

Comportamento sexual de machos nelore submetidos ao bloqueio do órgão vomeronasal

Sexual behavior of Nelore males subjected to vomeronasal organ blockade

Lucas L. Emerick^{1,*}, Germán A. B. Mahecha², Jorge A. M. Martins³, Fernando A. Souza⁴, Ticiano Guimarães Leite⁵, Juliano C. Dias⁶, Venício J. Andrade⁵ e Vicente R. Vale Filho⁵

¹ Universidade Federal Rural da Amazônia, campus Parauapebas. Parauapebas, Pará, Brasil

² Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

³ Universidade Federal do Cariri, Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Crato, Ceará, Brasil

⁴ Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

⁵ Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

⁶ Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul, Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil

(*E-mail: lucaslemerick@yahoo.com.br)

<https://doi.org/10.19084/rca.25848>

Recebido/received: 2021.11.18

Aceite/accepted: 2022.08.25

RESUMO

Objetivou-se avaliar o comportamento sexual e suas correlações com as concentrações séricas de testosterona e a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal (OVN) em machos Nelore (*Bos taurus indicus*), criados extensivamente e submetidos ao bloqueio do OVN na pré-puberdade. Foram utilizados 34 animais: G1-animais controle, denominados inteiros (n=11), G2-animais com os ductos incisivos bilateralmente cauterizados, denominados bloqueados (n=10) e G3-animais bilateralmente orquiepidectomizados, denominados castrados (n=13). Os animais foram avaliados a cada três meses até a maturidade sexual, sendo realizados cinco testes de libido e coletas de sangue. Foram abatidos os animais com 480 kg, onde foram obtidos os OVN, para avaliação histológica. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Não houve diferenças ($P>0,05$) entre grupos nos primeiros três testes de libido. No quarto teste, houve aumento da tentativa de monta, monta completa e escore da libido apenas nos grupos dos inteiros ($P<0,05$). No quinto teste, houve aumento em cheirar e lambar e redução no reflexo de flehmen (RF) nos bloqueados e castrados ($P<0,05$). Observou-se alta associação entre o RF e altura do epitélio sensitivo do OVN nos bloqueados ($r=0,75$; $P=0,05$). Concluiu-se que a entrada dos estímulos olfatórios ao OVN é influenciada pelo RF e que este órgão exerce importante função no comportamento sexual em machos Nelore.

Palavras chave: estímulo olfatório; experiência sexual; reflexo de flehmen; zebu.

ABSTRACT

This work aimed to associate sexual behavior with serum testosterone and the height of sensitive epithelium of vomeronasal organ (VNO) of Nelore bulls raised extensively and subjected to the VNO blocking during pre-puberty. Thirty-four bulls were divided into three groups. G1 (control group; n = 11): animals were kept intact; G2 (n = 10): animals had their incisive ducts bilaterally cauterized; G3 (n = 13): animals were bilaterally orchy-epiectomized. Five libido tests and blood sampling were performed in three months intervals from pre-puberty until sexual maturity. VNO were collected for histological evaluations by sacrificing the bulls weighting 480 kg. The experiment was conducted in a complete randomized design. No differences in libido among groups were observed in the first three tests. Attempt to mount, complete mount and the libido score increased at the fourth libido test only for the G1. Scenting and licking increased while the Flehmen reflex (FR) decreased at the fifth libido test for G2 and G3. Positive association between the FR and VNO sensitive epithelium height in G2 was observed. The olfactory stimuli entrance in the VNO is influenced by the Flehmen reflex, and that such organ plays a key role in the libido of Nelore bulls.

Keywords: Flehmen reflex; olfactory stimuli; sexual experience; zebu cattle.

INTRODUÇÃO

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

O reflexo de flehmen consiste na elevação e enrugamento do lábio superior acompanhado da dilatação das narinas, inclinação do pescoço e forte inalação. Este comportamento é um mecanismo fisiológico destinado a facilitar a condução de feromônios (substâncias químicas que, quando detectadas pelos animais, causam excitação sexual) para o órgão vomeronasal (OVN; Hart e Leedy, 1987). Lamber e cheirar a genitália feminina constitui um outro mecanismo utilizado pelos touros, em testes de libido, para detectar os sabores e odores que identificam as fêmeas em estro, sendo que, nesse caso, a condução dos estímulos é realizada pelo nervo olfatório e independe do OVN (Gandelman, 1983).

