

Interrupção do anestro sazonal em cabras da raça Serrana, ecótipo Transmontano, recorrendo a tratamentos hormonais

Seasonal anoestrous disruption in Serrana, ecotype Transmontano, Portuguese does using hormonal treatments

Jorge M. Azevedo ^{1*}, Teresa M. Correia ², José C. Almeida ¹,
Ramiro C. Valentim ², Paulo Fontes ¹ e Alípio Coelho ²

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro - Departamento de Zootecnia, Apartado 202, 5001-911 Vila Real - Portugal

²Escola Superior Agrária de Bragança - Departamento de Zootecnia, Apartado 172, 5301-855 Bragança - Portugal

Resumo: Este trabalho teve como principal objectivo estudar o efeito da aplicação de dois tratamentos hormonais alternativos (A – melatonina + PGF_{2α} + eCG ou B – FGA + eCG) na interrupção do anestro sazonal de cabras da raça Serrana, ecótipo Transmontano. Para o efeito, utilizamos um total de 34 cabras Serranas, vazias e secas, pertencentes à cabrada experimental da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

De acordo com os resultados obtidos, as cabras sujeitas ao tratamento A manifestaram cio em maior percentagem e apresentaram uma taxa de fertilidade superior à das cabras que receberam o tratamento B. Pelo contrário, a taxa de prolificidade não foi significativamente afectada pelo tratamento aplicado.

Summary: The main aim of this work was to study the effects of two different hormonal treatments (A – melatonin + PGF_{2α} + eCG or B – FGA + eCG) that can be used on the disruption of seasonal anoestrous among adult does. Thirty-four Portuguese Serrana, ecotype Transmontano, does were selected to this study. Both the percentage of does presenting estrus, as the fertility rate was higher on does treated with melatonin. However, the applied treatments did not influence the prolificacy rate.

Introdução

Nos caprinos, a aptidão reprodutiva pode ser excepcionalmente elevada (Bliss, 1992). Porém, com o objectivo de melhor rentabilizar esta aptidão, há que conhecer profundamente a fisiologia da reprodução destes animais.

Nas regiões temperadas do globo, a sazonalidade reprodutiva dos ovinos e dos caprinos constitui muitas vezes uma importante barreira ao seu maneio flexível (Haresign, 1993) e diminui a eficiência reprodutiva dos rebanhos comerciais (Gates *et al.*, 1998). Presentemente, a melatonina é considerada como o tradutor bioquímico fundamental da informação fotoperiódica (Zarazaga *et al.*, 1998, Vivien-Roels *et al.*, 1999 e Ger-

lach e Aurich, 2000). Esta hormona é libertada na circulação periférica essencialmente durante a noite, em quantidades que variam em função da duração deste período do dia (Malpaux *et al.*, 1998, Vivien-Roels *et al.*, 1999 e Gerlach e Aurich, 2000).

Nos pequenos ruminantes, a fim de simular um regime luminoso de “dias curtos”, favorável ao desenrolar da actividade reprodutiva nestes animais, é hoje em dia possível recorrer à administração de melatonina exógena. Ao que se sabe, é indiferente administrar melatonina de uma forma contínua (através de implantes subcutâneos, que não simulam a situação fisiológica natural) ou descontínua (através de injeção ou de incorporação nos alimentos) ao longo do dia, com o objectivo de aumentar a duração da presença de elevados níveis circulantes desta hormona (Haresign, 1993, Lincoln, 1992 e Malpaux *et al.*, 1996). Em ambos os casos, os níveis circulantes desta hormona são o somatório das contribuições endógena e exógena (Staples *et al.*, 1992).

Material e métodos

Este estudo foi desenvolvido na aldeia de Carlão - Alijó (latitude 41° 19' N, longitude 7° 25' W e altitude 539 metros), mais especificamente na Quinta de Carlão, pertencente à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

Animais

Na realização deste trabalho foram utilizadas 34 cabras adultas (2-6 anos de idade) da raça Serrana, ecótipo Transmontano, vazias, secas e que anteriormente nunca tinham sido sujeitas a qualquer tratamento hormonal. Estas cabras foram alimentadas em pastoreio tradicional (prados naturais, incultos e terrenos baldios). Durante a noite, as cabras foram

* Correspondente, e-mail: jazevedo@utad.pt

suplementadas, em grupo, com feno de prados naturais – 350-500 g/cabra.

A última cabra a parir, fê-lo cerca de três meses antes deste ensaio ter tido início. Um mês antes de começarmos este estudo já todas as cabras estavam secas.

