



Revista
Técnico-Científica



DINÂMICA DA INDUÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL MASCULINO COM CIPIONATO DE ESTRADIOL EM OVINOS MACHOS CASTRADOS

¹ José Carlos Ferrugem Moraes, ² Carlos José Hoff de Souza

^{1,2} Pesquisador Reprodução Animal, Embrapa Pecuária Sul

RESUMO: O emprego de biotécnicas reprodutivas em ovinos demandam a preparação de rufiões para a identificação de ovelhas em cio. Este estudo investiga o início da manifestação de indicadores de comportamento sexual masculino em machos castrados jovens tratados com cipionato de estradiol. No geral foram utilizados 21 capões, estratificados em três grupos similares: - Controle, que não recebeu nenhum tratamento; - ECP tratado com 2 mg de cipionato de estradiol no Dia 0 e no Dia 7; - Testemunha tratado com uma injeção de 2mL de óleo mineral inerte. Foram avaliados durante 10 minutos, em diversos momentos, os indicadores: interesse, reflexo de Flehmen, pateios, tentativas de salto e a execução de monta/cópula efetiva. Foram executados três ensaios para investigar os indicadores na primeira semana após a primeira injeção, para verificar a necessidade da terceira dose do hormônio e para verificar a resposta à duas injeções de ECP ao longo do tempo. Os resultados indicaram que seis dias após a primeira injeção de ECP é possível observar diferenças nos indicadores comportamentais. Entretanto, há necessidade de uma terceira injeção antes da utilização dos rufiões. Ademais é evidente que o principal indicador de comportamento masculino em capões foi a execução da monta/cópula e que avaliações comportamentais devem estar sujeitas a efeitos externos significativos não relacionados a terapia hormonal, considerando as diferenças não explicadas entre os grupos Controle e Testemunha.

Palavras-chave: terapia hormonal, indicadores masculinos, identificação de cios

DYNAMICS OF MALE SEXUAL BEHAVIOR INDUCED BY ESTRADIOL CYPIONATE IN CASTRATED MALE SHEEP

ABSTRACT: *The use of reproductive biotechnologies in sheep requires preparing teaser animals to identify ewes in estrus. This study investigates the onset of male sexual behavior indicators in young, castrated males treated with estradiol cypionate. Overall, 21 wethers were used, divided into three similar groups: - Control, which received no treatment; - ECP (treated with 2 mg of estradiol cypionate on Day 0 and Day 7); - Placebo, treated with a single injection of 2 mL of inert mineral oil. Indicators such as interest, Flehmen response, pawing, mounting*

attempts, and effective mounting/copulation were assessed over 10-minute intervals at different times. Three trials were conducted to investigate behavior indicators in the first week after the initial injection, determine the need for a third hormone dose, and observe the response to two ECP injections over time. Results indicated that six days after the first ECP injection, differences in behavioral indicators were noticeable. However, a third injection was deemed necessary before using the teaser animals. Additionally, it was evident that the primary indicator of male behavior in wethers was effective mounting/copulation, and behavioral evaluations should account for significant external effects unrelated to hormonal therapy, given the unexplained differences between the Control and Placebo groups.

Keywords: hormonal therapy, male indicators, estrous detection

INTRODUÇÃO

Nas décadas de 70 e 80 a inseminação artificial foi utilizada em ovinos como método de reprodução em expressiva fração do rebanho sul-rio-grandense, cujo êxito dependia da correta identificação das ovelhas em cio. Essa tarefa é executada com sucesso pelos rufiões, machos castrados ou não, mas incapacitados de fecundar as fêmeas (Mies Filho, 1987). Os rufiões podem ser utilizados em várias biotécnicas da reprodução, dentre as quais destacam-se a indução de ovulação fora da estação reprodutiva (efeito macho) e o diagnóstico de gestação após o acasalamento, através da taxa de não retorno ao cio após a conclusão da temporada de reprodução.

O principal método recomendado para a preparação de rufiões foi o cirúrgico, a vasectomia bilateral, que consiste numa simples secção ou remoção de uma pequena porção do canal deferente, impedindo o trânsito espermático (Mies Filho, 1987). Esse método é eficiente, entretanto, passou a ser preterido pela possibilidade de os rufiões introduzirem o pênis nas fêmeas durante a cópula, atuando, assim, como potenciais vetores da Brucelose Ovina (Selaive-Villaroel; Vaz, 1986), e, ainda, pela necessidade da manutenção de mais uma categoria de animais nos rebanhos.

Ainda na década de 80 foram desenvolvidos métodos hormonais reversíveis para a preparação de rufiões, utilizando machos castrados ou mesmo fêmeas, que após um período de carência inferior a 15 dias, já podiam ser abatidos para consumo humano. A libido em machos castrados já é constatada três dias após uma injeção de 100 mg de propionato e enantato de testosterona, se mantendo durante pelo menos durante 21 dias (Rodrigues, 1982). Já a preparação de rufiões do sexo feminino requer

uma indução com 10 injeções de 125 mg de um composto de ésteres de testosterona (isocaproato, decanoato, propionato e fempropionato) e para a manutenção do comportamento sexual ativo nas fêmeas uma injeção de 125 mg a cada 14 dias durante o período desejado (Thompson et al., 1983).

Um estudo pioneiro sobre o tema foi delineado por Fulkerson et al. (1981), no qual capões foram tratados três vezes com intervalos de uma semana com 1 mg de cipionato de estradiol ou, alternativamente, com 105 mg de propionato de testosterona. A partir da terceira semana o comportamento sexual masculino dos capões com ambos os tratamentos foi similar ao observado em machos vasectomizados. O que foi confirmado em programas de inseminação em rebanhos comerciais, incluindo mais de cinco mil ovelhas, comaios identificados com frequências similares por capões tratados com os esteróides ou carneiros vasectomizados.

O uso alternativo de estrógenos ou testosterona na preparação de rufiões derivou da confirmação da hipótese de que há necessidade de aromatização da testosterona para sua atuação na determinação cerebral de comportamento sexual masculino (Pinckard et al., 2000; Roselli et al., 2006).

A recomendação local do uso do estradiol para a produção de rufiões a partir de machos castrados foi de três injeções de 2 mg de cipionato de estradiol com intervalos de sete dias e, para manutenção do comportamento sexual por períodos maiores, repetir os tratamentos a cada 14 dias (Souza et al., 2005). O emprego dessa metodologia reiterou a eficácia do uso do estrogênio, adicionando uma redução no custo do tratamento na ordem de quinze vezes em comparação com medicamentos à base de testosterona.

O objetivo deste experimento foi o de trazer novas informações sobre o início da manifestação dos sinais de comportamento sexual ativo em machos ovinos castrados após a terapia com cipionato de estradiol. Ou seja, no período compreendido entre a primeira injeção e o início da utilização dos rufiões, antes da terceira injeção.

MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações foram efetivadas durante o outono, a estação reprodutiva preferencial dos ovinos no sul do Brasil (Mies Filho; Ramos, 1960), incluindo três ensaios experimentais. O primeiro foi executado durante oito dias entre 16/03 e 23/03 (Dia 0 até Dia 7), visando verificar a resposta à primeira injeção de 2 mg de cipionato de estradiol na primeira semana. As avaliações subsequentes foram efetuadas em 30/03 e 06/06, respectivamente Dia 14 e Dia 21 após o primeiro tratamento hormonal. Já o terceiro ensaio foi efetuado em 26/04, 03/05 e 10/05, respectivamente Dias 0, 7 e 14 relativos à uma nova sequência de injeções de estradiol, já praticamente no final da estação reprodutiva.

O desenho experimental dos dois primeiros ensaios visou atender os três princípios básicos da experimentação: a manipulação, o controle e a aleatoriedade. A manipulação foi efetuada no grupo denominado ECP, que incluiu 7 borregos da raça Corriedale castrados ao nascer com idade entre 7 e 8 meses, tratados com duas injeções, via intramuscular de 2mg de cipionato de estradiol com intervalo de sete dias (Dia 0 e Dia 7). O controle outro elemento essencial de um desenho experimental verdadeiro foi extremamente valorizado pela inclusão de um grupo Controle com sete animais que receberam uma injeção com o mesmo volume (2 mL) de óleo mineral inerte e um terceiro grupo também de sete borregos, denominado de Testemunha que não foi submetido a nenhum procedimento. A aleatoriedade foi garantida com o emprego de animais contemporâneos, com porte físico e peso corporal semelhantes, respectivamente de $39,6 \pm 2,2$, $41,9 \pm 2,5$ e $40,3 \pm 2,1$ kg para os grupos ECP, Controle e Testemunha ($F=0,262$ NS).

O tamanho da amostra foi estimado em 7 animais por grupo, considerando ausência de resposta nos grupos Controle e Testemunha e uma resposta positiva de 80% no grupo ECP, com um poder de 80% e nível de significância de 5%.

O terceiro ensaio foi delineado como uma série temporal, visando quantificar o efeito do tratamento ao longo de um período após a manipulação, no caso específico as duas injeções de ECP. Este ensaio incluiu oito borregos utilizados anteriormente

nos grupos Controle e Testemunha, que não tinham recebido estradiol e, que não tinham manifestado comportamento sexual masculino. Todos os borregos receberam 2 mg de cipionato de estradiol nos Dias 0 e 7 da mesma forma que o primeiro bloco experimental.

As variáveis utilizadas para verificar o efeito do estradiol no comportamento sexual dos borregos descritas a seguir foram mensuradas durante 10 minutos após a colocação dos borregos, em trios previamente estipulados, ordenados ao acaso, frente a pelo menos duas fêmeas sabidamente em cio, já identificadas por carneiros vasectomizados no serviço de inseminação artificial executado em paralelo ao ensaio experimental. Na efetivação do terceiro ensaio os borregos foram apresentados em duplas para duas ovelhas em estro previamente identificado.

As variáveis mensuradas foram as seguintes:

- Tempo_Interesse, tempo decorrido em minutos até cada borrego manifestar aproximação lateral, encostar o focinho, inalar (cheirar) os odores das fêmeas em estro;
- NoInteresse, número de vezes que cada borrego demonstrou interesse nas fêmeas em estro;
- Tempo_Flehmen, tempo decorrido para a manifestação do reflexo característico do macho com elevação do lábio superior, indicativo da percepção de sinais químicos e físicos pelo órgão vomeronasal relacionados à percepção de oportunidade de cópula (Bland; Jubilan, 1987)
- NoFlehmen, número de vezes que cada borrego demonstrou o reflexo no período de exposição às fêmeas em estro;
- Tempo_Pateio, tempo decorrido para a manifestação de chutes no chão com as patas dianteiras e vocalizações, também considerados sinais indicativos da fase pré-copulatória (Ungerfeld; Alexander, 2024);
- NoPateio, número de vezes que cada borrego apresentou o gesto até o décimo minuto após sua apresentação as fêmeas;

- Tempo_Salto, tempo decorrido até a manifestação de tentativa de monta nas fêmeas em estro, mas, sem efetuar a cópula;
- NoSalto, número de tentativas de monta contadas que cada borrego efetuou durante os dez minutos de exposição às fêmeas;
- Tempo_Monta, tempo decorrido até cada borrego realizar a monta/cópula, com ou sem a introdução do pênis na vagina das fêmeas, uma vez que nem todos os machos apresentavam exposição peniana;
- NoMonta, número de serviços efetuados por cada borrego durante sua exposição às fêmeas.

O terceiro ensaio incluiu três avaliações em 8 capões que não haviam apresentado comportamento sexual positivo nos ensaios anteriores e pertenciam aos grupos Controle (5) ou Testemunha (3). Esse ensaio foi desenhado para verificar apenas a resposta à duas injeções de ECP.

As variáveis foram contadas durante 10 minutos para cada trio ou dupla de borregos, apresentando distribuições tipo Poisson, com desvio para esquerda quando mensuradas quanto ao tempo para sua manifestação e para a direita quando em número de eventos, exceto no caso da variável Tempo_Interesse que apresentou distribuição bimodal.

As médias e distribuições das variáveis contadas (Tempo_Interesse, NoInteresse, Tempo_Flehmen, NoFlehmen, Tempo_Pateio, NoPateio, Tempo_Salto, NoSalto, Tempo_Monta e NoMonta) para cada Tratamento e Dia de aferição foram comparadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal Wallis, considerando NS (não-significativo); *, ** e *** (significativo a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente).

As análises foram efetuadas no sistema R empregando o conjunto de pacotes BlueSky Statistics (v. 10.3.4 - <https://www.blueskystatistics.com/>).

RESULTADOS

No primeiro ensaio foi investigada a resposta comportamental nos sete dias subsequentes à apenas uma injeção de cipionato de estradiol. As análises das variáveis mensuradas indicaram que na primeira semana poucos animais responderam positivamente aos critérios definidos para cada variável contada, independentemente do tratamento testado.

Nas Tabelas 1 e 2 estão apresentadas as médias das variáveis de tempo para manifestação das características e número de eventos para os três tratamentos.

Tabela 1. Tempo médio (\pm s.d.) em minutos nos para a manifestação dos eventos relacionados ao comportamento sexual dos capões durante a primeira semana após uma injeção de ECP no grupo tratado em comparação com o duplo controle.

Table 1. Mean time (\pm s.d.) in minutes for the onset of events related to sexual behavior in wethers during the first week after an ECP injection in the treated group compared to the double control group.

Variáveis	Controle	ECP	Testemunha	P
Tempo_Interesse	7,33 \pm 3,88 ^a	5,36 \pm 4,73 ^b	3,46 \pm 4,19 ^c	***
Tempo_Flehmen	9,54 \pm 1,98 ^a	8,69 \pm 2,94 ^b	7,87 \pm 3,61 ^b	**
Tempo_Pateio	9,55 \pm 1,91 ^a	8,36 \pm 3,42 ^b	7,88 \pm 3,69 ^b	**
Tempo_Salto	9,52 \pm 1,84 ^a	7,68 \pm 4,12 ^b	6,81 \pm 4,33 ^b	*
Tempo_Monta	9,86 \pm 1,05 ^a	8,73 \pm 3,11 ^b	9,81 \pm 1,19 ^a	**

Sobrescritos diferentes nas linhas indicam as diferenças significativas entre tratamentos.

