e, nem tão pouco, quando foram comparados tanto em curral como em piquetes. A exemplo de Oliveira et al. (2007), observaram também que o incremento do tempo de observação da libido implica em aumento das frequências dos comportamentos sexuais. Contudo, permanecem em altas proporções os comportamentos de cheirar e lambe a genitália da fêmea e do reflexo de flehmen em relação aos demais comportamentos, sugerindo que estímulos sensoriais olfatórios sejam importantes mecanismos de estímulo no comportamento sexual do macho zebu.

## **2.11 - Regulação do comportamento sexual**

Os estímulos primários para ativar o comportamento reprodutivo são o olfatório, a audição, a visão e o tato, pois todos através de vias aferentes diferentes comunicam-se com o hipotálamo e o sistema límbico. O grau de influência de cada um desses estímulos sobre a performance reprodutiva depende da espécie (Senger, 2003). Dessa forma, o comportamento sexual em mamíferos está sob controle de fatores centrais, periféricos, hormonais e humorais que interagem de maneira complexa no

sistema nervoso central em diferentes níveis (Argiolas e Melis, 1995).

O estímulo visual aumenta a excitação sexual promovendo ativação do comportamento sexual. Essa estimulação é utilizada como prática nas centrais de inseminação onde um touro é posicionado de modo a observar a coleta de sêmen de outro, tal prática, provoca aumento da excitação sexual reduzindo o tempo requerido para a coleta e, ainda, pode aumentar a concentração espermática, visto que, aumenta a concentração de andrógeno circulante e sua, consequente, aromatização, além de ocorrer maior liberação de oxitocina (Senger, 2003).

Em estudo avaliando comportamento sexual de furões os autores observaram que, depois de retirada do estímulo olfatório com a oclusão das narinas, revelaram que os animais (tanto os machos quanto em fêmeas) manifestaram igual interesse homo e heterossexual. Tal fato conduziu os autores a sugerirem que os animais perderam a capacidade de identificar feromônios masculinos e femininos (Kelliher e Baum, 2001). Dessa forma, estímulos olfatórios são importantes na ativação do comportamento sexual, dependendo da espécie em estudo.

O sistema límbico é formado pelo telencéfalo (corpo amigdalóide, hipocampo e fórnix), no diencéfalo (tálamo e o corpo mamilar do hipotálamo) e no mesencéfalo (núcleo inter peduncular) e suas funções estão relacionadas com o medo, o prazer, a memória, a experiência e vários comportamentos, como, por exemplo, o sexual (De Lahunda e Glass, 2009).

No cérebro, numerosos neurotransmissores e neuropeptídeos influenciam a função sexual. Os mais estudados são a dopamina, a serotonina, aminoácidos excitatórios e inibitórios, óxido nítrico, oxitocina e peptídeos opióides (Argiolas e Melis, 1995).

Neurônios dopaminérgicos são conhecidos como estimuladores do comportamento sexual em machos e fêmeas de ratos. Dessa forma, utilizando-se antagonistas dopaminérgicos, comportamentos sexuais ligados ao cortejo e excitação (pré ejaculatórios) foram interrompidos com menores concentrações desses antagonistas comparados com aqueles ligados a cópula e ejaculação (ejaculatórios). Portanto, infusões de antagonistas dopaminérgicos no núcleo acumbens (estriatum ventral do telencéfalo) afetaram os comportamentos excitatórios de ratos sem causar alteração nos comportamentos de cópula. Sugerindo que manifestações do comportamento sexual podem ser reguladas por diferentes regiões centrais (Pfaus e Phillips, 1991).

Entretanto, lesões na área pré óptica medial do hipotálamo (transição entre o telencéfalo e o diencéfalo) tem sido reportado afetar tanto a ereção do pênis, uma vez que lesiona a inervação parassimpática (Pehek et al., 1989), quanto aos comportamentos de antecipação sexual (pré ejaculatórios) (Edwards e Einhorn, 1986). Vale ressaltar que experimentos que trabalham tanto com lesões quanto com agonistas ou antagonistas dopaminérgicos são difíceis de precisar a real função de uma área definida do sistema nervoso central, visto que, as regiões são muito próximas e interligadas umas as outras podendo haver interrupção de inter neurônios ligados em porções correlatas, dado que há receptores dopaminérgicos em várias dessas regiões (Pfaus e Phillips, 1991).

Neurônios dopaminérgicos da área pré óptica medial do hipotálamo (MPOA) servem como a ligação entre os estímulos sensoriais e a regulação autonômica mediada pelos esteróides, através da estimulação hipotalâmica, (Phillips et al., 1991), uma vez que, a MPOA é posicionada estrategicamente entre essas estruturas (Butler e Hodos, 2005).

Comportamentos sexuais de excitação e copulatórios são dependentes de estímulos olfatórios. Em roedores, a MPOA recebe terminações nervosas da amígdala córtico medial através da estria terminal. A amígdala córtico medial recebe axônios de neurônios do bulbo olfatório acessório que, por sua vez, recebe do órgão vomeronasal (Lehman et al., 1980). Tais conexões justificam a crucial função da área pré óptica medial nas características de comportamento sexual do macho, visto que lesões nas amígdalas mediais resultaram em redução considerável de comportamentos sexuais de hamsters como cheirar e lambar a genitália da fêmea e aboliu a cópula nos machos (Lehman et al., 1980; Butler e Hodos, 2005), demonstrando ação nos comportamentos tanto excitatórios (antecipatórios) quanto os ejaculatórios (consumatórios).

Neurônios oxitocinérgicos têm sido encontrados no núcleo paraventricular do hipotálamo e estão envolvidos no controle da função erétil e do comportamento sexual. Tais neurônios podem ser ativados pela dopamina, pelos aminoácidos excitatórios, pela oxitocina e pelos análogos da hexarelina. São inibidos pelos ácidos gama amino butírico (GABA) e pelos peptídeos opióides. A ativação desses neurônios promove a estimulação das enzimas óxido nítrico sintetase e da calmodulina  $Ca^{2+}$ , na qual, utiliza a L-arginina como substrato para sintetizar óxido nítrico (NO) (Argiolas e Melis, 1995). O NO no núcleo paraventricular está envolvido em funções centrais como a memória, o aprendizado, os comportamentos maternos e sexuais e a ereção do pênis (Tang et al., 1998).

A oxitocina tem sido reportada ser efetiva para reduzir a latência da primeira ejaculação, retardar a exaustão sexual em coelhos (Melin e Kihlstrom, 1963), aumentar o estímulo sexual, sobretudo, a ejaculação e ereção em humanos (Murphy et al., 1987) e aumentou a interação sexual em ratos, possuindo, então, funções

estimuladoras do comportamento sexual tanto antecipatórias quanto consumatória (Argiolas e Melis, 1995), dependendo da espécie. Quando esses animais foram hipofisectomizados e castrados ocorreu disfunção erétil, que foi restabelecida após tratamento com testosterona ou estradiol juntamente com 5- $\alpha$ -dihidrotestosterona, permitindo inferir que a ação da oxitocina na função erétil seja esteróide dependente (Argiolas e Melis, 1995).

A dopamina excita neurônios oxitocinérgicos através da estimulação da NO sintetase. O NO atua em tais neurônios promovendo o mesmo efeito da oxitocina (Melis et al., 2003), desse modo, pode se deduzir que estímulos olfatórios que conduzem a excitação de neurônios dopaminérgicos na área pré óptica medial também provocam estimulação dos neurônios oxitocinérgicos acentuando-se a estimulação sexual, sobretudo, os comportamentos sexuais consumatórios como os de ereção e ejaculação.

Ação de agonistas dopaminérgicos sob receptores de estrógeno alfa (RE $\alpha$ ) tem sido descrito, ativando comportamentos como ereção do pênis e investigação anogenital, sugerindo que a dopamina ativa tanto a motivação sexual quanto os eventos consumatórios. Essas observações também foram registradas através da ação de agonistas específicos dos receptores de dopamina do tipo 1 (Beck et al., 2002). Desta forma, a dopamina e os esteróides sexuais podem atuar sinergicamente para ativar o comportamento sexual em machos.

Estímulos sensoriais, como os olfatórios (sistemas principais e acessórios), excitam neurônios glutamatérgicos nas amígdalas mediais. Esses neurônios, uma vez ativados liberam o glutamato em suas porções terminais axonais na MPOA. O glutamato liberado na MPOA ativa seus receptores que possuem como resposta a ativação da NO sintetase. O NO liberado na MPOA podem

ativar a liberação de dopamina que culmina com suas ações na expressão do comportamento sexual (Dominguez e Hull, 2005), como já visto. Ainda no MPOA, o NO secretado também podem estimular a liberação de GnRH e, posteriormente, a liberação de testosterona, que por sua vez ativam características sexuais secundárias e, através de sua aromatização, também influenciam o desenvolvimento de centros cerebrais facilitando a expressão do comportamento sexual de machos (Hull et al., 2004). Além disso, tem sido descrito que a testosterona executa função primordial na liberação dos grânulos de dopamina, através também da liberação de NO, dado que, em animais castrados a concentração de dopamina no espaço sináptico foi inferior a dos animais controle (Hull et al., 1999; Hull et al., 2004; Dominguez e Hull, 2005). Portanto, uma das funções da testosterona no comportamento sexual é mediada pela dopamina. Desta forma, estímulos sensoriais atuam de forma sinérgica com a testosterona na expressão do comportamento sexual de machos.

As amídalas mediais constituem na principal região do sistema nervoso central onde se origina a maioria dos neurônios presentes na MPOA (Argiolas e Melis, 1995). Desta forma, foi observada que lesões nas amídalas reduziram, consideravelmente, a liberação de dopamina na MPOA inibindo a expressão das atividades sexuais, sendo que esse quadro foi revertido quando se infundiu agonistas dopaminérgicos diretamente na MPOA (Dominguez e Hull, 2005). Além disso, tem sido descrito que os estímulos feromoniais somente foram eficientes em provocar liberação de dopamina na MPOA após a puberdade, quando os animais tornaram-se competentes para realizar a monta completa (Romeo et al., 1998). Tais fatos destacam a importância dos estímulos olfatórios no comportamento sexual de machos e que a maturação das estruturas dos eixos olfatórios necessárias para ativar o comportamento sexual, se dá na puberdade.

Têm sido desenvolvidos estudos, utilizando modelo de animais castrados, na tentativa de averiguar distintas funções dos esteróides sexuais e da dopamina no comportamento sexual de machos roedores (Putnam et al., 2003; Hull et al., 2004). Desta forma, percebeu-se que animais castrados tratados somente com testosterona e aqueles tratados com dihidrotestosterona mais estradiol obtiveram resultados como níveis semelhantes de dopamina periférica, além da liberação desse neuro transmissor na atividade pré copulatória em resposta a presença de fêmeas, e apresentaram normais funções erétil e ejaculatória. Pelo contrário, os animais castrados tratados apenas com estradiol demonstraram normal liberação de dopamina, mas não em resposta ao contato com a fêmea, e realizaram altas frequências de penetração do pênis sem ter sido observada ejaculações. Os animais tratados apenas com dihidrotestosterona apresentaram baixos níveis de dopamina, não realizaram a monta e não ejacularam (Putnam et al., 2003; Hull et al., 2004). Além disso, camundongos “knockout” para expressão de RE $\alpha$  e tratados com agonista de dopamina apresentaram normal função copulatória (Scordalakes e Rissman, 2003, citados por Hull et al., 2004). Esses resultados sugerem que os estrógenos ou a testosterona, através de sua aromatização, exercem funções indiretas, facilitando o comportamento sexual (Hull et al., 2004). Tem sido reportado que os esteróides atuam em regiões do sistema nervoso central controlando seus desenvolvimentos, modulando as respostas sensoriais (Keverne, 2002; Hull et al., 2004), e no controle motor da ereção e ejaculação (Hull et al., 2004).

Outra importante função da dopamina coadjuvando com os esteróides na estimulação do comportamento sexual é através da ação daquela nos seus receptores do tipo 2 (D2). Tem sido descrito que essa ação, retira o efeito tônico inibitório do sistema GABA, atuando como “primer” para

que os esteróides sexuais exerçam suas funções autonômicas para desencadear as atividades de ereção e ejaculação (Hull et al., 2004).

Após a castração (método cirúrgico), a porcentagem de animais que demonstrou ejaculação completa em teste de comportamento sexual reduziu rapidamente, mas a taxa de declínio foi bastante variável. Em dois experimentos conduzidos pelo autor, observou-se que, até a quarta semana pós cirúrgica, pode encontrar animais de 8 a 42 % que efetuaram a monta completa, sendo que, um animal efetuou tal comportamento até 147 dias. A frequência do número de penetrações na vagina da fêmea foi registrada até a nona semana (Davidson, 1966).

A latência de ejaculação (período no qual o macho penetra na fêmea pela primeira vez até a ejaculação) e o número de penetração na fêmea por ejaculação reduziram significativamente nas primeiras duas a três semanas pós castração cirúrgica. Tais observações permitiram o autor concluir que após a castração os machos ratos podem manter os componentes estudados do comportamento sexual por longos períodos, embora o comprimento da duração seja variável e que os eventos comportamentais ligados a ejaculação são facilitados no período logo após a cirurgia, muito embora àqueles ligados a excitação seja inibida (Davidson, 1966), sugerindo que, nessa espécie, as atitudes sexuais antecipatórios são esteróides dependentes.

Talvez a explicação para esses resultados seja o fato de que animais castrados antes da puberdade requerem menor tempo para abolir a atividade sexual comparados aos castrados pós puberdade (Senger, 2003), dessa forma, a experiência sexual ou ação esteróide prévia parece ser importante na determinação do período requerido para que ocorra redução da atividade sexual pós castração.

Os andrógenos 5  $\alpha$  reduzidos, androstanediol e dihidrotestosterona, não exercem função androgênica nas estruturas cerebrais relacionadas ao comportamento sexual do macho rato, uma vez que, não foram eficientes em restaurar o comportamento sexual em animais castrados sexualmente inexperientes (Beyer et al., 1973). Por outro lado, os andrógenos aromatizáveis e o estradiol foram efetivos em restaurar as atividades sexuais em machos castrados (Harding et al., 1983), sugerindo que a ação neural que regula as atividades sexuais são ativados preferivelmente pelo estrógeno em detrimento dos andrógenos, uma vez que, os últimos são aromatizados no cérebro (Senger, 2003).

Tem sido indicado que a manifestação do comportamento sexual é um efeito acumulativo da exposição a esteróides sexuais tanto no período pré como no pós natal até a pré puberdade (Ford e D'Occhio, 1989), desde que, a concentração de testosterona sérica não tem sido bem associada com a libido e a capacidade de serviço em touros sexualmente maduros (Chenoweth et al., 1979; Price et al, 1986).

Portanto Godfrey et al. (1992), utilizando touros cruzados, não observaram efeitos de tratamentos com testosterona, dihidrotestosterona ou estradiol de 34 a 116 dias de idade sob o comportamento sexual pós puberal (14, 17 e 22 meses de idade). Os autores discutiram que se tivessem iniciado os tratamentos em período anterior aos 34 dias de idade pudessem encontrar diferenças nos resultados, visto que, houve tendência para maior número de montas completas para o grupo de animais tratados com testosterona e que a janela de tratamento pós natal pode ser muito curta. Vale apontar que a metodologia utilizada pode ter superestimado os animais, pois utilizaram animais taurinos, durante 30 minutos, para o teste de capacidade de serviço.

Uma possível explicação para que a ação esteróide no período perinatal seja importante na determinação do comportamento sexual seja que após a defeminização do centro de surto hipotalâmico diferenças sexuais ocorrem nas estruturas cerebrais que controlam o comportamento reprodutivo. Por exemplo, no macho, a área pré óptica medial do hipotálamo é maior, enquanto que, na fêmea o hipotálamo ventro medial é maior. Tais diferenças conduzem a respostas comportamentais inerentes ao gênero, frente ao estímulo esteróide (estrógeno), como os comportamentos de monta, de ereção e de ejaculação no macho e os de lordose, o abaixamento (deixar ser montada) e movimentação elevada do posterior na fêmea (Senger, 2003).

Tem sido provado que a testosterona atua no cérebro em receptores de andrógenos facilitando a expressão do comportamento sexual. Desse modo, antagonistas de receptores androgênicos juntamente com implantes de testosterona intra cerebrais em animais castrados tem sido utilizado em áreas específicas para provar essa hipótese. Foi observado que receptores androgênicos funcionais foram encontrados na área pré óptica medial e no hipotálamo médio basal, destacando-se, que no segundo, o efeito da testosterona foi mais evidente afetando a habilidade de monta, a penetração do pênis e a ejaculação. Enquanto que, no primeiro afetaram significativamente as três características, mas a ejaculação foi àquela mais fortemente evidente, sugerindo que a área pré óptica medial é fortemente relacionada aos comportamentos ejaculatórios, sendo fortemente influenciada pelos andrógenos (Mcginnis et al., 1996). Portanto, ação direta da testosterona na MPOA promovendo liberação de dopamina não pode ser descartada.

Nas amídalas mediais (AM) e na região do septo cerebral (SC), apesar de serem ricas em receptores de andrógenos, não foram

registradas efeito da testosterona nas características de comportamento sexual, como habilidade de monta, penetração do pênis e ejaculação. O fato de que a cânula instalada (implante hormonal) pode ter lesionado as amídalas e que características pré copulatórias como a investigação ano genital não foram registradas, possam explicar esse resultado, visto que, que comportamentos sexuais pré ejaculatórios estão melhor associados com as amídalas mediais (Lehman et al., 1980) e, ainda, que tais comportamentos podem não ser andrógeno dependente (Mcginnis et al., 1996).

A remoção bilateral do bulbo olfatório eliminou o comportamento sexual de machos e fêmeas de camundongos (Heimer e Larsson, 1967; Edwards e Burge, 1973), os animais demonstraram prolongada latência em resposta a fêmeas em estro, redução do número de ejaculações e aumento na tendência a permanecer totalmente não responsivo a estimulação sexual, sugerindo que o bulbo olfatório exerce forte influência na região pré óptica do hipotálamo (Heimer e Larsson, 1967). Entretanto, a tentativa de interromper a condução dos feromônios através das terminações nervosas periféricas por meio da aplicação de sulfato de zinco não afetou o comportamento sexual dos machos. Nas fêmeas, tal abordagem atenuou a receptividade sexual, mas não, tanto quanto, a bulbectomia afetou. Tais resultados permitiram os autores inferirem que fatores feromonais podem estar envolvidos na excitação sexual da fêmea e que o bulbo olfatório pode exercer regulação do comportamento sexual sem, no entanto, estar ligado a detecção de odores (Edwards e Burge, 1973). Contudo, vale lembrar que a aplicação periférica do sulfato de zinco pode não ter sido efetivo em eliminar totalmente a detecção dos feromônios pelo órgão vomeronasal, já que via acessória independe da via olfatória principal (Keverne, 2002).

O estudo do comportamento sexual revela variabilidade entre indivíduos que não são dependentes de ativação ou quantidade de receptores ou de concentrações séricas tanto de testosterona (Price et al., 1986; McGinnis et al., 1996) quanto de sua aromatização a estradiol (Harding et al., 1983), além disso, animais castrados demandam um período bastante variável para abolir o comportamento sexual (Davidson, 1966; Senger, 2003). Nesses casos a ação da ativação dos receptores de progesterona (RP) juntamente com a experiência sexual tem sido avaliada, uma vez que, tem sido reportado que os RP regulam os mecanismos envolvidos na ativação da experiência sexual. Desse modo, a influência dos receptores de progesterona em machos com ou sem experiência sexual tem sido estudada (Phelps et al., 1998).

Foi registrado que camundongos Knockout para a expressão de RP sem experiência sexual apresentaram frequência de monta bastante reduzidos, embora tal efeito tenha sido atenuado pela experiência sexual, quando comparados aos animais sem modificação gênica (selvagens). Quando castrados, tanto os animais selvagens, quanto os Knockout para os RP sem experiência sexual, não possuíam comportamento sexual. Contudo, quando os animais possuíam experiência sexual, nos camundongos selvagens foi obtido comportamento sexual mais acentuado até três semanas pós castração, comparados àqueles Knockout para os RP. Esses resultados conduziram os autores inferirem que os RP regulam parte dos mecanismos envolvidos na experiência sexual independente da ação androgênica (Phelps et al., 1998).

Tem sido demonstrado que ratos com experiência sexual prévia, após a castração, exibem ondas de liberação de dopamina na área pré óptica medial, enquanto aqueles sem experiência sexual não as apresentam (Hull et al., 1995). Um estudo observou que

a dopamina é capaz de externar comportamento sexual típico de fêmea através da ligação direta nos RPs no hipotálamo ventro medial em camundongas (Mani et al., 1997). Portanto, tem sido hipotetizado que a experiência potencializa a liberação de dopamina na área pré óptica medial provocando ativação do RP, potencializando a ação da progesterona no comportamento sexual do macho (Phelps et al., 1998). Acredita-se que a potencialização da liberação de dopamina seja através do reconhecimento de odores sexuais conhecidos, potencializando a liberação de glutamato (Hull et al., 2004).

Em répteis, a progesterona aumenta a expressão de RNAm para receptores de andrógenos na área pré óptica (Crews et al., 1996), demonstrando ação sinérgica entre ambos receptores. No entanto, como a testosterona também pode exercer ação no comportamento sexual através de sua aromatização, dentro da área pré óptica medial, interação entre RP e receptores estradiol não podem ser descartados (Sachs e Meisel, 1994).

A progesterona exógena não estimulou o comportamento sexual de machos. Os autores têm atribuído esse fato a reduzida concentração de progesterona necessária para ativar os RP da área pré óptica, uma vez que, as principais origens endógena desse esteróide sejam as adrenais e os testículos (Phelps et al., 1998) e que a dopamina também estimula os RP (Mani et al., 1997).

Se por um lado a dopamina facilita o comportamento sexual, a serotonina na MPOA prejudica a função erétil e a ejaculação. Desta forma, a liberação da serotonina está envolvida no período pós-ejaculação, determinando o período de refratariedade sexual, que se dá após o coito, sendo que, nesse caso, a região responsável por essa função seja atribuída,

principalmente, ao hipotálamo lateral anterior (Hull et al., 1999; Hull et al., 2004).

## **2.12 - Órgão vomeronasal e o sistema olfatório**

O órgão vomeronasal foi descoberto pelo anatomista Ludvig Jacobson, em 1813, que o descreveu como o órgão do nariz dos mamíferos e o classificou como um aparelho secretório, porém suspeitava que pudesse ser também um órgão sensitivo (Doving e Trotier, 1998). Atualmente, esse órgão é reconhecido como detector de feromônios, que são substâncias emitidas por um organismo e captadas por outro, como urina, fezes e substâncias secretadas pelas glândulas sudoríparas. Após serem identificadas e processadas, essas substâncias são capazes de induzir uma resposta comportamental imediata ou induzir mudanças fisiológicas (Meredith, 1983), tais como indução e sincronização de estro, bem como a aceleração da puberdade nas fêmeas.

O órgão vomeronasal é uma estrutura tubular quimiorreceptiva situada medianaalmente na base do septo nasal, que se abre na sua extremidade cranial, comunicando-se com as cavidades nasal e oral. Na sua extremidade caudal se fecha formando um fundo de saco. A localização de sua abertura, que comunica com a cavidade oral, varia de acordo com a espécie. Em bovinos abre-se diretamente através dos ductos incisivos (Kare, 1996; Salazar et al., 1997).

O órgão vomeronasal possui uma parte côncava e outra convexa, a última é dotada de um epitélio pseudoestratificado ciliado e a côncava por um epitélio neuro sensitivo especializado (Powers e Winams, 1975), nas quais tem sido estabelecido que os números de receptores das células sensitivas desse epitélio aumentam até a puberdade, reduzindo seu número após esse período (Wilson e Raisman, 1980). Desse são

projetados axônios do nervo vomeronasal para o bulbo olfatório acessório e, posteriormente, para o núcleo amigdalóide medial, núcleo amigdalóide cortical posteromedial e núcleo “bed” da estria terminal que fazem conexões diretas com o hipotálamo ventro medial e área pré-óptica medial do hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006; Keverne, 2002). O conjunto das regiões cerebrais em que o órgão vomeronasal faz conexões é denominado de sistema olfatório acessório ou sistema vomeronasal (Halpern, 1987). Dessa forma, o órgão vomeronasal está intimamente conectado com áreas do sistema nervoso central, mais especificamente com o sistema límbico, que é responsável pela modulação do comportamento de reconhecimento materno e reprodutivo (Klemm, 1996; Dulac e Wagner, 2006).

As estruturas cerebrais relacionadas com o sistema vomeronasal possuem receptores de estrógeno e de testosterona em quantidades semelhantes e de progesterona em números inferiores (Madureira e Lieberman, 1995), sendo que o desenvolvimento do órgão vomeronasal é dependente do amadurecimento dessas estruturas (Keverne, 2002; Dulac e Wagner, 2006). Além disso, o sistema vomeronasal possui características dimórficas, ou seja, essas regiões do sistema límbico são maiores nos machos em relação às fêmeas (Madureira e Lieberman, 1995). Essas informações sugerem que o sistema vomeronasal é dependente dos esteróides sexuais e, ainda, esse sistema está mais associado com as características sexuais nos machos em relação às fêmeas.

Segundo Kare (1996) e Doving e Trotier (1998) as moléculas entram no órgão vomeronasal através de um mecanismo bombeador, innervado pelos nervos eferentes vegetativos do nervo nasopalatino, que suga as moléculas e as dissolve no muco. Além disso, alguns mecanismos comportamentais estão envolvidos no transporte de substâncias para o órgão vomeronasal.

Como por exemplo, o reflexo de Flehmen, que ocorre durante a interação sexual após a percepção de odores, em que o animal eleva a cabeça, assim como, o lábio superior e para de respirar por um momento, seguido pela lambida (Doving e Trotier, 1998). O ato de lambe a genitália da fêmea é outro mecanismo utilizado pelos touros após detectar fêmeas em estro. O touro usa a língua com o intuito de comprimir o palato duro, causando alteração na pressão do órgão vomeronasal e por esse meio substâncias químicas são puxadas para dentro do mesmo (Kare, 1996).

O mecanismo de envolvimento do órgão vomeronasal com a atividade sexual, descrito no hamster, acredita ser via estimulação nos neurônios noradrenérgicos (pelas substâncias odorantes presentes na urina ou de fluidos vaginais) situados no hipotálamo médio basal provocando inibição na secreção de prolactina pela adenohipófise. A prolactina por ser lúteo-trópica reduz a meia vida do corpo lúteo, fazendo com que ocorra uma redução dos níveis de progesterona, permitindo um aumento nos níveis de GnRH, sendo permissivo o retorno do crescimento folicular (Doving e Trotier, 1998). Esse aumento na concentração de GnRH também provocaram estimulação das concentrações de LH e testosterona no macho (Schneider et al., 2008). Acredita-se também que após excitar neurônios das amígdalas mediais, esta promove liberação de glutamato em neurônios que fazem sinapses com a área pré-óptica medial do hipotálamo. O glutamato liberado no espaço sináptico atua em seus receptores pós-sinápticos, promovendo ativação da óxido nítrico sintetase na qual promove liberação do NO, que por sua vez, atua estimulando a secreção do GnRH (Hull et al., 2004).

A depleção do órgão vomeronasal tem sido reportada afetar o desempenho sexual de machos sem experiência prévia, no entanto, em animais com experiência prévia não

houve efeito no comportamento sexual em ratos e hamsters. Desse modo, existe um mecanismo de memória no órgão de Jacobson, que faz com que fêmeas com seus órgãos vomeronasais afetados, quando expostos a machos previamente conhecidos tem sua função reprodutiva restaurada, enquanto, quando expostas a machos estranhos, não só possuem sua função reprodutiva comprometida como também fortemente inibida (Doving e Trotier, 1998). Desta forma, Wysocki et al. (1983) descreveram que a depleção do órgão vomeronasal provoca alteração na secreção de GnRH e, consequentemente, testosterona apenas em machos sexualmente inexperientes.

Kaneko et al. (1980) descreveram que o corte unilateral ou bilateral dos nervos vomeronasais, ou lesões locais do bulbo olfatório acessório levou os animais a possuírem respostas como as reduções do peso uterino na puberdade e da investigação ano genital do macho, bem como, nenhuma estimulação sexual da fêmea frente a exposição ao macho, demonstrando que o sistema olfatório acessório exerce importante influência na atividade e desenvolvimento sexual em hamsters.

Em cabras, a infusão de sulfato de zinco na mucosa olfatória não afetou o comportamento maternal, contudo, a cauterização dos ductos incisivos promoveu perda na identificação de seus filhotes (Booth e Katz, 2000). Entretanto, no hamster, lesões que prejudicam tanto o bulbo olfatório acessório, quanto o principal, inibiram as respostas maternais (Kendrick et al., 1997). Desse modo, exata função do sistema olfatório influenciando o hipotálamo e o sistema límbico no comportamento maternal pode variar entre espécies (Kendrick et al., 1997).

Deteção de feromônios pelo órgão vomeronasal também podem estar envolvidos no comportamento de defesa e

fuga das presas, uma vez que, os potenciais predadores como os canídeos e felídeos possuem o hábito de urinar no ambiente para demarcação de território (Papes et al., 2010). Outra importante função dos neurônios do órgão vomeronasal está relacionada com a capacidade de identificação dos parceiros sexuais, visto que machos com lesão nesse órgão realizaram frequências de montas semelhantes tanto em machos quanto em fêmeas, ou seja, o órgão vomeronasal assegura a especificidade sexual da reprodução (Keverne, 2002).

Os mamíferos possuem outra via de percepção olfatória, denominada de sistema olfatório principal. Nesse sistema a informação periférica é captada pelas células bipolares da mucosa olfatória e conduzida para o nervo olfatório, que leva os estímulos para o bulbo olfatório principal, que por sua vez estabelece sinapses com várias porções do sistema límbico, como por exemplo, os núcleos do trato olfatório lateral e do complexo amigdaloide lateral e deste complexo partem fibras que estabelecem conexões com o hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006). Dessa forma, ambas as vias olfatórias, principal e acessória, mantêm conexões com o hipotálamo, no entanto, estas se dão por meio de vias distintas. Portanto, em suínos tem sido descrito que o sistema olfatório principal esteja preferencialmente envolvido com a detecção de feromônio sexual como a androstenona (Dorries et al., 1995). Esse fato permite inferir que diferenças funcionais nos sistemas olfatórios podem variar de acordo com a espécie.

Tem sido atribuído que a detecção de odores seja pelo epitélio olfatório principal e a de feromônios pelo órgão vomeronasal (Dulac e Wagner, 2006). Dessa forma, ambos os sistemas olfatórios desempenham diferentes funções, uma vez que, detectam diferentes odores, possuem dualidade periférica e a entrada no sistema nervoso central é por vias distintas (Keverne, 2002). Contudo, devido à

proximidade de ambas, recentes evidências, sugerem a complementaridade desses sistemas olfatórios, vistos que se conectam com áreas hipotalâmicas (Dulac e Wagner, 2006).

Em experimento realizado com furões, tanto em machos quanto em fêmeas, na pré puberdade, Kelliher e Baum (2001) observaram que a oclusão total das narinas induziram os animais a anosmia e perda de interesse sexual em ambos os sexos quando expostos a parceiros heterossexuais e homossexuais, tanto quando estímulos visuais e auditivos foram presentes como quando apenas estímulos olfatórios estavam presentes, sugerindo que estímulos olfatórios são os de maior importância na expressão do comportamento sexual. Os mesmos autores ainda reportaram que nos furões o bulbo olfatório principal (via nervo olfatório) seria determinante na preferência sexual e que o bulbo olfatório acessório (via órgão vomeronasal) exerceria importante função no comportamento sexual.

Davis et al. (1978) observaram que os bulbos olfatórios, acessório e principal, possuíam neurônios eferentes e aferentes de centros cerebrais do sistema límbico, por exemplo, o hipotálamo. Essa reciprocidade de conexões permitiu os autores inferirem que as estruturas cerebrais são coordenadas e coordenam os estímulos olfatórios. Os centros cerebrais superiores, uma vez ativados pelos estímulos olfatórios, enviam respostas controlando o comportamento animal e a atividade endócrina. Talvez, essa reciprocidade de conexões possa explicar o motivo pelo qual alguns comportamentos sexuais somente são manifestados após a puberdade (Price e Wallach, 1991), uma vez que, os estímulos olfatórios promovem a liberação de dopamina na MPOA após esse período (Romeo et al., 1998), requerendo maturação da MPOA.