Tratamentos hormonais

Tendo em vista a aplicação de dois tratamentos hormonais diferentes, as cabras foram aleatoriamente divididas em dois lotes: A - 18 fêmeas e B - 16 fêmeas.

No dia 5 de Janeiro de 2001, a todas as cabras do lote A foi aplicado um implante subcutâneo de melatonina (15.000 mg) (Melovine®, Sanofi Vet). Quarenta e cinco dias depois (19 de Fevereiro), foi administrada por via intra-muscular uma primeira injeção de PGF_{2α} (0,225 mg de tiaprost/cabra) (Illiren®, Hoechst-Russel Vet). Nove dias mais tarde, procedeu-se à administração de uma segunda injeção de PGF_{2α} (0,225 mg de tiaprost/cabra). Nessa altura, foram também injectadas por via intra-muscular 400 UI de eCG/cabra (Intergonan®, Intervet).

No dia 19 de Fevereiro, todas as cabras do lote B receberam uma esponja vaginal impregnada com acetato de fluorogestrona (40 mg) (Chronogest®, Intervet). Estas esponjas foram removidas 9 dias mais tarde, altura em que se administrou por via intra-muscular 400 UI de eCG/cabra (Intergonan®, Intervet).

A idade média das cabras do lote A era estatisticamente igual à das cabras do lote B ($4,6 \pm 1,7$ vs. $4,5 \pm 1,6$ anos; $P > 0,05$).

Determinação do peso e da condição corporal

Quinzenalmente, procedeu-se à pesagem das cabras, numa balança com jaula (sensibilidade mínima de 100 g). Esta pesagem foi sempre feita antes dos animais saírem para o pastoreio.

Com a mesma periodicidade, procedeu-se à determinação da condição corporal, a nível da base da cauda, de acordo com a tabela de Hervieu *et al.* (1995), a qual emprega uma escala que varia entre 0 (extrema magreza) e 5 (obesidade). Neste trabalho utilizámos intervalos de 0,5 pontos.

Determinação do estado fisiológico

Na última quinzena de Dezembro e na primeira de Fevereiro, com o intuito de avaliar o estado da actividade ovárica das cabras foi feita, duas vezes por semana (segundas e quintas-feiras), pela manhã, uma recolha de sangue, com o auxílio de tubos de ensaio vacuonizados e heparinizados, através de punção da veia jugular. Após a centrifugação do sangue, a 3.000 r.p.m., durante 15 minutos, procedeu-se à separação do plasma sanguíneo. A técnica de RIA (fase sólida)

utilizada na determinação dos níveis plasmáticos de progesterona foi a indicada pelo fabricante dos kits (Diagnostic Products Corporation). Os coeficientes médios de variação inter e intra-ensaio foram, respectivamente, de 8,6 e 4,9%.

Neste estudo, consideramos que todas as cabras, cujos níveis plasmáticos de progesterona permaneceram sempre abaixo dos 0,5 ng/ml, estavam em anestro sazonal.

Detecção dosaios

Após a administração de eCG, com o objectivo de se proceder à detecção das cabras em cio, foram introduzidos na cabrada dois bodes inteiros munidos de arnês marcador, que aí permaneceram durante 8 dias. O registo dosaios foi feito duas vezes por dia, de manhã e de tarde.

Diagnóstico de gestação

Trinta e sessenta dias após o cio, procedeu-se ao diagnóstico de gestação por ultrasonografia em tempo real, utilizando para o efeito um ecógrafo Aloka SSD-550 e uma sonda transrectal de 5,0 MHz.

Análise estatística

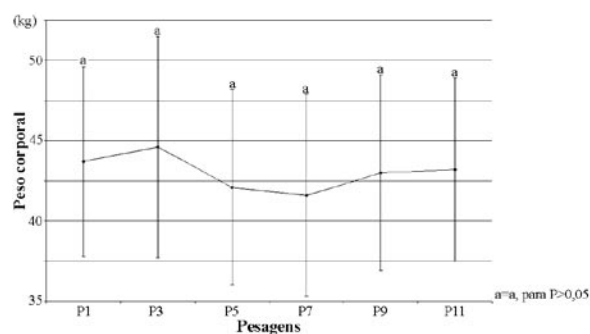
Com o objectivo de identificar diferenças estatisticamente significativas entre alguns parâmetros efectuaram-se análises de variância segundo o teste de Bonferroni/Dunn (Dunn, 1961). Com o intuito de se estabelecerem relações entre alguns parâmetros foram feitas análises de correlação e regressão (Steel e Torrie, 1980). Com a finalidade de comparar frequências, utilizou-se o teste de χ^2 (Snedecor e Cochran, 1980). Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão.