Tabela 2. Número médio (\pm s.d.) de eventos relacionados ao comportamento sexual dos capões em dez minutos de observação durante a primeira semana após uma injeção de ECP no grupo tratado em comparação com o duplo controle.

Table 2. Mean number (\pm s.d.) of events related to sexual behavior in wethers during ten minutes of observation in the first week after an ECP injection in the treated group compared to the double control group.

Variáveis	Controle	ECP	Testemunha	P
NoInteresse	0,84 \pm 1,32 ^a	4,00 \pm 6,37 ^b	4,57 \pm 5,19 ^c	***
NoFlehmen	0,05 \pm 0,23 ^a	0,38 \pm 1,05 ^b	0,41 \pm 0,80 ^b	**
NoPateio	0,16 \pm 0,95 ^a	1,20 \pm 3,10 ^b	1,52 \pm 4,46 ^b	**
NoSalto	0,16 \pm 0,57 ^a	2,30 \pm 4,76 ^b	1,84 \pm 3,64 ^b	***
NoMonta	0,02 \pm 0,13 ^a	0,41 \pm 1,17 ^b	0,04 \pm 0,19 ^a	**

Sobrescritos diferentes nas linhas indicam as diferenças significativas entre tratamentos.

A análise dos tratamentos ao longo da primeira semana indica diferenças significativas entre tratamentos, principalmente em decorrência da variabilidade ao longo dos primeiros sete dias de avaliação.

É interessante enfatizar que tanto as variáveis temporais, quanto as relativas a contagem de eventos foram diferentes entre os tratamentos, entretanto com uma peculiaridade intrigante, o grupo Testemunha, que não recebeu nenhum tratamento apresentou médias similares ou até superiores ao grupo que recebeu o hormônio. Revisando os dados da Tabela 1, constata-se esse fato para todas as variáveis relativas ao tempo para manifestação dos eventos, exceto para o tempo médio para monta, similar ao Controle e inferiores ao ECP. Da mesma forma as médias do grupo Testemunha foram superiores na manifestação de Interesse, similares quanto a manifestação do reflexo de Flehmen, pateios e tentativas de saltos, mas inferiores ao grupo tratado com ECP, reiterando as variáveis de tempo.

Nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5 podem ser verificados os valores médios para cada uma das variáveis mensuradas nos três tratamentos, marcadas com asteriscos, sempre que as diferenças foram significativas.

Na Figura 1 estão apresentadas as médias do número de vezes que os sete capões de cada grupo manifestaram interesse pelas fêmeas nos dez minutos de avaliação. O gráfico ilustra claramente uma perda de interesse dos animais do grupo Controle e em contraste uma maior atividade dos animais do grupo Testemunha, destaca-se ainda que as diferenças foram significativas a partir do Dia 6.

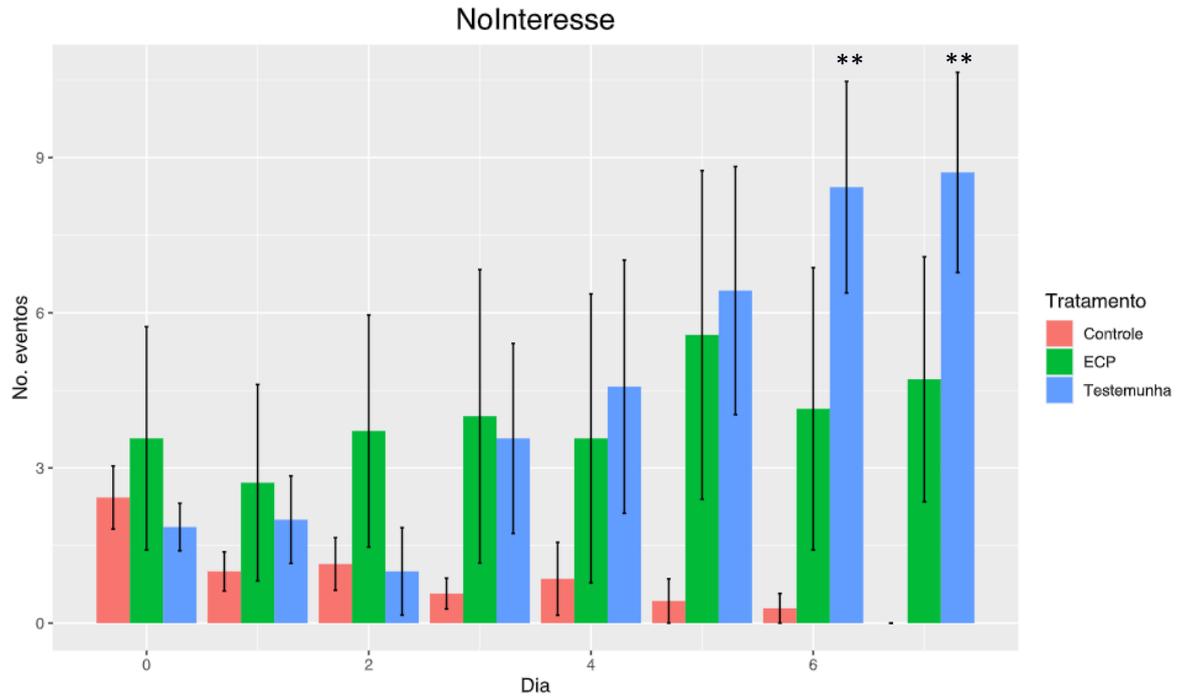


Figura 1. Número médio de vezes que os borregos manifestaram interesse nos diferentes tratamentos ao longo da primeira semana após uma injeção de ECP.

Figure 1. Mean number of times wethers showed interest in the different treatments during the first week after an ECP injection.

Na Figura 2 podem ser visualizadas as médias do número de vezes que o reflexo de Flehmen foi observado nos distintos tratamentos. Apenas no sexto dia após a injeção de ECP foi detectada diferença significativa entre as médias, reiterando uma maior atividade no grupo Testemunha, embora similar ao grupo tratado com ECP.