Foi previamente visto que estímulos olfatórios atuam como mecanismo

facilitador do comportamento sexual, provavelmente, por agir sob a liberação de dopamina na MPOA (Hull et al., 2004; Dominguez e Hull, 2005). Além disso, foi observado que estímulos olfatórios, através do órgão vomeronasal também estimulam a secreção de GnRH e, posteriormente, de testosterona (Doving e Trotier, 1998). Portanto, os estímulos olfatórios potencializam duas vias, que podem atuar de forma sinérgica, facilitando o comportamento sexual de machos. Contudo, Meredith e Fernandez-Fewell (1994) observaram que hamsters com seus órgãos vomeronasais destruídos, quando tratados com GnRH modificado exógeno, cujo o mesmo que não se liga a receptores hipofisários para liberação de LH, possuíram comportamentos sexuais consumatórios facilitados após cinco minutos de tratamento. Esse resultado permitiu os autores inferirem que o GnRH promove facilitação do comportamento sexual agindo diretamente na MPOA e que apesar do órgão vomeronasal ser importante na facilitação desse comportamento, o mesmo não é essencial.

Ainda referindo-se ao estudo de Meredith e Fernandez-Fewell (1994), estes avaliaram a atividade celular, através da expressão de proteínas Fos, nos sistemas olfatórios acessórios e principais, dado que dois animais de um total de seis apresentaram comportamento sexual normal após retirada do órgão vomeronasal. Desta forma, esses autores registraram que houve reduzida atividade celular de componentes do bulbo acessório nesses animais, em relação aos controle, sugerindo que existem outras vias que conduzem estímulos ao sistema olfatório acessório, independente do órgão vomeronasal, mas que certamente esta não é o sistema olfatório principal, visto que não houve aumento da expressão do Fos nas regiões que compõem esse sistema. Contudo, Meredith (1986) descreveu que animais, cujos órgãos vomeronasais foram extraídos depois de adquirirem experiência

sexual e continuaram a cobrir, quando tratados com sulfato de zinco na mucosa olfatória, pararam de apresentar cobertura nos testes de libido, indicando que o estímulo olfatório foi conduzido ao MPOA, provavelmente, pelo sistema olfatório principal. Este autor concluiu que a experiência sexual promove a associação entre os dois sistemas. Portanto, a experiência sexual pode contribuir para justificar os achados de Meredith e Fernandez-Fewell (1994).

### **2.13 – Qualidade da carcaça e castração**

A castração é a intervenção cirúrgica que tem como objetivo influenciar nos sistema endócrino e neurológico, visando mudanças nas características físicas e comportamentais, apresentando vantagens relativas ao manejo (Moura e Luchiari Filho, 1996; Silva, 2000), tornando os animais mais dóceis e fáceis de manejar pela eliminação dos problemas causados pelo comportamento sexual, em função da diminuição acentuada da produção e secreção de testosterona (Listoni, 1998).

A diminuição da testosterona, um anabolizante esteróide, que estimula a síntese de proteínas e as secreções de hormônio de crescimento e de prolactina, leva a uma redução do crescimento, do desenvolvimento e peso do animal (Field, 1971; Silva, 2000). Além disso, a castração provoca enfraquecimento ósseo como osteopenia e osteoporose acentuando-se ainda mais a redução do peso corporal (Isidori et al., 2005).

De acordo com Felício (1994) e Freitas et al., (2008), os animais castrados apresentaram maior proporção de traseiro e carne de melhor textura e maciez. Isso ocorreu, provavelmente, em função da menor atividade da enzima calpastatina, uma mediadora do processo de proteólise mediado pelas calpáinas na carne bovina

após o abate (Morgan et al., 1993). Já os animais inteiros apresentam maior área de olho de lombo, maiores porcentagens do dianteiro, de músculo e menor percentual de gordura. Além disso, mostraram-se com maiores taxas de crescimento, melhores conversões alimentares, consequentemente produzindo carcaças mais pesadas e de melhor conformação, com maior proporção de músculo/gordura (Felício, 1994; Vaz e Restle, 2000; Freitas et al., 2008). Isso se deve aos níveis elevados de testosterona circulantes, que têm efeito anabolizante, aumentando a síntese de proteína muscular (Restle et al., 2000), causando hipertrofia das fibras musculares.

Por outro lado, a castração provoca aumento na cobertura de gordura, provavelmente, por afetar o metabolismo da glicose através da redução do hormônio do crescimento e aumento da concentração de insulina sérica (Veloso et al., 2009). Para Luchiari Filho (2000) a espessura de gordura de cobertura (EGC) desejável para uma boa conservação da carcaça é de, no mínimo 3 mm, valor esse, que foi observado em animais castrados, sugerindo a importância da castração para a qualidade da carcaça, fazendo com que haja maior gordura de cobertura evitando assim o encurtamento pelo frio e o escurecimento dos músculos da parte externa da carcaça durante o processo de resfriamento, que resulta em uma carne escura e de baixo valor comercial.

O rendimento de carcaça depende primeiramente do conteúdo visceral que corresponde principalmente ao aparelho digestório que pode variar entre 8 a 18 % do peso vivo. Desse modo, não tem sido observado diferenças quanto ao rendimento de carcaças quando se comparam animais inteiros e castrados (Restle et al., 2000; Lima et al., 2009). Além disso, o rendimento de carne na carcaça depende do seu conteúdo de músculo esquelético e de sua relação com a ossatura e a gordura. De acordo com as curvas de crescimento

alométrico, o esqueleto se desenvolve mais cedo, seguido pela musculatura e finalmente o tecido adiposo. Desta maneira, a proporção de músculo na carcaça aumenta com o incremento de peso do animal durante o período antes do acúmulo rápido de gordura, para depois diminuir na fase de terminação. Assim, os fatores que interferem no crescimento e no desenvolvimento dos animais como o genótipo, o sexo, o estado hormonal (uso de anabólicos), nutrição e ambiente (clima, manejo e instalações) interferem também no rendimento de carne na carcaça e podem alterar as proporções dos componentes da carcaça (Bridi, 2012).

A tipificação é outro método na avaliação de carcaça e pode ser usada para várias finalidades, entre outras tem sido citado:

- Auxiliar na comercialização entre produtores – frigoríficos – varejo;
- Garantir ao consumidor especificações diferenciadas de cortes e produtos;
- Auxiliar a indústria frigorífica quanto ao destino dado à carcaça e exportação, mercado interno, fabricação de produtos “light”, venda “in natura”.

São considerados indicadores da composição quantitativa geralmente utilizados individualmente ou combinados, em índices ou equações, as medidas ou avaliações seguintes:

1. Peso da carcaça sem vísceras;
2. Avaliação subjetiva da conformação (relação carne/osso), onde carne equivale à soma de músculo e gordura ou da musculabilidade (relação músculo/osso);
3. Avaliação subjetiva do acabamento ou cobertura da carcaça, atribuindo escores segundo uma escala pré-definida;
4. Medida de espessura de gordura que recobre a carcaça em pontos específicos;
5. Medida da área de olho de lombo, seção transversal do músculo Longissimus dorsi;

6. Comprimento da carcaça medido em bovinos entre a borda cranial do púbis e a borda cranial da primeira costela, e nos suínos entre o bordo cranial da sínfise púbica à borda crânio-ventral do atlas. O comprimento da carcaça aponta para o tamanho do esqueleto do animal, de modo que, dividindo-se o peso pelo comprimento da carcaça, tem-se um índice que pode funcionar como indicador da relação carne/osso (Bridi, 2012).

Em relação à conversão alimentar Field (1971), Gerrard et al. (1987) e Alves (2007) descreveram que bovinos não castrados alcançaram uma conversão alimentar entre 9,5 e 28,8% maior, um desenvolvimento entre 12,3 e 24% mais rápido com um ganho de peso que pode chegar a 38,6% a mais ao abate, com rendimento de carcaça semelhante a bovinos castrados. Esses resultados foram atribuídos ao maior desenvolvimento muscular e a menor deposição de gordura.

A idade para realizar a castração é extremamente importante, pois influencia significativamente nos efeitos desta. De acordo com Feijó et al. (2001), a puberdade constitui a faixa etária diferencial marcante entre a maior e a menor influência para a castração. Quando essa é praticada em animais na fase pré púbere o resultado é o subdesenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Porém, se a castração for praticada após a puberdade seus efeitos serão menos expressivos, ocorrendo regressão de algumas características como mudanças comportamentais e de desempenho em função da diminuição da testosterona circulante.

### 3.0-Consideração final

Foi visto que o órgão vomeronasal desempenha importantes funções fisiológicas no comportamento sexual e liberação de testosterona nos mamíferos, no

entanto, sua importância funcional varia conforme a espécie, categoria animal e estágio do desenvolvimento sexual. A redução da testosterona sérica acarreta em respostas promissoras no sistema de engorda de bovinos de corte. Além disso, o estudo do órgão vomeronasal pode contribuir para o esclarecimento de aspectos fisiológicos do comportamento sexual de touros “*Bos taurus indicus*” em testes de libido, de curta duração, realizado em curral, afim de que seja estabelecido o descarte adequado de animais de baixo potencial, intensificando a pressão de seleção para animais com alta eficiência reprodutiva, em sistemas de produção de bovinos a pasto. Portanto, o estudo do órgão vomeronasal em animais machos da raça Nelore surge como interessante linha de pesquisa.

### 4.0 - Referências bibliográficas

ADAMS, M. L.; CICERO, T. J. The ontogeny of immunoreactive beta-endorphin and beta-lipotropin in the rat testis. **Lif. Sci.**, v. 44, p. 159-166, 1989.

ALMQUIST, J. O.; AMANN, R. P. Effect of a high ejaculation frequency on sperm characteristics of Holstein bulls from puberty to two years of age. **J. Dai. Sci.**, v. 45, p. 688-689, 1962.

ALMQUIST, J.O. Effect of long term ejaculation out high frequency on ouput of sperm, sexual behavior and fertility of Holstein bulls, relation of reproduction capacity to high nutrient allowance. **J. Anim. Sci.**, v. 26, p. 814-823, 1982.

ALVES, G. E. S.. Aspectos fisiológicos e econômicos da castração em animais de produção e companhia: Verdades e crendices. **Rev. CFMV**, v. 1, n. 1, p. 67-73, 2007.

AMANN, R. P.; WALKER, O. A. Changes in the pituitary-gonadal axis associated with

puberty in Holstein bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 57, p. 433-442, 1983.

AMANN, R. P. Endocrinological changes associated with onset of spermatogenesis in Holstein bulls. **J. D. Sci.**, v. 66, p. 2606-2622, 1983.

AMSTALDEN, M.; GARCIA, M. R.; STANKO, R. L.; et al. Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. **Biol. Reprod.**, v. 66, p. 1555-1561, 2002.

AMSTALDEN, M.; ZIEBA, D. A.; EDWARDS, J. F.; et al. Leptin acts at the bovine adenohypophysis to enhance basal and gonadotropin-releasing hormone-mediated release of luteinizing hormone: differential effects are dependent upon nutritional history. **Biol. Reprod.**, v. 69, p. 1539-1544, 2003.

APONTE, P. M.; DE ROOIJ, D. G.; BASTIDAS, P. Testicular development in Brahman bulls. **Theriogenology**, v. 64, p. 1440-1455, 2005.

ARGIOLAS, A.; MELIS, M. R.. Neuromodulation of penile erection: an overview of the role of neurotransmitters and neuropeptides. **Prog. Neurobiol.**, v. 47, p. 235-255, 1995.

BAGU, E. T.; COOK, S.; GRATTON, C. L.; et al. Postnatal changes in testicular gonadotropin receptors, serum gonadotropin, and testosterone concentrations and functional development of the testes in bulls. **Reproduction**, v. 132, p. 403-411, 2006.

BAME, J. H.; DALTON, J. C.; DEGELOS, S. D.; et al.. Effect of long-term immunization against inhibin on sperm output in bulls. **Biol. Reprod.**, v. 60, p. 1360-1366, 1999.

BARBOSA, R. T. **Comportamento sexual, biometria testicular, aspectos do sêmen e níveis plasmáticos de testosterona, em touros Canchim e Nelore.** 1987. 135p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

BARTLETT, J. M. S.; JOCKENHÖVEL, F.; NIESCHLAG, E. New approaches to the pathophysiology of male infertility. A meeting report International. **J. Androl.**, v. 12 p. 240-249, 1989.

BARTH, A., OKO, R.. Normal Bovine Spermatogenesis and Sperm Maturation. In: **Abnormal morphology of bovine spermatozoa.** 1ed. Iowa State University Press, Ames. 1989. Cap.3, p. 19-49.

BECK, J.; BIALY, M.; KOSTOWSKI, W. Effects of D(1) receptor agonist SKF38393 on male rat sexual behavior and postcopulatory departure in the goal compartment-runway paradigm. **Physiol. Behav.**, v. 76, p. 91-97, 2002.

BEDAIR, G. A. M.; THIBIER, M. Peripheral plasma androstenedione and testosterone concentrations in bulls before and during puberty. **J. Reprod. Fert.**, v. 56, p. 7-10, 1979.

BEYER, C.; LARSSON, K.; PÉREZ-PALACIOS, G.; et al. Androgen structure and male sexual behavior in the castrated rat. **Horm. Behav.**, v. 4, n. 2, p. 99-108, 1973.

BLACHE, D.; CHAGAS, L. M.; BLACKBERRY, M. A.; et al. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 120, p. 1-11, 2000.

BLACHE, D.; ZHANG, S.; MARTIN, G. B. Fertility in male sheep: modulators of the acute effects of nutrition on the reproductive

axis of male sheep. **Reprod. Suppl.** 61, p. 387-402, 2003.

BLOCKEY, M. A. B. **Studies on the social and sexual behavior of bulls.** 1975. 230f. Tese (Doutorado em Filosofia). School of Veterinary Science-Melbourne.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord. Vetery. Med.**, v. 25, p. 383-391, 1973.

BOITANI, C.; CHEN, C. L., CANIPARI, R.; et al. Expression of the proopiomelanocortin (POMC) gene in rat testicular germ cells and the response of Sertoli cells to POMC-derived peptides. In: **The Molecular and Cellular Endocrinology of the Testis.** Ed. Cooke, B. A.; Sharpe, R. M.. Sero Symposia Publications. Raven Press, New York. 1988. v.50, p.303-309.

BOOTH, K. K.; KATZ, L. S. Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in Sheep. **Biol. Reprod.**, v. 63, p. 953-958, 2000.

BORLAND, K.; MITA, M.; OPPENHEIMER, C. L.; et al. The actions of insulin-like growth factors I and II on cultured Sertoli cells. **Endocrinology**, v. 114, p. 240-246, 1984.

BRAUNSTEIN, G. D. Testículos. In: GREENSPAN, F. S. e STREWLER, G. J. **Endocrinologia Básica e Clínica.** 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap.12, p. 299-321, 2000.

BRIDI, A. M. Normas de avaliação, classificação e tipificação de carnes e carcaças. Universidade Estadual de Londrina. Disponível em: [http://paraiso.etfto.gov.br/docente/admin/upload/docs\\_upload/material\\_f9a364a334.pdf/html](http://paraiso.etfto.gov.br/docente/admin/upload/docs_upload/material_f9a364a334.pdf/html). Acessado em: 20 jan. de 2012.

BRITO, L. F. C. **Nutrition, metabolic hormones, and sexual development in bulls.** Tese (Doutorado em Filosofia). 2006. 206f. University of Saskatchewan-Saskatoon.

BRITO, F. C. B.; SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; et al. Sexual development in early- and late-maturing Bos indicus and Bos indicus x Bos taurus crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology**, v. 62, p. 1198-1217, 2004.

BRUNING, J. C.; GAUTAM, D.; BURKS, D. J.; et al. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. **Science**, v. 289, p. 2122-2125, 2000.

BUTLER, A. B.; HODOS, W. The FOREBRAIN: DIENCEPHALON. In: **Comparative vertebrate neuroanatomy: Evolution and Adaptation.** 2ed. Hoboken: A. John Wiley e Sons, 2005. Cap.19, p. 343-372.

CARDOSO, F. M. **Desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos de zebus (Bos indicus), da raça Nelore, do período fetal aos 36 meses de idade.** 1977. 113p. Dissertação (Mestrado em Morfologia) - Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte.

CASTRO, A. C. S. **A proposed acrosomal system for identifying stages of the cycle of the seminiferous epithelium and a model for the kinetics of spermatogenesis in the rabbit.** (Tese, Doutorado, Animal e Nutritional Sciences, New Hampshire, EUA), 148p., 1995.

CASTRO, A.C.S.; BERNDTSON, W.E.; CARDOSO, F.M.. Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 35, p. 493-498, 2002.

- CHANDOLIA, R. K.; EVANS, A. C. O.; RAWLINGS, N. C. Effect of inhibition of increased gonadotrophin secretion before 20 weeks of age in bull calves on testicular development. **J. Reprod. Fertil.**, v. 109, p. 65–71, 1997.
- CHENOWETH, P. J.; BRINKS, J. S.; NETT, T. M. A comparison of the three methods of sex-drive in yearling beef bulls and relationships with testosterone and LH levels. **Theriogenology**, v. 12, n. 4, p. 223-233, 1979.
- CHENOWETH, P. J.; FARIN, P.W.; MATEOS, E.R. et al. Breeding soundness and sex drive by breed and age in beef bulls used for natural mating. **Theriogenology**, v.22, n.4, p.341-349, 1984.
- CORRÊA, A. B.; VALE FILHO, V. R.; CORRÊA, G. S. S.; et al. Características do sêmen e maturidade sexual de touros jovens da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) em diferentes manejos alimentares. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 5, p. 823-830, 2006.
- COSTA-SILVA, E. V. **Capacidade reprodutiva de touros Nelore: exame andrológico, teste de comportamento sexual e desafio de fertilidade**. 1994. 102p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- COSTA-SILVA, V. E.; SERENO, J. R. B.; PARANHOS COSTA, M. J. R.; et al. Comportamento sexual de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) e pantaneiro (*Bos taurus taurus*) durante os procedimentos de teste de libido. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 23, n. 3, p. 214-216, 1999.
- CREWS, D.; GODWIN, J.; HARTMAN, V.; et al. Intrahypothalamic implantation of progesterone in castrated male whiptail lizards (*Cnemidophorus inornatus*) elicits courtship and copulatory behavior and affects androgen receptor- and progesterone receptor-mRNA expression in the brain. **J. Neurosci.**, v. 16, p. 7347–7352, 1996.
- DAVIDSON, J. M. Characteristics of sex behaviour in male rats following castration. **Anim. Behav.**, v. 14, p. 266-272, 1966.
- DAVIS, B. J.; MACRIDES, R; YOUNG, W. M.; et al. Efferents and centrifugal afferents of the main and accessory olfactory bulbs in the hamster. **Brain Res. Bulletin**, v. 3, p. 59-72, 1978.
- DE LAHUNDA, A.; GLASS, E. Nonolfactory rhinencephalon: Limbic Sistem. In:\_\_\_\_. **Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology**. 3ed. St Louis: Penny Rudolph. 2009. Cap.17, p. 448-453.
- DIAS, J. C. **Comportamento sexual, concentrações periféricas de testosterona e perfil cromatográfico de proteínas do sêmen com afinidade a heparina, em touros jovens da raça Guzerá**. 2008. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J.; EMERICK, L. L.; et al. Teste da libido em touros jovens Guzerá e suas associações com características reprodutivas e níveis séricos de testosterona. **Arch. Veteri. Sci.**, v. 14, n. 4, p. 204-213, 2009a.
- DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J.; MARTINS, J. A. M.; et al. Classificação andrológica por pontos de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) de dois e três anos de idade, criados sob pastejo. **Ciênc. Anim. Bras.**, v. 10, n. 4, p. 1101-1106, 2009b.
- DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 78, p. 345-370, 2003.

- DOMINGUEZ, J. M.; HULL, E. M. Dopamine, the medial preoptic area, and male sexual behavior. **Physiol. Behav.**, v. 86, p. 356-368, 2005.
- DORRIES, K. M.; ADKINS-REGAN, E.; HALPERN, B. P. Olfactory sensitivity to the pheromone androstenone, is sexually dimorphic in the pig. **Physiol. Behav.**, v. 57, p. 255-259, 1995.
- DOVING, K. B.; TROTIER, D. Structure and function of the vomeronasal organ. **J. Experim. Biol.**, v. 201, p. 2913-2925, 1998.
- DULAC, C.; WAGNER, S. Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. **Annu. Rev. Genet.**, v. 40, p. 449-467, 2006.
- EDWARDS, D. A.; BURGE, K. G. Olfactory control of the sexual behavior of male and female mice. **Physiol. Behav.**, v. 11, n. 6, p. 867-872, 1973.
- EDWARDS, D. A.; EINHORN, L. C. Preoptic and midbrain control of sexual motivation. **Physiol. Behav.**, v. 37, p. 329-335, 1986.
- EL-HEFNAWY, T.; IOFFE, S.; DYM, M. Expression of the leptin receptor during germ cell development in the mouse testis. **Endocrinology**, v. 141, p. 2624-2630, 2000.
- ENGELHARDT, R. P. Opioides gonadiques et fonction testiculaire. **Ann. Endocrin.** v. 50, p. 64-72, 1989.
- EVANS, A.; PIERSON, R.; GARCIA, A.; et al. Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. **Theriogenology**, v. 46, p. 345-357, 1996.
- FABBRI, A.; KNOX, G.; BUCZKO, E.; et al. Beta-endorphin production by the fetal Leydig cell: regulation and implications for paracrine control of Sertoli cell function. **Endocrinology**, v. 122, p. 749-755, 1988.
- FABBRI, A.; JANNINI, E. A.; GNESSI, L.; et al. Neuroendocrine control of male reproductive function. The opioid system as a model of control at multiple sites. **J. Ster. Biochem.**, v. 32, p. 145-150, 1989.
- FEIJÓ, G. L. D.; EUCLIDES FILHO, K.; EUCLIDES, V. P. B.; et al. Avaliação das carcaças de novilhos F1 Angus-Nelore em pastagens de Brachiária decumbens submetidos a diferentes regimes alimentares. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 3, p. 1015-1020, 2001.
- FELÍCIO, P. E. Dois aspectos de competitividade da carne de *Bos taurus indicus*, um positivo e outro negativo. I Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas. Anais... **Associação Brasileira de Criadores de Zebu**. Uberaba, p.63-71, 1994.
- FIELD, R. A. Effect of castration on meat quality and quantity. **J. Anim. Sci.**, v. 32, p. 849-857, 1971.
- FONSECA, V. O.; CHOW, L. A.; ABREU, J. J.; et al. Alguns aspectos físicos e morfológicos do sêmen de touros púberes da raça Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 7, p. 253-268, 1975.
- FONSECA, V. O.; FRANCO, C. S.; BERGMANN, J. A. G. et al. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) acasalados com elevado número de vacas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 49, n. 1, p. 53-62, 1997.
- FONSECA, V. O. O touro no contexto da eficiência reprodutiva do rebanho. **Inf. Agropec.**, v. 21, n. 205, p. 48-63, 2000.
- FORD, J. J.; D'OCCHIO, M. J. Differentiation of sexual behavior in cattle,

sheep and swine. **J. Anim. Sci.**, v. 67, p. 1816-1823, 1989.

FOSTER, D.L.; NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. **Biol. Reprod.**, v. 60, p. 205-215, 1999.

FRANÇA, L. R. **Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade.** 1987. p.79. Dissertação (Mestrado em Morfologia) - Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic animals. In: Martínez F., Regadera, J. (Eds.). **Male reproduction: a multidisciplinary overview.** 1998. Madrid, Espanha: Churchill Livingstone. p. 197-219.

FRASER, A. F. The influence of psychological and other factors on reaction time in the bull. **Cornell Vet.**, v. 50, n. 1, p. 126-132, 1960.

FRENEAU, G. E. **Desenvolvimento reprodutivo de tourinhos Holandeses-PB e mestiços Holandês-Gir dos seis aos 21 meses de idade.** 1991. 194p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte.

FREITAS, A. K.; RESTLE, J.; PACHECO, P. S.; et al. Características de carcaças de bovinos Nelore inteiros vs castrados em duas idades, terminados em confinamento. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 37, n. 6, p. 1055-1062, 2008.

FRENETTE, G.; LESSART, C.; SULLIVAN, R. Selected proteins of "Prostasome-Like Particles" from epididymal cauda fluid are transferred to epididymal caput spermatozoa in bull. **Biol. Reprod.**, v. 67, p. 308-313, 2002.

GARCIA, O. S. **Características físicas e morfológicas do sêmen de touros com distúrbios reprodutivos de raças européias e indianas criados no Estado de Minas Gerais.** 1971. 61p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte.

GARCIA, J. M.; PINHEIRO, L. E. L.; OKUDA, H. T. Body development and semen physical and morphological characteristics of young Guzará bulls. **Ars Vet.** v. 3, p. 47-53, 1987.

GAUTHIER, D.; BERBIGIER, P. The influence of nutritional levels and shade structure on testicular growth and hourly variation of plasma LH and testosterone levels in young Criole bulls in tropical environment. **Reprod. Nut. Devel.**, v. 22, p. 165-169, 1970.

GERRARD, D. E.; JONES, S. J.; ABERLE, E. D.; et al. Collagen stability, testosterone secretion and meat tenderness in growing bull and steers. **J. Anim. Sci.**, v. 65, p. 1236-1242, 1987.

GLASS, A. R.; MELLITT, R.; VIGERSKY, R. A.; et al. Hypoandrogenism and abnormal regulation of gonadotropin secretion in rats fed a low protein diet. **Endocrinology**, v. 104, p. 438, 1979.

GODFREY, R. W.; LUNSTRA, D. D.; SCHANBACHER, B. D. Effect of implanting bull calves with testosterone propionate, dihydrotestosterone propionate or oestradiol-17 $\beta$  prepubertally on the pituitary-testicular axis and on postpubertal social and sexual behaviour. **J. Reprod. Fert.**, v. 94, p. 57-69, 1992.

GONZÁLEZ, F. H. D. **Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária.** Porto Alegre: UFRGS, 2002. 87p. Disponível em:

<http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/endocrino/endocrinolvet.pdf>. Acesso em: 12/12/2010.

GORCZYNSKA, E.; HANDELSMAN, D. J. Androgens rapidly increase the cytosolic calcium concentration in Sertoli cells. **Endocrinology**, v. 136, p. 2052-2059, 1995.

GOVONI, K. E.; HOAGLAND, T. A.; ZINN, S. A. The ontogeny of the somatotrophic axis in male and female Hereford calves from birth to one year of age. **J. Anim. Sci.**, v. 81, p. 2811-2817, 2003.

GRISWOLD, M. D. Interactions between germ cells and Sertoli cells in the testis. **Biol. Reprod.**, v. 52, p. 211-216, 1995.

GUIMARÃES, J. D. **Puberdade e maturidade sexual em touros da raça Gir criados em condições semi-extensivas**. 1993. 85p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

HALPERN, M. The organization and function of the vomeronasal system. **Ann. Rev. Neurosci.**, v. 10, p. 325-362, 1987.

GUYTON, A. C. M. D. **Tratado de Fisiologia Médica**. 8ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, p. 49-58.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1995 p. 59-94.

HAFIEZ, A. A.; LLOYD, C. W.; BARTKE, A. The role of prolactin in the regulation of testis function: the effects of prolactin and luteinizing hormone on the plasma levels of testosterone and androstenedione in hypophysectomized rats. **J. Endocrinol.**, v. 52, p. 327-331, 1972.

HALPERN, M. The organization and function of the vomeronasal system. **Ann. Rev. Neurosci.**, v. 10, p. 325-362, 1987.

HARDING, C. F.; SHERIDAN, K.; WALTERS, M. J. Hormonal specificity and activation of sexual behavior in male zebra finches. **Horm. Behav.**, v. 17, n. 1, p. 111-133, 1983.

HARDY, M. P.; KELCE, W. R.; KLINEFELTER, G. R.; et al. Differentiation of Leydig cell precursors in vitro: a role for androgen. **J. Endocrin.**, v. 127, p. 488-490, 1990.

HEIMER, L.; LARSSON, K. Mating behavior of male rats after olfactory bulb lesions. **Physiol. Behav.**, v. 2, n. 2, p. 207-209, 1967.

HOLDCRAFT, R. W.; BRAUN, R. E. Hormonal regulation of spermatogenesis. international. **J. Androl.**, v. 27, p. 335-342, 2004.

HOOKE, C. W. **The Testes**. ed. Academic Press, New York., p. 483-550, 1970.

HULL, E. M.; DU, J.; LORRAIN, D. S.; MATUSZEWICH, L. Extracellular dopamine in the medial preoptic area: Implications for sexual motivation and hormonal control of copulation. **J. Neurosci.**, v. 15, p. 7465-7471, 1995.

HULL, E.M.; LORRAIN, D.S.; DU, J.; et al. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. **Behav. Brain Res.**, v. 105, p. 105-116, 1999.

HULL, K.; HARVEY, S. Growth hormone: a reproductive endocrine paracrine regulator? **Rev. Reprod.**, v. 5, p. 175-182, 2000.

HULL, E. M.; MUSCHAMP, J. W.; SATO, S. Dopamine and serotonin: influences on

- male sexual behavior. **Physiol. Behav.**, v. 83, p. 291-307, 2004.
- ISIDORI, A. M.; GIANNETTA, E.; GRECO, E. A.; et al. Effects of testosterone on body composition, bone metabolism and serum lipid profile in middle-aged men: a meta-analysis. **Clin. Endocrinol.**, v. 63, n. 3, p. 280-293, 2005.
- JIMÉNEZ-SEVERIANO, H.; MUSSARD, M. L.; FITZPATRICK, L. A.; et al. Testicular development of Zebu bulls after chronic treatment with a gonadotropin-releasing hormone agonist. **J. Anim. Sci.**, v. 83, p. 2111-2122, 2005.
- JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological actions. **Endocrine Rev.**, v. 16, p. 3-33, 1995.
- KANEKO, N.; DEBSKI, E. A.; WILSON, M. C.; et al. Puberty acceleration in mice. II. Evidence that the vomeronasal organ is a receptor for the primer pheromone in male mouse urine. **Biol. Reprod.**, v.22, p. 873-878, 1980.
- KANEKO, H.; NOGUCHI, J.; KIKUCHI, K.; et al. Production and endocrine role of inhibin during the early development of bull calves. **Biol. Reprod.**, v. 65, p. 209-215, 2001.
- KARE, R. M. Sentido especiais II: Paladar, olfato e audição. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. v.1, cap.43, 750-752.
- KASSON, B.; HSUEH, G. Insulin-like growth factor I augments gonadotrophin stimulated androgen biosynthesis by cultured rat testicular cells. **Mol. Cell. Endocrin.**, v. 52, p. 27-34, 1987.
- KATONGOLE, C. B. Acompetitive protein-binding assay for testosterone in the plasma of bull and ram. **J. Endocrinol.**, v. 51, n. 2, p. 303-312, 1971.
- KELLIHER, K. R.; BAUM, M. J. Nares occlusion eliminates heterosexual partner selection without disrupting coitus in ferrets of both sexes. **J. Neurosci.**, v. 21, p. 5832-5840, 2001.
- KENDRICK, K. M.; DA COSTA, A. P. C.; BROAD, K. D.; et al. Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. **Brain Res. Bull.**, v. 44, p. 383-395, 1997.
- KEVERNE, E. B. Pheromones, vomeronasal function, and gender-specific behavior. **Cell**, v. 108, p. 735-738, 2002.
- KISER, T. E.; MILVAE, R. A.; HAFS, H. D.; et al. Comparison of Testosterone and Androstenedione Secretion in Bulls Given Prostaglandin F2 $\alpha$  or Luteinizing Hormone. **J. Anim. Sci.**, v. 46, p. 436-442, 1978.
- KLEMM, W. R. Neurofisiologia da consciência. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. v.1, cap.48, 817-818.
- KRAVETS, F. G.; LEE, J.; SINGH, B.; et al. Prostatomes: current concepts. **Prostate**, v. 43, p. 169-174, 2000.
- LACROIX, A.; GARNIER, D. H.; PELLETIER, J. Temporal fluctuations of plasma LH and testosterone in charolais bull calves during the first year of life. **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.**, v. 17, n. 6, p. 1013-1019, 1977.
- LANE, S. M.; KIRACOFÉ, G. H.; CRAIG, J. V.; et al. The effect of rearing environment on sexual behavior of young beef bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 57, p. 1084-1089, 1983.