Dessa forma, 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 OVN ou como também denominado, via do sistema olfatório acessório (Doving e Trotier, 1998; Dulac e Wagner, 2006). Acredita-se que a detecção de odores é função atribuída ao sistema olfatório principal, enquanto que a identificação de feromônios é considerada função do sistema olfatório acessório (Doving e Trotier, 1998). No entanto, esta separação da identificação de odores e feromônios podem sofrer variações conforme a espécie (Dorries *et al.*, 1995; Kelliher e Baum, 2001; Dulac e Wagner, 2006).

O 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. Ao nível do ducto incisivo este órgão apresenta epitélio do

tipo respiratório. O resto do órgão é revestido por epitélio sensorial na sua parede medial, enquanto que na parede lateral continua sendo do tipo respiratório (Salazar *et al.*, 1997).

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 amigdaloides mediais e no "bed nucleus of the stria terminalis" (Dulac e Wagner, 2006). Ao chegar no hipotálamo este sistema controla a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e, conseqüentemente de testosterona (Doving e Trotier, 1998), sendo este o motivo pelo qual este sistema está envolvido com a regulação do comportamento sexual. No entanto, sua influência na secreção sérica de testosterona depende da experiência sexual prévia (Doving e Trotier, 1998).

No sistema olfatório principal, as informações periféricas são captadas pelo nervo olfatório, por meio da mucosa olfatória, e enviadas ao bulbo olfatório principal localizado no telencéfalo, sem a dependência do OVN (Gandelman, 1983). Acredita-se que tanto a via do sistema olfatório principal quanto a acessória se comunicam por meio de interneurônios no sistema nervoso central em animais sexualmente experientes (Gandelman, 1983), onde na ausência de uma das estruturas de uma via, a informação pode ser conduzida pela outra.

Apesar da relevância dos estímulos olfatórios na ativação do comportamento sexual de machos Nelore, até o momento, há poucos estudos relacionando a função deste órgão na estimulação sexual em animais *Bos taurus indicus*. Portanto, a hipótese desse estudo é que os bloqueios dos ductos incisivos irá afetar a condução de feromônios para o órgão vomeronasal, inibindo a expressão do comportamento sexual em machos da raça Nelore de modo que possa proporcionar melhor manejo dos animais destinados a sistema de recria e engorda, já que irá reduzir a secreção de testosterona sérica.

Para tal objetivou-se avaliar o efeito do bloqueio do órgão vomeronasal mediante a obstrução dos ductos incisivos em machos Nelore na pré puberdade

sobre o comportamento sexual e suas correlações com concentrações séricas de testosterona e altura do epitélio sensitivo do OVN.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização

Este estudo foi conduzido entre os meses de janeiro de 2008 a maio de 2009 na Fazenda Reunidas, município de Engenheiro Navarro – MG, Brasil. A fazenda tem como coordenadas geográficas de latitude 17° 17' 43" S e longitude 43° 56' 6" W 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 de 1082 mm. Dois períodos climáticos são observados: o seco que se estende de abril a setembro e o chuvoso de outubro a março.

Animais e tratamentos

Foram utilizados 34 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 $20,5 \pm 1,4$ cm no início do experimento, criados em piquetes homogêneos com regime de pastejo. No período da seca, os animais foram mantidos em pastagens irrigadas com pivô central. Os animais foram divididos em três grupos, sendo eles constituídos da seguinte forma: grupo um, denominados inteiros, constituído por 11 indivíduos, que não passaram por nenhum procedimento, sendo considerado o grupo controle. O grupo dois, denominados bloqueados, composto por 10 indivíduos que tiveram seus ductos incisivos bilateralmente cauterizados. O grupo três, denominados castrados, constituído por 13 indivíduos, os quais foram orquiepididectomizados bilateralmente (Emerick *et al.*, 2019).

Procedimento cirúrgico para castração e cauterização dos ductos incisivos

A castração cirúrgica foi realizada pela orquiepididectomia bilateral convencional, utilizando a técnica da remoção do ápice do escroto, também denominada de tampão (Padua *et al.*, 2003).

A cirurgia foi realizada com os animais em estação contidos em troncos de contenção e imobilizados pelo imoboi®. Foi realizada antisepsia local com álcool etílico a 70%, e anestesia local, infiltrando lidocaína a 2.5 % intratesticular e na parte inferior do escroto, no local da incisão cirúrgica.