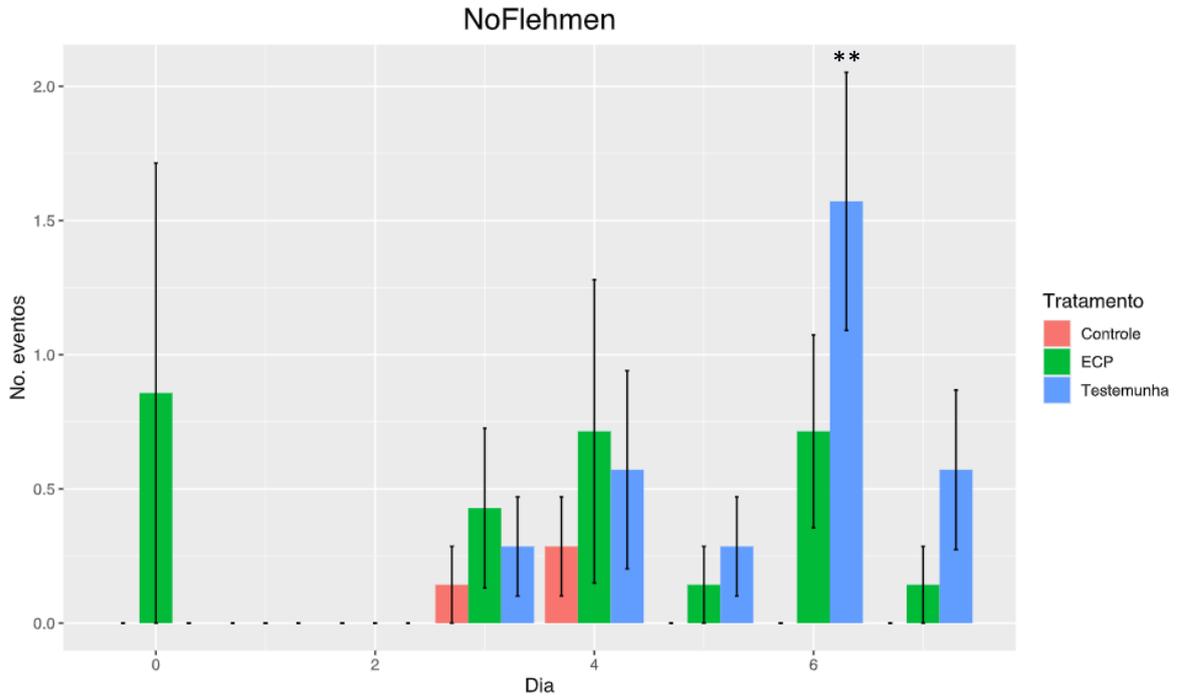


Figura 2. Médias do número de manifestações do reflexo de Flehmen nos diferentes tratamentos ao longo da primeira semana após uma injeção de ECP.

Figure 2. Mean number of Flehmen reflex occurrences in the different treatments during the first week after an ECP injection.

As médias de tempo e o número de execuções do gesto de Pateio foram similares entre os tratamentos durante os seis primeiros dias após a injeção do ECP; apenas no 7o. dia foi verificado que o grupo Controle demorou mais tempo para a execução do gesto (Figura 3), coerente com o fato que os capões desse grupo não manifestaram o evento.

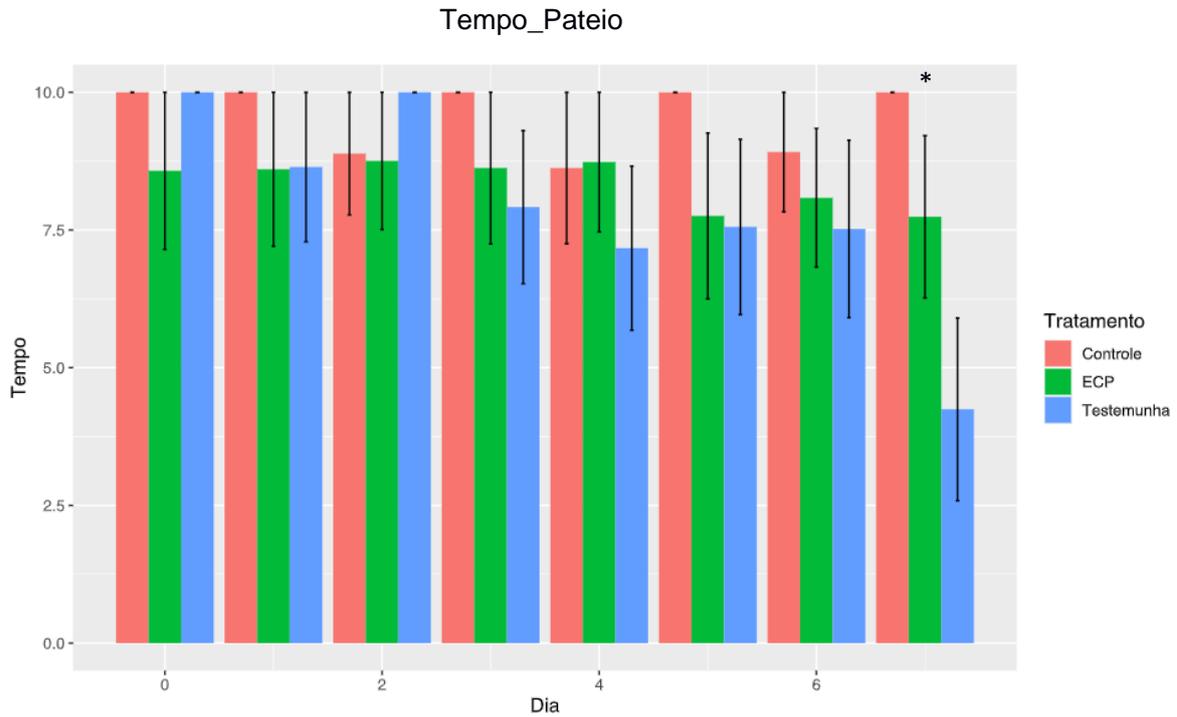


Figura 3. Médias de tempo (min.) para manifestação dos gestos característicos de pateio nos diferentes tratamentos ao longo da primeira semana após uma injeção de ECP.

Figure 3. Mean time (min.) for the display of characteristic pawing gestures in the different treatments during the first week after an ECP injection.

Na Figura 4 pode ser visualizado que o grupo Testemunha no 6o. dia levou menos tempo para a execução de tentativas de monta em comparação com o grupo tratado com o hormônio e o Controle. O que não se repete no 7o. dia, quando apenas os capões do grupo Controle demoraram mais tempo para tentar montar as ovelhas em cio. Esse perfil também deve estar conectado à baixíssima manifestação de tentativas de monta pelos capões do grupo Controle.