- LEAL, M. C.; BECKER-SILVA, S. C.; CHIARINI-GARCIA, H.; et al. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). **Anim. Reprod.**, v. 1, n. 1, p. 122-128, 2004.
- LEE, C. Y.; HUNT, D. W.; GRAY, S. L.; et al. Secretory patterns of growth hormone and insulin-like growth factor-I during peripubertal period in intact and castrate male cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 8, p. 481-489, 1991.
- LEHMAN, M. N.; WINANS, S. S.; POWERS, J. B. Medial nucleus of the amygdale mediates chymosensory control of male hamster sexual behavior: Autoradiographic and behavioral analyses. **Brain Research.**, v. 240, p. 27-41, 1980.
- LIMA, L. O. B.; PIRES, D. A. A.; BOTELHO, P. R. F.; et al. Ganho de peso e rendimento de carcaças de bovinos nelore castrados e não castrados terminados a pasto. **Anais do IX Fórum de Ensino**, Unimontes, Montes Claros, 2009.
- LISTONI, A. Boi inteiro x boi castrado. **Rev. Prod.**, v. 22, p. 38-39, 1998.
- LOUIS, G. F.; LEWIS, A. J.; WELDON, W. C.; et al. The effect of protein on boar libido, semen characteristics, and plasma hormone concentrations. **J. Anim. Sci.**, v. 72, p. 2038-2050, 1994.
- LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. 1ed. 2000. São Paulo. 134p.
- LUNSTRA, D. D.; FORD, J. J.; ECHTERNKAMP, S. E. Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. **J. Anim. Sci.**, v. 46, p. 1054-1062, 1978.
- MADUREIRA, M. D.; LIEBERMAN, A. R. Sexual dimorphism in the mammalian limbic system. **Prog. Neurobio.**, v. 45, p. 275-333, 1995.
- MANI, S.; BLAUSTEIN, J.; O'MALLEY, B. W. Progesterone receptor function from a behavioral perspective. **Horm. Behav.**, v. 31, p. 244-255, 1997.
- MARTINS, J. A. M.; SOUZA, F. A.; FERREIRA, M. B. D.; et al. Desenvolvimento reprodutivo de tourinhos Gir selecionados para produção de leite. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 63, n. 6, p. 1277-1286, 2011.
- MCCARTHY, M. S.; CONVEY, E. M.; HAFS, H. D. Serum hormonal changes and testicular response to LH during puberty in Bulls. **Biol. Reprod.**, v. 20, p. 1221-1227, 1979.
- MCLACHLAN, R. I.; WREFORD, N. G.; O'DONNELL, L.; et al. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. **J. Endocrinol.**, v. 148, p. 1-9, 1996.
- MCGINNIS, M. Y.; WILLIAMS, G. W.; LUMIA, A. R. Inhibition of male sex behavior by androgen receptor blockade in preoptic area or hypothalamus, but not amygdala or septum. **Physiol. Behav.**, v. 60, n. 3, p. 783-789, 1996.
- MEACHAM, T. N.; CUNHA, T. J.; WARNICK, A. C.; et al. Protein deficiency and reproduction in the bull. **J. Anim. Sci.**, v. 20, p. 943, 1961.
- MELIN, P.; KIHLLSTROM, J. E. Influence of oxytocin on sexual behaviour in male rabbits. **Endocrinology**, v. 73, p. 433-435, 1963.
- MELIS, M. R.; SUCCU, S.; MASCIA, M. S.; et al. Extracellular dopamine increases in the paraventricular nucleus of male rats during sexual activity. **Eur. J. Neurosci.**, v. 17, p. 1266-1272, 2003.

- MENDIS-HANDAGAMA, S. M.; ARIYARATNE, H. B. Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. **Biol. Reprod.**, v. 65, p. 660–671, 2001.
- MEREDITH, M. Sensory physiology of pheromone communication. In: VANDENBERGH, J. G. **Pheromones and reproduction in mammals**. Academic Press. Inc., Orlando, Flórida, p. 199–217, 1983.
- MEREDITH, M. Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. **Physiol. Behav.**, v. 36, p. 737–743, 1986.
- MEREDITH, M.; FERNANDEZ-FEWELL, G. Vomeronasal system, LHRH, and sex behaviour. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, n. 5-7, p. 657–672, 1994.
- MILLER, B. H.; GORE, A. C. Alterations in hypothalamic insulin-like growth factor-I and its associations with gonadotropin releasing hormone neurones during reproductive development and ageing. **J. Neuroendocrinol.**, v. 13, p. 728–736, 2001.
- MONET-KUNTZ, C.; DE REVIERS, M. T. H.; TERQUI, M. Variations in testicular androgen receptors and histology of the lamb testis from birth to puberty. **J. Reprod. Fert.**, v. 70, p. 203–210, 1984.
- MONGKONPUNYA, K.; HAFS, H. D.; CONVEY, E. M.; et al. Serum LH and testosterone and sperm numbers in pubertal bulls chronically treated with gonadotropin releasing hormone. **J. Anim. Sci.**, v. 41, p. 160–165, 1975.
- MORGAN, J. B.; WHEELER, I. I.; KOOHARAIE, M.; et al. Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinases activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. **J. Anim. Sci.**, v. 71, p. 408–414, 1993.
- MOURA, A. A.; ERICKSON, B. H. Testicular development, histology, and hormone profiles in three yearling angus bulls with spermatogenic arrest. **Theriogenology**, v. 55, p. 1469–1488, 2001.
- MOURA, A. C. M.; LUCHIARI-FILHO, A. Castração. **Pec. Corte**, v. 56, p. 45–47, 1996.
- MOVERARE, S.; VENKEN, K.; ERIKSSON, A.; et al. Differential effects on bone of estrogen receptor alpha and androgen receptor activation in orchidectomized adult male mice. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 100, p. 573–578, 2003.
- MURPHY, M. R.; SECKL, J. R.; BURTON, S.; et al. Changes in oxytocin and vasopressin secretion during sexual activity in men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 65, p. 738–741, 1987.
- NEVILLE, J. R.; WILLIAMS, W. E.; RICHARDSON, D. J.; et al. Relationship of breeding soundness evaluation score and its components with reproductive performance of beef bulls. **Theriogenology**, v. 30, n. 3, p. 429–436, 1988.
- O'DONNELL, L.; ROBERTSON, K. M.; JONES, M. E.; et al. Estrogen and spermatogenesis. **Endocr. Rev.**, v. 22, p. 289–318, 2001.
- OLIVEIRA, C. B.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; et al. Avaliação do comportamento sexual em touros Nelore: comparação entre os testes da libido em curral e do comportamento sexual a campo. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 36, p. 32–42, 2007.
- ORGBIN-CRIST, M. C.; ELLER, B. C.; DANZO, B. J. The effects of estradiol, tamoxifen, and testosterone on the weights and histology of the epididymis and accessory sex organs of sexually immature

- rabbits. **Endocrinology**, v. 113, n. 5, p. 1703-1715, 1983.
- OSBORNE, H. G.; WILLIAMS, L.G.; GALLOWAY, D.B. A test for libido and serving ability in beef bulls. **Austr. Vet. J.**, v. 47, p. 465-467, 1971.
- PAPES, F.; DARREN, W.; LOGAN, D. W.; et al. The vomeronasal organ mediates interspecies defensive behaviors through detection of protein pheromone homologs. **Cell**, v. 141, p. 692-703, 2010.
- PEHEK, E. A.; THOMPSON, J. T.; HULL, E. M. The effects of intracranial administration of the dopamine agonist apomorphine on penile reflexes and seminal emission in the rat. **Brain Research.**, v. 500, p. 325-332, 1989.
- PFAUS, J. G.; PHILLIPS, A. G. Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. **Behav. Neurosci.**, v. 105, n. 5, p. 727-743, 1991.
- PHELPS, S. M.; LYDON, J. P.; O'MALLEY, B. W.; et al. Regulation of male sexual behavior by progesterone receptor, sexual experience, and androgen. **Horm. Behav.**, v. 34, p. 294-302, 1998.
- PHILLIPS, A. G.; PFAUS, J. G.; BLAHA, C. D. Dopamine and motivated behavior: Insights provided by in vivo analyses. In: **The mesocorticolimbic dopamine system: From motivation to action**. Willner, P.; Scheel-Kruger, J. New York: Wiley, 1991, p. 199-224.
- PHILLIPS, D. J. Activins, inhibins and follistatins in the large domestic species. **Dom. Anim. Endocrinol.**, v. 28, p. 1-16, 2005.
- PINEDA, N. R.; LEMOS, P. F.; FONSECA, V. O. Comparação entre dois testes de avaliação do comportamento sexual (libido) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*). **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 21, n. 4, p. 29-34, 1997.
- POWERS, J. B.; WINANS, S. S. Vomeronasal Organ: Critical Role in Mediating Sexual Behavior of the Male Hamster. **Science**, v. 187, p. 961-963, 1975.
- PRICE, E. O.; KATZ, L. S.; MOBERG, G. P.; et al. Inability to predict sexual and aggressive behaviors by plasma concentrations of testosterone and luteinizing hormone in Hereford bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 62, p. 613-617, 1986.
- PRICE, E. O.; WALLACH, S. J. Development of sexual and aggressive behaviors in Hereford bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 69, p. 1019-1027, 1991.
- PRUITT, R. J.; CORAH, L. R.; STEVENSON, J. S.; et al. Effect of energy intake after weaning on the sexual development of beef bulls. II. Age at first mating, age at puberty, testosterone and scrotal circumference. **J. Anim. Sci.**, v. 63, p. 579-585, 1986.
- PUTNAM, S. K.; SATO, S.; HULL, E. M. Effects of testosterone metabolites on copulation and medial preoptic dopamine release in castrated male rats. **Horm. Behav.**, v. 44, p. 419-426, 2003.
- REKWOT, P. I.; OYEDIPE, E. O.; AKEREJOLA, O. O.; et al. The effect of protein intake on body weight, scrotal circumference and semen production of Bunaji bulls and their Friesian crosses in Nigeria. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 16, p. 1-9, 1988.
- RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C.; FATURI, C.; et al. Desempenho na fase de crescimento de machos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 29, n. 4, p. 1036-1043, 2000.

- ROBAIRE, B.; VIGER, R. S. Regulation of epididymal epithelial cell functions. **Biol. Reprod.**, v. 52, p. 226-236, 1995.
- RODRIGUEZ, R. E.; WISE, M. E. Ontogeny of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the bull calf during infantile and pubertal development. **Endocrinology**, v. 124, n. 1, p. 248-256, 1989.
- ROMEO, R. D.; PARFITT, D. B.; RICHARDSON, H. N.; et al. Pheromones elicit equivalent levels of Fos-immunoreactivity in prepubertal and adult male Syrian hamsters. **Horm. Behav.**, v. 34, p. 48-55, 1998.
- RUSSELL, L. D.; CLERMONT, Y. Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats. **Anat. Rec.**, v. 187, p. 347-366, 1977.
- RUSSELL, L. D.; KERSHAW, M.; BORG, K. E.; et al. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: FSH maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. **J. Androl.**, v. 19, n. 3, p. 308-319, 1998.
- SACHS, B.; MEISEL, R. L. **The physiology of male sexual behavior**. In: J. D. NEILL E E. KNOBIL. *Physiol. Reprod.* Raven Press, New York, 1994. v. 2, p. 3-106.
- SALAZAR, I.; QUINTEIRO, P. S.; CIFUENTES, J. M. The soft-tissue components of the vomeronasal organ in pigs, cows and horses. **Anat. Histol. Embryol.**, v. 26, p. 179-186, 1997.
- SALVADOR, D. F. **Perfis andrológicos, de comportamento sexual e desempenho reprodutivo de touros Nelore desafiados com fêmeas em estro sincronizado**. 2001. 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- SANTOS, N. R. **Comportamento sexual de touros Zebu (Bos taurus indicus) a pasto**. 2001. 88p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- SCHEER, H.; ROBAIRE, B. Steroid delta 4-5 $\alpha$ -reductase and 3  $\alpha$  -hydroxysteroid dehydrogenase in the rat epididymis during postnatal development. **Endocrinology**, v. 107, p. 948-953, 1980.
- SCHNEIDER, N. Y.; FLETCHER, T. P.; SHAW, G.; et al. The vomeronasal organ of the tammar wallaby. **J. Anat.**, v. 213, p. 93-105, 2008.
- SENGER, P. L. Endocrinology of the male and spermatogenesis. In: \_\_\_\_\_. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2ed. Moscow: Current conceptions, Inc, 2003. Cap.10, p. 214-239.
- SHENNAWY, A. E.; GATES, R. J.; RUSSEL, L. D. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: cell viability after hormonal replacement in adults after intermediate periods of hypophysectomy. **J. Androl.**, v. 19, n. 3, 1998.
- SILVA, F. F. Aspectos produtivos da castração de novilhos de corte. **Cad. Téc. Med. Vet. Zootec.**, n. 33, p. 68-95, 2000.
- SINOWATZ, F.; AMSELGRUBER, W. Postnatal development of bovine Sertoli cells. **Anat. Embryol.**, v. 174, p. 413-423, 1986.
- SPITERI-GRECH, J.; NIESCHLAG, E. Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis - a review. **J. Reprod. Fert.**, v. 98, p. 1-14, 1993.
- SWIERSTRA, E. E. Structural composition of shorthorn bull testes and daily spermatozoa production as determined by

- quantitative testicular histology. **Can. J. Animal Sci.**, v. 46, p. 107-119, 1966.
- TABONE, E.; BENAHMED, M.; REVENTOS, J.; et al. Interactions between immature porcine Leydig and Sertoli cells in vitro. An ultrastructural and biochemical study. **Cell Tissue Res.**, v. 237, p. 357-362, 1984.
- TANG, Y.; RAMPIN, O.; CALAS, A.; et al. Oxytocinergic and serotonergic innervation of identified lumbosacral nuclei controlling penile erection in the male rat. **Neuroscience**, v. 82, p. 241-254, 1998.
- TENA-SEMPERE, M.; PINILLA, L.; ZHANG, F.; et al. Developmental and hormonal regulation of leptin receptor (Ob-R) messenger ribonucleic acid expression in rat testis. **Biol. Reprod.**, v. 64, p. 634-643, 2001.
- TROCÓNIZ, J. F.; BELTRÁN, J.; BASTIDAS, H., et al. Testicular development, body weight changes, puberty and semen traits of growing Guzerat and Nelore bulls. **Theriogenology**, v. 35, n. 4, p. 815-826, 1991.
- VALE FILHO, V. R. Desenvolvimento testicular em touros: aspectos clínicos. **Anim. Reprod.**, v. 1, n. 7, p. 418-438, 1988.
- VALE FILHO, V. R., BERGMANN, J. A. G., ANDRADE, V. J., et al. Classificação andrológica por pontos (CAP), versus libido, na eficiência na fecundação de touros Nelore de 2 e 3 anos de idade, usados em estação de monta bem definida. In: **Encontro de pesquisa da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 14, n. 1, 1994, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: UFMG, 1994. p. 88.
- VAZ, F. N.; RESTLE, J. Aspectos qualitativos da carcaça e da carne de machos Hereford, Inteiros ou Castrados, abatidos aos quatorze meses. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 29, n. 6, p. 1894-1901, 2000.
- VELOSO, D. F. M.; ALBERTI, L. R.; FIGUEIREDO, J. A.; et al. Repercussões morfológicas, metabólicas e funcionais após orquiectomia em ratos. **Einstein**, v. 7, n. 2, p. 131-136, 2009.
- VIGER, R. S.; ROBAIRE, B. Differential regulation of steady state 4-ene steroid 5- $\alpha$ -reductase messenger ribonucleic acid levels along the rat epididymis. **Endocrinology**, v. 128, p. 2407-2414, 1991.
- WAGNER, T. O. F.; BRABANT, G.; WARSCH, F.; et al. Slow pulsing oligospermia. **Acta Endocrinol.**, v. 105, p. 152, 1984.
- WAGNER, T. O. F.; VON ZUR MÜHLEN, A. Slow pulsing oligospermia. Treatment by longtime pulsatile LHRH therapy. In: **Episodic Hormone Secretion: From Basic Science to Clinical Application**. Ed. WAGNER, T.O.F.; FILICORI, M.; VERLAG, T.M. Hammeln. 1987, p. 197-203.
- WAITES, G. M.; SPEIGHT, A. C.; JENKINS, N. The functional maturation of the Sertoli cell and Leydig cell in the mammalian testis. **J. Reprod. Fertil.**, v. 75, p. 317-326, 1985.
- WILSON, M. E. The impact of the GH-IGF-I axis on gonadotropin secretion: inferences from animal models. **J. Pediat. Endocrinol. Metab.**, v. 14, p. 115-140, 2001.
- WILSON, K.C.; RAISMAN, G. Age-related changes in the neurosensory epithelium of the mouse vomeronasal organ: extended of postnatal growth in size and evidence for rapid cell turnover in the adult. **Brain Res.**, v. 185, p. 103-113, 1980.
- WYSOCKI, C. J.; KATZ, Y.; BERNHARD, R. Male vomeronasal organ mediates female

induced testosterone surges in mice. **Biol. Reprod.**, v. 28, p. 917-922, 1983.

WOLF, F. R.; ALMQUIST, J. O.; HALE, E. B. Prepuberal behaviour and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. **J. Anim. Sci.**, v. 24, n. 2, p. 761-765, 1965.

WROBEL, K. H.; DOSTAL, S.; SCHIMMEL, M. Postnatal development of the tubular lamina propria and the intertubular tissue in the bovine testis. **Cell Tissue Res.**, v. 252, p. 639-653, 1988.

WROBEL, K. H. The postnatal development of the bovine Leydig cell population. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 25, p. 51-60, 1990.

ZHU, L. J.; HARDY, M. P.; INIGO, I. V.; et al. Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: A quantitative immunohistochemical study. **Biol. Reprod.**, v. 63, p. 368-376, 2000.

## Capítulo 2

### **Características andrológicas, histologia testicular, altura do epitélio neuro sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore (*Bos taurus indicus*) pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos**

### **Andrologic characteristics, testicular histology, vomeronasal organ sensory epithelium height, testosterone, IGF-I and leptin serum in pre pubertal male Nelore (*Bos taurus indicus*) submitted to incisors duct obstruction**

#### **Resumo**

Objetivou-se com o estudo avaliar as características andrológicas, histológicas, a altura do epitélio neuro sensitivo do órgão vomeronasal, os níveis séricos de testosterona, IGF-I e leptina em animais submetidos ao bloqueio do ducto incisivo. Foram utilizados 19 machos da raça Nelore no período pré puberal, criados extensivamente, divididos em dois grupos: inteiro (G1)-animais controle inteiros (nenhum procedimento), n=11; bloqueado (G2): animais com os ductos incisivos bilateralmente cauterizados, n=8. Os animais foram avaliados, a cada três meses, até a maturidade sexual, sendo realizadas cinco avaliações. Para o abate, somente foram recomendados os animais que obtiveram 480 kg, em que foram coletados os testículos e órgãos vomeronasais para posterior avaliação histológica. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso. Os testes F da análise de variância e o teste “t” de Student pareado, assim como, os de Mann Whitney e Friedman foram utilizados para avaliar os efeitos de tratamento e de período para as variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente. As coletas de sangue foram realizadas pela manhã (sete horas) e pela tarde (17 horas), portanto, foram utilizados os testes “t” pareado e de Wilcoxon para observar efeitos de turno. Não foi observado efeito do bloqueio dos ductos incisivos sobre as características andrológicas ( $P>0,05$ ). Não foi registrada variação na motilidade espermática e defeitos menores ao longo do estudo para os animais bloqueados ( $P>0,05$ ). Foi computado atraso na puberdade (terceira coleta, G1=63,3 %; G2=50 %) e na maturidade sexual (quinta coleta, G1=90,9 %; G2=62,5 %) nos animais bloqueados. Observou-se redução do diâmetro tubular (G1=327,0 ± 50,9<sup>a</sup> µm; G2=313,7 ± 47,4<sup>b</sup> µm) e luminal (G1=130,1±34,3<sup>a</sup> µm e G2=102,5±29,6<sup>b</sup> µm), do número de células de Sertoli por túbulo seminífero (G1=3,9±0,15<sup>a</sup> e G2= 3,2±0,17<sup>b</sup>), do diâmetro (G1=11,5±1,1<sup>a</sup> µm e G2=10,8±1,5<sup>b</sup> µm) e volume nuclear das células de Leydig (G1= 465,7±130,6<sup>a</sup> µm<sup>3</sup> e G2=391,2±168,7<sup>b</sup> µm<sup>3</sup>) nos animais bloqueados. Registraram-se redução da concentração sérica de testosterona nas quarta (G1=10,3±1,3<sup>a</sup>ng/mL; G2=5,7±1,23<sup>b</sup>ng/mL) e quinta (G1=8,9±2,05<sup>a</sup>ng/mL; G2=2,7±1,3<sup>b</sup>ng/mL) coletas à tarde, e da altura do epitélio neuro sensitivo do OVN nos animais bloqueados (0,14±0,03<sup>b</sup>mm) em relação aos inteiros (0,17±0,03<sup>a</sup>mm). Concluiu-se que o bloqueio dos ductos incisivos, na fase pré puberal, diminuiu os estímulos sensoriais pelo órgão vomeronasal e que este órgão exerce importante função no controle do desenvolvimento sexual, da secreção sérica de testosterona e, consequentemente, da função epididimária.

Palavras-chave: célula de Leydig, espermatogênese, reflexo de flehmen, zebu.

#### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the andrologic and histology characteristics, the height of the epithelium of the vomeronasal organ sensory neuron, the serum levels of testosterone, IGF-I and leptin in animals subjected to incisive duct blockage. A total of 19 male Nelore pre pubertal period, raised in pasture conditions, were divided into two groups: control animals (no procedure, G1), n=11; blocked (G2): animals with incisors ducts cauterized bilaterally, n=8. The animals were evaluated every three months until sexual maturity, being performed five evaluations. Only the animals weighing 1059,6lb were slaughtered. A completely randomized experimental design. F-test analysis of variance and "t" Student paired tests, as well as those of Mann Whitney and Friedman were used to evaluate the effects of treatment and period for the parametric and nonparametric variables, respectively. Blood samples were taken in the morning (seven hours) and late (17 hours), and "t" test and Wilcoxon paired tests to evaluate effects of shift were used. There was no effect of blocking the ducts incisors on the characteristics andrologic ( $P>0.05$ ). No change was recorded in sperm motility and minor defects during the study for the blocked animals ( $P>0.05$ ). Delay in puberty (third collection, G1=63.3 %; G2=50 %) and sexual maturity (fifth collection, G1=90.9 %; G2=62.5 %) were observed in blocked animals. Reductions of the tubular (G1=327.0  $\pm$  50.9<sup>a</sup>  $\mu$ m; G2=313.7  $\pm$  47.4<sup>b</sup>  $\mu$ m) and luminal (G1=130.1 $\pm$ 34.3<sup>a</sup>  $\mu$ m e G2=102.5 $\pm$ 29.6<sup>b</sup>  $\mu$ m) diameters, the number of Sertoli cells in the seminiferous tubule (G1=3.9 $\pm$ 0.15<sup>a</sup> e G2= 3.2 $\pm$ 0.17<sup>b</sup>), the diameter (G1=11.5 $\pm$ 1.1<sup>a</sup>  $\mu$ m e G2=10.8 $\pm$ 1.5<sup>b</sup>  $\mu$ m) and volume (G1= 465.7 $\pm$ 130.6<sup>a</sup>  $\mu$ m<sup>3</sup> e G2=391.2 $\pm$ 168.7<sup>b</sup>  $\mu$ m<sup>3</sup>) of the Leydig cells in blocked animals. Reductions of serum testosterone in the fourth (G1=10.3 $\pm$ 1.3<sup>a</sup>ng/mL; G2=5.7 $\pm$ 1.23<sup>b</sup>ng/mL) and fifth (G1=8.9 $\pm$ 2.05<sup>a</sup>ng/mL; G2=2.7 $\pm$ 1.3<sup>b</sup>ng/mL) collections afternoon, and the height of the epithelium of the VNO sensory neuron were also observed for blocked animals. Concluded that blocking the ducts incisors during pre pubertal decreased sensory stimuli by the vomeronasal organ that plays an important role in controlling of the sexual development and on the secretion of testosterone serum and therefore of epididymal function.

Key-words: flehmen reflex, Leydig cell, spermatogenesis, zebu.

## 1.0-Introdução

O touro Nelore exerce alta prevalência de reflexo de flehmen (28 %), de cheirar e lambar a genitália da fêmea (40 %) em testes de comportamento sexual realizados em curral (Oliveira et al., 2007). Tais aspectos sugerem que os estímulos olfatórios exercem elevada importância na ativação do comportamento sexual de touros zebus.

O órgão vomeronasal (OVN) é uma estrutura tubular quimiorreceptora do sistema olfatório acessório, responsável pela detecção de feromônios. Este órgão está localizado na base do septo nasal e se comunica com a cavidade oral por

intermédio dos ductos incisivos que se abrem no palato lateralmente à papila incisiva (Halpern, 1987).

Histologicamente, o OVN de bovinos apresenta modificações no epitélio. A nível do ducto incisivo este órgão apresenta epitélio do tipo respiratório. O resto do órgão é revestido por epitélio neuro sensorial na parede medial, enquanto que na parede lateral continua sendo do tipo respiratório (Salazar et al., 1997).

Do OVN emerge um par de nervos que atravessam a lâmina crivosa do etmóide e atingem o bulbo olfatório acessório. Este bulbo apresenta conexões aferentes com o núcleo amigdalóide que, por sua vez, fazem

conexão com o hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006). Desta forma, o OVN também possui ligações com o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal influenciando a liberação de GnRH, a qual controla a secreção de LH e de esteróides (Doving e Trotier, 1998). No entanto, o controle da secreção de testosterona sérica depende da experiência sexual dos animais (Wysocki et al., 1983). Por sua vez, a testosterona exerce importante ação no desenvolvimento e iniciação da puberdade, sobretudo, na manutenção da gametogênese na fase adulta (Barth e Oko, 1989) e por este motivo, Kaneko et al. (1980), ao trabalharem com fêmeas e machos de camundongos, reportaram que animais que sofreram bulbectomia parcial ou total atrasaram a puberdade.

A percepção olfatória, nos mamíferos, se dá através de duas vias. A primeira é constituída pelo sistema olfatório principal e a segunda pelo sistema olfatório do órgão vomeronasal (OVN) ou via do sistema olfatório acessório (Dulac e Wagner, 2006). No sistema olfatório acessório as informações periféricas são captadas pelo OVN. Este órgão processa a informação e conduz os estímulos sensoriais até o bulbo olfatório acessório através dos nervos vomeronasais. A partir do bulbo olfatório acessório as informações são levadas até o hipotálamo fazendo sinapses nos núcleos amigdalóides mediais e no “bed-núcleo” da estria terminal. No sistema olfatório principal a informação periférica é captada pelas células bipolares da mucosa olfatória e conduzida para o nervo olfatório, que leva os estímulos para o bulbo olfatório principal, que por sua vez estabelece sinapses com os núcleos do complexo amigdalóide e deste complexo partem fibras que estabelecem conexões com o hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006). Dessa forma, ambas as vias olfatórias se conectam ao hipotálamo.

O reflexo de flehmen consiste na elevação e enrugamento do lábio superior

acompanhado da dilatação das narinas. Durante sua exibição, o animal estende a cabeça e realiza forte inalação. Este comportamento é um mecanismo fisiológico destinado a facilitar a condução de feromônios para o órgão vomeronasal (Hart e Leedy, 1987). Lamber a genitália feminina é outro mecanismo utilizado pelos touros para detectar os sabores e odores que identificam as fêmeas em estro. O touro usa a língua com o intuito de comprimir o plexo palatino, causando alteração na pressão do órgão vomeronasal e através deste mecanismo as substâncias químicas são aspiradas para o lúmen do OVN (Kare et al., 1996). Portanto, além do reflexo de flehmen, o ato de lamber também pode atuar conduzindo feromônios ao OVN. Kelliher e Baum (2001) descreveram que o ato de cheirar as secreções vaginais é comportamento relacionado à condução de estímulos para o sistema olfatório principal.

A detecção de odores é função atribuída ao epitélio olfatório principal enquanto que a identificação de feromônios é considerada função do OVN (Doving e Trotier, 1998). Esta separação drástica da identificação de odores tem sido recentemente contestada (Dulac e Wagner, 2006). A detecção de odores é uma função que varia em cada espécie. Por exemplo, em suínos (Dorries et al., 1995) e furões (Kelliher e Baum, 2001) o sistema olfatório principal é responsável pela detecção de feromônios sexuais. De outro modo, o sistema do OVN é responsável no controle do comportamento maternal em ovinos (Booth e Katz, 2000) e do comportamento sexual de machos e fêmeas de hamsters (Kaneko et al., 1980).

Outros hormônios, como o IGF-I e a Leptina, constituem hormônios do eixo somatotrópico (Diskin et al., 2003) que exercem importantes funções nos mecanismos de controle da secreção de gonadotrofinas (Blache et al., 2000; Brito, 2006). Além disso, esses hormônios também estão associados aos mecanismos de

controle autócrinos e parácrinos da função testicular (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993). Assim sendo, esses hormônios possuem reconhecida função no desenvolvimento sexual de machos.

Objetivou-se com o estudo avaliar o desenvolvimento das características andrológicas, das concentrações séricas de testosterona, do IGF-I e da Leptina e de características histológicas testiculares em machos adultos da raça Nelore submetidos ao bloqueio dos ductos incisivos no período pré puberal. Para avaliar os efeitos deste bloqueio sobre o órgão vomeronasal, este estudo objetivou-se também avaliar a altura do epitélio sensitivo deste órgão.

## 2.0-Material e Método

### Período experimental e localização

Este estudo foi conduzido entre os meses de janeiro de 2008, até maio de 2009, na Fazenda Santo Antônio das Granjas Reunidas, município de Engenheiro Navarro, norte do estado de Minas Gerais, Brasil. A fazenda tem como coordenadas geográficas 16°72'S de latitude e 43°87'W de longitude, estando situada em área de Cerrado. A região apresenta clima quente e úmido com temperaturas máxima e mínima de 30,8 e 17,2 °C, com precipitação pluviométrica média anual de 1082 mm<sup>3</sup>. Dois períodos climáticos são observados: o seco que se estende de abril a setembro e o chuvoso de outubro a março.

### Animais

Foram utilizados 30 animais machos da raça Nelore pré-púberes com idade média de 14,6 ± 1,15 meses, peso corporal médio de 244,2 ± 13,4 Kg e circunferência escrotal média de 20,5 ± 1,4 no início do experimento, criados em regime de pastejo extensivo. Durante o período da seca, os animais foram mantidos em pastagens irrigadas com pivô central. Os animais foram divididos em dois grupos de

15 animais. Após descartes devido a perdas de peso nos primeiros 30 dias do estudo e padronização racial, os grupos foram constituídos da seguinte forma: o grupo um, denominado inteiro, foi constituído por 11 indivíduos, os quais não passaram por nenhum procedimento, sendo também considerado o grupo controle. O grupo dois, denominado bloqueado, composto por oito indivíduos, tiveram seus ductos incisivos bilateralmente obstruídos.

Para as análises séricas de testosterona, leptina e IGF-I foram inicialmente amostrados aleatoriamente sete animais para cada grupo. Após os descartes, foram considerados para as análises seis e quatro animais, respectivamente, dos grupos relacionados acima.

Ao final do experimento foram abatidos 15 animais que atingiram peso corporal superior à 480 Kg, sendo oito animais do grupo inteiro e sete do grupo bloqueado. Durante o abate, foram retirados os órgãos vomeronasais e os testículos para análise morfológica. Procedeu-se o abate dos animais num frigorífico credenciado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Frigorífico Independência<sup>®</sup>), em Janaúba-MG, Brasil.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e nos Laboratórios de Biologia da Reprodução e de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

### Castração e bloqueio do órgão vomeronasal

A obstrução dos ductos incisivos foi realizada bilateralmente através do óstio palatino mediante cauterização com termo cautério (Booth e Katz, 2000). Para realizar este procedimento foi inicialmente realizada a antissepsia local no duto incisivo e na parte rostral do palato utilizando álcool etílico a

70° e nitrato de prata 1:1.000. A anestesia local foi realizada infiltrando cinco mL de lidocaína a 2.5% Pearson®, ao redor da papila incisiva. O protocolo de cauterização dos ductos incisivos seguiu os procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética da UFMG (protocolo CETEA 159/09).

#### Coletas do sêmen

As coletas foram realizadas em janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009, obtendo-se cinco repetições da avaliação do sêmen, sendo essas realizadas em dias seguintes a avaliação da libido. Nessas, os animais possuíam os seguintes pesos corporais e idades com seus desvios padrão: 244,2 ± 13,4 e 14,6 ± 1,15; 298,5 ± 17,8 e 18,6 ± 1,15; 328,4 ± 18,5 e 20,7 ± 1,15; 359,2 ± 19,8 e 24 ± 1,15; 436,8 ± 24 e 27,7 ± 1,15. Na avaliação andrológica foram avaliadas as características clínicas, circunferência escrotal (CE), físicas, percentual de espermatozoides móveis (MOT) e morfológicas do sêmen, defeitos espermáticos maiores (DM), menores (Dm) e totais (DT), segundo as regras sugeridas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). A coleta do sêmen foi auxiliada utilizando aparelho de eletroejaculação (Boijector 2001®). Para avaliação da morfologia espermática uma alíquota do ejaculado foi coletado e armazenado em solução de formol salino tamponada para posteriores mensurações no laboratório Multiusuário do departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG. Nas contagens morfológicas foram avaliadas 100 células, realizadas em preparações úmidas utilizando microscópio com contraste de fase Nikon® modelo 50i trinocular. Ao longo do experimento o desenvolvimento sexual dos touros foi classificado quanto a puberdade (Wolf et al., 1965) e maturidade sexual (CBRA, 1998).