A obstrução dos ductos incisivos foi realizada bilateralmente por meio da abertura oral do ducto incisivo mediante cauterização com termo cautério (Booth e Katz, 2000). Para tal, os animais foram contidos em tronco de contenção e imobilizados pelo imoboi®. Foi realizada a antisepsia local no ducto 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 % ao redor da papila incisiva. Tanto a castração cirúrgica quanto a obstrução dos ductos incisivos foram realizadas no início do experimento, um dia depois da primeira avaliação do comportamento sexual e da coleta de sangue. Após realização dos procedimentos os animais foram mantidos em pastos separados por tratamento para não haver interações sociais de modo a prejudicar a interpretação dos resultados. Quatro meses após a realização dos procedimentos, os animais foram avaliados quanto à libido e coleta de sangue (avaliação e coleta de maio de 2008).

Avaliação da libido

A avaliação da libido foi conduzida em um curral medindo aproximadamente 220 m², 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 cipionato de estradiol (ECP®, 5 ml) e uma dose de dinoprost trometamina administradas por via intramuscular, a fim 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 muco-sa clara, base da cauda ligeiramente afastada, comportamento agitado e com atitude de querer montar e de aceitação da monta por outras vacas do lote.

Todas as avaliações da libido foram realizadas no período da manhã, tendo seu início às 07:00, 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 com sinais de cio bem evidentes. O comportamento sexual de cada macho foi observado e registrado durante um período de cinco minutos, por três observadores, posicionados em locais estratégicos no curral para que não fossem percebidos pelos animais (Salvador *et al.*, 2003; Dias *et al.*, 2009). Cinco repetições dos testes de libido por animal foram realizados nas seguintes datas: janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009. A média dos pesos corporais (Kg) e idades (meses) dos animais nas avaliações da libido com seus desvios padrão podem ser visualizados no Quadro 1.

Quadro 1 - Médias e desvios-padrão dos pesos corporais e idades dos animais nas avaliações da libido com seus desvios padrão

Variável / Teste	Peso corporal (Kg)	Idade (meses)
Teste 1	244,2 ± 13,4	14,6 ± 1,15
Teste 2	298,5 ± 17,8	18,6 ± 1,15
Teste 3	328,4 ± 18,5	20,7 ± 1,15
Teste 4	359,2 ± 19,8	24,0 ± 1,15
Teste 5	436,8 ± 24	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 adaptadas de Chenoweth *et al.* (1996) e Dias *et al.* (2009), discriminadas no Quadro 2.

Quanto ao escore da libido, utilizou-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 e 5: libido média, identifica a fêmea em cio e testa sua receptividade (escore 2); comportamentos 6 e 7: libido alta, identifica o cio, testa a receptividade e realiza a monta adequadamente com ou sem ejaculação (escore 3 - Dias *et al.*, 2009).

Análise sérica de testosterona

Para as análises séricas de testosterona foram considerados seis, quatro e seis animais, respectivamente, dos grupos inteiros, bloqueados e castrados.

As coletas de sangue foram realizadas pela manhã (07:00 horas) e no período da tarde (17:00 horas), sempre no dia seguinte ao teste de libido. Dessa forma, cinco repetições das coletas de sangue foram realizadas nas seguintes datas: janeiro, maio, julho e outubro de 2008 e fevereiro de 2009. Os horários das coletas de sangue foram definidos de

Quadro 2 - Eventos sexuais manifestados pelos animais no teste de libido em curral

Identificação	Eventos sexuais	Definição
0	Sem interesse sexual	Não demonstra interesse
1	Cheirar e lambar 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, enruga o nariz, eleva a o lábio superior, sugando o odor
4	Impulso de monta (IM)	Movimente 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
6	Monta incompleta ou abortada (MA)	Animal monta com ou sem ereção, exposição e ereção do pênis, mas sem ejaculação;
7	Monta completa (MC)	Animal realiza o salto com ereção, penetração e movimento de galeio

Adaptado de Chenoweth *et al.* e Dias *et al.* (2020)

acordo com os picos diários de testosterona (Chacur *et al.*, 2007).

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°C até o momento das análises. As dosagens de testosterona foram realizadas seguindo técnicas de radioimunoensaio (RIE). Os kits utilizados foram obtidos por meio da Gênese Science®. As amostras foram testadas em duplicatas seguindo os procedimentos de ensaio realizados conforme recomendação do fabricante. Os coeficientes de variação intra e inter ensaio para a testosterona foram de 1,27 e 2,42%, respectivamente.

Análise do órgão vomeronasal

Ao final do experimento foram abatidos 20 animais que atingiram peso corporal maior que 480 Kg, sendo oito animais do grupo inteiros, sete do grupo bloqueados e cinco do grupo castrados. 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.

No abatedouro, após o sacrifício dos animais, as cabeças foram identificadas na linha de abate para posterior transecção e retirada dos órgãos vomeronasais (OVN). 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 até o momento de análise (Pannochia *et al.*, 2008).