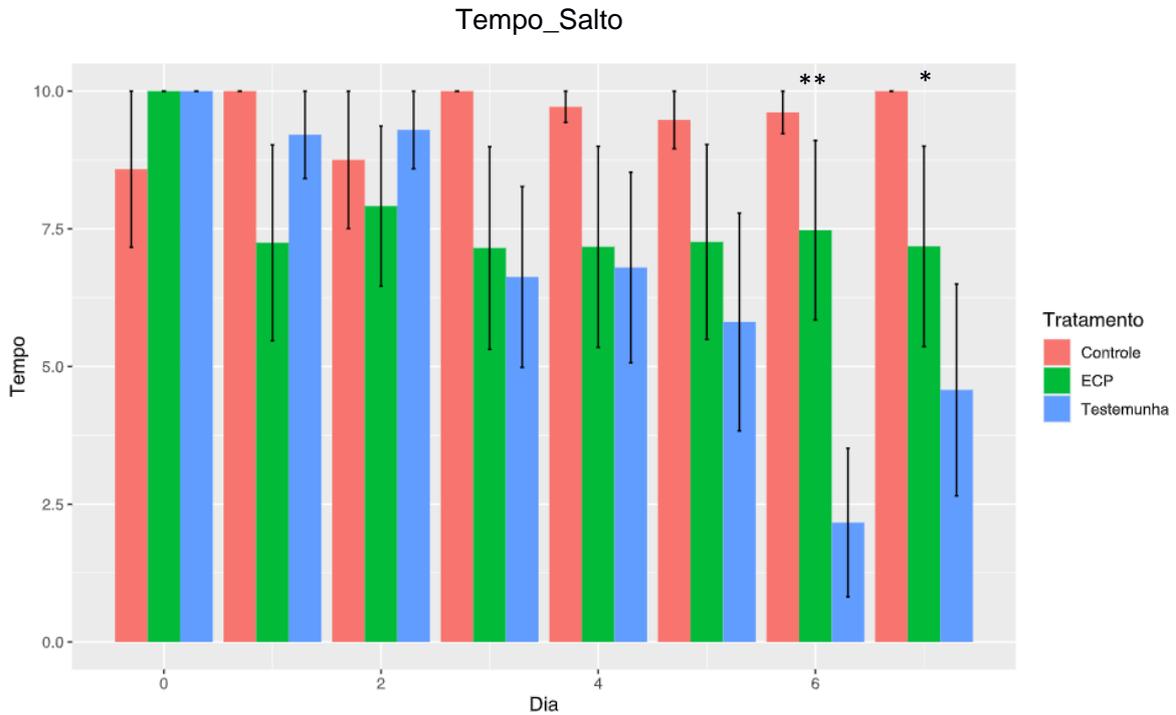


Figura 4. Médias do tempo (min.) para a manifestação de tentativas de monta pelos borregos dos distintos tratamentos ao longo da primeira semana após uma injeção de ECP.

Figure 4. Mean time (min.) for the onset of mounting attempts by wethers in the different treatments during the first week after an ECP injection.

Tanto o tempo que os capões levaram para efetuar a cópula/monta quanto o número de montas não diferiram entre tratamentos, embora as médias sejam indicativas de um comportamento masculino mais exacerbado dos animais tratados com ECP (Figura 5), esses dados também reiteram a importância do baixo número de animais reativos e a amplitude de variação para todas as características medidas.

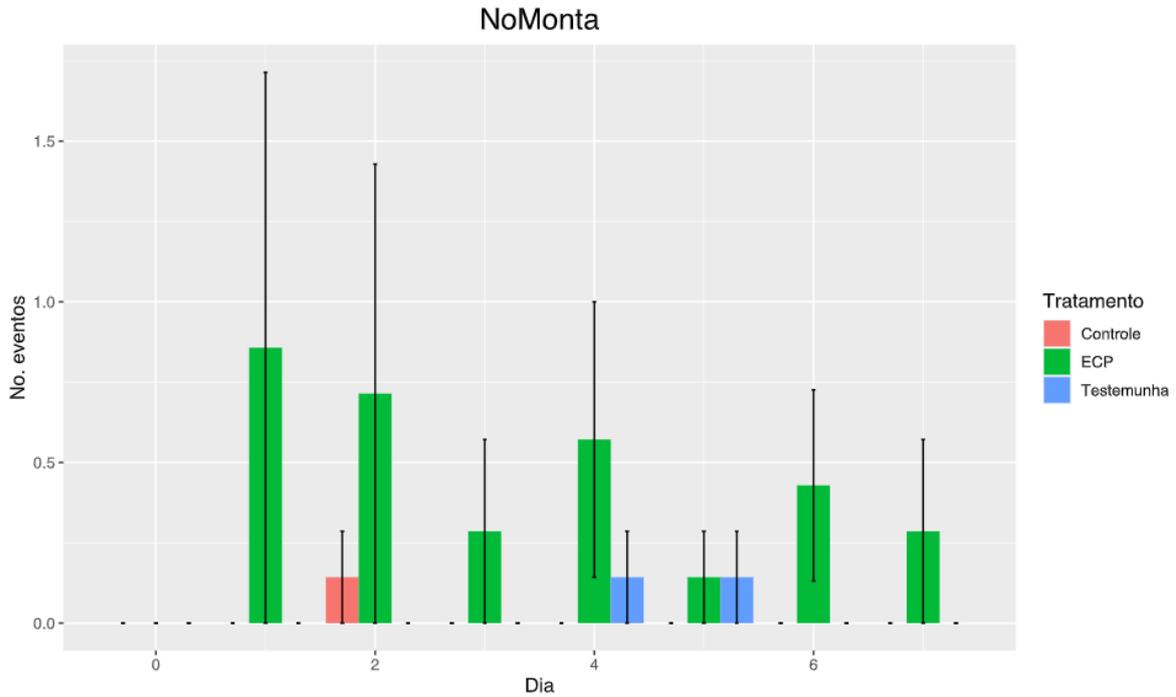


Figura 5. Médias do número de montas/cópulas efetuadas pelos capões dos diferentes tratamentos ao longo da primeira semana após uma injeção de ECP.

Figure 5. Mean number of mounts/copulations performed by wethers in the different treatments during the first week after an ECP injection.

O segundo ensaio nada mais é do que a continuidade das observações das mesmas variáveis após a aplicação da segunda dose do hormônio no grupo ECP no Dia 7, com dois objetivos: primeiro, para verificar a dinâmica das variáveis de comportamento sexual masculino nos capões até 15 dias após duas injeções de cipionato de estradiol (Dia 14 e Dia 21) e, ao mesmo tempo, investigar a necessidade de uma terceira dose para a preparação de rufiões com este hormônio, após duas semanas da segunda injeção (Dia 21).

No total 66% dos capões manifestaram interesse, sendo 31% do grupo Controle, 69% do ECP e 100% do Testemunha. Quanto à apresentação do reflexo de Flehmen apenas 25% dos animais o manifestaram, sendo nenhum do grupo Controle, 37% do ECP e 38% do Testemunha. O reflexo do Pateio, foi apresentado por 27% dos animais, sendo também nenhum no Controle, 37% no ECP e 47% no Testemunha. No geral 25% dos capões apresentaram tentativas de cobertura, mas

apenas 6% entre os animais do grupo Controle, 26% do grupo ECP e 44% do Testemunha. O sinal efetivamente importante para a conclusão de manifestação do comportamento sexual masculino a monta, característica da cópula, com ou sem introdução do pênis, foi apresentado apenas por 4% dos animais, sendo nenhum no grupo Controle, 9% no tratado com ECP e 3% no Testemunha.