Avaliação dos níveis séricos de testosterona, leptina e IGF-I

Para avaliar os níveis séricos de testosterona, de leptina e de IGF-I foram realizadas coletas de sangue pela manhã (às sete horas), e no período da tarde (às 17 horas) sem levar em conta o horário de verão para a região sudeste do Brasil, sempre no dia seguinte ao teste de libido. Estes horários foram definidos de acordo com os picos diários de testosterona como estabelecido por Barbosa (1987) e Senger (2003). Cinco repetições das coletas de sangue foram realizados nas seguintes datas: janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009, realizados nos dias seguintes à avaliação da libido. Nessas, os animais possuíam os seguintes pesos corporais e idades com seus desvios padrão: 244,2 ± 13,4 e 14,6 ± 1,15; 298,5 ± 17,8 e 18,6 ± 1,15; 328,4 ± 18,5 e 20,7 ± 1,15; 359,2 ± 19,8 e 24 ± 1,15; 436,8 ± 24 e 27,7 ± 1,15.

O sangue foi coletado a vácuo a partir da veia jugular. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 300 g durante 10 minutos, a fim de se obter o plasma, que foi armazenado no interior de botijões contendo nitrogênio líquido a -196°C até o momento das análises. As dosagens da testosterona e IGF-I foram realizadas seguindo técnicas de radioimunoensaio (RIE), utilizando-se kits comerciais da DSL-4000® e da Immunotech®, respectivamente. A leptina foi quantificada usando-se kit de ELISA E90084Bo da Usen®, com anticorpos específicos para bovinos. Todos os kits foram adquiridos da Gênese Science®. Todas as amostras foram testadas em duplicatas seguindo os procedimentos de ensaio, realizados conforme suas bulas. Os coeficientes de variação intra e inter ensaio para a testosterona, IGF-I e leptina foram 1,27 e 2,42; 3,8 e 5,1 e 2,42 e 4 %, respectivamente.

Avaliação histomorfométrica dos órgãos vomeronasais e testículos

No abatedouro, após o sacrifício dos animais, as cabeças foram identificadas na

linha de abate para posterior transecção e retirada dos órgãos vomeronasais. Para obterem cortes homogêneos do OVN foram realizados secções da região nasal do animal a nível do primeiro pré molar superior (Salazar et al., 1997). As amostras foram fixadas em líquido de Bouin (Pannocchia et al., 2008), até o momento de análise.

Os fragmentos fixados foram lavados em solução Ringer bicarbonato e posteriormente, desidratados em concentrações crescentes de etanol. Após esse procedimento, as amostras foram infiltradas e incluídas em glicol metacrilato (Tecnovit 7.200<sup>®</sup>) (Russell et al., 1998). Todos os fragmentos foram obtidos nas regiões centrais do testículo próximo ao mediastino. Posteriormente, os blocos foram seccionados em ultramicrotomo Reichert-Jung, obtendo-se cortes de três mm de espessura, montados em lâminas histológicas e corados pelo azul de toluidina-0.5% com borato de sódio a 1%, conforme técnica de rotina LABRE-ICB-UFG. De cada fragmento foram confeccionadas três lâminas com quatro cortes cada uma.

Os testículos devidamente identificados foram obtidos na linha de abate. Na avaliação histológica dos mesmos, foram estudados os diâmetros menores dos túbulos seminíferos, a altura do epitélio seminífero, o diâmetro do lúmen, o diâmetro nuclear e número de célula de Sertoli com nucléolo facilmente identificado por túbulo seminífero e o diâmetro e volume nuclear das células intersticiais de Leydig. O volume nuclear das células de Leydig (VCL) foi obtido através da fórmula:  $VCL = 3/4\pi(r)^3$ . Para as mensurações histomorfométricas e contagens das células de Sertoli por túbulo foram escolhidos trinta túbulos seminíferos padrão (com contorno regular e bem definido). Para avaliação dos diâmetros nucleares, quinze células de Sertoli e de Leydig foram utilizadas. Os testículos foram amostrados de forma aleatória. Nenhum

fator de correção histológica foi realizado, visto que o mesmo procedimento foi realizado para todas as amostras (Moura e Ericson, 2001; Castro et al., 2002).

A altura do epitélio do OVN foi mensurada, tendo como base para análise a média de quatro fotografias, cada qual com quatro mensurações, tanto do órgão esquerdo quanto o direito.

As mensurações histomorfométricas do epitélio sensitivo do OVN e dos testículos foram realizadas utilizando-se microscópio Nikon<sup>®</sup> com contraste de fase, modelo eclipse 50i trinocular, o qual encontrava-se acoplado a câmara Motic<sup>®</sup> de 3.0 megapixels. As imagens foram digitalizadas e medidas utilizando-se o programa de análise (Motic Images Plus 2.0<sup>®</sup>).

#### Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se dos recursos computacionais do pacote estatístico Statística versão 5 de 1996. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso. Todas as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e quando necessários foi aplicada transformações logarítmica e arco seno das variáveis.

Para se avaliar o efeito de tratamento sobre a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, a altura do epitélio seminífero, os diâmetros tubular, nuclear das células de Sertoli e de Leydig e, ainda, do volume da última, da CE, das concentrações séricas de testosterona e de IGF-I foram utilizados o teste F da análise de variância. Para se avaliarem os efeitos de coleta e de turno dentro de cada tratamento da CE e das concentrações séricas de testosterona e de IGF-I foi utilizado o teste “t” de Student pareado.

Para as variáveis, concentrações séricas de Leptina, motilidade e defeitos espermáticos,

o teste de comparação das médias utilizado foi o de Mann Whitney. Os testes de Wilcoxon e de Friedman foram utilizados para avaliar os efeitos de turno e de coleta dentro de cada tratamento, respectivamente. As correlações de Spearman e Pearson foram obtidas para as variáveis estudadas. Considerou-se o nível de 5% de significância.

### 3.0 - Resultados e Discussão

#### Características andrológicas

Não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) dentro de cada coleta entre os animais inteiros e bloqueados, ao longo do experimento para qualquer das variáveis andrológicas avaliadas.

Observou-se que a circunferência escrotal aumentou ao longo das coletas nos animais inteiros e bloqueados (Fig. 1), o que sugere que a variável aumenta em função do peso corporal e da idade, uma vez que, as coletas foram realizadas nos mesmos animais durante todo o experimento. Resultados semelhante foram observados por Martins et al. (2011), que encontraram padrão de desenvolvimento quadrático da circunferência escrotal em função da idade. Além disso, para os animais inteiros a circunferência escrotal e a porcentagem de espermatozóides móveis aumentaram enquanto os defeitos espermáticos reduziram destacando a associação negativa entre essas características. Fatos esses, ilustrados nos resultados registrados nas tabelas 5 e 7, onde se observou correlações negativas altas entre a circunferência escrotal e os defeitos espermáticos totais em ambos os tratamentos. Isto também foram observados por Silva et al. (2002) e Pastore et al. (2008). Possivelmente, uma explicação para a relação da circunferência escrotal com a qualidade espermática em ambos os tratamentos seja explicada em razão da associação positiva com a concentração sérica de testosterona (Tab. 6), uma vez que, esse andrógeno é regulador importante do

desenvolvimento da função testicular e da manutenção da gametogênese em animais sexualmente maduros (Barth e Oko, 1989). Outro fato que explica a relação da circunferência escrotal e a qualidade espermática é que esta variável é um indicador de incrementos do volume e diâmetro tubular, da altura do epitélio seminífero indicativo de que a gametogênese está sendo completada até seus estádios finais, bem como, a aquisição do diâmetro luminal (Russel et al., 1998).

Ainda com relação a circunferência escrotal, seu crescimento foi semelhante entre os grupos. Além disso, a correlação entre a circunferência escrotal e a concentração sérica de testosterona foi alta e de média magnitude nos animais inteiros (Tab. 6) e bloqueados (Tab. 8), respectivamente, o que sugere que outros fatores passaram a influenciar, juntamente com a testosterona, o crescimento testicular dos animais bloqueados, tendo em vista sua diminuição nesses animais.

Nas quarta e quinta coletas, foram registradas aumento na porcentagem de espermatozóides móveis nos animais inteiros ( $P<0,05$ ), enquanto que, nos animais bloqueados não foi observada variação ao longo do estudo ( $P>0,05$ ) (Fig. 1). Esses resultados podem ser explicados pelo fato de que os defeitos espermáticos menores não diminuíram ao longo do estudo, nos animais bloqueados. Estes defeitos são altamente prevalentes em animais com disfunção do epidídimo, uma vez que, neste órgão, os espermatozoides atingem adequada capacidade de maturação metabólica (Barth e Oko, 1989; Robaire e Viger, 1995). Possivelmente, as reduções dos níveis séricos de testosterona nos animais bloqueados nas quarta e quinta coletas, à tarde, possam explicar esses resultados, uma vez que, a diidrotestosterona é essencial para a secreção de fluidos epididimários (Robaire e Viger, 1995). A alta correlação negativa entre os níveis séricos de testosterona e os

defeitos espermáticos menores nos animais inteiros, bem como, a não observação deste evento para os animais bloqueados, reforçam essa evidência (Tab. 5).

Para os defeitos espermáticos maiores foram observadas redução em seu percentual nos animais inteiros entre a segunda e a terceira coletas ( $P < 0,05$ ), enquanto que, para os animais bloqueados esse fato não foi observado ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1). Nesse período não houve diminuição da concentração sérica de testosterona nos animais bloqueados em relação aos inteiros ( $P > 0,05$ ) (Tab. 3). Possivelmente, esses achados podem ser justificados por Price et al. (1986), em que eles descreveram que a diminuição no comportamento sexual por interações tanto hetero quanto homo sexuais reduz o número de surtos espontâneos diários de testosterona que não são detectados quando se coleta o sangue pontualmente, mas que são suficientes para comprometerem o desenvolvimento sexual dos animais. Além do fato de que Bedair e Thibier (1979) demonstraram que, no período pré puberal, a relação entre as concentrações séricas de testosterona: androstenediona são altas e dificultam a visualização dos efeitos de tratamento sobre a testosterona. Pelo contrário, houve redução nos níveis séricos de testosterona à tarde nos animais bloqueados na quarta coleta ( $P < 0,05$ ). Por esse motivo, não foi observada redução no percentual de defeitos espermáticos maiores entre a terceira e quarta coleta nesses animais.

Ainda com relação aos defeitos espermáticos maiores, foram registradas diminuição em seu percentual entre as quarta e quinta coletas nos animais inteiros e bloqueados ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre os tratamentos nessas coletas ( $P > 0,05$ ), porém houve tendência ( $P = 0,06$ ) de superioridade dos defeitos maiores nos animais bloqueados. Tais resultados indicam que no período puberal a gametogênese é fortemente dependente de altas

concentrações séricas de testosterona comparada à fase adulta em animais zebuínos, uma vez que foi registrada redução dos níveis séricos de testosterona à tarde também na quinta coleta para os animais bloqueados. Esse resultado também foi observado por Monet-Kuntz et al. (1984), em carneiros.

Possivelmente, a explicação para menor sensibilidade testicular frente aos níveis séricos de testosterona com a aproximação da maturidade sexual, seja o fato de que a gametogênese ocorra no citoplasma da célula de Sertoli, com proteção por meio da barreira hematotesticular (Show et al., 2003), que se torna totalmente eficiente com a maturação desta célula. Além disso, as células de Sertoli possuem mecanismos de regulação intrínsecos da gametogênese, como afinidade do andrógeno a seus receptores e também na quantidade secretada de proteínas ligadoras de andrógenos (Bagu et al., 2006), bem como, nas secreções de fatores autócrinos e parácrinos regulando a liberação local de testosterona (Spiteri-Grech e Nieschlag, 1993), além da ação sinérgica entre o andrógeno e o FSH, onde o último torna a célula de Sertoli mais responsiva ao primeiro (Shennawy et al., 1998). Portanto, todos esses fatores podem atuar em conjunto ou separadamente na regulação da gametogênese frente a variações nos níveis séricos de testosterona. Dessa forma, esses fatos contribuem para justificar o motivo pelo qual outros pesquisadores, à exemplo desse estudo, ao trabalharem com animais maduros sexualmente, não registraram associações altas entre as concentrações séricas de testosterona e os defeitos espermáticos maiores (Dias, 2008) e características histológicas (Castro et al., 2002), em touros da raça Guzera e em coelhos, respectivamente.

Pelo contrário, a função epididimária parece ser altamente dependente de altos níveis séricos de testosterona em animais Nelore.

Fato esse demonstrado nesse estudo pela não observação de redução no percentual de defeitos espermáticos menores ao longo de todo estudo nos animais bloqueados (Fig. 1) e pela alta associação observada entre os níveis séricos de testosterona e o percentual de defeitos espermáticos menores (Tab. 5). Talvez a justificativa para isso seja que a atividade metabólica do epidídimo, bem como, o seu crescimento e desenvolvimento sejam altamente dependentes de andrógenos. Além disso, as secreções de fluídos e proteínas que estão em contato direto com a célula espermática, necessárias às transformações das membranas espermáticas para que as mesmas se tornem resistentes aos estresses oxidativos durante a estocagem na cauda do epidídimo e competentes para adquirirem a motilidade espermática, para passar pela reação acrossômica e interações com o oolema também sejam importantes funções epididimárias andrógenos dependentes (Barth e Oko, 1989; Orgebin-Crist, 1983).

Não houve diferenças entre os tratamentos com relação às características andrológicas em qualquer das coletas avaliadas ( $P>0,05$ ). Foram observadas altas associações negativas entre os níveis séricos de IGF-I e os defeitos espermáticos totais nos animais de ambos os tratamentos (Tab. 5 e 7) e com os defeitos espermáticos maiores somente nos animais bloqueados (Tab. 7). Além disso, foi registrada correlação de média magnitude entre os defeitos espermáticos totais e as concentrações séricas de testosterona pela manhã nos animais inteiros, mas não para os bloqueados. Dessa forma, com base nesses resultados, é plausível pensar que o IGF-I pode ter assumido, pelo menos em parte, a ação na função testicular da testosterona frente à redução de seus níveis séricos nos animais bloqueados. Tais fatos tem suporte na literatura, uma vez que, o IGF-I foi capaz de promover ação testicular potencializando os efeitos das gonadotrofinas nas células de Leydig e de Sertoli (Spiteri-Grech e

Nieschlag, 1993), explicando a não diferença observada entre as variáveis andrológicas ao longo do estudo entre os tratamentos.

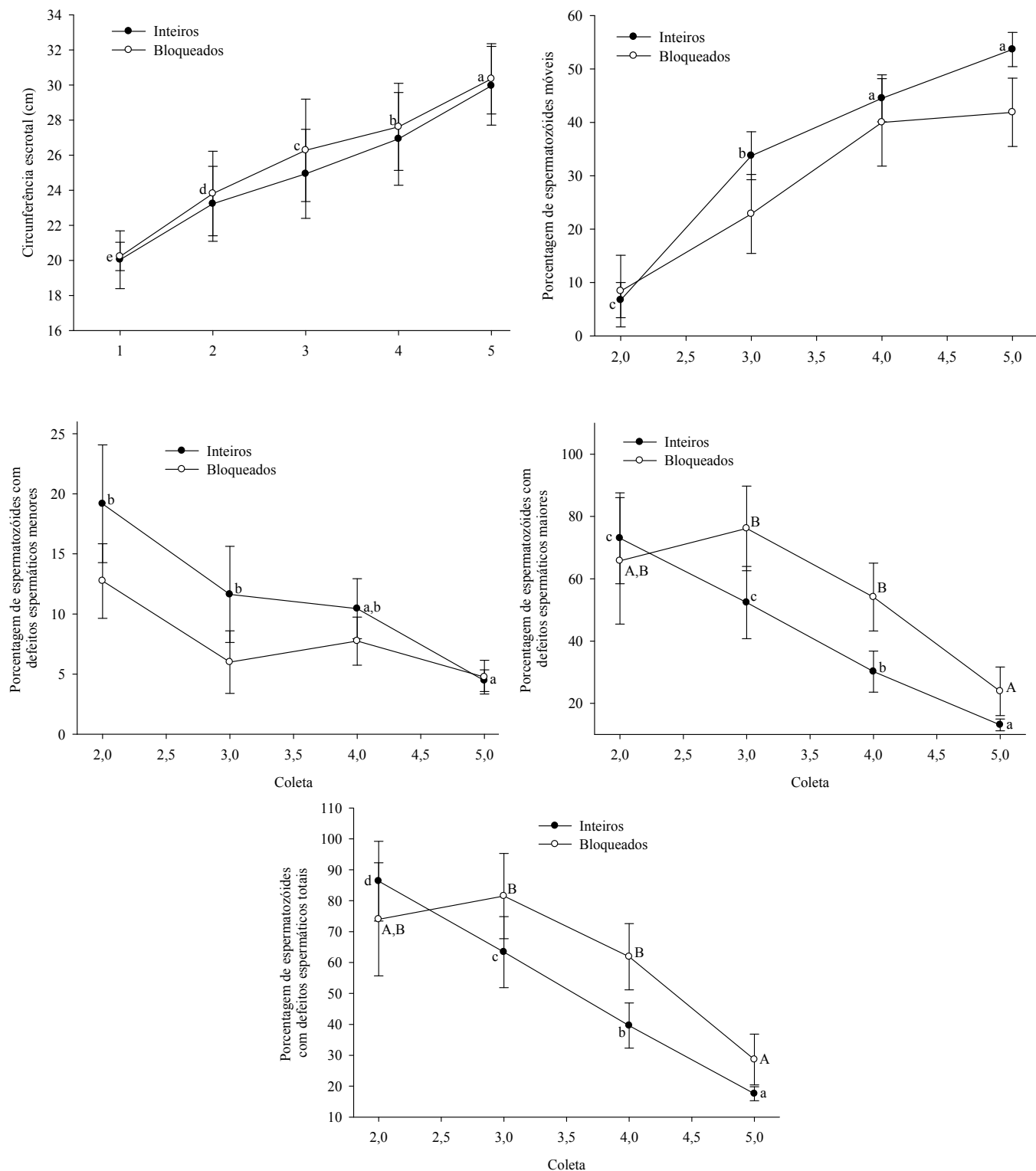


Figura 1 – Circunferência escrotal, motilidade espermática, defeitos espermáticos menores, maiores e totais dos animais inteiros e com o ducto incisivo bloqueado durante o período experimental

Para a circunferência escrotal (CE), letras diferentes indicam diferenças entre médias ( $P < 0,05$ ), pelo teste “t” pareado; Para as demais variáveis letras diferentes indicam diferenças pelo teste de Friedman

( $P < 0,05$ ); Ausência de letras indica que não há diferenças entre médias ( $P > 0,05$ ) pelos respectivos testes utilizados; No gráfico da CE, ambas as curvas foram semelhantes, por isso as letras representam os dois grupos; Letras minúsculas e maiúsculas indicam efeitos de coleta para os animais inteiro ( $n=11$ ) e bloqueado ( $n=8$ ), respectivamente.

As frequências de animais impúberes, púberes e maduros ao longo do experimento para os animais inteiros e bloqueados constam na tabela 3.

Houve aumento na frequência de animais púberes da segunda (18,8 %) para a terceira (63,3 %) coleta nos animais inteiros ( $P < 0,05$ ). Nos animais bloqueados esse fato foi observado da terceira (50 %) para a quarta (75 %) coleta ( $p < 0,05$ ). A maturidade sexual ocorreu na quinta (90,9 %) coleta nos animais inteiros, não sendo observada nos animais bloqueados até a quinta (62,5 %) coleta (Fig. 2), que possuíam em média defeitos espermáticos maiores superior a 20 % (CBRA, 1998). Esses resultados estão de acordo com Martins et al. (2011), ao reportarem que animais que atrasam a puberdade também o fazem na maturidade sexual, sugerindo que a obstrução dos ductos incisivos foi suficiente para bloquear o órgão vomeronasal promovendo atraso na puberdade e maturidade sexual, destacando a função deste órgão no desenvolvimento sexual de animais zebuínos, que foi previamente observado em estudos com outras espécies, como os de Kaneko et al. (1980) e de Kelliher e Baum (2001). Esse fato também é suportado nesse estudo dado a redução do diâmetro e do volume nuclear das células de Leydig (Tab. 1) nos animais bloqueados, o que sugere menor estímulo à secreção de gonadotrofinas. Barth (2004) demonstrou que a redução nos níveis séricos de testosterona, também encontrados nesse estudo nas quarta e quinta coletas à tarde (Tab. 3), acarreta em atraso no seu pico durante a puberdade e promove atraso no desenvolvimento sexual, o que é uma plausível explicação para o atraso nos animais bloqueados.

Ainda com base na tabela 1, os maiores diâmetro tubular e luminal nos animais inteiros ( $P < 0,05$ ), assim como, maior altura do epitélio seminífero nos animais bloqueados ( $P < 0,05$ ) encontrados nos animais bloqueados ( $P < 0,05$ ), indicam que estas células exerceram mecanismo de compensação (Kosco et al., 1989), provavelmente mantendo maior número de células da linhagem espermatogênica por célula de Sertoli, que por sua vez, contribui para justificar o menor número de célula de Sertoli por túbulo seminífero encontrado nos animais bloqueados, uma vez que um maior número de células germinativas no citoplasma desta célula pode sobrepor e dificultar a visualização do seu núcleo e nucléolo na contagem celular realizada por meio de microscópio óptico (Aguar et al., 2006).

Tem sido postulado que as células de Sertoli cessam sua atividade mitótica na puberdade (Waites et al., 1985; Brito, 2006). Talvez esse fato também possa explicar o resultado de que o número de célula de Sertoli por túbulo seminífero foi menor nos animais bloqueados (Tab. 1), visto que na quarta coleta a concentração sérica de testosterona à tarde, dos mesmos, foi reduzida, pois o andrógeno, juntamente com o FSH, são importantes estimuladores da atividade mitótica destas, no período pré puberal (Shennawy et al., 1998).

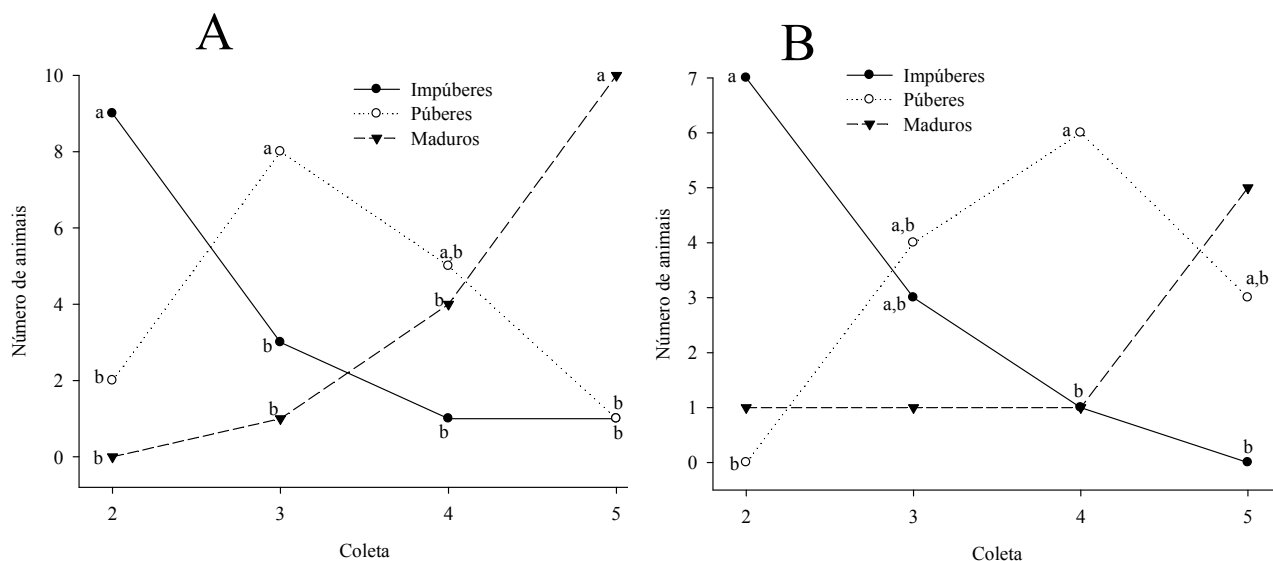


Figura 2 – Frequência de animais impúberes, púberes e maduros dos grupos inteiros (A) e com o ducto incisivo bloqueado (B) durante o experimento

Letras diferentes indicam diferenças entre médias pelo teste de Fisher ( $P < 0,05$ ); Gráficos A e B representam animais inteiros e com o ducto incisivo bloqueado, respectivamente; Ausências de letras indicam que não há diferenças entre médias ( $P > 0,05$ ).

Tabela 1 – Variáveis avaliadas na histologia testicular nos animais inteiros e bloqueados ao abate

| Característica reprodutiva                              | Mensuração histológica         |                                |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                                                         | Tratamento                     |                                |
|                                                         | Inteiro<br>(n=5)               | Bloqueado<br>(n=6)             |
| Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ )                      | 327,0 $\pm$ 50,9 <sup>a</sup>  | 313,7 $\pm$ 47,4 <sup>b</sup>  |
| Altura epitélio seminífero ( $\mu\text{m}$ )            | 98,3 $\pm$ 19,7 <sup>b</sup>   | 106,1 $\pm$ 19,3 <sup>a</sup>  |
| Diâmetro luminal ( $\mu\text{m}$ )                      | 130,1 $\pm$ 34,3 <sup>a</sup>  | 102,5 $\pm$ 29,6 <sup>b</sup>  |
| Diâmetro nuclear da célula de Sertoli ( $\mu\text{m}$ ) | 12,8 $\pm$ 1,7                 | 12,2 $\pm$ 1,8                 |
| Diâmetro nuclear da célula de Leydig ( $\mu\text{m}$ )  | 11,5 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>    | 10,8 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>    |
| Volume nuclear da célula de Leydig ( $\mu\text{m}^3$ )  | 465,7 $\pm$ 130,6 <sup>a</sup> | 391,2 $\pm$ 168,7 <sup>b</sup> |
| Número de célula de Sertoli por túbulo seminífero*      | 3,9 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>    | 3,2 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>    |

Letras distintas na linha indicam diferenças pelo teste F da análise de variância ( $P < 0,05$ ) (valores expressos em médias e desvios padrão); \*Letras distintas na linha indicam diferenças pelo teste de Mann Whitney ( $P < 0,05$ ) (valores expressos em média e erro padrão); Ausências de letras indicam que não há diferenças entre médias ( $P > 0,05$ ).

Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal

A altura do epitélio sensitivo do OVN foi maior nos animais inteiros ( $P < 0,05$ ), comparados aos bloqueados (Tab. 2). Essas observações demonstram que o bloqueio dos ductos incisivos reduziu a entrada dos ferormônios sexuais no OVN. A falta destes estímulos promoveu redução do epitélio neuro sensitivo deste órgão e diminuiu, provavelmente, os estímulos do eixo

hipotálamo-hipofise-gônada (Doving e Trotier, 1998). Outro fator que deve ter contribuído para manifestação desse resultado nos animais bloqueados pode ser explicado pelo fato de que esse epitélio possui receptores de testosterona sugerindo que o sistema olfatório acessório necessita desse andrógeno para adequado desenvolvimento (Meredith e Fernandez-Fewell, 1994; Keverne, 2002).

Tabela 2 – Altura do epitélio sensitivo do OVN (mm) dos animais inteiros e bloqueados ao final do experimento

| Tratamento                        | Inteiro<br>(n=4)  | Bloqueado<br>(n=7) |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------|
| Altura do epitélio sensitivo (mm) | $0,17 \pm 0,03^a$ | $0,14 \pm 0,03^b$  |

Letras distintas indicam diferenças entre médias pelo teste F da análise de variância ( $P < 0,05$ ).

Concentrações séricas de Testosterona, IGF-I e Leptina:

Os perfis séricos de testosterona para os animais inteiros e bloqueados, ao longo do experimento, constam na tabela 3. Houve diferença significativa na concentração sérica de testosterona à tarde entre os animais inteiros e bloqueados, sendo os valores menores nos últimos. Registrou-se efeito de turno na terceira coleta para ambos os grupos ( $P < 0,05$ ), sendo que pela manhã a concentração sérica de testosterona foi maior. Desconsiderando-se efeito de turno, quando se comparou as quarta e quinta coletas nos animais inteiros, observou-se tendência para maiores valores na quarta coleta para a concentração sérica de testosterona ( $P = 0,06$ ).

Tabela 3 – Concentração sérica de testosterona (ng/mL) nos animais dos dois tratamentos, ao longo do experimento, registrados em dois diferentes turnos

| Tratamento | Turno | Inteiro<br>(n = 6)           | Bloqueado<br>(n = 4)         |
|------------|-------|------------------------------|------------------------------|
| Coleta 1   | Manhã | 1,7 ± 1,4 <sup>a,A,B</sup>   | 0,22 ± 0,15 <sup>a,C</sup>   |
|            | Tarde | 1,5 ± 1,2 <sup>a,B</sup>     | 0,8 ± 0,65 <sup>a,C</sup>    |
| Coleta 2   | Manhã | 1,04 ± 0,3 <sup>a,B</sup>    | 3,11 ± 1,7 <sup>a,C,B</sup>  |
|            | Tarde | 4,04 ± 2,7 <sup>a,A,B</sup>  | 0,46 ± 0,22 <sup>a,B,C</sup> |
| Coleta 3   | Manhã | 6,5 ± 2,2 <sup>a,A,B,X</sup> | 7,8 ± 1,7 <sup>a,A,B,X</sup> |
|            | Tarde | 1,6 ± 0,6 <sup>a,B,Y</sup>   | 1,6 ± 0,9 <sup>a,A,B,Y</sup> |
| Coleta 4   | Manhã | 12,5 ± 2,1 <sup>a,A</sup>    | 8,5 ± 3,8 <sup>a,A</sup>     |
|            | Tarde | 10,3 ± 1,3 <sup>a,A</sup>    | 5,7 ± 1,23 <sup>b,A</sup>    |
| Coleta 5   | Manhã | 5,5 ± 2,3 <sup>a,A,B</sup>   | 3,5 ± 1,6 <sup>a,A,B</sup>   |
|            | Tarde | 8,9 ± 2,05 <sup>a,A</sup>    | 2,7 ± 1,3 <sup>b,A,B,C</sup> |

Letras minúsculas e maiúsculas, distintas, indicam diferenças entre médias pelos testes “t” de Student e “t” pareado (P<0,05), respectivamente. Letras minúsculas e maiúsculas indicam efeitos de tratamento dentro de cada coleta (P<0,05) e efeito de coleta dentro de cada tratamento (P<0,05), respectivamente. As letras X e Y indicam diferenças entre médias pelo teste “t” pareado (P<0,05), para se avaliar o efeito de turno dentro de coleta e tratamento.

Não foram observadas diferenças entre os grupos sobre as concentrações séricas de IGF-I, nem tão pouco, entre os turnos. Foi observada redução das concentrações séricas de IGF-I na terceira coleta para os grupos (P<0,05). Barth (2004) avaliou o efeito da suplementação energética no desenvolvimento sexual dos animais e reportaram que aqueles que recebiam suplementação abaixo dos requerimentos nutricionais atrasaram a puberdade. Esse autor observou que o pico nos níveis séricos do IGF-I desses animais foi atrasado comparado aos de alto plano nutricional. Além disso, tem sido descrito que o IGF-I intratesticular promove diferenciação e multiplicação das células de Leydig previamente ao pico de testosterona puberal (Lacroix et al., 1977; Govoni et al., 2003), necessária para maturação da célula de Sertoli. Nesse estudo não foi registrado pico de IGF-I pré puberal, no entanto, na terceira coleta, na qual houve redução de seus níveis séricos (Tab. 4), foi observada redução da concentração sérica de testosterona pela tarde em ambos os grupos (P<0,05) (Tab. 3). Além disso, esse hormônio apresentou

correlações médias com as concentrações séricas de testosterona tanto pela manhã quanto à tarde nos animais inteiros (Tab. 6). Tais fatos sugerem que o IGF-I atue no eixo hipotálamo-hipófise como fator permissivo à liberação de gonadotrofinas, como descrito por Brito (2006). O período entre coletas, possivelmente, dificultou a identificação do pico de IGF-I pré puberal.