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® - Russell *et al.*, 1998). Posteriormente, os blocos foram seccionados em ultramicrótomo 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 do Laboratório de Biologia

da Reprodução do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. De cada fragmento foram confeccionadas três lâminas com quatro cortes cada uma.

A mensuração histomorfométrica do epitélio sensitivo do OVN foi realizada utilizando-se microscópio com contraste de fase, o qual se encontra acoplado a câmara Motic® de 3.0 megapixels. As imagens foram digitalizadas e medidas utilizando-se o programa de análise do fabricante da câmera. 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.

Todos os procedimentos deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais para Experimentação da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número de protocolo CEUA 159/09.

Análise estatística

O delineamento utilizado foi a análise inteiramente casualizada. Todas as variáveis foram submetidas ao teste de homogeneidade de Levene e de normalidade de Komolgorov-Smirnov com a correção de Lilliefors, quando necessário, foi aplicada a transformação logarítmica das variáveis e reavaliadas quanto à normalidade. Quando ainda assim, não apresentavam distribuição normal, foram aplicados testes não paramétricos (Sampaio, 2002).

As variáveis de comportamento sexual não obtiveram distribuição normal, sendo avaliadas como não paramétricas. Dessa forma, para verificar o efeito de tratamento dentro de cada teste nas frequências dos eventos sexuais e dos escores da libido foi utilizado o teste de comparação de ranques de Kruskal Wallis. O teste de Friedman foi utilizado para avaliar os efeitos de teste dentro de cada tratamento. A correlação de Spearman entre todas as variáveis estudadas foi estimada. Para avaliar os efeitos de tratamento dentro de cada teste e de teste dentro do mesmo tratamento, assim como a análise das correlações, considerou-se o nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho constitui como a primeira proposta para estudar as modificações do comportamento sexual de touros Nelore, *Bos taurus indicus*, com o bloqueio do órgão vomeronasal (OVN).

Após abate dos animais foi retirada a parte do crânio que envolve a parte da abertura oral dos ductos incisivos e a parte nasal na altura do primeiro dente pré molar. Na abertura incisiva foi injetada solução fisiológica para averiguar o bloqueio e em todas as peças cauterizadas o ducto incisivo estava bloqueado interrompendo a passagem do líquido. Este resultado nos permitiu aferir que a cauterização dos ductos incisivos foi eficiente para obstruir a passagem de líquido por esta via.

Os resultados quanto ao comportamento sexual dos animais ao longo do experimento constam no Quadro 3. Os eventos do comportamento sexual do grupo de inteiros, bloqueados e castrados 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 são explicados pelo fato dos animais serem impúberes até este teste. Essa observação assemelha-se com as de Price e Wallach (1991), que reportaram que a avaliação da libido, em animais no período anterior a puberdade, não prediz satisfatoriamente o comportamento sexual de animais adultos.

Apesar dos aumentos nos registros dos escores de libido no quarto e quinto teste nos animais inteiros ($P<0,05$), de modo geral, houve baixas frequências nas manifestações de comportamentos sexuais como impulso e tentativa de monta, e das montas abortadas e completas (Quadro 3). Esses resultados são similares aos de Pineda *et al.* (2000); Salvador *et al.* (2003); Oliveira *et al.* (2007); Dias *et al.* (2009) e Costa e Silva *et al.* (2015), que trabalharam com animais *Bos taurus indicus* e observaram baixas prevalências dos eventos de comportamento sexual do tipo pré-copulatório e copulatório (Dias *et al.*, 2020). Portanto, estes resultados sugerem que altas frequências de eventos sexuais como cheirar e lambar a genitália e de reflexo de flehmen em testes de avaliação do comportamento sexual, seja uma característica do touro zebu e que, possivelmente,

Quadro 3 - Mediana da frequência dos eventos sexuais e escores de libido manifestados durante os testes de comportamento sexual nos animais inteiros, bloqueados e castrados ao longo do experimento