As variáveis mensuradas apresentaram comportamento similar à primeira semana, com poucos animais manifestando as características mensuradas nos dez minutos de avaliação e um pequeno número de animais manifestando os eventos controlados. Em função da semelhança com os dados colhidos na primeira semana, não estão sendo apresentadas as análises das variáveis temporais (Tempo_Interesse, Tempo_Flehmen, Tempo_Pateio, Tempo_Salto e Tempo_Monta), apenas as quantitativas (NoInteresse, NoFlehmen, NoPateio, NoSalto e NoMonta).

Na Tabela 3 estão apresentadas as médias do grupo tratado e dos controles. No geral observa-se diferenças significativas entre as médias de tratamentos e dias de observação para quase todas as variáveis, exceto para o número de montas. Entretanto, é importante salientar que interessa apenas a comparação direta entre tratamentos para verificar quando teria início o efeito pretendido da injeção hormonal.

O número médio de animais demonstrando interesse pelas fêmeas em cio foi diferente entre tratamentos a partir do 7o. Dia. Embora os animais do grupo Controle quase não demonstrassem interesse, as maiores médias foram anotadas nos animais Testemunha que também não tinham recebido o ECP, sendo possível reiterar a hipótese de ausência de relação de causalidade com a terapia hormonal, refletindo apenas curiosidade dos animais quando apresentados a fêmeas em estro em um novo ambiente.

A manifestação do reflexo de Flehmen foi maior no Dia 14 no grupo ECP e no Testemunha. Já o Pateio foi maior no grupo Testemunha no sétimo dia e, o número de tentativas de saltos foi similar nos quatro momentos em que foram mensurados. Da mesma forma, não houve diferença significativa para o número de montas completas, o que pode ser devido ao baixo número de animais que efetuaram a monta.

A despeito disso as médias apresentadas na Figura 6, indicam claramente que apenas capões do grupo tratado com ECP executaram a cópula e que há necessidade da aplicação da terceira dose quatorze dias após a segunda injeção conforme recomendado.

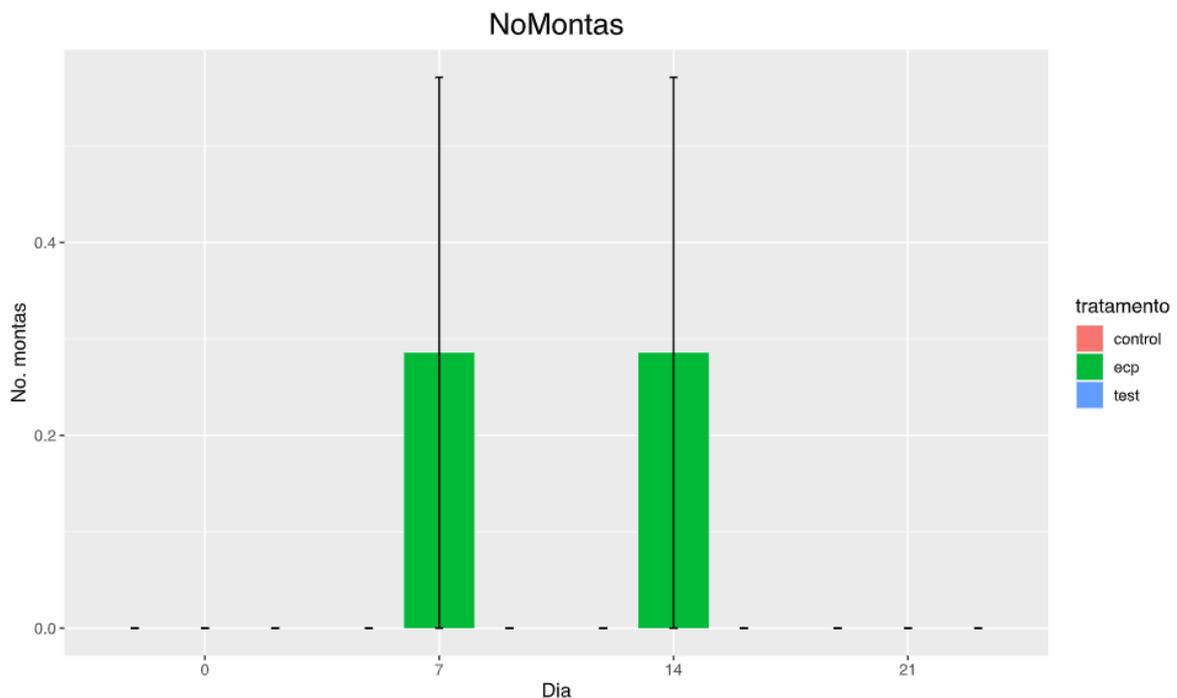


Figura 6. Médias do número de montas/cópulas efetuadas pelos capões dos diferentes tratamentos após duas injeções de ECP nos dias 0 e 7.

Figure 6. Mean number of mounts/copulations performed by wethers in the different treatments after two ECP injection at days 0 and 7.

Tabela 3. Número médio de eventos nos animais tratados com ECP e grupos controle após duas injeções com intervalos de sete dias no segundo ensaio.

Table 3. Mean number (\pm s.d.) of events related to sexual behavior in wethers during ten minutes of observation after two ECP injection in the second trial.

Variável / Dia	Controle	ECP	Testemunha	P
NoInteresse				
Dia 0	2,43 \pm 1,62	3,57 \pm 5,78	1,86 \pm 1,21	NS
Dia 7	0 \pm 0 ^a	4,71 \pm 6,26 ^b	8,71 \pm 5,12 ^b	**
Dia 14	0,29 \pm 0,76 ^a	6,00 \pm 6,58 ^b	9,33 \pm 6,62 ^c	**
Dia 21	0,14 \pm 0,38 ^a	4,29 \pm 4,46 ^b	6,83 \pm 5,98 ^b	**
Geral	0,71 \pm 1,34 ^a	5,06 \pm 6,05 ^b	7,12 \pm 5,40 ^c	***
NoFlehmen				
Dia 0	0 \pm 0	0,86 \pm 2,27	0 \pm 0	NS
Dia 7	0 \pm 0	0,14 \pm 0,38	0,57 \pm 0,79	NS
Dia 14	0 \pm 0 ^a	1,43 \pm 1,40 ^b	1,33 \pm 1,03 ^b	*
Dia 21	0 \pm 0	1,57 \pm 2,15	0,50 \pm 0,55	NS
Geral	0 \pm 0 ^a	1,00 \pm 1,63 ^b	0,59 \pm 0,84 ^b	***
NoPateio				
Dia 0	0 \pm 0	0,43 \pm 1,13	0 \pm 0	NS
Dia 7	0 \pm 0 ^a	1,00 \pm 1,53 ^b	2,57 \pm 2,94 ^c	*
Dia 14	0 \pm 0	1,29 \pm 1,70	1,33 \pm 2,34	NS
Dia 21	0 \pm 0	2,43 \pm 3,15	1,50 \pm 2,81	NS
Geral	0 \pm 0 ^a	1,51 \pm 2,66 ^b	1,62 \pm 2,56 ^b	***
NoSalto				
Dia 0	0,14 \pm 0,38	0 \pm 0	0 \pm 0	NS
Dia 7	0 \pm 0	2,86 \pm 5,01	4,71 \pm 0,72	NS
Dia 14	0,14 \pm 0,38	1,43 \pm 2,57	0,83 \pm 0,41	NS
Dia 21	0 \pm 0	1,43 \pm 2,51	3,33 \pm 8,57	NS
Geral	0,06 \pm 0,24 ^a	1,80 \pm 4,02 ^b	2,38 \pm 4,91 ^b	**
NoMonta				
Dia 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	-
Dia 7	0 \pm 0	0,29 \pm 0,76	0 \pm 0	NS
Dia 14	0 \pm 0	0,29 \pm 0,76	0 \pm 0	NS
Dia 21	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	-
Geral	0 \pm 0	0,14 \pm 0,49	0,03 \pm 0,18	NS

Sobrescritos diferentes nas linhas indicam as diferenças significativas entre tratamentos.