Tabela 4 – Concentração sérica de IGF-I (ng/mL) nos animais inteiros e bloqueados durante o experimento

| Tratamento | Inteiro<br>(n=6)                 | Bloqueado<br>(n=4)            |
|------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Coleta 1   | 338,75 ± 75,8 <sup>a,A,B,C</sup> | 325,1 ± 71,1 <sup>a,B,C</sup> |
| Coleta 2   | 490,6 ± 91,3 <sup>a,A,B</sup>    | 365,9 ± 28,6 <sup>a,B</sup>   |
| Coleta 3   | 280,6 ± 10,9 <sup>a,C</sup>      | 254 ± 44,5 <sup>a,C</sup>     |
| Coleta 4   | 368,7 ± 46,6 <sup>a,B,C</sup>    | 372,5 ± 39,7 <sup>a,A,B</sup> |
| Coleta 5   | 439,9 ± 30,6 <sup>a,A</sup>      | 473,9 ± 71,1 <sup>a,A</sup>   |

Letras minúsculas e maiúsculas distintas nas linhas e colunas indicam diferenças pelos testes “t” de Student e “t” pareado ( $P < 0,05$ ), respectivamente. Nas colunas foi observado efeito de coleta dentro de tratamento e nas linhas foi avaliado o efeito de tratamento dentro de coleta.

Os perfis séricos de leptina dos animais inteiros e bloqueados não apresentaram alterações ao longo do experimento, nem entre os grupos e turnos (Fig. 3).

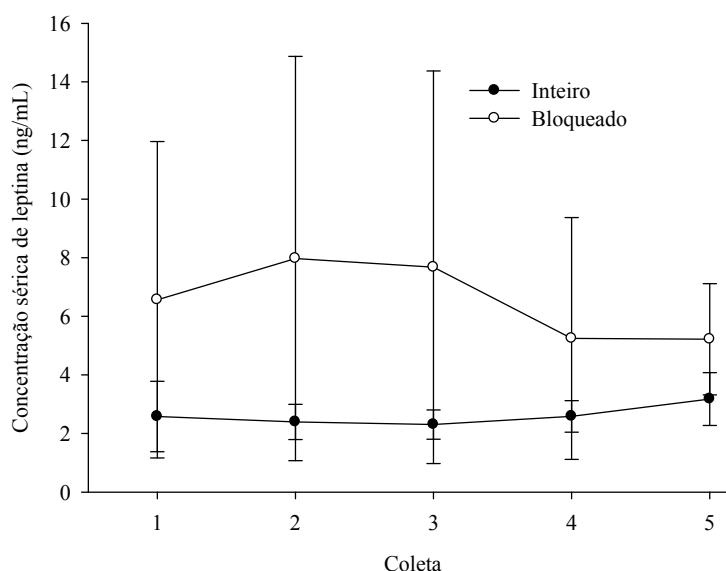


Figura 3 – Perfis séricos de leptina nos animais inteiros e bloqueados durante o experimento. Ausências de letras indicam que não há interações entre coletas e entre os grupos pelos de Friedman e de Mann Whitney ( $P > 0,05$ ), respectivamente. Para os animais inteiros controle  $n = 6$  e para os bloqueados  $n = 4$ .

Registraram-se altas correlações negativas entre o IGF-I e os defeitos espermáticos totais nos animais de ambos os grupos e com os defeitos espermáticos maiores nos animais bloqueados (Tab. 5 e 7). Esses resultados podem ser explicados através dos achados de Borland et al. (1984) e Spiteri-Grech e Nieschlag (1993) que observaram que esse hormônio exerce importante função

direta na gametogênese, uma vez que este hormônio atua facilitando o metabolismo da célula de Sertoli, o que disponibiliza nutrientes necessários para as células espermatogênicas.

As altas correlações entre o IGF-I, a circunferência escrotal e os defeitos espermáticos menores nos animais inteiros

(Tab. 5 e 6) podem ser explicado pelas correlações obtidas entre esse hormônio e a concentração sérica de testosterona tanto pela manhã quanto à tarde (Tab. 6), o que

sugere que o ser o IGF-I associado à secreção de testosterona sérica em machos zebuínos. Tal resultado foi observado por Brito (2006) em animais taurinos.

Tabela 5 - Correlações de Spearman entre as variáveis andrológicas, as concentrações séricas de testosterona pela manhã, pela tarde e de IGF-I nos animais inteiros

| Variáveis                                                                    | Valor de r/p* |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Defeitos espermáticos maiores x Porcentagem de espermatozóides móveis        | -0,35/0,05    |
| Defeitos espermáticos menores x Defeitos espermáticos totais                 | 0,39/0,02     |
| Defeitos espermáticos menores x Circunferência escrotal                      | -0,67/0,00001 |
| Defeitos espermáticos menores x Concentração sérica de testosterona de manhã | -0,64/0,00001 |
| Defeitos espermáticos menores x IGF-I                                        | -0,75/0,001   |
| Defeitos espermáticos totais x Circunferência escrotal                       | -0,59/0,001   |
| Defeitos espermáticos totais x Concentração sérica de testosterona de manhã  | -0,47/0,01    |
| Defeitos espermáticos totais x IGF-I                                         | -0,66/0,01    |
| Porcentagem de espermatozóides vivos x IGF-I                                 | -0,77/0,001   |

\*Coeficiente de correlação (r)/significância (p).

Tabela 6 - Correlações de Pearson entre a circunferência escrotal, as concentrações séricas de testosterona pela manhã, do IGF-I e dos diâmetros tubulares e luminais nos animais inteiros

| Variáveis                                                                | Valor de r/p* |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Circunferência escrotal x Concentração sérica de testosterona pela manhã | 0,68/0,001    |
| Circunferência escrotal x IGF-I                                          | 0,78/0,001    |
| Concentração sérica de testosterona pela manhã x IGF-I                   | 0,44/0,03     |
| Concentração sérica de testosterona à tarde x IGF-I                      | 0,49/0,01     |
| Diâmetro tubular x diâmetro luminal                                      | 0,83/0,04     |

\*Coeficiente de correlação (r)/significância (p).

Tabela 7 - Correlações de Spearman entre as variáveis andrológicas e as concentrações séricas IGF-I nos animais bloqueados

| Variáveis                                                             | Valor de r/p* |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------|
| Defeitos espermáticos maiores x Defeitos espermáticos totais          | 0,98/0,0001   |
| Defeitos espermáticos maiores x Porcentagem de espermatozóides móveis | -0,54/0,005   |
| Defeitos espermáticos maiores x Circunferência escrotal               | -0,56/0,003   |
| Defeitos espermáticos maiores x IGF-I                                 | -0,59/0,03    |
| Defeitos espermáticos totais x Porcentagem de espermatozóides móveis  | -0,57/0,002   |
| Defeitos espermáticos totais x Circunferência escrotal                | -0,58/0,002   |
| Defeitos espermáticos totais x IGF-I                                  | -0,61/0,03    |

\*Coeficiente de correlação (r)/significância (p).

Tabela 8 - Correlações de Pearson entre a circunferência escrotal, a concentração sérica de testosterona pela manhã e o diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero nos animais bloqueados

| Variáveis                                                              | Valor de r/p* |
|------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Circunferência escrotal x Concentração sérica de testosterona de manhã | 0,45/0,04     |
| Diâmetro tubular x altura do epitélio seminífero                       | 0,99/0,001    |

\*Coeficiente de correlação (r)/significância (p).

#### 4.0-Conclusão

O órgão vomeronasal possui importante função no desenvolvimento sexual em animais machos Nelore.

O órgão vomeronasal exerce importante função no controle da secreção de testosterona sérica em animais adultos, bloqueados na pré puberdade.

O IGF-I exerce função sinérgica com a testosterona na manutenção da espermiogênese em animais da raça Nelore.

#### 5.0-Referências bibliográficas

AGUIAR, G. V.; ARAÚJO, A. A.; MOURA, A. A. A. Desenvolvimento testicular, espermatogênese e concentrações hormonais em touros Angus. **R. Bras. Zootec.**, v. 35, n. 4, p. 1629-1638, 2006.

BAGU, E. T.; COOK, S.; GRATTON, C. L.; et al. Postnatal changes in testicular gonadotropin receptors, serum gonadotropin, and testosterone concentrations and functional development of the testes in bulls. **Reproduction**, v. 132, p. 403-411, 2006.

BARBOSA, R. T. **Comportamento sexual, biometria testicular, aspectos do sêmen e níveis plasmáticos de testosterona, em touros Canchim e Nelore**. 1987. 135p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

BARTH, A. D., OKO, R. Normal Bovine Spermatogenesis and Sperm Maturation. In: **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. 1ed. Iowa State University Press, Ames. 1989. Cap.3, p. 19-49.

BARTH, A. D. Pubertal development of Bos taurus beef bulls. **Anais do XXIII**

**Congresso Mundial de Buiatria.** Québec, Canadá, 2004.

BEDAIR, G. A. M.; THIBIER, M. Peripheral plasma androstenedione and testosterone concentrations in bulls before and during puberty. **J. Reprod. Fert.**, v. 56, p. 7-10, 1979.

BLACHE, D.; CHAGAS, L. M.; BLACKBERRY, M. A.; et al. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 120, p. 1-11, 2000.

BOOTH, K. K.; KATZ, L. S. Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in Sheep. **Biol. Reprod.**, v. 63, p. 953-958, 2000.

BORLAND, K.; MITA, M.; OPPENHEIMER, C. L.; et al. The actions of insulin-like growth factors I and II on cultured Sertoli cells. **Endocrinology**, v. 114, p. 240-246, 1984.

BRITO, L. F. C. **Nutrition, metabolic hormones, and sexual development in bulls.** Tese (Doutorado em Filosofia). 2006. 206f. University of Saskatchewan-Saskatoon.

CASTRO, A. C. S.; BERNDTSON, W. E.; CARDOSO, F. M. Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 35, p. 493-498, 2002.

DIAS, J. C. **Comportamento sexual, concentrações periféricas de testosterona e perfil cromatográfico de proteínas do sêmen com afinidade a heparina, em touros jovens da raça Guzerá.** 2008. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; et al. Effects of nutrition and metabolic

status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 78, p. 345-370, 2003.

DOVING, K. B.; TROTIER, D. Structure and function of the vomeronasal organ. **J. Experim. Biol.**, v. 201, p. 2913-2925, 1998.

DORRIES, K. M.; ADKINS-REGAN, E.; HALPERN, B. P. Olfactory sensitivity to the pheromone androstenone, is sexually dimorphic in the pig. **Physiol. Behav.**, v. 57, p. 255-259, 1995.

DULAC, C.; WAGNER, S. Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. **Annu. Rev. Genet.**, v. 40, p. 449-467, 2006.

GOVONI, K. E.; HOAGLAND, T. A.; ZINN, S. A. The ontogeny of the somatotrophic axis in male and female Hereford calves from birth to one year of age. **J. Anim. Sci.**, v. 81, p. 2811-2817, 2003.

HALPERN, M. The organization and function of the vomeronasal system. **An. Rev. Neurosci.**, v. 10, p. 325-362, 1987.

HART, B. L.; LEEDY, M. G. Stimulus and hormonal determinants of flehmen behavior in cats. **Horm. Behav.**, v. 21, p. 44-52, 1987.

KANEKO, N.; DEBSKI, E. A.; WILSON, M. C.; et al. Puberty acceleration in mice. II. Evidence that the vomeronasal organ is a receptor for the primer pheromone in male mouse urine. **Biol. Reprod.**, v. 22, p. 873-878, 1980.

KARE, R. M. Sentido especiais II: Paladar, olfato e audição. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais.** 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. v.1, cap.43, p. 750-752.

KELLIHER, K. R.; BAUM, M. J. Nares occlusion eliminates heterosexual partner selection without disrupting coitus in ferrets of both sexes. **J. Neurosci.**, v. 21, p. 5832-5840, 2001.

KEVERNE, E. B. Pheromones, vomeronasal function, and gender-specific behavior. **Cell**, v. 108, p. 735-738, 2002.

KOSCO, M. S.; LOSETH, K. J.; CRABO, B. G. Development of the seminiferous tubules after neonatal hemicastration in the boar. **J. Reprod. Fertil.**, v. 87, p. 1-11, 1989.

LACROIX, A.; GARNIER, D. H.; PELLETIER, J. Temporal fluctuations of plasma LH and testosterone in charolais bull calves during the first year of life. **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.**, v. 17, n. 6, p. 1013-1019, 1977.

LEAL, M. C.; BECKER-SILVA, S. C.; CHIARINI-GARCIA, H.; et al. Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). **Anim. Reprod.**, v. 1, n. 1, p. 122-128, 2004.

**MANUAL para exame andrológico e avaliação de sêmen animal.** 2ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 53 f.

MARTINS, J. A. M.; SOUZA, F. A.; FERREIRA, M. B. D.; et al. Desenvolvimento reprodutivo de tourinhos Gir selecionados para produção de leite. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 63, n. 6, p. 1277-1286, 2011.

MEREDITH, M.; FERNANDEZ-FEWELL, G. Vomeronasal system, LHRH, and sex behaviour. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, n. 5-7, p. 657-672, 1994.

MONET-KUNTZ, C.; DE REVIERS, M. T. H.; TERQUI, M. Variations in testicular androgen receptors and histology of the

lamb testis from birth to puberty. **J. Reprod. Fert.**, v. 70, p. 203-210, 1984.

MOURA, A. A.; ERICKSON, B. H. Testicular development, histology, and hormone profiles in three yearling angus bulls with spermatogenic arrest. **Theriogenology**, v. 55, p. 1469-1488, 2001.

OLIVEIRA, C. B.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; et al. Avaliação do comportamento sexual em touros Nelore: comparação entre os testes da libido em curral e do comportamento sexual a campo. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 36, p. 32-42, 2007.

ORGBIN-CRIST, M. C.; ELLER, B. C.; DANZO, B. J. The effects of estradiol, tamoxifen, and testosterone on the weights and histology of the epididymis and accessory sex organs of sexually immature rabbits. **Endocrinology**, v. 113, n. 5, p. 1703-1715, 1983.

PASTORE, A. A.; TONIOLLO, G. H.; LÔBO, R. B., et al. Características biométricas, testiculares, seminais e parâmetros genéticos de touros pertencentes ao programa de melhoramento genético da raça Nelore. **Ars Vet.**, v. 24, p. 134-141, 2008.

PRICE, E. O.; KATZ, L. S.; MOBERG, G. P.; et al. Inability to predict sexual and aggressive behaviors by plasma concentrations of testosterone and luteinizing hormone in Hereford bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 62, p. 613-617, 1986.

ROBAIRE, B.; VIGER, R. S. Regulation of epididymal epithelial cell functions. **Biol. Reprod.**, v. 52, p. 226-236, 1995.

RUSSELL, L. D.; KERSHAW, M.; BORG, K. E.; et al. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: FSH maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. **J. Androl.**, v. 19, n. 3, p. 308-319, 1998.

SALAZAR, I.; QUINTEIRO, P. S.; CIFUENTES, J. M. The soft-tissue components of the vomeronasal organ in pigs, cows and horses. **Anat. Histol. Embryol.**, v. 26, p. 179-186, 1997.

SENGER, P. L. Endocrinology of the male and spermatogenesis. In: \_\_\_\_\_. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2ed. Moscow: Current conceptions, Inc, 2003. Cap.10, p. 214- 239.

SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T., et al. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 31, p. 1157-1165, 2002.

SPITERI-GRECH, J.; NIESCHLAG, E. Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis - a review. **J. Reprod. Fert.**, v. 98, p. 1-14, 1993.

SHENNAWY, A. E.; GATES, R. J.; RUSSEL, L. D. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: cell viability after hormonal replacement in adults after intermediate periods of hypophysectomy. **J. Androl.**, v. 19, n. 3, 1998.

SHOW, M. D.; ANWAY, M. D.; FOLMER, J.S.; et al. Reduced intratesticular testosterone concentration alters the polymerization state of the sertoli cell intermediate filament cytoskeleton by degradation of vimentin. **Endocrinology**, v. 144, p. 5530-5536, 2003.

WAITES, G. M.; SPEIGHT, A. C.; JENKINS, N. The functional maturation of the Sertoli cell and Leydig cell in the mammalian testis. **J. Reprod. Fertil.**, v. 75, p. 317-326, 1985.

WOLF, F. R.; ALMQUIST, J. O.; HALE, E. B. Prepuberal behaviour and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient

allowance. **J. Anim. Sci.**, v. 24, n. 2, p. 761-765, 1965.

WYSOCKI, C. J.; KATZ, Y.; BERNHARD, R. Male vomeronasal organ mediates female induced testosterone surges in mice. **Biol. Reprod.**, v. 28, p. 917-922, 1983.

### Capítulo 3

#### **Comportamento sexual, altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos**

#### **Sexual behavior, vomeronasal organ sensory epithelium height, testosterone, IGF-I and leptin serum in pre pubertal Nelore males submitted to incisors duct obstruction**

##### **Resumo**

Objetivou-se com o estudo avaliar o comportamento sexual, a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, as concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em animais Nelore, criados extensivamente e submetidos à obstrução dos ductos incisivos no período pré puberal. Para tal foram utilizados 34 animais divididos em três grupos: G1-animais denominados inteiros (controle, n=11), G2-animais com os ductos incisivos bilateralmente cauterizados (bloqueados, n=10) e G3-animais castrados pelo método cirúrgico convencional (n=13). Os animais foram avaliados, a cada três meses, até a maturidade sexual, sendo realizadas cinco avaliações de libido e coletas de sangue. Para o abate, somente foram recomendados os animais que obtiveram 480 kg, onde foram coletados os órgãos vomeronasais para avaliação histológica. Ao final do estudo os resultados da quarta e quinta avaliações da libido dos G1 foram agrupados, a fim de se comparar a frequência dos eventos sexuais nos animais com alta (G4), média (G5) e baixa (G6) libido. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso. Os testes “t” e “t” de Student pareado, assim como, os de Kruskal Wallis e Friedman foram utilizados para avaliar os efeitos de tratamento e de período para as variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente. As coletas de sangue foram realizadas pela manhã (sete horas) e pela tarde (17 horas), em dias posteriores à avaliação da libido. Portanto, foram utilizados os testes “t” pareado e de Wilcoxon para observar efeitos de turno. Houve redução nos eventos de comportamentos sexuais, tentativa de monta (G1=1;G2=0;G3=0) e monta completa (G1=0;G2=0;G3=0), e no escore da libido (G1=3;G2=1;G3=1) no quarto teste nos animais bloqueados e castrados em relação aos inteiros. No quinto teste de libido houve aumento em cheirar e lambar (G1=1;G2=6,5;G3=3), assim como, diminuição no reflexo de flehmen (G1=5;G2=3;G3=1) nos animais bloqueados e castrados e redução do escore do libido (G1=2;G2=1,5;G3=1) nos castrados em relação aos inteiros. Registrou-se redução da concentração sérica de testosterona nas quarta (G1=10,3±1,3<sup>a</sup>; G2=5,7±1,23<sup>b</sup>ng/mL) e quinta (G1=8,9±2,05<sup>a</sup>; G2=2,7±1,3<sup>b</sup>ng/mL) coletas à tarde, e da altura do epitélio neuro sensitivo do OVN nos animais bloqueado (0,14±0,03<sup>b</sup>mm) e castrados (0,12±0,04<sup>b</sup>mm) em relação aos inteiros (0,17±0,03<sup>b</sup>mm). Os eventos sexuais das montas abortadas (G4=1;G5=0;G6=0) e completas (G4=1;G5=0;G6=0) foram maiores nos animais de alta libido, a tentativa (G4=1;G5=1;G6=0) e o impulso de monta (G4=1;G5=1;G6=0) foram menores nos animais de baixa libido e o reflexo de flehmen (G4=1;G5=6,5;G6=1,5) foi maior nos animais de média libido. Observou-se alta associação entre o reflexo de flehmen e a altura do epitélio neuro sensitivo do órgão vomeronasal nos animais bloqueados (r=0,75; P=0,05). Concluiu-se que a entrada dos estímulos sensoriais ao órgão vomeronasal por meio dos ductos incisivos é facilitado pelo reflexo de flehmen, exercendo importante função na secreção sérica de testosterona e nos comportamentos sexuais consumatórios. Cheirar e lambar a genitália da fêmea é uma tentativa olfatória de reparar deficiência na via olfatória acessória em animais

sexualmente experientes. Animais de baixa libido devem ser eliminados, sendo o impulso de monta e reflexo de flehmen devem receber maiores pontuações nos testes de libido de curta duração, em machos da raça Nelore.

Palavras chave: estímulo olfatório, experiência sexual, reflexo de flehmen, zebu

## Abstract

This study aimed to assess sexual behavior, height of the sensory epithelium of the vomeronasal organ, serum concentrations of testosterone, IGF-I and leptin in Nelore cattle raised extensively, and subjected to incisive duct obstruction in pre pubertal period. A total of 34 animals were divided into three groups as follows: G1-intact animals (control, n=11), G2-animals with incisors ducts cauterized bilaterally (blocked, n=10) and G3- animals conventional surgical orchiectomy (castrated, n=13). The animals were evaluated from pre puberty every three months until sexual maturity, being performed five evaluations, both of libido as the blood samples. Only animals weighing 1059,6 lb were slaughtered, and their vomeronasal organ were removed to measure neuro sensory epithelium height. At the end of the study the results of the fourth and fifth evaluate on libido of G1 were pooled in order to compare the frequency of sexual events in animals with high (G4), medium (G5) and low (G6) libido. A completely randomized experimental design was used and means of parametric and non parametric of variables were compared by "t" Student and Kruskal Wallis tests, respectively. The "t" paired and Friedman tests to evaluate the effects of period for the parametric and nonparametric variables, respectively. Blood samples were taken in the morning (seven hours) and in the afternoon late (17 hours) in days after the assessment of libido. The "t" paired and Wilcoxon tests were used to evaluate effects of shift. There was a reduction in the events of sexual behavior, attempted (G1=1;G2=0;G3=0) and complete (G1=0;G2=0;G3=0) mounts, and the libido score (G1=3;G2=1;G3=1) in the fourth test in the blocked and castrated animals in relation to control. In fifth libido test there was an increase in smell and lick (G1=1;G2=6,5;G3=3), a decrease in Flehmen reflex (G1=5;G2=3;G3=1) of the blocked and castrated animals, and reduction in the libido score (G1=2;G2=1,5;G3=1) of the castrated animals in relation to the control. Reductions of serum testosterone were observed in the fourth (G1=10.3±1.3<sup>a</sup>; G2=5.7±1.23<sup>b</sup>ng/mL) and fifth (G1=8.9±2.05<sup>a</sup>; G2=2.7±1.3<sup>b</sup>ng/mL) collections performed afternoon, and in the height of the epithelium of the VNO sensory neuron in the blocked (0.14±0.03<sup>b</sup>mm) and castrated (0.12±0.04<sup>b</sup>mm) animals in relation to the control (0.17±0.03<sup>b</sup>mm). The sexual events of the aborted (G4=1;G5=0;G6=0) and complete (G4=1;G5=0;G6=0) mounts were higher in libido high animals, attempting (G4=1;G5=1;G6=0) and impulse (G4=1;G5=1;G6=0) mounts were lower in libido low animals and Flehmen reflex (G4=1;G5=6,5;G6=1,5) was higher in libido average animals. There was a high association between Flehmen reflex and neuro sensory epithelium of the vomeronasal organ height in the blocked animals (r=0.75; P=0.05). It was concluded that the input of sensory stimuli to the vomeronasal organ through the ducts incisors is facilitated by Flehmen reflex, playing an important role in serum testosterone and on consummatory sexual behavior. Smell and lick the female genitalia is an attempt to repair deficiency in accessory olfactory sistem in sexually experienced animals. Animals with libido low should be eliminated. The mount impulse and Flehmen reflex should receive higher scores on tests of short-term libido, male Nelore.

Key-words: *Bos taurus indicus*, olfactory stimuli, reflex Flehmen, sexual experience.

## 1.0-Introdução

O touro Nelore exerce alta prevalência de reflexo de flehmen (28 %), de cheirar e lambar a genitália da fêmea (40 %) em testes de comportamento sexual realizados em curral (Oliveira et al., 2007). Tais aspectos sugerem que os estímulos olfatórios exercem elevada importância na ativação do comportamento sexual de touros zebus.

O órgão vomeronasal (OVN) é uma estrutura tubular quimiorreceptora do sistema olfatório acessório, responsável pela detecção de feromônios. Este órgão está localizado na base do septo nasal e se comunica com a cavidade oral por intermédio dos ductos incisivos que se abrem no palato lateralmente à papila incisiva (Halpern, 1987).

Histologicamente, o OVN de bovinos apresenta modificações no epitélio. A nível do ducto incisivo este órgão apresenta epitélio do tipo respiratório. O resto do órgão é revestido por epitélio neuro sensorial na parede medial, enquanto que na parede lateral continua sendo do tipo respiratório (Salazar et al., 1997).

Do OVN emerge um par de nervos que atravessa a lâmina crivosa do etmoide e atinge o bulbo olfatório acessório. Este bulbo apresenta conexões aferentes com o núcleo amigdalóide, que por sua vez faz conexão com o hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006). Desta forma, o OVN também possui ligações com o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, influenciando a liberação de GnRH, a qual controla a secreção de LH e de esteroides. Contudo, a associação do OVN na secreção de esteroides é dependente da experiência sexual (Doving e Trotter, 1998).

A percepção olfatória, nos mamíferos, se dá através de duas vias. A primeira é constituída pelo sistema olfatório principal e a segunda pelo sistema olfatório do órgão

vomeronasal (OVN) ou via do sistema olfatório acessório (Dulac e Wagner, 2006). No sistema olfatório acessório as informações periféricas são captadas pelo OVN. Este órgão processa a informação e conduz os estímulos sensoriais até o bulbo olfatório acessório através dos nervos vomeronasais. A partir do bulbo olfatório acessório as informações são levadas até o hipotálamo fazendo sinapses nos núcleos amigdalóides mediais e no “bed-núcleo” da estria terminal. No sistema olfatório principal a informação periférica é captada pelas células bipolares da mucosa olfatória e conduzida para o nervo olfatório, que leva os estímulos para o bulbo olfatório principal, que por sua vez estabelece sinapses com os núcleos do complexo amigdalóide e deste complexo partem fibras que estabelecem conexões com o hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006). Dessa forma, ambas as vias olfatórias se conectam ao hipotálamo.

O reflexo de flehmen consiste na elevação e enrugamento do lábio superior acompanhado da dilatação das narinas. Durante sua exibição, o animal estende a cabeça e realiza forte inalação. Este comportamento é um mecanismo fisiológico destinado a facilitar a condução de feromônios para o órgão vomeronasal (Hart e Leedy, 1987). Lambar a genitália feminina é outro mecanismo utilizado pelos touros para detectar os sabores e odores que identificam as fêmeas em estro. O touro usa a língua com o intuito de comprimir o plexo palatino, causando alteração na pressão do órgão vomeronasal e através deste mecanismo as substâncias químicas são aspiradas para o lúmen do OVN (Kare et al., 1996). Portanto, além do reflexo de flehmen, o ato de lambar também pode atuar conduzindo feromônios ao OVN. Kelliher e Baum (2001) descreveram que o ato de cheirar as secreções vaginais é comportamento relacionado à condução de estímulos para o sistema olfatório principal.

A detecção de odores é função atribuída ao epitélio olfatório principal enquanto que a identificação de feromônios é considerada função do OVN (Doving e Trotier, 1998). Esta separação drástica da identificação de odores tem sido recentemente contestada (Dulac e Wagner, 2006). A detecção de odores é uma função que varia em cada espécie. Por exemplo, em suínos (Dorries et al., 1995) e furões (Kelliher e Baum, 2001) o sistema olfatório principal é responsável pela detecção de feromônios sexuais. De outro modo, o sistema do OVN é responsável no controle do comportamento maternal em ovinos (Booth e Katz, 2000) e do comportamento sexual de machos e fêmeas de hamsters (Kaneko et al., 1980).

Existe também plasticidade entre os dois sistemas olfatórios podendo um deles assumir as funções do outro (Meredith e Fernandez-Fewell, 1994). Desta forma, animais com experiência sexual prévia, podem identificar feromônios utilizando o sistema olfatório principal com integridade ou não do OVN. Nos jovens sem experiência sexual a detecção de feromônios é feita por meio do sistema olfatório do OVN. Por estes motivos, o bloqueio do órgão vomeronasal tem exercido pouca influência em animais sexualmente experientes (Doving e Trotier, 1998).

A experiência sexual prévia (Phelps et al., 1998) e elevados níveis séricos de testosterona (Mcginnis et al., 1996) são fatores que influenciam o comportamento sexual de machos. Foi registrado que os andrógenos atuam como mecanismo facilitador de comportamento sexual consumatório. Esta atividade é registrada pelos respectivos receptores na área pré óptica medial do hipotálamo (Mcginnis et al., 1996). Entretanto, existem também fatores ligados à expressão do comportamento sexual que respondem de forma diferente às variações nos níveis séricos de testosterona (Price et al., 1986; McGinnis et al., 1996), uma vez que a

redução da atividade sexual em animais castrados apresenta grande variabilidade no período após a emasculação (Senger, 2003). Este fato contribui para dificultar ainda mais as interpretações das funções dos dois sistemas olfatórios. Outros hormônios como o fator de crescimento semelhante a insulina tipo I (IGF-I) (Cardona-Gómez et al., 2003) e a Leptina (Ammar et al., 2000) participam na manifestação da libido em roedores, porém existem poucos estudos que associam esses hormônios à libido em machos zebuínos. Além disso, estes hormônios possuem função de sinalizadores metabólicos que controlam a liberação de gonadotrofinas e esteroides por intermédio de sua ação no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Brito, 2006).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do bloqueio do órgão vomeronasal mediante a obstrução dos ductos incisivos sobre o comportamento sexual e a altura do epitélio neuro sensitivo do OVN em machos da raça Nelore sexualmente inexperientes (pré púberes), bem como, suas associações com as concentrações séricas de testosterona, IGF-I e leptina.

## **2.0-Material e Método**

### **Período experimental e localização**

Este estudo foi conduzido entre os meses de janeiro de 2008 à maio de 2009 na Fazenda Santo Antônio das Granjas Reunidas, município de Engenheiro Navarro, norte do estado de Minas Gerais, Brasil. A fazenda tem como coordenadas geográficas 16°72'S de latitude e 43°87'W de longitude e situa-se em área de Cerrado. A região apresenta clima quente e úmido com temperaturas máxima e mínima de 30,8 e 17,2 °C, com precipitação pluviométrica média anual 1082 mm<sup>3</sup>. Dois períodos climáticos são observados: o seco que se estende de abril a setembro e o chuvoso de outubro a março.

### **Animais**

Foram utilizados 34 animais machos da raça Nelore pré púberes com idade média  $14,6 \pm 1,15$  meses, peso corporal médio  $244,2 \pm 13,4$  Kg e circunferência escrotal média  $20,5 \pm 1,4$  no início do experimento, criados em piquetes homogêneos com regime de pastejo extensivo. Durante o período da seca, os animais foram mantidos em pastagens irrigadas com pivô central. Os animais foram divididos em três grupos com 15 animais. Após descartes devido a perdas de peso nos primeiros 30 dias do estudo e padronização racial, os grupos foram constituídos da seguinte forma: o grupo um, denominado inteiro, foi constituído por 11 indivíduos, os quais não passaram por nenhum procedimento, sendo também considerado o grupo controle. O grupo dois, denominado bloqueado, composto por 10 indivíduos que tiveram seus ductos incisivos bilateralmente obstruídos. O grupo três, denominado castrado, constituído por 13 indivíduos, os quais foram orquiectomizados bilateralmente.

Para as análises séricas de testosterona, leptina e IGF-I foram inicialmente amostrados aleatoriamente sete animais para cada grupo. Após os descartes, foram considerados para as análises seis, quatro e seis animais, respectivamente, dos grupos relacionados acima.

Ao final do experimento foram abatidos 20 animais que atingiram peso corporal maior do que 480 Kg, sendo oito animais do grupo inteiro, sete do grupo bloqueado e cinco do grupo castrado. Durante o abate, foram retirados os órgãos vomeronasais para análise morfométrica. Procedeu-se o abate dos animais num frigorífico credenciado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Frigorífico Independência<sup>®</sup>), em Janaúba-MG, Brasil.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária, da

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e nos Laboratórios de Biologia da Reprodução e de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

#### Castração e bloqueio do órgão vomeronasal

A castração cirúrgica foi realizada seguindo o método da orquiectomia bilateral convencional (Padua et al., 2003). A obstrução dos ductos incisivos foi realizada bilateralmente por meio do óstio palatino mediante cauterização com termo cautério (Booth e Katz, 2000). Para realizar este procedimento foi inicialmente realizada a antisepsia local no duto incisivo e na parte rostral do palato utilizando álcool etílico a 70° e nitrato de prata 1:1.000. A anestesia local foi realizada infiltrando cinco mL de lidocaína a 2.5 % Pearson<sup>®</sup>, ao redor da papila incisiva. Os protocolos de castração bilateral e cauterização dos ductos incisivos seguiram os procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética da UFMG (protocolo CETEA 159/09).