Tratamento	Evento Sexual	Inteiros (n=11)	Bloqueados (n=10)	Castrados (n=13)
Teste 1	CH/L	0,0 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c
	RF	0,0 ^b	0,0	0,0 ^{a,b,c}
	PA	0,0	0,0	0,0
	IM	0,0 ^b	0,0	0,0
	TM	0,0 ^b	0,0	0,0
	MA	0,0	0,0	0,0
	MC	0,0 ^b	0,0	0,0
	ESCL	0,0 ^c	0,0 ^b	1,0 ^{b,c}
Teste 2	CH/L	0,0 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c
	RF	1,0 ^b	1,0	0,0 ^{b,c}
	PA	0,0	0,0	0,0
	IM	0,0 ^b	0,0	0,0
	TM	0,0 ^b	0,0	0,0
	MA	0,0	0,0	0,0
	MC	0,0 ^b	0,0	0,0
	ESCL	1,0 ^{b,c}	1,0 ^{a,b}	0,0 ^c
Teste 3	CH/L	1,0 ^a	0,0 ^{b,c}	2,0 ^b
	RF	1 ^b	0	1,0 ^{a,b}
	PA	0,0	0,0	0,0
	IM	0,0 ^b	0,0	0,0
	TM	0,0 ^{a,b}	0,0	0,0
	MA	0,0	0,0	0,0
	MC	0,0 ^{a,b}	0,0	0,0
	ESCL	1,0 ^{a,b,c}	1,0 ^{a,b}	1,0 ^{a,b}
Teste 4	CH/L	3,0 ^{a,A}	2,0 ^{b,A,B}	1,0 ^{b,B}
	RF	1,0 ^b	1,0	0,0 ^c
	PA	0,0	0,0	0,0
	IM	0,0 ^{a,b}	0,0	0,0
	TM	1,0 ^{a,A}	0,0 ^B	0,0 ^B
	MA	0,0	0,0	0,0
	MC	0,0 ^{a,A}	0,0 ^B	0,0 ^B
	ESCL	3,0 ^{a,A}	1,0 ^{a,B}	1,0 ^{a,b,B}
Teste 5	CH/L	1,0 ^{a,B}	6,5 ^{a,A}	3,0 ^{a,A}
	RF	5,0 ^{a,A}	3,0 ^B	1,0 ^{a,B}
	PA	0,0	0,0	0,0
	IM	1,0 ^{a,A}	0,0 ^A	0,0 ^B
	TM	0,0 ^a	0,0	0,0
	MA	0,0	0,0	0,0
	MC	0,0 ^b	0,0	0,0
	ESCL	2,0 ^{a,b,A}	1,5 ^{a,A,B}	1,0 ^{a,B}

Letras minúsculas, nas colunas, representam diferenças ($P<0,05$) entre os testes de libido dentro de cada tratamento pelo teste não paramétrico de Friedman. Letras maiúsculas, nas linhas, representam diferenças ($P<0,05$) entre os tratamentos, pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis. Ausências de letras indicam que não há diferenças entre as médias ($P>0,05$). CH/L: cheirar e lambar 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.

estímulos olfatórios sejam importantes na pré-estimulação ou excitação 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 ($P < 0,05$). Possivelmente, diferenças nas concentrações séricas de testosterona entre os tratamentos, nessa mesma data, no período da tarde (inteiros - $10,3 \pm 1,3^a$ x bloqueados - $5,7 \pm 1,2^b$ ng/mL) e abaixo dos limites de detecção nos castrados (Emerick *et al.*, 2019), possam justificar este resultado. Além disso, altas correlações positivas observadas entre as variáveis, tentativa de monta e testosterona pela tarde (Quadro 4), reforça a hipótese de que esse evento sexual está relacionado a altos níveis séricos de testosterona.

Quadro 4 - Correlações de Spearman entre os eventos de comportamentos sexuais, a escore da libido e as concentrações séricas de testosterona pela manhã e pela tarde 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
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

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

O evento sexual de monta completa, apesar de não ter sido verificada associação direta com as concentrações séricas de testosterona, sugere-se dependência de elevados níveis circulantes do andrógeno, uma vez que a manifestação deste comportamento apresentou elevação no quarto teste de libido (Quadro 3), comparado aos testes um, dois e cinco, nos animais inteiros. Essas observações assemelham-se com as de McGinnis *et al.* (1996), que reportaram que os comportamentos sexuais consumatórios, aqueles relacionados diretamente ao ato de cópula, são altamente dependentes de altas concentrações de andrógenos em roedores. Esse fato também contribui para justificar a redução desse evento sexual (monta completa) nos animais castrados e bloqueados no quarto teste de libido, uma vez que foi registrada menor ($P < 0,05$) concentração sérica de testosterona pela tarde nos

animais bloqueados e nos castrados abaixo dos limites de detecção dos kits (Emerick *et al.*, 2019).

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.

Altas correlações foram registradas entre o escore da libido e o evento sexual de monta abortada nos animais inteiros (Quadro 4). Este resultado sugere que os eventos sexuais consumatórios influenciam fortemente a atividade sexual dos animais.