O terceiro ensaio foi desenhado essencialmente para verificar o efeito do tratamento ao longo do tempo. Os animais incluídos no presente ensaio tinham sido avaliados até três semanas antes sem manifestarem eventos característicos do comportamento masculino, proporcionando a continuidade das avaliações nesse

formato. Na Tabela 4 estão descritas as frequências, o tempo para manifestação e o número de eventos identificados após os tratamentos nos dias zero e sete.

Tabela 4. Frequência, tempo para manifestação e número de eventos identificados para as variáveis relacionadas ao interesse, reflexo de Flehmen e execução da cópula (monta) no terceiro ensaio.

Table 4. Frequency, mean time (\pm s.d.) in minutes for the onset of events and mean number (\pm s.d.) of events related to sexual behavior in wethers after one and two ECP injections in the third trial.

Variável	Dia 0	Dia 7	Dia 14	P
Interesse (%)	0	87,5	87,5	***
Tempo_interesse (min)	-	0,15 \pm 0,13	0,19 \pm 0,18	NS
NoInteresse (no. Eventos)	0 ^a	6,75 \pm 5,97 ^b	7,50 \pm 5,98 ^b	**
Flehmen (%)	0	50,0	25,0	NS
Tempo_flehmen	-	2,42 \pm 1,99	2,13 \pm 2,77	NS
NoFlehmen (no. Eventos)	0	0,50 \pm 0,54	0,25 \pm 0,46	NS
Monta	0	75,0	88,0	***
Tempo_monta	-	1,55 \pm 1,82	0,40 \pm 0,36	NS
NoMonta	0 ^a	6,88 \pm 6,20 ^b	13,88 \pm 8,64 ^b	**

Sobrescritos diferentes nas linhas indicam as diferenças significativas entre tratamentos

Neste ensaio o interesse, que incluiu a aproximação às fêmeas em estro, identificação de odores ano-genitais e até tentativas de salto, poderia ser considerado como um indicador do comportamento masculino nas avaliações sete e quatorze dias após a injeção hormonal. Isso porque foram observadas mudanças em frequência e número de eventos. Apenas a variável Tempo_interesse não se modificou significativamente após a terapia hormonal.

Já o reflexo de Flehmen, embora tenha sido identificado em maior percentual após a primeira injeção de ECP, os incrementos não foram significativos, como pode ser verificado na Tabela 4.

A variável monta, o efetivo indicador do comportamento masculino, foi observada em percentuais crescentes e significativos (Figura 7), bem como em número superior de eventos nos dias sete e quatorze.

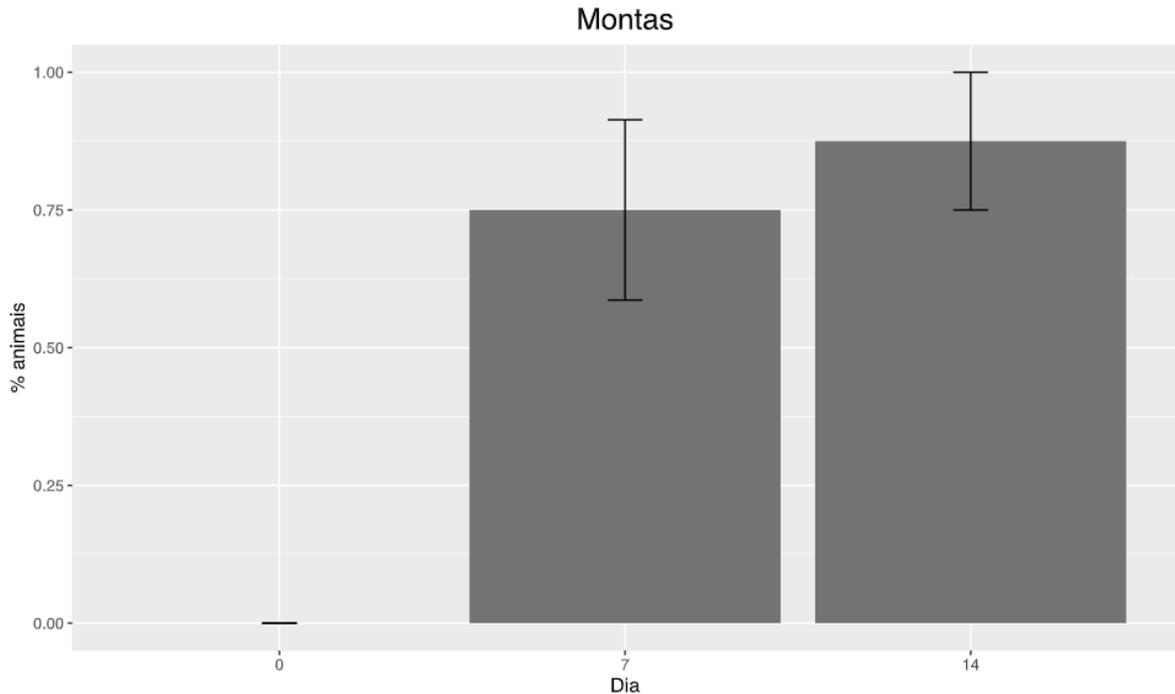


Figura 7. Percentual de capões que efetuaram montas/cópulas após duas injeções de ECP no Dia 0 e no Dia 7.

Figure 6. Frequency of mounts/copulations performed by wethers after two ECP injection at days 0 and 7.

DISCUSSÃO

É fundamental inicialmente lembrar que a hipótese geral, não testada neste estudo, é de que há necessidade de aromatização da testosterona para sua ação sobre o comportamento sexual à nível cerebral (Pinckard et al., 2000). A demonstração na prática foi efetuada por Fulkerson et al. (1981) através do tratamento de capões com três doses de cipionato de estradiol ou propionato de testosterona com intervalos semanais, promovendo o aparecimento de comportamento sexual similar à machos vasectomizados, já na terceira injeção, e, persistindo durante até cinco semanas.

Entretanto, a cinética de aparecimento do comportamento masculino no período que antecede a terceira injeção não tinha sido avaliada. No presente estudo foi verificado que as mudanças significativas de comportamento dos capões iniciam no sexto dia após a primeira injeção com ECP. O que suporta o uso de intervalos

semanais para a repetição dos tratamentos hormonais, visando a indução das mudanças comportamentais.