#### Avaliação da libido

A avaliação da libido foi conduzida em um curral medindo aproximadamente 220 m<sup>2</sup>, de terra batida com superfície plana e cercada por pranchas de madeira encaixadas, de modo a não deixar pontas. Para análise do teste da libido, foram utilizadas cinco fêmeas soltas e adultas da raça Nelore com bom estado físico e clinicamente sadias. Vinte e quatro horas precedentes ao teste da libido utilizaram-se duas doses de cipationato de estradiol (ECP<sup>®</sup>, 5 ml) e uma dose de dinoprost trometamina (Lutalyse<sup>®</sup>, 5 ml) administradas por via intramuscular, afim de sincronizar o cio das fêmeas utilizadas para interpretação do teste. Em aproximadamente meia hora antes do teste da libido, os sinais clínicos do cio foram observados levando em consideração as seguintes características: edema vulvar com secreção mucosa clara, base da cauda ligeiramente afastada,

comportamento agitado e com atitude de querer montar as outras vacas.

Todas as avaliações foram realizadas no período da manhã, tendo seu início às 07:00 am, com temperatura média de 28°C, na ausência de chuvas. Para cada teste de libido, dois machos foram amostrados aleatoriamente e conduzidos ao curral onde estavam cinco vacas em cio induzido. O comportamento sexual de cada macho foi observado e registrado durante cinco minutos, por três observadores, os quais não tinham conhecimento do grupo ao qual pertencia cada animal, posicionados em locais estratégicos no curral para que não fossem percebidos pelos animais, de acordo com Salvador et al. 2003 e Dias et al. 2009. Cinco repetições dos testes de libido foram

realizados nas seguintes datas: janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009. Nessas, os animais possuíam os seguintes pesos corporais e idades com seus desvios padrão: 244,2 ± 13,4 e 14,6 ± 1,15; 298,5 ± 17,8 e 18,6 ± 1,15; 328,4 ± 18,5 e 20,7 ± 1,15; 359,2 ± 19,8 e 24 ± 1,15; 436,8 ± 24 e 27,7 ± 1,15.

Cada comportamento sexual manifestado foi anotado em planilhas identificadas, a fim de se obter o seu número total. Ao final, foi realizada a média dos observadores para cada comportamento. A pontuação dos escores da libido foi realizada segundo propostas realizadas por Chenoweth et al. (1979) e Vale Filho et al. (1994), abaixo discriminadas:

Tabela 1 – Atitudes manifestadas pelos animais no teste de libido em curral, durante cinco minutos de observação

| Identificação | Atitudes sexuais                             | Definição                                                                                                                           |
|---------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0             | Sem interesse sexual                         | Não demonstra interesse                                                                                                             |
| 1             | Cheirar e lamber a genitália da fêmea (CH/L) | Sem esboçar flehmen;                                                                                                                |
| 2             | Perseguição ativa (PA)                       | Animal segue a vaca ativamente;                                                                                                     |
| 3             | Reflexo de Flehmen (RF)                      | Ergue a cabeça, enrugando o nariz, eleva a comissura labial superior, sugando o odor;                                               |
| 4             | Impulso de monta (IM)                        | Movimento súbito do animal em direção a fêmea, às vezes vocalizando ou abanando a cauda, sem retirar os membros anteriores do solo; |
| 5             | Tentativa de monta (TM)                      | Animal segue subitamente em direção à fêmea elevando os membros anteriores do solo em qualquer posição (sem penetração do pênis);   |
| 6             | Monta incompleta ou abortada (MA)            | Animal monta com ou sem ereção do pênis, mas sem ejaculação (salto em posição adequada ao posterior da fêmea);                      |
| 7             | Monta completa (MC)                          | Animal realiza o salto com ereção, penetração e movimento de galeio;                                                                |

Adaptado de Chenoweth et al., (1979); Vale Filho et al., (1994), Dias et al., (2009);

Quanto a libido, usou-se como classificação: comportamento 0: animal não demonstrou interesse sexual (escore 0); comportamentos 1 a 3: libido fraca, apenas identifica a fêmea em cio (escore 1); comportamentos 4 a 5: libido média, identifica a fêmea em cio e testa sua receptividade (escore 2); comportamentos 6 e 7: libido alta, serviço completo, identifica o cio, testa a receptividade e promove a ejaculação (escore 3).

#### Avaliação dos níveis séricos de testosterona, IGF-I e leptina

Para avaliar os níveis séricos de testosterona, de leptina e de IGF-I foram realizadas coletas de sangue pela manhã (às sete horas), e no período da tarde (às 17 horas) sem levar em conta o horário de verão para a região sudeste do Brasil, sempre no dia seguinte ao teste de libido. Estes horários foram definidos de acordo com os picos diários de testosterona como estabelecido por Barbosa (1987) e Senger (2003). Cinco repetições das coletas de sangue foram realizadas nas seguintes datas: janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009, realizados nos dias seguintes à avaliação da libido. Nessas, os animais possuíam os seguintes pesos corporais e idades com seus desvios padrão:  $244,2 \pm 13,4$  e  $14,6 \pm 1,15$ ;  $298,5 \pm 17,8$  e  $18,6 \pm 1,15$ ;  $328,4 \pm 18,5$  e  $20,7 \pm 1,15$ ;  $359,2 \pm 19,8$  e  $24 \pm 1,15$ ;  $436,8 \pm 24$  e  $27,7 \pm 1,15$ .

O sangue foi coletado a vácuo por punção da veia jugular externa. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 300 g durante 10 minutos, a fim de se obter o plasma, que foi armazenado no interior de botijões contendo nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises. As dosagens da testosterona e IGF-I foram realizadas seguindo técnicas de radioimunoensaio (RIE), utilizando-se kits comerciais da DSL-4000<sup>®</sup> e da Immunotech<sup>®</sup>, respectivamente. A leptina foi analisada por intermédio do kit de ELISA E90084Bo da Usen<sup>®</sup>, com anticorpos

específicos para bovinos. Todos os kits utilizados foram obtidos por meio da Gênesis Science<sup>®</sup>. Todas as amostras foram testadas em duplicatas seguindo os procedimentos de ensaio realizados conforme suas bulas. Os coeficientes de variação intra e inter ensaio para a testosterona, IGF-I e leptina foram respectivamente, 1,27 e 2,42; 3,8 e 5,1 e 2,42 e 4 %.

#### Avaliação histomorfométrica dos órgãos vomeronasais

No abatedouro, após o sacrifício dos animais, as cabeças foram identificadas na linha de abate para posterior transecção e retirada dos órgãos vomeronasais. Para obterem cortes homogêneos do OVN foram realizadas secções da região nasal do animal a nível do primeiro pré molar superior (Salazar et al., 1997). As amostras foram fixadas em líquido de Bouin (Pannocchia et al., 2008), até o momento de análise.

Os fragmentos fixados foram lavados em solução Ringer bicarbonato e posteriormente, desidratados em concentrações crescentes de etanol. Após esse procedimento, as amostras foram infiltradas e incluídas em glicol metacrilato (Tecnovit 7.200<sup>®</sup>) (Russell et al., 1998). Posteriormente, os blocos foram seccionados em ultramicrotomo Reichert-Jung, obtendo-se cortes de três mm de espessura, montados em lâminas histológicas e corados pelo azul de toluidina-0.5 % com borato de sódio a 1 %, conforme técnica de rotina LABRE-ICB-UFMG. De cada fragmento foram confeccionadas três lâminas com quatro cortes cada uma.

A mensuração histomorfométrica do epitélio sensitivo do OVN foi realizada utilizando-se microscópico Nikon<sup>®</sup> com contraste de fase, modelo eclipse 50i trinocular, o qual encontrava-se acoplado a câmara Motic<sup>®</sup> de 3.0 megapixels. As imagens foram digitalizadas e medidas utilizando-se o programa de análise (Motic Images Plus

2.0<sup>®</sup>). A altura do epitélio do OVN foi mensurada, tendo como base para análise a média das fotografias obtidas nos diferentes campos, cada qual com quatro mensurações, tanto do órgão esquerdo quanto o direito.

#### Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se dos recursos computacionais do pacote estatístico Statistica versão 5 de 1996. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso. Todas as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Quando necessário foi aplicada transformação logarítmica das variáveis.

Para se avaliar a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal foi realizado teste de “t” de Student. Esse teste também foi utilizado para a análise das diferenças entre os tratamentos para as concentrações séricas de testosterona e IGF-I, sendo que para essas variáveis foi utilizado o teste “t” de Student pareado, a fim de verificar os efeitos de turno e de coleta em cada tratamento.

Para as variáveis, concentrações séricas de Leptina e do comportamento sexual (frequências dos eventos e escore da libido), o teste de comparação das médias utilizado foi o de Kruskal Wallis. Os testes de Wilcoxon e de Friedman foram utilizados para avaliar os efeitos de turno e de coleta dentro de cada tratamento, respectivamente. A correlação de Spearman entre todas as variáveis estudadas foi estimada. Considerou-se o nível de 5% de significância.

No quarto e quinto testes de libido, os eventos sexuais dos animais inteiros foram comparados entre os indivíduos com libido alta, média e baixa através do teste de Kruskal Wallis.

### 3.0-Resultados e Discussão

#### Comportamento sexual

O presente trabalho se constitui como a primeira proposta para estudar as modificações do comportamento sexual de touros Nelore com os ductos incisivos obstruídos. Os resultados quanto ao comportamento sexual dos animais ao longo do estudo constam na tabela 2. O bloqueio dos ductos incisivos alterou o comportamento sexual dos machos da raça Nelore nos quarto e quinto teste de libido.

Os eventos do comportamento sexual do grupo de inteiro, bloqueado e castrado não apresentaram diferenças significativas ( $P>0,05$ ) até o terceiro teste de libido, quando os animais tinham  $20,7 \pm 1,15$  meses de idade. Nesses testes de libido também se observou baixa frequência dos eventos sexuais avaliados. Estes resultados eram esperados, uma vez que até nessa data os animais encontravam-se impúberes. Essas observações assemelharam-se com as de Price e Wallach (1991), que reportaram que a avaliação da libido, em animais no período pré puberal, não prediz satisfatoriamente o comportamento sexual de animais adultos. Vale destacar, que apesar de se terem registrados aumentos nos escores da libido no quarto e quinto teste nos animais inteiros, de modo geral, houve baixas frequências nas manifestações de comportamentos sexuais como impulso e tentativa de monta, e das montas abortadas e completas. Esses resultados são similares aos de Costa e Silva (1994), Pineda et al. (2000), Costa e Silva (1999), Salvador et al. (2003), Oliveira et al. (2007) e Dias et al. (2009), que trabalharam com animais *Bos taurus indicus*. Portanto, esse resultado sugere que altas frequências de eventos sexuais como cheirar e lamber e de reflexo de flehmen em testes de avaliação do comportamento sexual, mesmo quando se aumenta o tempo de avaliação, seja uma característica do touro zebu e que, possivelmente, estímulos olfatórios sejam importantes na pré estimulação sexual nesta espécie.

No quarto teste de libido os animais inteiros apresentaram maior desempenho no evento sexual de tentativa de monta em relação aos animais bloqueados ( $P<0,05$ ) e aos castrados ( $P<0,05$ ), quando os animais inteiros apresentaram um incremento nos níveis séricos de testosterona (Tab. 5). Esses resultados, mais as altas correlações observadas entre ambos as variáveis (Tab. 7), demonstram que esse evento sexual está intimamente relacionado às flutuações dos níveis séricos de testosterona. O evento sexual de monta completa, apesar de não ter sido demonstrada associação direta com as concentrações séricas de testosterona, também se mostrou altamente dependente de elevados níveis circulantes do andrógeno, uma vez que este comportamento sexual apresentou uma elevação súbita no quarto teste de libido (Tab. 2). Essas observações assemelham-se com as de McGinnis et al. (1996), que reportaram que os comportamentos sexuais consumatórios são altamente dependentes de altas concentrações de andrógenos em roedores. Esse fato também contribui para justificar a redução desses eventos sexuais nos animais castrados e bloqueados na quarto teste de libido, uma vez que foi registrada menor ( $P<0,05$ ) concentração sérica de testosterona pela tarde nos animais bloqueados (Tab. 5).

Ainda no quarto teste, o escore da libido foi maior nos animais inteiros ( $P<0,05$ ). Considerando que este parâmetro é o conjunto de todos os eventos sexuais, pode-se considerar que neste teste de libido, fica demonstrado que os animais bloqueados e castrados apresentaram menor desempenho da atividade sexual, sendo que esta foi dependente dos eventos sexuais consumatórios e dos níveis séricos dos andrógenos. Esse fato pode ser reforçado pelas altas correlações registradas entre o escore da libido e o evento sexual de monta abortada nos animais inteiros (Tab. 7).

Tabela 2 – Mediana da frequência dos eventos sexuais e escores da libido manifestados durante os testes de comportamento sexual nos animais dos três tratamentos ao longo do experimento

| Tratamento | Evento Sexual | Inteiro (n=11)     | Bloqueado (n=10)     | Castrado (n=13)    |
|------------|---------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Teste 1    | CH/L          | 0 <sup>b</sup>     | 0 <sup>c</sup>       | 0 <sup>c</sup>     |
|            | RF            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0 <sup>a,b,c</sup> |
|            | PA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | IM            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | TM            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | MA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | MC            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | ESCL          | 0 <sup>c</sup>     | 0 <sup>b</sup>       | 1 <sup>b,c</sup>   |
| Teste 2    | CH/L          | 0 <sup>b</sup>     | 0 <sup>c</sup>       | 0 <sup>c</sup>     |
|            | RF            | 1 <sup>b</sup>     | 1                    | 0 <sup>b,c</sup>   |
|            | PA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | IM            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | TM            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | MA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | MC            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | ESCL          | 1 <sup>b,c</sup>   | 1 <sup>a,b</sup>     | 0 <sup>c</sup>     |
| Teste 3    | CH/L          | 1 <sup>a</sup>     | 0 <sup>b,c</sup>     | 2 <sup>b</sup>     |
|            | RF            | 1 <sup>b</sup>     | 0                    | 1 <sup>a,b</sup>   |
|            | PA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | IM            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | TM            | 0 <sup>a,b</sup>   | 0                    | 0                  |
|            | MA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | MC            | 0 <sup>a,b</sup>   | 0                    | 0                  |
|            | ESCL          | 1 <sup>a,b,c</sup> | 1 <sup>a,b</sup>     | 1 <sup>a,b</sup>   |
| Teste 4    | CH/L          | 3 <sup>a,A</sup>   | 2 <sup>b,A,B</sup>   | 1 <sup>b,B</sup>   |
|            | RF            | 1 <sup>b</sup>     | 1                    | 0 <sup>c</sup>     |
|            | PA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | IM            | 0 <sup>a,b</sup>   | 0                    | 0                  |
|            | TM            | 1 <sup>a,A</sup>   | 0 <sup>B</sup>       | 0 <sup>B</sup>     |
|            | MA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | MC            | 0 <sup>a,A</sup>   | 0 <sup>B</sup>       | 0 <sup>B</sup>     |
|            | ESCL          | 3 <sup>a,A</sup>   | 1 <sup>a,B</sup>     | 1 <sup>a,b,B</sup> |
| Teste 5    | CH/L          | 1 <sup>a,B</sup>   | 6,5 <sup>a,A</sup>   | 3 <sup>a,A</sup>   |
|            | RF            | 5 <sup>a,A</sup>   | 3 <sup>B</sup>       | 1 <sup>a,B</sup>   |
|            | PA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | IM            | 1 <sup>a,A</sup>   | 0 <sup>A</sup>       | 0 <sup>B</sup>     |
|            | TM            | 0 <sup>a</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | MA            | 0                  | 0                    | 0                  |
|            | MC            | 0 <sup>b</sup>     | 0                    | 0                  |
|            | ESCL          | 2 <sup>a,b,A</sup> | 1,5 <sup>a,A,B</sup> | 1 <sup>a,B</sup>   |

Letras distintas minúsculas e maiúsculas indicam diferenças entre médias pelos testes de Friedman e de Kruskal Wallis ( $P < 0,05$ ), respectivamente. Letras minúsculas e maiúsculas representam efeitos de teste dentro de tratamento (colunas) e de tratamento dentro de cada teste (linhas), respectivamente. Ausências de letras indicam que não há diferenças entre médias ( $P > 0,05$ ). CH/L: cheirar e lambear a genitália da fêmea; RF: reflexo de flehmen; PA: perseguição ativa; IM: impulso de monta; TM: tentativa de monta; MA: monta abortada; MC: monta completa; ESCL: escore da libido.

No quinto teste de libido, a frequência do reflexo de flehmen apresentou aumento nos animais inteiros ( $P<0,05$ ) e foi maior em relação aos animais bloqueados e castrados ( $P<0,05$ ). Esses resultados evidenciam que esse evento sexual depende da concentração sérica de testosterona e dos estímulos olfatórios pelo órgão vomeronasal. Esse fato foi demonstrado pelo resultado obtido entre as correlações do reflexo de flehmen e da altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal nos animais bloqueados (Tab. 8), assemelhando-se às observações de Hart e Leedy (1987), os quais descreveram que o reflexo de flehmen é um comportamento facilitador da condução dos feromônios sexuais ao OVN.

No quinto teste de libido, observou-se que a frequência do evento sexual de cheirar e lambe foi menor nos animais inteiros ( $P<0,05$ ). Nesse mesmo teste de libido, observou-se aumento desse evento sexual nos animais bloqueados e castrados ( $P<0,05$ ). Esses resultados sugerem que o aumento desse comportamento sexual nos animais bloqueados, possivelmente, foi uma tentativa olfatória de reparar o bloqueio do OVN e, por esse motivo, os eventos sexuais de impulso de monta e do escore da libido foram semelhantes entre os animais inteiros e bloqueados ( $P>0,05$ ), apesar da concentração sérica de testosterona pela tarde também ser menor nos animais bloqueados no quinto teste de libido (Tab. 5). Esse fato também foi observado por Meredith (1986), que registrou que machos roedores sem o OVN, após adquirirem experiência sexual, mantiveram comportamento copulatório normal, até que sulfato de zinco foi aplicado na mucosa olfatória. A observação de que o impulso de monta foi o único comportamento sexual altamente correlacionado com o escore da libido nos animais bloqueados (Tab. 8), reforça essa hipótese.

O evento sexual de impulso de monta apresentou aumento nos animais inteiros no

quinto teste de libido ( $P<0,05$ ). Nesse teste foi observada menor performance desse comportamento apenas nos animais castrados ( $P<0,05$ ). Tais resultados sugerem que esse evento sexual depende de determinado nível sérico de testosterona, mas não de altas concentrações diárias. Por este motivo, o evento sexual de impulso de monta não diminuiu nos animais bloqueados, uma vez que o bloqueio do OVN não alterou a concentração sérica de testosterona pela manhã ( $P>0,05$ ). A explicação para esses resultados, talvez, seja o fato de que as concentrações séricas de testosterona não sejam o único fator que regula o comportamento sexual de machos. Desta forma, Dominguez e Hull (2005) descreveram que quando os corpos amigdalóides são estimulados, estes, por intermédio de suas projeções dos neurônios glutamatérgicos, secretam o glutamato em regiões hipotalâmicas. O glutamato liberado por sua vez estimula a liberação de óxido nítrico, por meio da ativação da óxido nítrico sintetase. A liberação do óxido nítrico estimula a liberação de dopamina na região hipotalâmica, que é determinante para a expressão do comportamento sexual do macho, uma vez que esta reduz a inibição tônica do sistema GABAérgico (ácido amino gama butírico) facilitando as atividades consumatórias durante a cópula. Em adição, a liberação de dopamina também é mediada pela testosterona (Hull et al., 1999). Como a estimulação dos núcleos amigdalóides pode ser exercida tanto pelo sistema olfatório principal quanto pelo sistema olfatório acessório (Dulac e Wagner, 2006), é plausível que os estímulos olfatórios exercem função sinérgica com a testosterona na expressão do comportamento sexual. Desta forma, o aumento de cheirar e lambe no quinto teste de libido deve ter compensado a redução dos níveis séricos de testosterona pela tarde nos animais bloqueados para que os mesmos manifestassem comportamentos sexuais semelhantes a animais inteiros. Essa compensação, no entanto, não foi eficaz nos

animais castrados, possivelmente, em razão do fato de que seus níveis séricos de testosterona não são suficientes para atuar sinergicamente com as atitudes estimulatórias de cheirar e lambar (Keverne, 2002; Hull et al., 2004), como demonstrado pela redução do escore da libido e impulso de monta destes, em relação aos animais inteiros (Tab. 2).

Além dos estímulos olfatórios e da concentração sérica de testosterona, a experiência sexual também promove facilitação da secreção de dopamina durante o ato sexual em machos roedores (Phelps et al., 1998). Esse fato talvez também possa justificar as diferenças observadas entre os animais inteiros e os bloqueados no quarto teste, assim como, as igualdades dos mesmos quanto aos comportamentos sexuais e escore da libido no quinto teste, dado que do quarto para o quinto teste de libido os animais possam ter adquirido experiência sexual.

No quinto teste de libido os animais bloqueados apresentaram aumento do evento sexual de cheirar e lambar ( $P < 0,05$ ), enquanto que os animais inteiros apresentaram aumento no impulso de monta e no reflexo de flehmen ( $P < 0,05$ ). Nos animais inteiros e bloqueados, o impulso de monta foi semelhante e altamente correlacionado com o escore de libido (Tab. 7 e 8). Desta forma é plausível considerar que cheirar e lambar possa ter substituído o reflexo de flehmen para desencadear manifestação do impulso de monta. Esta substituição induziu a expressão da atividade sexual dos animais bloqueados. Assim sendo, o impulso de monta parece ter uma ligação com os estímulos olfatórios. Costa e Silva (1994) descreveu o impulso de monta como estratégia de excitação sexual. Sabe-se que a região do sistema nervoso central que controla os mecanismos responsáveis pela excitação sexual é o corpo amigdalóide (Lehman et al., 1980) e que os sistemas olfatórios, principal e acessório, possuem

projeções para o corpo amigdalóide (Keverne, 2002). Na análise destes conhecimentos, pode-se afirmar que o impulso de monta é um comportamento regulado por essa região do sistema nervoso central que possui conexões comuns às duas vias olfatórias. Portanto, isso explica a associação deste comportamento com os estímulos olfatórios e, provavelmente, com a liberação de dopamina, compensando reduções diárias dos níveis séricos de testosterona.

Desta forma, esses achados concordam com a hipótese de Santos (2001), na qual o impulso de monta é um comportamento adaptativo das espécies zebuínas às condições tropicais, sujeitas a variações nutricionais com flutuações diárias nos níveis séricos de testosterona. Esta flutuação da testosterona sérica diária foi observada nesse estudo na terceira coleta de sangue que ocorreu no período de seca, quando a concentração sérica de testosterona foi significativamente menor à tarde nos animais inteiros e bloqueados (Tab. 5). Também nesta coleta os níveis séricos de IGF-I foram menores nos animais dos três tratamentos (Tab. 6). Estes resultados podem ser associados à condição nutricional deficiente levando à diminuição dos níveis séricos de IGF-I, que, provavelmente, atuou na redução dos pulsos diários de GnRH, como explicado por Blache et al. (2000) e Brito (2006).

Nos animais inteiros, com 22 e 25 meses de idade, 55,6 % apresentou alta libido no quarto teste e 54,45 % média libido no quinto teste. Para analisar melhor os resultados os eventos sexuais foram comparados entre indivíduos de alta (escore 3), média (escore 2) e baixa libido (escore 1) nesses dois testes (Tab. 3).

Tabela 3 – Mediana da frequência dos eventos sexuais nos animais de alta, média e baixa Libido do grupo inteiro nos quarto e quinto testes de libido

| Classe de Libido/Número de animais | CH/L             | RF                 | PA | IM             | TM               | MA             | MC             |
|------------------------------------|------------------|--------------------|----|----------------|------------------|----------------|----------------|
| Libido alta (n=5)                  | 3 <sup>A</sup>   | 1 <sup>B</sup>     | 0  | 1 <sup>A</sup> | 1 <sup>A</sup>   | 1 <sup>A</sup> | 1 <sup>A</sup> |
| Libido média (n=6)                 | 1 <sup>A,B</sup> | 6,5 <sup>A</sup>   | 0  | 1 <sup>A</sup> | 1 <sup>A,B</sup> | 0 <sup>B</sup> | 0 <sup>B</sup> |
| Libido baixa (n=6)                 | 1 <sup>B</sup>   | 1,5 <sup>A,B</sup> | 0  | 0 <sup>B</sup> | 0 <sup>B</sup>   | 0 <sup>B</sup> | 0 <sup>B</sup> |

Letras distintas nas colunas indicam diferenças entre médias das frequências dos eventos sexuais entre as classes de libido pelo teste de Kruskal Wallis ( $P < 0,05$ ). Ausências de letras indicam que não há diferenças entre médias ( $P > 0,05$ ). CH/L: cheirar e lamber a genitália da fêmea; RF: reflexo de flehmen; PA: perseguição ativa; IM: impulso de monta; TM: tentativa de monta; MA: monta abortada; MC: monta completa; ESCL: escore da libido.

Observou-se que os eventos sexuais de reflexo de flehmen, da monta abortada e da monta completa (Tab. 3) foram diferentes entre os animais de média e alta libido ( $P < 0,05$ ), sendo que o evento sexual de reflexo de flehmen foi maior para os animais de média libido. Esse resultado demonstra que animais com alta libido são mais diretos na manifestação do comportamento sexual, ou seja, não é necessária alta prevalência de estímulos olfatórios para ativar os eventos consumatórios em teste de libido realizados em períodos curtos. Esse fato também foi observado por Salvador et al. (2003) em touros Nelore e não por Dias et al. (2009), ao trilharem com animais da raça Guzera sexualmente inexperientes, portanto a raça e a experiência sexual podem ter influenciado a manifestação das divergências entre esses resultados.

As concentrações séricas de testosterona matinais e vespertinas não foram estatisticamente diferentes entre o quarto e quinto testes de libido nos animais inteiros ( $P > 0,05$ ). No entanto, houve tendência de menores valores no quinto teste de libido ( $P = 0,06$ ). Esta flutuação da testosterona sérica, possivelmente, foi suficiente para promover a redução da frequência do evento sexual de monta completa e do número de animais com libido alta no quinto teste de libido. Esse resultado sugere que esse evento

sexual em machos Nelore submetidos a teste de libido de curta duração, depende preferencialmente de altos níveis de testosterona sérica em detrimento do estágio de desenvolvimento sexual, desde que os animais tenham atingido a puberdade, visto que, os quartos e quintos testes de libido correspondem à puberdade e maturidade sexual, respectivamente. Em adição, também tem sido postulado que existe alta variabilidade entre indivíduos tanto nos níveis séricos de testosterona (Dias et al., 2009), assim como na resposta de comportamento sexual em animais sexualmente experientes (Price et al., 1986; McGinnis et al., 1996) em diferentes avaliações. Portanto, parece que as flutuações nas concentrações séricas de testosterona seja um dos importantes fatores que explicam a variabilidade nos testes de comportamento sexual de curta duração.

O reflexo de flehmen foi menor nos animais de alta e baixa libido ( $P < 0,05$ ). Partindo do princípio de que o reflexo de flehmen serve para conduzir os feromônios da fêmea em cio para o OVN e através dele se ativem os mecanismos da cópula, os animais com alta libido facilmente identificam o cio da fêmea e procedem a monta. Pelo contrário nos animais com baixa libido o OVN se apresenta menos ativo. Provavelmente, estes animais apresentam baixos índices de

testosterona sérica como registrado por Dias et al. (2009). Por esse motivo animais de baixa libido não conseguem compensar esta disfunção com os estímulos olfatórios, uma vez que a testosterona é necessária para desenvolvimento adequado dos núcleos amigdalóides, dos bulbos olfatórios (Keverne, 2002), do OVN (Madureira e Lieberman, 1995) e da liberação de dopamina durante a atividade sexual (Dominguez e Hull, 2005). O resultado de que o impulso de monta foi significativamente menor nos animais de baixa libido ( $P < 0,05$ ) suportam essas hipóteses (Tab. 3).

Desta forma, os estímulos olfatórios verificados por meio do aumento do reflexo de flehmen foram eficientes em estimular os eventos sexuais da tentativa de monta e do impulso de monta nos animais de média libido, uma vez que as frequências desses comportamentos sexuais somente foram menores nos animais de baixa libido (Tab. 3). Pelo contrário, os estímulos olfatórios pelo OVN não foram eficientes na ativação dos eventos sexuais de monta abortada e da monta completa nas condições desse estudo. Talvez com aumento do tempo de observação do teste de libido seja possível observar semelhança nesses comportamentos entre animais de alta e média libido, já que, como visto, os estímulos olfatórios através do aumento de cheirar e lambar foi eficiente em manter adequada atividade sexual frente a variações diárias nos níveis séricos de testosterona nos animais bloqueados no quinto teste de libido, além do fato de que a testosterona

possa atuar sinergicamente com os estímulos olfatórios na liberação de dopamina (Dominguez e Hull, 2005) potencializando a expressão do comportamento sexual. Esses fatos podem ser reforçados pelos resultados de Oliveira et al. (2007) e Dias et al. (2009), que ao trabalharem com animais *Bos taurus indicus*, registraram que o aumento do tempo de observação acarreta em incremento nos eventos sexuais manifestados.

Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal

A altura do epitélio sensitivo do OVN foi maior nos animais inteiros e menor nos animais bloqueados e castrados ( $P < 0,05$ ) (Tab. 4). Essas observações demonstram que o bloqueio dos ductos incisivos reduziu a entrada dos feromônios sexuais no OVN. A falta destes estímulos promoveu redução do epitélio neuro sensitivo deste órgão, diminuindo, provavelmente, os estímulos do eixo hipotálamo-hipofise-gônada (Doving e Trotier, 1998). Outro fator que deve ter contribuído para manifestação desse resultado nos animais castrados pode ser explicado pelo fato de que esse epitélio possui receptores de testosterona, sugerindo que o sistema olfatório acessório necessita desse andrógeno para adequado desenvolvimento (Meredith e Fernandez-Fewell, 1994; Keverne, 2002). Vale destacar que esses resultados, assim como as avaliações hormonais, foram obtidos a partir de uma amostra de animais desse estudo.

Tabela 4 – Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal (mm) dos animais dos três tratamentos ao final do experimento

| Tratamento                        | Inteiro<br>(n=4)         | Bloqueado<br>(n=7)       | Castrado<br>(n=4)        |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Altura do epitélio sensitivo (mm) | 0,17 ± 0,03 <sup>a</sup> | 0,14 ± 0,03 <sup>b</sup> | 0,12 ± 0,04 <sup>b</sup> |

Letras distintas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” de Student ( $P < 0,05$ ).

Concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina:

Os perfis séricos de testosterona para os animais inteiros e bloqueados, ao longo do experimento, constam na tabela 3. Houve diferença significativa na concentração sérica de testosterona à tarde entre os animais inteiros e bloqueados, sendo os valores menores nos últimos. Registrou-se

efeito de turno na terceira coleta para ambos os grupos ( $P<0,05$ ), sendo que pela manhã a concentração sérica de testosterona foi maior. Desconsiderando-se efeito de turno, quando se comparou as quarta e quinta coletas nos animais inteiros, observou-se tendência para maiores valores na quarta coleta para a concentração sérica de testosterona ( $P=0,06$ ).

Tabela 5 – Concentração sérica de testosterona (ng/mL) nos animais dos três tratamentos ao longo do experimento, registrados em dois diferentes turnos

| Tratamento | Turno | Inteiro<br>(n=6)        | Bloqueado<br>(n=4)      | Castrado<br>(n=6) |
|------------|-------|-------------------------|-------------------------|-------------------|
| Coleta 1   | Manhã | $1,7 \pm 1,4^{a,A,B}$   | $0,22 \pm 0,15^{a,C}$   | $0,34 \pm 0,1^a$  |
|            | Tarde | $1,5 \pm 1,2^{a,B}$     | $0,8 \pm 0,65^{a,C}$    | $0,33 \pm 0,06^a$ |
| Coleta 2   | Manhã | $1,04 \pm 0,3^{a,B}$    | $3,11 \pm 1,7^{a,C,B}$  | -                 |
|            | Tarde | $4,04 \pm 2,7^{a,A,B}$  | $0,46 \pm 0,22^{a,B,C}$ | -                 |
| Coleta 3   | Manhã | $6,5 \pm 2,2^{a,A,B,X}$ | $7,8 \pm 1,7^{a,A,B,X}$ | -                 |
|            | Tarde | $1,6 \pm 0,6^{a,B,Y}$   | $1,6 \pm 0,9^{a,A,B,Y}$ | -                 |
| Coleta 4   | Manhã | $12,5 \pm 2,1^{a,A}$    | $8,5 \pm 3,8^{a,A}$     | -                 |
|            | Tarde | $10,3 \pm 1,3^{a,A}$    | $5,7 \pm 1,23^{b,A}$    | -                 |
| Coleta 5   | Manhã | $5,5 \pm 2,3^{a,A,B}$   | $3,5 \pm 1,6^{a,A,B}$   | -                 |
|            | Tarde | $8,9 \pm 2,05^{a,A}$    | $2,7 \pm 1,3^{b,A,B,C}$ | -                 |

Letras minúsculas e maiúsculas distintas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” ( $P<0,05$ ), respectivamente. Letras minúsculas e maiúsculas indicam efeitos de tratamento dentro de cada coleta (linhas) e efeito de coleta dentro de cada tratamento (colunas), respectivamente. As letras X e Y indicam diferenças entre médias pelo teste “t” pareado ( $P<0,05$ ), para se avaliar o efeito de turno dentro de coleta e tratamento. Os resultados dos animais castrados não foram expressos a partir da segunda coleta em razão de se obterem valores menores que os limites de detecção dos kits.