No quinto teste de libido, a frequência do reflexo de flehmen apresentou aumento nos animais inteiros, em relação aos bloqueados e castrados ($P < 0,05$). Esse resultado evidencia que a cauterização dos ductos incisivos foi eficiente para obstruir a passagem de ferormônios por esta via e que esse evento sexual está envolvido com a captação dos estímulos olfatórios para o órgão vomeronasal em machos da raça Nelore. Esse fato pode ser reforçado pelo resultado das correlações entre o reflexo de flehmen e a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal (OVN) nos animais bloqueados (Quadro 5), ou seja, quanto mais estímulos enviados ao OVN maior o desenvolvimento do seu epitélio sensitivo. Esses resultados assemelham-se às observações de Hart e Leedy (1987), que trabalhando com gatos, descreveram que o reflexo de flehmen é um comportamento facilitador da condução dos ferormônios sexuais ao órgão vomeronasal.

Quadro 5 - Correlações de Spearman entre os eventos de comportamentos sexuais, a escore da libido, a altura do epitélio sensitivo do órgão vomeronasal e as concentrações séricas de testosterona pela manhã e pela tarde 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)

No quinto teste da libido, observou-se que a frequência do evento sexual de cheirar e lambe a genitália foram menores nos animais inteiros ($P < 0,05$). Esse resultado sugere 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 neste teste ($P > 0,05$) (Quadro 3). Esse fato também foi observado por Meredith (1986), que registrou que machos roedores sem o OVN, após adquirirem experiência sexual, mantiveram comportamento copulatório, até que sulfato de zinco foi aplicado na mucosa da via olfatória principal, promovendo sua cauterização.

No entanto, esta tentativa olfatória da compensação exercida pelos animais bloqueados não foi eficiente para aumentar a concentração de testosterona pela tarde, uma vez que, esta foi maior nos animais inteiros no quinto teste da libido ($8,9 \pm 2,05^a \times 2,7 \pm 1,3^b$ ng/mL; $P < 0,05$; Emerick *et al.*, 2019).

O evento sexual de impulso de monta apresentou aumento nos animais inteiros no quinto teste de libido ($P < 0,05$), comparado aos testes um, dois e três (Quadro 3). Este resultado sugere que no quinto teste da libido os animais tenham adquirido alguma experiência sexual, já que, Salvador *et al.* (2003) sugerem que o impulso de monta é um comportamento adaptativo das espécies zebuínas às condições tropicais, sujeitas a variações nutricionais, que influenciam as concentrações nos níveis séricos de testosterona, em que o macho, como mecanismo para poupar energia, utiliza este comportamento para testar a receptividade da fêmea reduzindo o número de saltos diários frustrados nas fêmeas ao longo do período de estro.

No quinto teste de libido, nos animais inteiros e bloqueados, o impulso de monta foi semelhante ($P > 0,05$; Quadro 3). Além disso, foram registradas altas correlações entre o impulso de monta e o escore de libido nos animais de ambos os tratamentos (Quadros 4 e 5). Desta forma é plausível considerar que cheirar e lambe 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 de modo que não houvesse diferenças no escore da libido neste teste.

As concentrações séricas de testosterona matinais e vespertinas não foram diferentes entre o quarto e quinto testes de libido nos animais inteiros ($P > 0,05$). No entanto, houve tendência de menores valores nas concentrações séricas de testosterona pela manhã no quinto teste de libido, comparado ao quarto teste ($12,5 \pm 2,1^a \times 5,5 \pm 2,3^a$ ng/mL; $P = 0,06$). Esta flutuação da testosterona sérica, possivelmente, foi suficiente para promover uma redução da frequência do evento sexual de monta completa no quinto teste de libido nos animais inteiros, conduzindo-os para maiores prevalências de eventos de excitação sexual (Dominguez e Hull, 2005), como o reflexo de flehmen (nos inteiros) e cheirar e lambe (nos bloqueados), com intuito de aumentar a produção de testosterona (Doving e Trotier, 1998), que por sua vez, induziu os animais para, numa condição mais desfavorável, sob o ponto de vista alimentar e consequentemente hormonal, melhor testar a receptividade da fêmea em estro realizando o evento sexual de impulso de monta, com intuito de poupar energia. As altas correlações negativas observadas entre o evento sexual de impulso de monta e a concentração sérica de testosterona pela manhã nos animais inteiros (Quadro 4) e bloqueados (Quadro 5) reforçam esta hipótese.