O uso de dois controles para investigar as variáveis utilizadas para mensurar as mudanças comportamentais dos capões após uma ou duas injeções de ECP, indicou que as variáveis utilizadas são frágeis e possivelmente muito influenciadas pelos indivíduos e sua interação com o ambiente. O que concorda com alguns estudos revisados por Ungerfeld; Alexander (2024), que inferem que diferentes testes de comportamento e/ou desempenho sexual tem resultados díspares quanto a classificação de carneiros para a reprodução e baixa receptibilidade de resultados, especialmente quando estão sendo avaliados carneiros jovens, como no presente caso. O que também foi verificado num estudo sobre estímulo positivo de consumo de certos alimentos que não modificaram oito indicadores do comportamento sexual (García-Mahecha et al. 2023).

O principal indicador de comportamento masculino, a monta com ou sem exposição/introdução do pênis na vagina das fêmeas, não foi diferente entre tratamentos em função de que poucos animais executaram a monta nos dois primeiros ensaios, no entanto, apenas os capões tratados executaram a monta, similar à observações anteriores de Fulkerson et al. (1981) e de Signoret et al. (1982) que investigaram além do surgimento da libido, o percentual de ovelhas que ovularam frente a capões e ovelhas tratadas com propionato de testosterona.

O conjunto de informações colhidas no segundo ensaio indicou a necessidade da utilização da terceira dose originalmente recomendada no preparo dos rufiões com cipionato de estradiol, especialmente quando se considera o conteúdo da Figura 6. No entanto, deve ser considerado o fato de que poucos animais manifestaram os eventos controlados, evidenciando a grande variabilidade nessas variáveis contadas, o que determina a não identificação de diferenças significativas entre tratamentos e dias de avaliação (Tabela 3, variável NoMonta).

Já no terceiro ensaio a manifestação de interesse em percentual e número de eventos aumentou nos dias 7 e 14, de forma distinta ao que foi verificado nos dois

primeiros ensaios, nos quais fora observada perda de interesse no grupo controle ao longo do tempo. O que permite conclusões mais definitivas se essa variável estaria apenas traduzindo curiosidade ou se poderia ser considerada como um indicador pré-copulatório da indução hormonal de libido. O reflexo de Flehmen ocorre após o macho ter cheirado a urina da fêmea em cio ou a região da vulva nos dias que antecedem o estro, como um indicador de intenção de cópula por parte da ovelha. Esse gesto/reflexo seria um mecanismo olfatório de confirmação da fêmea em estro, através de um feromônio produzido na vagina e transportado pela urina (Bland; Jubilan, 1987). Sendo que nem todos os machos apresentam o gesto de forma consistente, e nem sempre é acompanhado de uma cópula posterior (Odagiri et al., 1995). Fato este, também verificado no terceiro ensaio, corroborando a importância da cópula como indicador de comportamento sexual masculino e que a partir da segunda semana do tratamento os machos já podem ser utilizados para o fim que se destinam.

CONCLUSÕES

Os resultados dos três ensaios sobre a indução de comportamento sexual masculino em capões a partir dos 7/8 meses de idade revelaram que ainda na primeira semana após a primeira injeção de cipionato de estradiol é possível observar diferenças nos indicadores comportamentais utilizados. No entanto, após os tratamentos nos Dias 0 e 7 há necessidade de uma terceira injeção antes do efetivo uso dos rufiões, para a obtenção de machos efetuando a monta/cópula, o que efetivamente permite a detecção de estro e/ou indução de ovulação em fêmeas em anestro.

As avaliações comportamentais estão sujeitas a efeitos externos significativos não relacionados a terapia hormonal, considerando as significativas diferenças não explicadas entre os grupos Controle e Testemunha comparados nos dois primeiros ensaios. Essa baixa utilidade dos indicadores pré-copulatórios utilizados pode ser decorrente do baixo número de animais que manifestaram os eventos sob avaliação

nos dois primeiros ensaios e de fatores ambientais que afetem a demonstração da libido nos machos castrados.

REFERÊNCIAS

BLAND, K. P.; JUBILAN, B. M. Correlation of flehmen by male sheep with female behaviour and oestrus. **Animal Behaviour**, v. 35, n. 3, p. 735–738, jun. 1987.

FULKERSON, W. J.; ADAMS, N. R.; GHERARDI, P. B. Ability of castrate male sheep treated with oestrogen or testosterone to induce and detect oestrus in ewes. **Applied Animal Ethology**, v. 7, n. 1, p. 57–66, 1981.

GARCÍA-MAHECHA, A. M.; UNGERFELD, R.; LACUESTA, L. Positive stimulus and sexual behavior of rams. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 267, p. 106058, out. 2023.

MIES FILHO, A.; RAMOS, A. A. Ciclo estral de ovelhas no Brasil. Arquivos da Escola de Agronomia e Veterinária da Universidade Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre, v. 3, p. 57-63, 1960.

MIES FILHO, A. Inseminação artificial. 6ª. Ed. Porto Alegre: Sulina, v.2., 1987

ODAGIRI, K; MATSUZAWA, Y.; YOSHIKAWA, Y. Analysis of sexual behaviour in rams (*Ovis aries*). **Exp. Anim.**, v. 44, n. 3, p. 187–192, 1995.

PINCKARD, K. L. et al. Review: brain aromatization and other factors affecting male reproductive behavior with emphasis on the sexual orientation of rams☆. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 18, n. 1, p. 83–96, jan. 2000.

ROSELLI, C. E. et al. The effect of aromatase inhibition on the sexual differentiation of the sheep brain. **Endocrine**, v. 29, p. 501–511, 2006.

RODRIGUES, D.V.C. Utilização de machos castrados androgenizados para identificação do cio em ovelhas. A Hora Veterinária, Porto Alegre, RS 2(10): 25-27 1982.

SELAIVE-VILLAROEL, A.B.; VAZ, A.K. Condições sanitárias e de manejo de rufiões utilizados em inseminação artificial em ovinos no estado do Rio Grande do Sul. *Boletim de Pesquisa*, v. 7, Embrapa UEPAE Bagé, 1986.

SIGNORET, J. P.; FULKERSON, W. J.; LINDSAY, D. R. Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. ***Applied Animal Ethology***, v. 9, n. 1, p. 37–45, 1982.

SOUZA, C. J. H.; JAUME, C. M.; MORAES, J. C. F. Alternativa hormonal para o preparo de rufiões ovinos. ***Comunicado Técnico, Embrapa Pecuária Sul***, v. 56, n. Outubro, p. 1–2, 2005.

THOMPSON, D.M.; MEDINA, H.C.; SURREAUX, P.G. Androgenização de fêmeas ovinas. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, RS 3(15): 34-35, 1983.

UNGERFELD, R.; ALEXANDER, B. M. Determinants of ram sexual behavior and its impact on sheep breeding. ***Animal Reproduction Science***, v. 270, p. 107599, nov. 2024.