Os perfis séricos das concentrações de IGF-I nos animais dos três tratamentos, ao longo do experimento, constam na tabela 6. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos sobre as concentrações séricas de IGF-I, nem tão pouco, de turno. Foi

observada redução das concentrações séricas de IGF-I na terceira coleta para os três tratamentos. Nos animais castrados foi observado aumento gradativo após a terceira coleta.

Tabela 6 – Concentrações séricas de IGF-I (ng/mL) nos animais dos três tratamentos durante o experimento

| Tratamento | Inteiro<br>(n=6)            | Bloqueado<br>(n=4)       | Castrado<br>(n=6)        |
|------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Coleta 1   | $338,75 \pm 75,8^{a,A,B,C}$ | $325,1 \pm 71,1^{a,B,C}$ | $365,1 \pm 39,5$         |
| Coleta 2   | $490,6 \pm 91,3^{a,A,B}$    | $365,9 \pm 28,6^{a,B}$   | $389,3 \pm 39,5^{a,C}$   |
| Coleta 3   | $280,6 \pm 10,9^{a,C}$      | $254 \pm 44,5^{a,C}$     | $248,6 \pm 27,6^{a,D}$   |
| Coleta 4   | $368,7 \pm 46,6^{a,B,C}$    | $372,5 \pm 39,7^{a,A,B}$ | $326,24 \pm 10,17^{a,B}$ |
| Coleta 5   | $439,9 \pm 30,6^{a,A}$      | $473,9 \pm 71,1^{a,A}$   | $426,02 \pm 27,4^{a,A}$  |

Letras distintas minúsculas e maiúsculas nas linhas e colunas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” ( $P<0,05$ ), respectivamente. Nas colunas as médias referem-se ao efeito de coleta dentro de tratamento

e nas linhas avaliou-se efeito de tratamento dentro de coleta. Na coleta 1 nos animais castrados não haviam amostras suficientes para realizar anova, por isso não foi adicionado nenhuma letra.

O perfil sérico de leptina dos animais dos três tratamentos não apresentou alterações ao longo do experimento. Não foi observado efeito de turno sobre o perfil sérico de leptina, dessa forma, os resultados foram condensados dentro de cada tratamento e as

comparações entre os animais inteiros e bloqueados foram realizadas. Sendo assim, não foram observados diferenças, entre esses, nas concentrações séricas de leptina (Fig. 1).

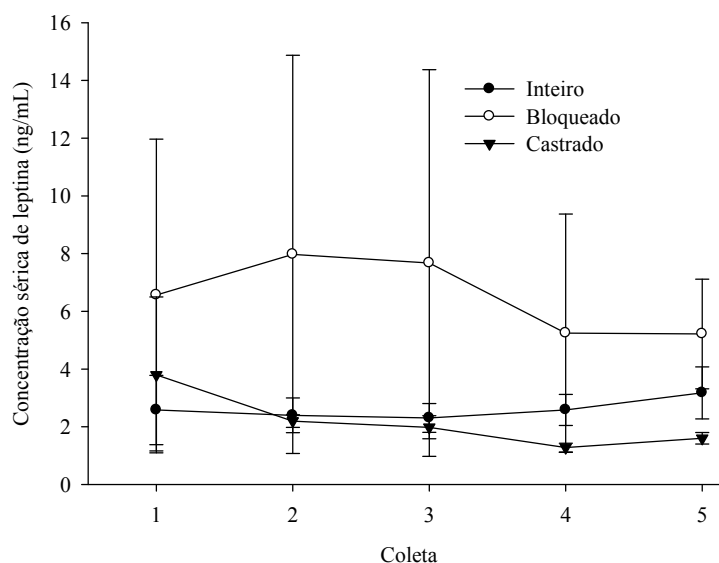


Figura 1 – Perfil sérico de leptina nos animais dos três tratamentos durante o experimento. Ausências de letras indicam que não há diferenças entre médias pelo teste de Friedman ( $P > 0,05$ ). Para os animais inteiros,  $n=6$ , para os bloqueados,  $n=4$ , e para os castrados,  $n=3$ .

#### Análises de correlações

Nas tabelas 7 e 8 constam os resultados das correlações de Spearman com níveis de significância menor que 6 % entre as variáveis estudadas nos animais inteiros e bloqueados. Foi registrada forte tendência de alta associação inversa entre o escore da libido e a concentração sérica de IGF-I nos animais inteiros (Tab. 7). Esse resultado contribui para reforçar a hipótese de que o aumento da expressão do comportamento sexual em machos pode resultar em perda de peso corporal (Costa e Silva et al., 1999), pois tem sido postulado que o IGF-I é um importante indicador do balanço energético em ruminantes (Brito, 2006). Contudo, as

condições de manejo e o período de avaliação podem influenciar fortemente essa resposta.

Tabela 7 - Correlações de Spearman entre os eventos de comportamentos sexuais, a escore da libido, as concentrações séricas de testosterona pela manhã, pela tarde e de IGF-I nos animais inteiros

| Parâmetros                              | Valor de r/p* |
|-----------------------------------------|---------------|
| Cheirar e lambar x Peso corporal        | -0,58/0,06    |
| Cheirar e lambar x Testosterona Manhã   | -0,87/0,06    |
| Perseguição ativa x IGF-I               | -0,89/0,04    |
| Impulso de monta x Escore da libido     | 0,79/0,003    |
| Impulso de monta x Testosterona manhã   | -0,89/0,04    |
| Tentativa de monta x Testosterona tarde | 0,89/0,04     |
| Escore da libido x Monta abortada       | 0,74/0,009    |
| Escore da libido x IGF-I                | -0,87/0,06    |

\*Coeficiente de correlação (r)/significância (p). Somente as altas correlações foram apresentadas

Os animais bloqueados apresentaram alta correlação entre cheirar e lambar e o peso corporal (Tab. 8). Portanto, é plausível que nestes animais, na falta do estímulo do OVN, por meio do reflexo de flehmen, utilizam a via olfatória principal como recurso para ativar o hipotálamo como registrado em roedores (Keverne, 2002; Dulac e Wagner, 2006), visto que, a exemplo desse estudo ( $r=0,51$ ;  $P<0,02$ ) e os de Gortsema et al. (1974) e Vanderschueren et al. (2004) a testosterona sérica possui importante associação com o desenvolvimento ponderal.

As correlações observadas entre o evento sexual de impulso de monta e a

concentração sérica de testosterona pela manhã foi alta e inversa nos animais inteiros e bloqueados. Mesmo fato, foi registrado entre o reflexo de Flehmen e a tentativa de monta para os animais bloqueados (Tab. 8). Partindo do princípio que a tentativa de monta é altamente associada com a concentração sérica de testosterona nos animais inteiros (Tab. 7), esses resultados reforçam e sugerem que os eventos sexuais de reflexo de flehmen e impulso de monta são estratégias de excitação sexual em machos zebuínos, nas condições em que os mesmos, possuem redução nas concentrações séricas de testosterona.

Tabela 8 - Correlações de Spearman entre os eventos de comportamentos sexuais, a escore da libido, a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, as concentrações séricas de testosterona pela manhã e de IGF-I nos animais bloqueados

| Parâmetros                                                             | Valor de r/p* |
|------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Cheirar e lambar x Perseguição ativa                                   | 0,75/0,02     |
| Cheirar e lambar x Peso corporal                                       | 0,71/0,03     |
| Cheirar e lambar x Ganho diário                                        | 0,66/0,05     |
| Reflexo de flehmen x Tentativa de monta                                | -0,64/0,06    |
| Reflexo de flehmen x Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal | 0,75/0,05     |
| Impulso de monta x Testosterona manhã                                  | -0,95/0,05    |
| Escore da libido x Impulso de monta                                    | 0,76/0,02     |

\*Coeficiente de correlação (r)/significância (p).

#### 4.0-Conclusão

O reflexo de flehmen está envolvido com o transporte de feromônios sexuais através dos ductos incisivos para o órgão vomeronasal em machos da raça Nelore.

O órgão vomeronasal exerce importante função nas características consumatórias do comportamento sexual em machos da raça Nelore.

O evento sexual de cheirar e lambar a genitália da fêmea constitui-se em uma tentativa olfatória de otimizar os estímulos do sistema olfatório acessório em machos Nelore, sexualmente experientes.

Os eventos sexuais de reflexo de flehmen e do impulso de monta devem receber melhor pontuação nos teste de avaliação do comportamento sexual de curta duração em animais zebuínos.

Animais de baixa libido devem ser eliminados, para que não comprometam a eficiência reprodutiva do rebanho.

## 5.0-Referências bibliográficas

AMMAR, A. A.; SEDERHOLM, F.; SAITO, T. R.; et al. NPY-leptin: opposing effects on appetitive and consummatory ingestive behavior and sexual behavior. **Am. J. Physiol. Reg. Int. Comp. Physiol.**, v. 278, p. 1627-1633, 2000.

BARBOSA, R. T. **Comportamento sexual, biometria testicular, aspectos do sêmen e níveis plasmáticos de testosterona, em touros Canchim e Nelore.** 1987. 135p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

BLACHE, D.; CHAGAS, L. M.; BLACKBERRY, M. A.; et al. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 120, p. 1-11, 2000.

BOOTH, K. K.; KATZ, L. S. Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in Sheep. **Biol. Reprod.**, v. 63, p. 953-958, 2000.

BRITO, L. F. C. **Nutrition, metabolic hormones, and sexual development in bulls.** Tese (Doutorado em Filosofia). 2006. 206f. University of Saskatchewan-Saskatoon.

CARDONA-GÓMEZ, G. P.; MENDEZ, P.; DONCARLOS, L. L.; et al. Interactions of estrogen and insulin-like growth factor-I in the brain: molecular mechanisms and functional implications. **J. Ster. Bio. Mol. Biol.**, v. 83, p. 211-217, 2003.

CHENOWETH, P. J.; BRINKS, J. S.; NETT, T. M. A comparison of the three methods of sex-drive in yearling beef bulls and relationships with testosterone and LH levels. **Theriogenology**, v. 12, n. 4, p. 223-233, 1979.

COSTA-SILVA, E. V. **Capacidade reprodutiva de touros Nelore: exame andrológico, teste de comportamento sexual e desafio de fertilidade.** 1994. 102p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

COSTA-SILVA, V. E.; SERENO, J. R. B.; DA COSTA, M. J. R. P., et al. Comportamento sexual de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) e pantaneiro (*Bos taurus taurus*) durante os procedimentos de teste de libido. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 23, n. 3, p. 214-216, 1999.

DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J.; EMERICK, L. L.; et al. Teste da libido em touros jovens Guzerá e suas associações com características reprodutivas e níveis séricos de testosterona. **Arch. Vet. Sci.**, v. 14, n. 4, p. 204-213, 2009.

DOMINGUEZ, J. M.; HULL, E. M. Dopamine, the medial preoptic area, and male sexual behavior. **Phy. Behav.**, v. 86, p. 356-368, 2005.

DORRIES, K. M.; ADKINS-REGAN, E.; HALPERN, B. P. Olfactory sensitivity to the pheromone androstenone, is sexually dimorphic in the pig. **Physiol. Behav.**, v. 57, p. 255-259.

- DOVING, K. B.; TROTIER, D. Structure and function of the vomeronasal organ. **J. Experim. Biol.**, p. 2913-2925, 1998.
- DULAC, C.; WAGNER, S. Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. **Annu. Rev. Genet.**, v. 40, p. 449-467, 2006.
- HALPERN, M. The organization and function of the vomeronasal system. **An. Rev. Neurosci.**, v. 10, p. 325-362, 1987.
- HART, B. L.; LEEDY, M. G. Stimulus and hormonal determinants of flehmen behavior in cats. **Horm. Behav.**, v. 21, p. 44-52, 1987.
- HULL, E. M.; LORRAIN, D. S.; DU, J.; et al. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. **Behav. Brain Res.**, v. 105, p. 105-116, 1999.
- HULL, E. M.; MUSCHAMP, J. W.; SATO, S. Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. **Physiol. Behav.**, v. 83, p. 291-307, 2004.
- KARE, R. M. Sentido especiais II: Paladar, olfato e audição. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. v.1, cap.43, p. 750-752.
- KANEKO, N.; DEBSKI, E. A.; WILSON, M. C.; et al. Puberty acceleration in mice. II. Evidence that the vomeronasal organ is a receptor for the primer pheromone in male mouse urine. **Biol. Reprod.**, v. 22, p. 873-878, 1980.
- KELLIHER, K. R.; BAUM, M. J. Nares occlusion eliminates heterosexual partner selection without disrupting coitus in ferrets of both sexes. **J. Neurosci.**, v. 21, p. 5832-5840, 2001.
- KEVERNE, E. B. Pheromones, vomeronasal function, and gender-specific behavior. **Cell**, v. 108, p. 735-738, 2002.
- LEHMAN, M. N.; WINANS, S. S.; POWERS, J. B. Medial nucleus of the amygdale mediates chymosensory control of male hamster sexual behavior: Autoradiographic and behavioral analyses. **Brain Res.**, v. 240, p. 27-41, 1980.
- MADUREIRA, M. D.; LIEBERMAN, A. R. Sexual dimorphism in the mammalian limbic system. **Prog. Neurob.**, v. 45, p. 275-333, 1995.
- MCGINNIS, M. Y.; WILLIAMS, G. W.; LUMIA, A. R. Inhibition of male sex behavior by androgen receptor blockade in preoptic area or hypothalamus, but not amygdala or septum. **Phy. Behav.**, v. 60, n. 3, p. 783-789, 1996.
- MEREDITH, M.; FERNANDEZ-FEWELL, G. Vomeronasal system, LHRH, and sex behaviour. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, n. 5-7, p. 657-672, 1994.
- MEREDITH, M. Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. **Physiol. Behav.**, v. 36, p. 737-743, 1986.
- OLIVEIRA, C. B.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; et al. Avaliação do comportamento sexual em touros Nelore: comparação entre os testes da libido em curral e do comportamento sexual a campo. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 36, p. 32-42, 2007.
- PADUA, J. T.; DE OLIVEIRA, M. P.; DA SILVA, L. A. F.; et al. Efeito de métodos de castração e do uso de vermífugos sobre o ganho em peso de bovinos mestiços leiteiros. **C. Anim. Bras.**, v. 4, n. 1, p. 33-43, 2003.
- PANNOCCHIA, M. A.; BORELLA, M. I.; DE CAMARGO, A. M.; et al. Estratégia

efetiva de fixação do testículo de ratos Wistar para avaliar os parâmetros morfológicos e morfométricos do epitélio seminífero. **Con. Sci. Saúde**, v. 7, n. 2, p. 227-233, 2008.

PHELPS, S. M.; LYDON, J. P.; O'MALLEY, B. W.; et al. Regulation of male sexual behavior by progesterone receptor, sexual experience, and androgen. **Horm. Behav.**, v. 34, p. 294-302, 1998.

PINEDA, N. R.; FONSECA, V. O.; PROENÇA, R. V. Potencial reprodutivo de touros Nelore: libido, capacidade de serviço e eficiência em acasalamentos com elevada proporção de vacas. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 24, n. 1, p. 44-51, 2000.

PRICE, E. O.; KATZ, L. S.; MOBERG, G. P.; et al. Inability to predict sexual and aggressive behaviors by plasma concentrations of testosterone and luteinizing hormone in Hereford bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 62, p. 613-617, 1986.

PRICE, E. O.; WALLACH, S. J. Development of sexual and aggressive behaviors in Hereford bulls. **J. Anim. Sci.**, v. 69, p. 1019-1027, 1991.

RUSSELL, L. D.; KERSHAW, M.; BORG, K. E.; et al. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: FSH maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. **J. Androl.**, v. 19, n. 3, p. 308-319, 1998.

SALAZAR, I.; QUINTEIRO, P. S.; CIFUENTES, J. M. The soft-tissue components of the vomeronasal organ in pigs, cows and horses. **Anat. Histol. Embryol.**, v. 26, p. 179-186, 1997.

SALVADOR, D. F.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R.; et al. Avaliação da libido de touros Nelore adultos em curral e sua associação com características andrológicas e desempenho reprodutivo a

campo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 55, n. 5, 2003.

SANTOS, N. R. **Comportamento sexual de touros Zebu (*Bos taurus indicus*) a pasto**. 2001. 88p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

SENGER, P. L. Endocrinology of the male and spermatogenesis. In: \_\_\_\_\_. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2ed. Moscow: Current conceptions, Inc, 2003. Cap.10, p. 214- 239.

VALE FILHO, V. R.; BERGMANN, J. A. G.; ANDRADE, V. J., et al. Classificação andrológica por pontos (CAP), versus libido, na eficiência na fecundação de touros Nelore de 2 e 3 anos de idade, usados em estação de monta bem definida. In: **Encontro de pesquisa da escola de veterinária da UFMG**, v. 14, n. 1, 1994, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: UFMG, 1994, p. 88.

## Capítulo 4

### **Características de carcaça, desenvolvimento ponderal, altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina em machos Nelore pré púberes submetidos à obstrução dos ductos incisivos**

### **Carcass characteristics, weight development, vomeronasal organ sensory epithelium height, testosterone, IGF-I and leptin serum in pre pubertal Nelore males submitted to incisors duct obstruction**

#### **Resumo**

Objetivou-se com o estudo avaliar as características de carcaça e a altura do epitélio neuro sensitivo do órgão vomeronasal (OVN) ao abate, o desenvolvimento ponderal, os níveis séricos de testosterona, IGF-I e leptina em animais submetidos ao bloqueio dos ductos incisivos. Trinta e quatro machos da raça Nelore, no período pré puberal, foram divididos em três grupos: G1: inteiro-animais controle (sem nenhum procedimento, n=11); G2: bloqueado- animais com os ductos incisivos bilateralmente cauterizados, n=10; G3: castrado: animais com orquiectomia bilateral cirúrgica, n=13. Os animais foram criados em piquetes homogêneos sob condições extensivas. A cada três meses até os animais atingirem a maturidade sexual foram realizadas cinco coletas de sangue para quantificação das concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina. As pesagens foram realizadas mensalmente em balanças individuais. Para o abate, somente foram considerados animais que obtiveram 480 kg, onde foi recolhido o OVN para mensuração histológica. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso. Os testes de SNK e “t” de Student pareado, assim como, os de Kruskal Wallis e Friedman foram utilizados para avaliar os efeitos de tratamento e de período para as variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente. As coletas de sangue foram realizadas pela manhã (sete horas) e pela tarde (17 horas), portanto, foram utilizados os testes “t” pareado e de Wilcoxon para observar efeitos de turno. Observaram-se maiores peso corporal final (G1=494,1±28,71;G2=500,6±23,6;G3=468,3±21,8 Kg) e ganho médio diário (G1=0,521±0,05;G2=0,545±0,05;G3=0,472±0,03 Kg) nos animais inteiros e bloqueados em relação aos castrados (P<0,05). Registrou-se redução do desvio padrão do peso corporal final e da carcaça quente eviscerada e da altura do epitélio neuro sensitivo do OVN (G1=0,17±0,03;G2=0,14±0,03;G3=0,12±0,04 mm) nos animais bloqueados e castrados em relação aos inteiros. Maior cobertura de gordura na carcaça (G1=1,9±0,12;G2=2,14±0,14;G3=2,8±0,2) foi registrada nos animais castrados em relação aos demais tratamentos (P<0,05). A concentração sérica de testosterona nas quarta (G1=10,3±1,3<sup>a</sup>; G2=5,7±1,23<sup>b</sup>ng/mL) e quinta (G1=8,9±2,05<sup>a</sup>; G2=2,7±1,3<sup>b</sup>ng/mL) coletas à tarde foi menor nos animais bloqueados comparados aos inteiros. Foram computadas tendências de altas correlações negativas entre a altura do epitélio neuro sensitivo e o peso da carcaça quente eviscerada (r=-0,90; P=0,096) e das concentrações séricas de IGF-I (r=-0,99; P=0,06). Concluiu-se que o bloqueio dos ductos incisivos, na fase pré puberal, constitui-se em importante ferramenta para incremento no sistema de produção em machos da raça Nelore, destinados ao abate.

Palavras-chave: bulbo olfatório acessório, cobertura de gordura, ganho médio diário, zebu.

#### **Abstract**

This study aimed to evaluate carcass characteristics and height of the neuron sensitive epithelium of the vomeronasal organ slaughter, the weight gain, the serum levels of testosterone, IGF-I and leptin in animals subjected to incisive duct blockage. A total of 34 animals were divided into three groups as follows: G1-intact animals (control, n=11), G2-animals with incisors ducts cauterized bilaterally (blocked, n=10) and G3- animals conventional surgical orchiectomy (castrated, n=13). The animals were raised in homogeneous paddocks under conditions extensive. They were evaluated from pre puberty every three months until sexual maturity, being performed five the blood samples. The weighings were made monthly in individual scales. Only animals weighing 1059,6 lb were slaughtered, and their vomeronasal organ were removed to measure neuro sensory epithelium height. A completely randomized experimental design was used. SNK and "t" Student paired tests, as of Kruskal Wallis and Friedman tests were used to evaluate the effects of treatment and period for the parametric and nonparametric variables, respectively. Blood samples were taken in the morning (seven hours) and in the afternoon (17 hours) in days after the assessment of libido. The "t" paired and Wilcoxon tests were used to evaluate effects of shift. An increase in ending body weight ( $G1=494.1\pm28.71$ ;  $G2=500.6\pm23.6$ ;  $G3=468.3\pm21.8$  Kg) and the average daily gain ( $G1=0.521\pm0.05$ ;  $G2=0.545\pm0.05$ ;  $G3=0.472\pm0.03$  Kg) in blocked and control animals compared to castrated. Reductions of the standard deviation of the ending body weight and of the VNO neuron sensitive epithelium height in blocked and castrated animals have been observed. Increased carcass fatness ( $G1=1.9\pm0.12$ ,  $G2=2.14\pm0.14$ ,  $G3=2.8\pm0.2$ ) was recorded in castrated animals compared to the other treatments ( $P<0,05$ ). The serum concentration of testosterone in the afternoon collections fourth ( $G1=10.3\pm1.3$ ;  $G2=5.7\pm1.23$ ng/mL) and fifth ( $G1=8.9\pm2.05$ ;  $G2= 2.7\pm1.3$ ng/mL) were lower in blocked compared to control animals. Negatives high tendencies associations between the epithelium height of the VNO neuron sensory and eviscerated carcass weight hot ( $r=-0,90$ ;  $P=0,096$ ) and serum concentrations of IGF-I ( $r=-0,99$ ;  $P=0,06$ ). Concluded that blocking the incisors ducts in the pre pubertal period, constitutes an important implement to increase the production system in Nellore cattle males to slaughter.

Key-words: accessory olfactory bulb, average daily gain, *Bos taurus indicus*, fatness carcass.

## 1.0-Introdução

A castração é utilizada com vistas a obter animais dóceis que alcancem precocemente o ponto ideal de abate. A castração propicia também melhor acabamento de carcaça e com boa distribuição de gordura superficial. Estas características da carcaça são valorizadas pelos frigoríficos e aumentam o retorno financeiro do sistema de produção (Padua et al., 2003). No entanto, a castração ocasiona perdas de peso, gastos com medicamentos e com a mão de obra no período pós operatório e menor peso ao abate. Estas desvantagens impedem a adoção plena da castração como alternativa de aumentar a produção do gado de corte.

Ao abate os bovinos inteiros apresentam carcaça magra com musculatura escura e dura e palatabilidade indesejáveis (RESTLE et al., 1996). A castração dos machos é um manejo que evita o efeito dos hormônios androgênicos sobre as características de carcaça e da carne (RESTLE et al., 1999). Entretanto, tem sido demonstrado que os hormônios androgênicos são responsáveis pelo incremento da velocidade de crescimento e melhor conversão alimentar em animais inteiros (RESTLE et al., 1996; RESTLE et al., 1997).

Os andrógenos também são responsáveis pelo comportamento masculino e pelo desenvolvimento de características sexuais secundárias. Além disso, os andrógenos promovem desenvolvimento muscular por

meio do aumento na retenção de nitrogênio (van Tienhoven, 1983). Esta propriedade anabólica dos andrógenos ocasiona aumento de aproximadamente 3 % na ingestão de alimento com 19 % do ganho médio diário (Patterson et al., 1993). Outros hormônios diretamente envolvidos no ganho de peso são as leptinas e IGF-I. Estes hormônios são secretados sob estímulo da insulina e, sendo assim, são importantes mediadores da ingestão de alimento e do balanço energético, apresentam importantes funções no desenvolvimento sexual de ruminantes, e estão associados com ganho de peso (Eslasser et al., 1989) e cobertura de gordura na carcaça (Brito, 2006).

As características anabólicas da testosterona são mais acentuadas no período puberal, quando ocorre a maior produção de testosterona nos machos. Esta característica fisiológica tem sido utilizada como justificativa para recomendar a castração após a puberdade. Em tese, a castração após a puberdade permite que os animais promovam adequado desenvolvimento ponderal aliado a maior cobertura de gordura corporal. Contudo, em razão dos inconvenientes citados não se recomendada a orquiectomia cirúrgica bilateral, próximo ao abate dos animais (Bretschneider, 2005).

Desta forma, na tentativa de obter adequado desenvolvimento ponderal e aceitável grau de acabamento de carcaças têm sido propostas técnicas de castração menos cruentas. Dentre outras se destacam a castração por meio da angiotripsia (burdizzo) (Manella e Boin, 2001), injeção intra-testicular química (aldeído-fórmico e cloreto de cádmio) (Manella e Boin, 2001), vacina anti-GnRH (Cook et al., 2000; D'Occhio et al., 2001) e indução à atrofia testicular aproximando o testículo ao anel inguinal (Gortsema et al., 1974). Contudo, estas técnicas não têm apresentado respostas desejadas. Em geral, promovem melhora no grau de acabamento de carcaça, mas o peso

corporal é menor do que o dos animais controle.

Esses resultados incertos contribuem para a procura de novas tecnologias que visem obter melhores acabamentos da carcaça, sem comprometer o ganho de peso e o bem estar animal.

O órgão vomeronasal (OVN) é uma estrutura tubular quimiorreceptora do sistema olfatório acessório responsável pela detecção de feromônios. Este órgão está localizado na base do septo nasal e se comunica com a cavidade oral por meio do ducto incisivo que se abre no palato lateralmente à papila incisiva (Halpern, 1987). Histologicamente, o OVN de bovinos apresenta modificações no epitélio. A nível do ducto incisivo este órgão apresenta epitélio do tipo respiratório. O resto do órgão é revestido por epitélio neuro sensorial na parede medial, enquanto que na parede lateral continua sendo do tipo respiratório (Salazar et al., 1997).

Do OVN emerge um par de nervos que atravessa a lâmina crivosa do etmoide e atinge o bulbo olfatório acessório. Este bulbo apresenta conexões aferentes com o núcleo amigdaloide, que por sua vez faz conexão com o hipotálamo (Dulac e Wagner, 2006). Desta forma, o OVN também possui ligações com o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, influenciando a liberação de GnRH, a qual controla a secreção de LH e de esteroides. Contudo, a associação do OVN na secreção de esteroides é dependente da experiência sexual (Doving e Trotier, 1998).

Portanto a hipótese desse estudo foi: O bloqueio dos ductos incisivos em machos bovinos pré púberes impede o trânsito de feromônios sexuais para o OVN. Estes impulsos não atingem o eixo hipotálamo – hipofisário – gonadal e o estímulo da secreção de testosterona tornar-se-á diminuída. Entretanto, esta diminuição dos

níveis séricos de testosterona não é suficiente para reduzir o anabolismo muscular. Por outro lado, o bloqueio dos feromônios sexuais ao OVN não estimula os instintos de agressividade e de interesse sexual, levando os animais a um comportamento calmo com redução do gasto energético. Assim, espera-se que a obstrução dos ductos incisivos permita a obtenção de carcaças com grau elaborado de acabamento, semelhante a dos animais castrados e com o desenvolvimento ponderal igual dos animais inteiros.

Assim objetivou-se com esse estudo avaliar o peso corporal, características qualitativas e quantitativas das carcaças e arquitetura histológica do epitélio neuro sensorial do OVN, na ocasião do abate, em machos da raça Nelore, submetidos ao bloqueio dos ductos incisivos no período pré puberal e criados extensivamente. Durante o experimento, também foram avaliados o desenvolvimento ponderal e as concentrações séricas de testosterona, IGF-I e Leptina.

## **2.0-Material e Método**

### **Período experimental e localização**

Este estudo foi conduzido entre os meses de janeiro de 2008 à maio de 2009 na Fazenda Santo Antônio das Granjas Reunidas, município de Engenheiro Navarro, norte do estado de Minas Gerais, Brasil. A fazenda tem como coordenadas geográficas 16°72'S de latitude e 43°87'W de longitude e situa-se em área de Cerrado. A região apresenta clima quente e úmido com temperaturas máxima e mínima de 30,8 e 17,2 °C, com precipitação pluviométrica média anual 1082 mm<sup>3</sup>. Dois períodos climáticos são observados: o seco que se estende de abril a setembro e o chuvoso de outubro a março.

### **Animais**

Foram utilizados 34 animais machos da raça Nelore pré púberes com idade média 14,6 ± 1,15 meses, peso corporal médio 244,2 ± 13,4 Kg e circunferência escrotal média 20,5 ± 1,4 no início do experimento, criados em regime de pastejo extensivo. Durante o período da seca, os animais foram mantidos em pastagens irrigadas com pivô central. Os animais foram divididos em três grupos com 15 animais. Após descartes devido a perdas de peso nos primeiros 30 dias do estudo e padronização racial, os grupos foram constituídos da seguinte forma: o grupo um, denominado inteiro, foi constituído por 11 indivíduos, os quais não passaram por nenhum procedimento, sendo também considerado o grupo controle. O grupo dois, denominado bloqueado, composto por 10 indivíduos que tiveram seus ductos incisivos bilateralmente obstruídos. O grupo três, denominado castrado, constituído por 13 indivíduos, os quais foram orquiectomizados bilateralmente.

Para as análises séricas de testosterona, leptina e IGF-I foram inicialmente amostrados aleatoriamente sete animais para cada grupo. Após os descartes, foram considerados para as análises seis, quatro e seis animais, respectivamente, dos grupos relacionados acima.

Ao final do experimento foram abatidos 20 animais que atingiram peso corporal maior do que 480 Kg, sendo oito animais do grupo inteiro, sete do grupo bloqueado e cinco do grupo castrado. Durante o abate, foram retirados os órgãos vomeronasais para análise morfométrica. Procedeu-se o abate dos animais num frigorífico credenciado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Frigorífico Independência®), em Janaúba-MG, Brasil.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e nos Laboratórios de Biologia da

Reprodução e de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

#### Castração e bloqueio do órgão vomeronasal

A castração cirúrgica foi realizada seguindo o método da orquiectomia bilateral convencional (Padua et al., 2003). A obstrução dos ductos incisivos foi realizada bilateralmente por meio do óstio palatino mediante cauterização com termo cautério (Booth e Katz, 2000). Para realizar este procedimento foi inicialmente realizada a antisepsia local no duto incisivo e na parte rostral do palato utilizando álcool etílico a 70° e nitrato de prata 1:1.000. A anestesia local foi realizada infiltrando cinco mL de lidocaína a 2.5% Pearson®, ao redor da papila incisiva. Os protocolos de castração bilateral e cauterização dos ductos incisivos seguiram os procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética da UFMG (protocolo CETEA 159/09).

#### Pesagem e avaliação do ganho médio

As pesagens dos animais foram realizadas mensalmente de janeiro a julho de 2008, utilizando balança eletrônica Baiôco®. Posteriormente foram realizadas pesagens em setembro de 2008, em fevereiro e maio de 2009. Todas as pesagens foram realizadas após jejum de 12 horas de dieta sólida.

Os animais foram mantidos em grupos separados e em piquetes homogêneos de cinco hectares. Para eliminar o efeito da pastagem, a cada semana, os animais foram revezados entre os piquetes. Também foi estimado o ganho médio diário entre as avaliações e no total, levando-se em consideração os pesos final e inicial.