Possivelmente, o aumento do tempo de observação em testes de avaliação da libido poderia implicar em aumento de eventos sexuais do tipo consumatórios como previamente descrito por Santos *et al.* (2004); Oliveira *et al.* (2007) e Dias *et al.* (2009), que trabalharam com animais *Bos taurus indicus*. Portanto, é plausível considerar que testes de libido realizados em curral com animais da raça Nelore, com curta duração, o evento sexual de impulso de monta deve ser mais bem considerado, como previamente descrito por Salvador *et al.* (2003). No entanto, se com aumento do tempo de observação no teste da libido os animais bloqueados executaria a monta completa permanece sem esclarecimento, necessitando de mais estudos para esclarecer essa hipótese.

Ainda no quinto teste da libido, foi observada menor performance do impulso de monta nos animais castrados ($P < 0,05$). Esse resultado sugere que esse evento sexual depende de uma quantidade mínima no nível sérico de testosterona, já que nos bloqueados este evento foi semelhante aos inteiros.

CONCLUSÕES

O bloqueio do órgão vomeronasal em machos Nelore no período pré-puberal afetou a manifestação dos comportamentos sexuais consumatórios, visto que a tentativa de monta, a monta completa e o escore da libido foram reduzidos no quarto teste de libido nos bloqueados.

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, já que este comportamento foi reduzido nos bloqueados no quinto teste de libido.

O evento sexual de cheirar e lamber a genitália da fêmea constitui-se em uma tentativa olfatória de compensar o evento sexual de reflexo de flehmen para excitação sexual em machos Nelore, já que este comportamento foi maior nos bloqueados no quinto teste de libido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Booth, K.K. e Katz, L.S. (2000) - Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in Sheep. *Biology of Reproduction*, vol. 63, n. 3, p. 953-958. <https://doi.org/10.1095/biolreprod63.3.953>.
- Chacur, M.G.M.; Sirchia, F.P.; Zerbinatti, E.P.; Kronka, S.N. e Oba, E. (2007) - Relação entre circunferência escrotal, libido, hormônios e características do sêmen em touros Brangus e Pardo-Suiço. *Acta Scientiae Veterinariae*, vol. 35, n. 2, p. 173-179. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.15966>.
- Chenoweth, P.J.; Chase Jr., C.C.; Larsen, R.E.; Tatcher, M.J.D.; Bivens, J.F. e Wilcox, C.J. (1996) - The assessment of sexual performance in young Bos taurus and Bos indicus beef bulls. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 48, n. 3-4, p. 225-235. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(95\)01026-2](https://doi.org/10.1016/0168-1591(95)01026-2).
- Costa e Silva, E.V.; Costa Filho, L.C.C.; Souza, C.C.D.; Oliveira, C.C.; Queiroz, V.L.D. e Zúccari, C.E.S.N. (2015) - Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, vol. 39, n. 1, p. 22-31.
- Dias, J.C.; Andrade, V.J.; Emerick, L.L.; Martins, J.A.M.; Vale Filho, V.R. e Silva, M.A. (2009) - Teste da libido em touros jovens Guzerá e suas associações com características reprodutivas e níveis séricos de testosterona. *Archives of Veterinary Science*, vol. 14, n. 4, p. 204-213. <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v14i4.16202>.
- Dias, J.C.; Emerick, L.L.; Martins, J.A.M.; Andrade, V.J.; Vale Filho, V.R. (2020) - Comportamento sexual de touros jovens Guzerá em teste da libido em curral e piquete. *Revista de Ciências Agrárias*, vol. 43, n. 1, p. 124-132. <https://doi.org/10.19084/rca.17569>.
- Dominguez, J.M. e Hull, E.M. (2005) - Dopamine, the medial preoptic area, and male sexual behavior. *Physiology & Behavior*, vol. 86, n. 3, p. 356-368. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.006>.
- Dorries, K.M.; Adkins-Regan, E. e Halpern, B.P. (1995) - Olfactory sensitivity to the pheromone androstenone, is sexually dimorphic in the pig. *Physiology & Behavior*, vol. 57, n. 2, p. 255-259. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)00225-t](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)00225-t).
- Doving, K.B. e Trotier, D. (1998) - Structure and function of the vomeronasal organ. *Journal of Experimental Biology*, vol. 201, n. 21, p. 2913-2925. <https://doi.org/10.1242/jeb.201.21.2913>.
- Dulac, C. e Wagner, S. (2006) - Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. *Annual Review of Genetics*, vol. 40, p. 449-467. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.073003.093937>.
- Emerick, L.L.; Mahecha, G.A.B.; Gonçalves, P.E.M.; Leite, T.G.; Martins, J.A.M.; Dias, J.C.; Andrade, V.J.; Vale Filho, V.R. e Oliveira, A.L. (2019) - Características de carcaça, órgão vomeronasal, concentrações séricas de testosterona e IGF-I em machos Nelore com ductos incisivos bloqueados. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, vol. 26, n. 3, p. 87-92. <https://doi.org/10.4322/rbvcv.2019.016>.
- Gandelman, R. (1983) - Gonadal hormones and sensory function. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 7, n. 1, p. 1-17. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(83\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0149-7634(83)90003-9).
- Halpern, M. (1987) - The organization and function of the vomeronasal system. *Annual Review of Neuroscience*, vol. 10, p. 325-362. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.10.030187.001545>.
- Hart, B.L. e Leedy, M.G. (1987) - Stimulus and hormonal determinants of flehmen behavior in cats. *Hormones & Behavior*, vol. 21, n. 1, p. 44-52. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(87\)90029-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(87)90029-8).