Resultados

Acção do peso e da condição corporal

Ao longo deste trabalho, o peso corporal médio das cabras estudadas não variou de uma forma estatisticamente significativa ($P > 0,05$) (Figura 1). As cabras do lote A revelaram-se sempre tão pesadas quanto as cabras do lote B ($P > 0,05$). Por outro lado, as diferenças de peso observadas entre cabras nunca foram elevadas ($7,8 \geq c.v. \leq 15,5\%$).

Entre o início e o fim deste trabalho, a condição corporal das cabras dos lotes A e B diminuiu significativamente (lote A: $\chi^2=30,5$; $P \leq 0,001$ vs. lote B: $\chi^2=16,2$; $P \leq 0,001$) (Quadro I). Já no início, a condição corporal das cabras do lote A era inferior à das cabras do lote B ($\chi^2=6,3$; $P \leq 0,05$). No fim, esta diferença manteve-se ($\chi^2=5,6$; $P \leq 0,05$).

Figura 1 – Evolução do peso corporal médio do conjunto das cabras estudadas.**Quadro I** – Evolução da condição corporal das cabras dos lotes A e B entre o início e o fim do ensaio

Classes de condição corporal	Lote A		Lote B	
	Início (%)	Fim (%)	Início (%)	Fim (%)
≤ 2,0	33,3 ^{a,x}	72,3 ^{c,x}	31,3 ^{a,x}	56,3 ^{c,y}
2,5-3,5	66,7 ^{a,x}	27,7 ^{c,x}	62,5 ^{a,x}	43,7 ^{b,y}
≥ 4,0	0,0 ^{a,x}	0,0 ^{a,x}	6,2 ^{a,y}	0,0 ^{b,x}

a=a, para P>0,05 (entre colunas, mesmo lote)

a≠b, para P≤0,05 (entre colunas, mesmo lote)

a≠c, para P≤0,001 (entre colunas, mesmo lote)

x=x, para P>0,05 (entre colunas, lotes diferentes)

x≠y, para P≤0,05 (entre colunas, lotes diferentes).

Em nenhum momento, o peso corporal das cabras de ambos os lotes afectou significativamente o número de fêmeas que apresentaram cio, a duração do intervalo fim do tratamento – primeiro cio (pós-tratamento) e as taxas de fertilidade e de prolificidade (P>0,05). No mesmo sentido, a condição corporal apresentada pelas cabras de ambos os lotes não influenciou nunca, de uma forma estatisticamente significativa, a duração do intervalo fim do tratamento – primeiro cio e as taxas de fertilidade e de prolificidade (P>0,05).

Acção dos tratamentos

Na última quinzena de Dezembro, das 34 cabras utilizadas neste ensaio apenas uma “ovulou” (2,9%). Durante este período de tempo, os níveis plasmáticos de progesterona das restantes cabras (97,1%) foram sempre inferiores ou iguais a 0,372 ng/ml.

Na quinzena anterior à administração da primeira injeção de PGF_{2α} (lote A) e da colocação das esponjas vaginais (lote B), todas as cabras do lote A “ovularam”, sucedendo o mesmo a apenas 12,5% (n=2) das cabras do lote B ($\chi^2=157,1$; para P≤0,001); os níveis plasmáticos das restantes cabras do lote B nunca ultrapassaram os 0,107 ng/ml.

Neste trabalho, a percentagem de cabras do lote A que manifestaram cio foi significativamente superior à das cabras do lote B ($\chi^2=12,8$; P≤0,001) (Quadro II). De igual modo, a taxa de fertilidade foi significativamente influenciada pelo tratamento aplicado ($\chi^2=6,6$; P≤0,05). Assim, enquanto que apenas 11,1% (n=2) das cabras do lote A se mostraram reprodutivamente não produtivas, este número subiu para 25,0% (n=4) entre

as cabras do lote B.

Quadro II – Diferenças entre lotes relativamente à percentagem de cabras que manifestaram cio e à taxa de fertilidade

	Lote A	Lote B
% cabras que fizeram cio	100,0 ^a (18/18)	87,5 ^b (14/16)
Taxa de fertilidade (%)	88,9 ^a (16/18)	75,0 ^b (12/16)

a≠b, para P≤0,001 (entre colunas).