#### Avaliação da carcaça

Foram obtidos os rendimentos de carcaça, o peso da carcaça quente sem vísceras e o grau de cobertura de gordura avaliada no frigorífico. A avaliação do rendimento de

carcaça foi realizada por meio da divisão do peso da carcaça quente eviscerada pelo peso corporal obtido na fazenda, no dia anterior ao embarque para o frigorífico, multiplicado por 100. A avaliação do grau de cobertura de gordura da carcaça no frigorífico (acabamento frigorífico) foi obtida por meio de uma escala visual, realizada por profissional experiente, observada pela distribuição de tecido adiposo em toda a superfície da carcaça. Sendo que para definição dos escores foram utilizados os seguintes critérios (Bridi et al., 2012):

- Carcaça Magra: gordura ausente, escore 1;
- Gordura escassa: 1 a 3 mm de espessura, escore 2;
- Gordura mediana: acima de 3 até 6 mm de espessura, escore 3;
- Gordura uniforme: acima de 6 até 10 mm de espessura, escore 4;
- Gordura excessiva: acima de 10 mm de espessura, escore 5;

Da carcaça também foram avaliados a conformação, os índices de comprimento/profundidade e do grau de cobertura de gordura (acabamento fotografias) avaliados por meio de fotografias. Para tais, foram utilizados os recursos do programa “Image j” (<http://www.baixaki.com.br/download/imagej.htm>), no qual as mensurações das imagens digitalizadas foram realizadas. Cada carcaça possuía uma imagem do lado externo e interno, sendo que nessa última, continha uma medida realizada no frigorífico, por meio de fita métrica medindo seu comprimento (medida do bordo anterior da 1ª costela até a extremidade caudal do osso púbis), no qual foi utilizada para calibrar a mensuração da profundidade da carcaça. As análises foram realizadas por profissional experiente (Oliveira et al., 2005). Os critérios de classificação quanto ao grau de acabamento da carcaça e pontuação dos escores também foram interpretados segundo os critérios propostos acima por Bridi et al. (2012). Para avaliação da

conformação da carcaça utilizou-se o sistema de classificação brasileiro, que consiste na avaliação subjetiva da caracterização muscular, dividindo as carcaças em cinco categorias: escore 1 = côncava; escore 2 = sub retilínea; escore 3 = retilínea; escore 4 = sub convexa; escore 5 = convexa (Sainz e Araujo, 2001).

#### Avaliação dos níveis séricos de testosterona, leptina e IGF-I

Para avaliar os níveis séricos de testosterona, de leptina e de IGF-I foram realizadas coletas de sangue pela manhã (às sete horas), e no período da tarde (às 17 horas), e no período da tarde (às 17 horas) sem levar em conta o horário de verão para a região sudeste do Brasil, sempre no dia seguinte ao teste de libido. Estes horários foram definidos de acordo com os picos diários de testosterona como estabelecido por Barbosa (1987) e Senger (2003). Cinco repetições das coletas de sangue foram realizadas nas seguintes datas: janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009. Nessas, os animais possuíam os seguintes pesos corporais e idades com seus desvios padrão:  $244,2 \pm 13,4$  e  $14,6 \pm 1,15$ ;  $298,5 \pm 17,8$  e  $18,6 \pm 1,15$ ;  $328,4 \pm 18,5$  e  $20,7 \pm 1,15$ ;  $359,2 \pm 19,8$  e  $24 \pm 1,15$ ;  $436,8 \pm 24$  e  $27,7 \pm 1,15$ .

O sangue foi coletado a vácuo por punção da veia jugular externa. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 300 g durante 10 minutos, a fim de se obter o plasma, que foi armazenado no interior de botijões contendo nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises. As dosagens da testosterona e IGF-I foram realizadas seguindo técnicas de radioimunoensaio (RIE), utilizando-se kits comerciais da DSL-4000<sup>®</sup> e da Immunotech<sup>®</sup>, respectivamente. A leptina foi analisada por intermédio do kit de ELISA E90084Bo da Usen<sup>®</sup>, com anticorpos específicos para bovinos. Todos os kits utilizados foram obtidos por intermédio da Gênese Science<sup>®</sup>. Todas as amostras foram testadas em duplicatas seguindo os

procedimentos de ensaio realizados conforme suas bulas. Os coeficientes de variação intra e inter ensaio para a testosterona, IGF-I e leptina foram respectivamente, 1,27 e 2,42; 3,8 e 5,1 e 2,42 e 4 %.

#### Avaliação histomorfométrica dos órgãos vomeronasais

No abatedouro, após o sacrifício dos animais, as cabeças foram identificadas na linha de abate para posterior transecção e retirada dos órgãos vomeronasais. Para obter cortes homogêneos do OVN foram realizados secções da região nasal do animal a nível do primeiro pré molar superior (Salazar et al., 1997). As amostras foram fixadas em líquido de Bouin (Pannocchia et al., 2008), até o momento de análise.

Os fragmentos fixados foram lavados em solução Ringer bicarbonato e posteriormente, desidratados em concentrações crescentes de etanol. Após esse procedimento, as amostras foram infiltradas e incluídas em glicol metacrilato (Tecnovit 7.200<sup>®</sup>) (Russell et al., 1998). Posteriormente, os blocos foram seccionados em ultramicrotomo Reichert-Jung, obtendo-se cortes de três milímetros de espessura, montados em lâminas histológicas e corados pelo azul de toluidina-0.5% com borato de sódio a 1%, conforme técnica de rotina LABRE-ICB-UFMG. De cada fragmento foram confeccionadas três lâminas com quatro cortes cada uma.

A mensuração histomorfométrica do epitélio sensitivo do OVN foi realizada utilizando-se microscópico Nikon<sup>®</sup> com contraste de fase, modelo eclipse 50i trinocular, o qual encontrava-se acoplado a câmara Motic<sup>®</sup> de 3.0 megapixels. As imagens foram digitalizadas e medidas utilizando-se o programa de análise (Motic Images Plus 2.0<sup>®</sup>). A altura do epitélio do OVN foi mensurada, tendo como base para análise a média das fotografias obtidas nos diferentes

campos, cada qual com quatro mensurações, tanto do órgão esquerdo quanto o direito.

#### Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se dos recursos computacionais do pacote estatístico Statística versão 5 de 1996. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso. Todas as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, quando necessário, a transformação logarítmica foi realizada. Para se avaliar a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal foi utilizado o teste “t” de Student. Esse teste também foi utilizado para a análise das diferenças entre os tratamentos para as concentrações séricas de testosterona e IGF-I, sendo que para essas variáveis também foi utilizado o teste “t” de Student pareado, a fim de verificar os efeitos de turno e de coleta em cada tratamento.

Para avaliar o efeito de tratamento no peso corporal e ganho médio diário, dentro de cada pesagem, assim como, o rendimento e índice de comprimento e profundidade da carcaça foi utilizado o teste de SNK. Para análise do efeito de pesagem dentro de cada tratamento para o peso corporal foi utilizado o teste de “t” de Student pareado.

Para as variáveis concentrações séricas de Leptina, o acabamento de carcaça avaliada no frigorífico, por fotografias, do rendimento e conformação da carcaça o teste de comparação das médias utilizado foi o de Kruskal Wallis. Os testes de Wilcoxon e de Friedman foram utilizados para avaliar os efeitos de turno e de coleta dentro de cada tratamento para a variável Leptina, respectivamente. Correlações de Spearman e de Pearson foram realizadas dependendo da variável. Considerou-se o nível de 5% de significância.

### 3.0-Resultados e Discussão

#### Peso corporal e características de carcaça

Os animais submetidos à obstrução do ducto incisivo apresentaram maiores peso e ganho médio diário (GMD), em relação aos animais castrados ( $P < 0,05$ ), sendo iguais aos animais inteiros ( $P > 0,05$ ) no final do estudo (Tab. 1).

Após 16 meses de iniciar o experimento, os animais bloqueados apresentaram em média 32,25 kg a mais que os animais castrados, sendo o peso e o ganho médio diário similar a dos animais inteiros. A diferença de peso dos animais bloqueados e inteiros em relação aos animais castrados pode ser atribuída ao efeito anabólico da testosterona (Gortsema et al., 1974), uma vez que os níveis deste hormônio são maiores nos animais bloqueados e inteiros em relação aos castrados (Tab. 4). Da mesma forma a similaridade de peso dos animais inteiros e bloqueados é explicada pelos níveis séricos similares de testosterona pela manhã.

Tabela 1 – Pesos corporais no início e final do experimento e o ganho médio diário (Kg) para os animais dos três tratamentos

| Tratamento/<br>Peso corporal | Inteiro<br>(n=11)              | Bloqueado<br>(n=10)            | Castrado<br>(n=13)             |
|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Início experimento           | 244,82 ±<br>12,77 <sup>a</sup> | 240,22 ±<br>11,00 <sup>a</sup> | 242,7 ±<br>12,50 <sup>a</sup>  |
| Final experimento            | 494,1 ±<br>28,71 <sup>a</sup>  | 500,56 ±<br>23,64 <sup>a</sup> | 468,31 ±<br>21,81 <sup>b</sup> |
| Ganho médio diário           | 0,521 ±<br>0,05 <sup>a</sup>   | 0,545 ±<br>0,05 <sup>a</sup>   | 0,472 ±<br>0,03 <sup>b</sup>   |

Letras distintas nas linhas indicam diferenças entre médias pelo teste de SNK ( $P < 0,05$ ).

As variações dos pesos corporais durante o experimento para os animais dos três tratamentos foram semelhantes, com exceção entre as coletas sete (julho de 2008) e oito (setembro de 2009), onde houve incremento significativo no peso corporal

nos animais bloqueados (Fig. 1). Houve redução no peso corporal nas pesagens nove (fevereiro/2009) e dez (maio/2009) para os animais castrados ( $P < 0,05$ ) em relação aos demais tratamentos.

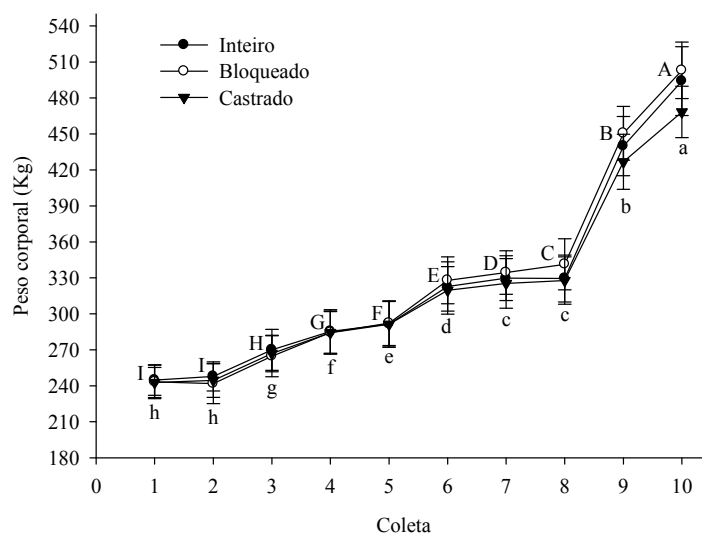


Figura 1 – Pesos corporais (Kg) dos animais dos três tratamentos durante o experimento. Letras distintas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” de Student pareado ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas indicam variações no peso para os animais inteiros e castrados e as letras maiúsculas para os animais bloqueados; Para os animais inteiros ( $n = 11$ ), os animais bloqueados ( $n = 10$ ) e os castrados ( $n = 13$ ).

A castração aumentou os acabamentos das carcaças avaliadas tanto no frigorífico quanto pelas fotografias ( $P < 0,05$ ) e diminuiu a conformação destas ( $P < 0,05$ ) em relação aos inteiros e bloqueados (Tab. 2). As

demais variáveis foram semelhantes a todos os grupos ( $P > 0,05$ ).

O bloqueio dos ductos incisivos não alterou o peso da carcaça quente eviscerada e o

rendimento da carcaça. Percebe-se que também não houve efeito da castração sobre ambas as variáveis. Esses resultados estão de acordo com Restle et al. (2000) e discordam com as observações de Ribeiro et al. (2004) e Lima et al. (2009), que encontraram maior rendimento nos animais não castrados. Contudo, os resultados dessas variáveis no presente estudo podem não traduzir a realidade de todo o lote, uma vez que para o abate, somente foram recomendados aqueles animais que possuíam peso corporal maior a 480 Kg. Essa afirmativa é confirmada, uma vez que o peso final dos animais castrados foi menor (Tab. 1), e para que o peso da carcaça quente eviscerada seja iguais aos demais tratamentos, o rendimento

da carcaça dos animais castrados deveria ser maior. Associações estas não observadas.

O grau de acabamento de carcaça, avaliada no frigorífico e por fotografias, foi maior para os animais castrados em relação aos demais tratamentos. Já para a conformação da carcaça esta foi maior nos animais inteiros e bloqueados. Esses resultados também podem ser atribuídos aos níveis séricos de testosterona, uma vez que este hormônio desvia o metabolismo para formar tecido muscular e ósseo em detrimento do tecido adiposo (Vanderschueren et al., 2004). Esses resultados são também sustentados pelos trabalhos de Gortsema et al. (1974), Ribeiro et al. (2004), Lima et al. (2009) e Restle et al. (2000).

Tabela 2 – Características de carcaça dos animais dos três tratamentos ao final do experimento

| Tratamento/<br>Variável                | Inteiro<br>(n=8)               | Bloqueado<br>(n=7)             | Castrado<br>(n=5)            |
|----------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Acabamento frigorífico*                | 1,87 ±<br>0,12 <sup>b</sup>    | 2,14 ±<br>0,14 <sup>b</sup>    | 2,8 ±<br>0,20 <sup>a</sup>   |
| Conformação*                           | 2,87 ±<br>0,1 <sup>a</sup>     | 2,7 ±<br>0,2 <sup>a</sup>      | 2 ±<br>0,0 <sup>b</sup>      |
| Acabamento fotografias*                | 1,75 ±<br>0,16 <sup>b</sup>    | 1,83 ±<br>0,17 <sup>b</sup>    | 3 ±<br>0,0 <sup>a</sup>      |
| Índice comprimento/<br>profundidade**  | 0,95 ±<br>0,03 <sup>a</sup>    | 0,94 ±<br>0,05 <sup>a</sup>    | 0,92 ±<br>0,04 <sup>a</sup>  |
| Peso da carcaça quente<br>eviscerada** | 257,13 ±<br>14,09 <sup>a</sup> | 261,54 ±<br>11,50 <sup>a</sup> | 253,4 ±<br>9,03 <sup>a</sup> |
| Rendimento de carcaça*                 | 51,4 ±<br>1,24 <sup>a</sup>    | 51,4 ±<br>1,70 <sup>a</sup>    | 51,7 ±<br>0,28 <sup>a</sup>  |

\*Letras distintas nas linhas indicam diferenças entre médias pelo teste de Kruskal Wallis (P<0,05); \*\* Letras distintas nas linhas indicam diferenças entre médias pelo teste de SNK (P<0,05).

Altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal

A altura do epitélio sensitivo do OVN foi maior nos animais inteiros, comparados aos bloqueados e castrados (Tab. 3).

Tabela 3 – Altura do epitélio sensitivo do OVN (mm) dos animais dos três tratamentos ao final do experimento

| Tratamento                        | Inteiro<br>(n=4)         | Bloqueado<br>(n=7)       | Castrado<br>(n=4)        |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Altura do epitélio sensitivo (mm) | 0,17 ± 0,03 <sup>a</sup> | 0,14 ± 0,03 <sup>b</sup> | 0,12 ± 0,04 <sup>b</sup> |

Letras distintas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” de Student (P<0,05).

Concentrações séricas de Testosterona, IGF-I e Leptina:

O perfil sérico de testosterona para os três tratamentos ao longo do experimento encontra-se na Tabela 4. A partir da segunda coleta, os resultados para os animais castrados foram abaixo dos limites de detecção dos kits por isso seus valores não entraram na avaliação. Foi observado efeito do bloqueio do OVN na concentração sérica de testosterona nas coletas quatro e cinco à tarde ( $P < 0,05$ ). Esse resultado sugere que o bloqueio dos ductos incisivos reduziu a entrada de estímulos para o OVN que, por sua vez, reduziu os estímulos hipotalâmicos, reduzindo a liberação diária de GnRH, como previamente descrito, em roedores, por Wysocki et al. (1983).

Registrou-se efeito de turno na coleta três para os animais inteiros e bloqueados, sendo que pela manhã a concentração sérica de testosterona foi maior. Na coleta quatro, observaram-se os maiores valores tanto pela manhã quanto à tarde para ambos os tratamentos, sendo que foi observado aumento nessa coleta comparadas às coletas 2; 1 e 2, para os inteiros e bloqueados, respectivamente.

Os resultados apresentados demonstram que o bloqueio dos ductos incisivos não foi suficiente para promover a variação na concentração sérica de testosterona necessária, para resultar em efeitos nas características de carcaças dos animais bloqueados em relação aos inteiros nas condições desse experimento. Contudo, a diferença observada nos níveis séricos de testosterona à tarde nos animais bloqueados talvez em condições nas quais os animais sejam suplementados, o bloqueio do OVN possa aumentar o peso corporal e grau de acabamento da carcaça, através da redução da exigência nutricional adequada para que os animais atinjam os graus de cobertura de gordura exigidos pelos frigoríficos, visto que foram observadas altas correlações negativas

entre essa característica e os níveis séricos de testosterona (Gortsema et al., 1974). Vale lembrar que para análise das características de carcaças avaliadas, bem como, das análises hormonais foram considerados uma amostragem dos animais desse estudo, podendo não refletir a realidade de todo o lote.

Os perfis séricos das concentrações de IGF-I nos animais dos três tratamentos, ao longo do experimento, constam na tabela 6. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos sobre as concentrações séricas de IGF-I, nem tão pouco, de turno. Foi observada redução das concentrações séricas de IGF-I na terceira coleta para os três tratamentos. Nos animais castrados foi observado aumento gradativo após a terceira coleta.

O perfil sérico de leptina dos animais dos três tratamentos não apresentou alterações ao longo do experimento. Não foi observado efeito de turno sobre o perfil sérico de leptina, dessa forma, os resultados foram condensados dentro de cada tratamento e as comparações entre os animais inteiros e bloqueados foram realizadas. Sendo assim, não foram observadas diferenças, entre esses, nas concentrações séricas de leptina (Fig. 1).

Tabela 4 – Concentração sérica de testosterona dos três tratamentos ao longo do experimento, avaliados em dois diferentes turnos

| Tratamento | Turno | Inteiro<br>(n=6)             | Bloqueado<br>(n=4)           | Castrado<br>(n=6)        |
|------------|-------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Coleta 1   | Manhã | 1,7 ± 1,4 <sup>a,A,B</sup>   | 0,22 ± 0,15 <sup>a,C</sup>   | 0,34 ± 0,1 <sup>a</sup>  |
|            | Tarde | 1,5 ± 1,2 <sup>a,B</sup>     | 0,8 ± 0,65 <sup>a,C</sup>    | 0,33 ± 0,06 <sup>a</sup> |
| Coleta 2   | Manhã | 1,04 ± 0,3 <sup>a,B</sup>    | 3,11 ± 1,7 <sup>a,C,B</sup>  | -                        |
|            | Tarde | 4,04 ± 2,7 <sup>a,A,B</sup>  | 0,46 ± 0,22 <sup>a,B,C</sup> | -                        |
| Coleta 3   | Manhã | 6,5 ± 2,2 <sup>a,A,B,X</sup> | 7,8 ± 1,7 <sup>a,A,B,X</sup> | -                        |
|            | Tarde | 1,6 ± 0,6 <sup>a,B,Y</sup>   | 1,6 ± 0,9 <sup>a,A,B,Y</sup> | -                        |
| Coleta 4   | Manhã | 12,5 ± 2,1 <sup>a,A</sup>    | 8,5 ± 3,8 <sup>a,A</sup>     | -                        |
|            | Tarde | 10,3 ± 1,3 <sup>a,A</sup>    | 5,7 ± 1,23 <sup>b,A</sup>    | -                        |
| Coleta 5   | Manhã | 5,5 ± 2,3 <sup>a,A,B</sup>   | 3,5 ± 1,6 <sup>a,A,B</sup>   | -                        |
|            | Tarde | 8,9 ± 2,05 <sup>a,A</sup>    | 2,7 ± 1,3 <sup>b,A,B,C</sup> | -                        |

Letras minúsculas e maiúsculas distintas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” (P<0,05), respectivamente. Letras minúsculas e maiúsculas indicam efeitos de tratamento dentro de cada coleta (linhas) e efeito de coleta dentro de cada tratamento (colunas), respectivamente. As letras X e Y indicam diferenças entre médias pelo teste “t” pareado (P<0,05), para se avaliar o efeito de turno dentro de coleta e tratamento. Os resultados dos animais castrados não foram expressos a partir da segunda coleta em razão de se obterem valores menores que os limites de detecção dos kits.

Tabela 5 – Concentrações séricas de IGF-I (ng/mL) nos animais dos três tratamentos durante o experimento

| Tratamento | Inteiro<br>(n=6)                 | Bloqueado<br>(n=4)            | Castrado<br>(n=6)             |
|------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Coleta 1   | 338,75 ± 75,8 <sup>a,A,B,C</sup> | 325,1 ± 71,1 <sup>a,B,C</sup> | 365,1 ± 39,5                  |
| Coleta 2   | 490,6 ± 91,3 <sup>a,A,B</sup>    | 365,9 ± 28,6 <sup>a,B</sup>   | 389,3 ± 39,5 <sup>a,C</sup>   |
| Coleta 3   | 280,6 ± 10,9 <sup>a,C</sup>      | 254 ± 44,5 <sup>a,C</sup>     | 248,6 ± 27,6 <sup>a,D</sup>   |
| Coleta 4   | 368,7 ± 46,6 <sup>a,B,C</sup>    | 372,5 ± 39,7 <sup>a,A,B</sup> | 326,24 ± 10,17 <sup>a,B</sup> |
| Coleta 5   | 439,9 ± 30,6 <sup>a,A</sup>      | 473,9 ± 71,1 <sup>a,A</sup>   | 426,02 ± 27,4 <sup>a,A</sup>  |

Letras distintas minúsculas e maiúsculas nas linhas e colunas indicam diferenças entre médias pelo teste “t” (P<0,05), respectivamente. Nas colunas as médias referem-se ao efeito de coleta dentro de tratamento e nas linhas avaliou-se efeito de tratamento dentro de coleta. Na coleta 1 nos animais castrados não haviam amostras suficientes para realizar anova, por isso não foi adicionado nenhuma letra.

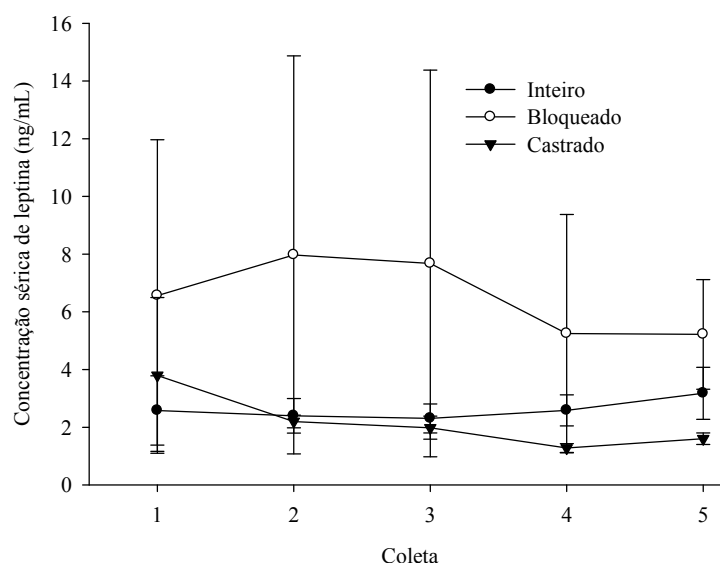


Figura 2 – Perfil sérico de leptina nos animais dos três tratamentos durante o experimento. Ausências de letras indicam que não há diferenças entre médias pelo teste de Friedman ( $P>0,05$ ). Para os animais inteiros,  $n=6$ , para os bloqueados,  $n=4$ , e para os castrados,  $n=3$ .

Os resultados das correlações de Pearson constam na Tabela 6. A tendência de altas correlações negativas encontradas entre a altura do epitélio sensitivo do OVN e o peso da carcaça quente eviscerada e as concentrações séricas de IGF-I (Tab. 6), sugerem que o bloqueio dos ductos incisivos pode promover aumento das concentrações séricas deste hormônio, sendo este, um importante indicador de aumento na cobertura de gordura corporal (Hornick et al., 2000; Brito, 2006). Isso permite inferir que há importante relação entre o bloqueio do ducto incisivo e o metabolismo energético e, conseqüentemente, na

demanda nutricional para ganho de peso corporal e cobertura de gordura na carcaça em animais da raça Nelore. Estas correlações negativas são também evidenciadas pelo fato de que os animais castrados apresentaram maior deposição de gordura superficial (Tab. 2) e menor altura do epitélio sensitivo (Tab. 3). Uma plausível explicação para essas associações talvez seja devido às reduções nas concentrações séricas de testosterona pela tarde nos animais bloqueados em relação aos inteiros (Tab. 4).

Tabela 6 – Correlações entre a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal (Altovn), o peso da carcaça quente eviscerada (Peso frig.) e da concentração sérica do fator de crescimento semelhante a insulina do tipo I (IGF-I)

|        | Peso frig.       | Altovn          |
|--------|------------------|-----------------|
| Altovn | -0,90<br>(0,096) |                 |
| IGF-I  | -                | -0,99<br>(0,06) |

Coefficiente de correlação de Pearson e nível de significância apresentado entre parênteses.

#### 4.0-Conclusão

O bloqueio do OVN, no período pré puberal, constitui em importante ferramenta para incremento no sistema de produção, por aumentar o desenvolvimento corporal ou cobertura de gordura da carcaça, em machos da raça Nelore, destinados ao abate.

#### 5.0-Perspectivas

Outros estudos com diferentes sistemas de manejo e bloqueio dos ductos incisivos fazem-se necessário para inferir com maior precisão a contribuição do órgão vomeronasal, no incremento no sistema de produção de machos Nelore destinados ao abate.

#### 6.0-Referências bibliográficas

- BEDAIR, G. A. M.; THIBIER, M. Peripheral plasma androstenedione and testosterone concentrations in bulls before and during puberty. **J. Reprod. Fert.**, v. 56, p. 7-10, 1979.
- BOOTH, K. K.; KATZ, L. S. Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in Sheep. **Biol. Reprod.**, v. 63, p. 953-958, 2000.
- BRETSCHNEIDER, G. Effects of age and method of castration on performance and stress response of beef male cattle: a review. **L. Prod. Sci.**, v. 97, p. 89-100, 2005.
- BRIDI, A. M. **Normas de avaliação, classificação e tipificação de carnes e carcaças.** Universidade Estadual de Londrina. Disponível em: [http://paraiso.etfto.gov.br/docente/admin/upload/docs\\_upload/material\\_f9a364a334.pdf/html](http://paraiso.etfto.gov.br/docente/admin/upload/docs_upload/material_f9a364a334.pdf/html). Acessado em: 20 jan. de 2012.
- BRITO, L. F. C. **Nutrition, metabolic hormones, and sexual development in bulls.** Tese (Doutorado em Filosofia). 2006.
- 206f. University of Saskatchewan-Saskatoon.
- COOK, R. B.; POPP, J. D.; KASTELIC, J. P.; et al. The effects of active immunization against GnRH on testicular development, feedlot performance, and carcass characteristics of beef bulls. **J. Anim. Sci.** v.78, p.2778-2783, 2000.
- D'OCCHIO, M. J. D.; ASPEN, W. J.; TRIGG, T. E. Sustained testicular atrophy in bulls actively immunized against GnRH: potencial to control carcass characteristics. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 66, p. 47-58, 2001.
- DOVING, K. B.; TROTIER, D. Structure and function of the vomeronasal organ. **J. Experim. Biol.**, v. 201, p. 2913-2925, 1998.
- DULAC, C.; WAGNER, S. Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. **Annu. Rev. Genet.**, v. 40, p. 449-467, 2006.
- ESLASSER, T. H.; RUMSEY, T. S.; HAMMOND, A. C. Influence of diet on basal and growth hormone-stimulated plasma concentrations of IGF-I in Beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 67, p. 128-141, 1989.
- GORTSEMA, S. R.; JACOBS, J. A.; SASSER, R. G.; et al. Effects of endogenous testosterone on production and carcass traits in beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 39, n. 4, 1974.
- HALPERN, M. The organization and function of the vomeronasal system. **An. Rev. Neurosci.**, v. 10, p. 325-362, 1987.
- HORNICK, J. L.; EENAEME, C. V.; GÉRARD, O.; et al. Mechanisms of reduced and compensatory growth. **Dom. Anim. Endoc.**, v. 19, p. 121-132, 2000.

- LIMA, L. O. B.; PIRES, D. A. A.; BOTELHO, P. R. F.; et al. Ganho de peso e rendimento de carcaças de bovinos nelore castrados e não-castrados terminados a pasto. **Anais do IX Fórum de Ensino**, Unimontes, Montes Claros, 2009.
- MANELLA, M. Q.; BOIN, C. Castração de bovinos de corte: 1. **Técnicas de castração e desempenho de machos castrados e não castrados**. Beefpoint. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/sistemas-de-producao/html>. Acessado em: 25 fev. de 2012.
- OLIVEIRA, A. L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 29, n. 2, p. 122-134, 2005.
- PADUA, J. T.; DE OLIVEIRA, M. P.; DA SILVA, L. A. F.; et al. Efeito de métodos de castração e do uso de vermífugos sobre o ganho em peso de bovinos mestiços leiteiros. **C. Anim. Bras.**, v. 4, n. 1, p. 33-43, 2003.
- PATTERSON, D. C.; STEEN, R. W. J.; KILPATRICK, D. J. A comparison of growth, feed efficiency and carcass characteristics of single and twin beef calves derived by embryo transfer. **Anim. Prod.**, v. 57, n. 1, p. 81-89, 1993.
- RESTLE, J.; FLORES, J. L. C.; VAZ, F. N.; et al. Desempenho em confinamento, do desmame ao abate aos quatorze meses, de bovinos inteiros ou castrados, produzidos por vacas de dois anos. **C. Rural**, v. 27, n. 4, p. 651-655, 1997.
- RESTLE, J.; GRASSI, C.; FEIJÓ, G. L. D. Desenvolvimento e rendimento de carcaça de bovinos inteiros ou submetidos a duas formas de castração, em condições de pastagem. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 25, n. 2, p. 324-333, 1996.
- RESTLE, J.; POLLI, V. A., ALVES FILHO, D. C. et al. Desenvolvimento de bovinos de corte de diferentes grupos genéticos desmamados aos 3 ou 7 meses de idade. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 28, n. 5, p. 1023-1030, 1999.
- RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C.; FATURI, C.; et al. Desempenho na fase de crescimento de machos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 29, n. 4, p. 1036-1043, 2000.
- RIBEIRO, E. L. A.; HERNANDEZ, J. A.; ZANELLA, E. L., et al. Growth and carcass characteristics of pasture fed LHRH immunocastrated, castrated and intact Bos indicus bulls. **Meat Sci.**, v. 68, n. 2, p. 285-290, 2004.
- RUSSEL, L. D.; KERSHAW, M.; BORG, K. E.; et al. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: FSH maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. **J. Androl.**, v. 19, n. 3, p. 308-319, 1998.
- SAINZ, R. D.; ARAUJO, F. R. C. Tipificação de carcaças de bovinos e suínos. In: I Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carne, 2001, São Pedro-SP. **Anais...** São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado, 2001. p. 1-27.
- SALAZAR, I.; QUINTEIRO, P. S.; CIFUENTES, J. M. The soft-tissue components of the vomeronasal organ in pigs, cows and horses. **Anat. Histol. Embryol.**, v. 26, p. 179-186, 1997.
- SILVA, A. C. O.; BRAGATTO, S. A.; CLARO, C. A. C.; et al. Avaliação do transporte do rebanho bovino e seus reflexos na qualidade da carne e do couro brasileiro. In: XXII Encontro Nacional de Engenharia de Produção. Curitiba. **Anais...** Curitiba: ACEPRO, 2002. p. 1-7.

VANDERSCHUEREN, D.; VANDENPUT, L.; BOONEM, S.; et al. Androgens and bone. **Endoc. Rev.**, v. 25, n. 3, 2004.

VAN TIENHOVEN, A. **Reproductive physiology of vertebrates**. 2ed. Ithaca: Cornell University Press, 1983. 491p.

WYSOCKI, C. J.; KATZ, Y.; BERNHARD, R. Male vomeronasal organ mediates female induced testosterone surges in mice. **Biol. Reprod.**, v. 28, p. 917-922, 1983.