- Kelliher, K.R. e Baum, M.J. (2001) - Nares occlusion eliminates heterosexual partner selection without disrupting coitus in ferrets of both sexes. *The Journal of Neuroscience*, vol. 21, n. 15, p. 5832-5840. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05832.2001>.
- McGinnis, M.Y.; Williams, G.W. e Lumia, A.R. (1996) - Inhibition of male sex behavior by androgen receptor blockade in preoptic area or hypothalamus, but not amygdala or septum. *Physiology & Behavior*, vol. 60, n. 3, p. 783-789. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(96\)00088-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(96)00088-1).
- Meredith M. (1986) - Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. *Physiology & Behavior*, vol. 36, n. 4, p. 737-743. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90362-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90362-8).
- Oliveira, C.B.; Guimarães, J.D.; Costa, E.P.; Siqueira, J.B.; Torres, C.A.A.; De Carvalho, G.R. e Guimarães, S.E.F. (2007) - Avaliação do comportamento sexual em touros Nelore: comparação entre os testes da libido em curral e do comportamento sexual a campo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 36, n. 1, p. 32-42. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000100005>.
- Padua, J.T.; De Oliveira, M.P.; Da Silva, L.A.F.; Vieira, L.D.S.; Figueiredo, E.J.; Morales, D.C.S.P.; Carrijo, L.H.D. e Martins, F.D.C. (2003) - Efeito de métodos de castração e do uso de vermífugos sobre o ganho em peso de bovinos mestiços leiteiros. *Ciência Animal Brasileira*, vol. 4, n. 1, p. 33-43.
- Pannocchia, M.A.; Borella, M.I.; Camargo, A.C.M.; Gilio, J.M. e Silva, C.A. (2008) - Estratégia efetiva de fixação do testículo de ratos Wistar para avaliar os parâmetros morfológicos e morfométricos do epitélio seminífero. *ConScientiae Saúde*, vol. 7, n. 2, p. 227-233.
- Pineda, N.R.; Fonseca, V.O. e Proença, R.V. (2000) - Potencial reprodutivo de touros Nelore: libido, capacidade de serviço e eficiência em acasalamentos com elevada proporção de vacas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, vol. 24, n. 1, p. 44-51.
- Price, E.O. e Wallach, S.J.R. (1991) - Development of sexual and aggressive behaviors in Hereford bulls. *Journal of Animal Science*, vol. 69, n. 3, p. 1019-1027. <https://doi.org/10.2527/1991.6931019x>.
- Russell, L.D.; Kershaw, M.; Borg, K.E.; Shennawy, A.E.; Rulli, S.S.; Gates, R.J. e Calandra, R.S. (1998) - Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: FSH maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. *Journal of Andrology*, vol. 19, n. 3, p. 308-319. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1998.tb02010.x>.
- Salazar, I.; Quinteiro, P.S. e Cifuentes, J.M. (1997) - The soft-tissue components of the vomeronasal organ in pigs, cows and horses. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, vol. 26, n. 3, p. 179-186. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.1997.tb00122.x>.
- Salvador, D.F.; Andrade, V.J.; Vale Filho, V.R.; Silva, A.S. e Costa e Silva, E.V. (2003) - Avaliação da libido de touros Nelore adultos em curral e sua associação com características andrológicas e desempenho reprodutivo a campo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 55, n. 5, p. 588-593. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352003000500012>.
- Sampaio, I.B.M. (2002) - *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ªed. Belo Horizonte, FEP-MVZ, 265 p.
- Santos, M.D.; Torres, C.A.A.; Ruas, J.R.M.; Silva Filho, J.M.; Costa, E.P.; Pereira, J.C. (2004) - Teste da libido e atividade de monta em touros da raça Nelore. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 56, n. 4, p. 504-510. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352004000400012>.