A duração média do intervalo fim do tratamento – primeiro cio mostrou-se estatisticamente igual entre as cabras do lote A e as cabras do lote B (1,8±1,1 vs. 2,1±1,1 dias; P>0,05). Do mesmo modo, a taxa de prolificidade não diferiu significativamente de um lote para o outro (1,9±1,0 vs. 1,4±0,9 cabritos/cabra gestante; para P>0,05). Finalmente, há que referir que a duração do intervalo fim do tratamento – primeiro cio não se correlacionou significativamente com as taxas de fertilidade e de prolificidade (P>0,05).

Discussão

No decurso deste trabalho, a condição corporal das cabras de ambos os lotes diminuiu significativamente. Uma vez que a alimentação das cabras estudadas teve por base o pastoreio tradicional, pensamos que esta diminuição resulta do facto de durante o Inverno, porque as disponibilidades naturais de alimento são menores, estas fêmeas terem tido de mobilizar algumas das suas reservas corporais para fazer face às suas necessidades (acrescidas) de manutenção.

De acordo com os dados recolhidos, na última quinzena de Dezembro, a quase totalidade das cabras Serranas, ecótipo Transmontano, encontrava-se já em anestro sazonal, ou seja, estas cabras entraram em anestro sazonal antes do solstício de Inverno. Neste sentido, é muito provável que as cabras Serranas tenham entrado em anestro sazonal por se terem tornado fotorrefractárias ao fotoperíodo decrescente. De acordo com Worthy e Haresign (1983), Robinson e Karsch (1984) e Malpoux *et al.* (1987), citados por Correia (1996), o início da estação de anestro, no fim do Inverno - início da Primavera, não ocorre em resposta à chegada do fotoperíodo crescente, mas sim porque os animais se tornam insensíveis à estimulação dos “dias curtos”. Segundo Williams e Helliwell (1993), uma forma de ultrapassar este estado fotorrefractário passa pela aplicação de uma redução ainda mais acentuada do período diário de luz (“dias ainda mais curtos”), situação simulada neste ensaio pela presença constante do implante de melatonina. De qualquer forma, Chemineau *et al.* (1986) e Chemineau (1989), citados por Chemineau *et al.* (1996), garantem que, naquela altura do ano (próxima do solstício de Inverno) e no caso dos caprinos, a aplicação prévia de um tratamento luminoso de “dias longos” (por dois meses) permite maximizar a resposta reprodutiva destes animais face ao tratamento de mela-

tonina. Em nossa opinião, os dados encontrados neste trabalho levantam uma questão pertinente, cujo esclarecimento deverá servir de base à realização de um novo estudo.

Ao que tudo indica, o tratamento com melatonina interrompeu o anestro sazonal das cabras Serranas, ecótipo Transmontano. Porém, dado que os níveis plasmáticos de progesterona só foram controlados nas duas semanas anteriores à colocação dos implantes de melatonina e nas duas semanas anteriores à administração da primeira injeção de PGF_{2α}, ou seja, 30 dias após a colocação dos implantes, desconhecemos o modo como a melatonina exógena actuou sobre as cabras do lote A. Assim, por exemplo, não sabemos quanto tempo após a colocação dos implantes de melatonina as cabras do lote A retomaram a actividade cíclica.

Pelo que sabemos, não existe nenhum trabalho científico publicado sobre a sazonalidade reprodutiva das cabras da raça Serrana, ecótipo Transmontano. Porém, os técnicos da ANCRAS (Associação Nacional de Caprinicultores da Raça Serrana) referem uma diminuição acentuada do número de cobrições (em cabradas em que as fêmeas são permanentemente acompanhadas pelos machos reprodutores) de Janeiro a meados de Abril. Esta informação é idêntica à conseguida por Mascaranhas *et al.* (1995). Segundo estes aurores, o período de anestro sazonal das cabras Serranas, ecótipo Ribatejano, estende-se de Janeiro a inícios de Maio. De acordo com os resultados encontrados, apenas podemos afirmar que, nas duas primeiras semanas de Fevereiro, 87,5% das cabras Serranas que não foram tratadas com melatonina estavam em anestro sazonal.

Tal como era esperado, relativamente ao tratamento progestagénico, o tratamento com melatonina traduziu-se numa elevação da percentagem de cabras que manifestaram cio e numa melhoria efectiva da taxa de fertilidade. Contudo, o tratamento com melatonina não melhorou a taxa de prolificidade. Infelizmente, não nos é possível comparar os resultados da aplicação dos tratamentos A e B com os resultados normais de uma época reprodutiva. Na verdade, tanto quanto sabemos, as características reprodutivas das cabras Serranas, ecótipo Transmontano, exploradas sob condições naturais, nunca foram totalmente estudadas. Segundo Mascaranhas *et al.* (1995), as taxas de fertilidade e de prolificidade das cabras Serranas, ecótipo Ribatejano, variam entre os 72,1-80,5% e os 1,6-1,9, respectivamente, valores idênticos aos por nós observados.

Bibliografia

- BLISS, E.L. (1992). Reproductive management. Coleção: Goat Handbook. Universidade de Maryland, EUA, 9 pp..
- CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., PELLETIER, J., LÉBOUF, B., DELGADILLO, J.A., DELETANG, F., POBEL, T. e BRICE, G. (1996). Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA Prod Anim*, 9 (1), 45-60.
- CORREIA, T.M.M.A.A. (1996). Contributo para o estudo da sazonalidade reprodutiva das ovelhas da raça autóctone portuguesa Churra da Terra Quente. Tese de Mestrado em Ciência Animal, Instituto Agronómico Mediterrâneo de Saragoça, Saragoça, Espanha, 84 pp..
- DUNN, O.J. (1961). Multiple comparisons among means. *Journal of the American Statistical Association*, 56, 52-64.
- GATES, P.J., HEMNINGSSON, T., TENGROTH e FORSBERG, M. (1998). Effects of melatonin, progestagens, and the ram on out-of-season reproduction in Swedish Landrace Finewool sheep. *Acta Vet Scand*, 39, 499-510.
- GERLACH, T. e AURICH, J.E. (2000). Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim Reprod Sci*, 58, 197-213.
- HARESIGN, W. (1993). New techniques for reducing seasonal breeding in males and females. In: 44th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Aarhus, Dinamarca.
- HERVIEU, J., MORAND-FEHR, P. e DELFA, R. (1995). Mise en place d'une échelle de notes caudales pour estimer l'état corporel des chèvres. In: *Body Condition of Sheep and Goats. Methodological aspects and applications*, A. Purroy (Editor), Options Méditerranéennes, 27, 133-140.
- LINCOLN, G.A. (1992). Photoperiod-pineal-hypothalamic relay in sheep. *Anim Reprod Sci*, 28, 203-217.
- MALPAUX, B., DAVEAU, A., MAURICE-MANDON, F., DUARTE, G. e CHEMINEAU, P. (1998). Evidence that melatonin acts in premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery. *Endocrinology*, 139, 1508-1516.
- MALPAUX, B., VIGUIÉ, C., THIÉRY, J.C. e CHEMINEAU, P. (1996). Contrôle photopériodique de la reproduction. *INRA Prod Anim*, 9 (1), 9-23.
- MASCARANHAS, R., NUNES, A.S. e SILVA, J.R. (1995). Cyclic reproductive activity and efficiency of reproduction in Serrana goats. *Anim Reprod Sci*, 38, 223-229.
- SNEDECOR, G.W. e COCHRAN, W.G. (1980). *Statistical methods*. 7ª Edição, Iowa State University Press, Ames, IA, 185 pp..
- STAPLES, L.D., MCPHEE, S., KENNAWAY, D.J. e WILLIAMS, A.H. (1992). The influence of exogenous melatonin on the seasonal pattern of ovulation and oestrus in sheep. *Anim Reprod Sci*, 30, 185-223.
- STEEL, R.G.D. e TORRIE, J.H. (1980). *Principles and procedures of statistics*. 2ª Edição, McGraw-Hill Company, Nova Iorque, 633 pp..
- VIVIEN-ROELS, B., PÉVET, P., ZARAZAGA, L., MALPAUX, B. e CHEMINEAU, P. (1999). Daily and light-at-night induced variations of circulating 5-methoxytryptophol (5-ML) in ewes with respectively high and low nocturnal melatonin secretion. *J Pineal Research*, 27, 230-236.
- WILLIAMS, L.M. e HELLIWELL, R.J.A. (1993). Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim Reprod Sci*, 33, 159-182.
- ZARAZAGA, L.A., MALPAUX, B., BODIN, L. e CHEMINEAU, P. (1998). The large variability in melatonin blood levels in ewes in under strong genetic influence. *Am J Physiol*, 274 (Endocrinol Metab 37), E607-E610.