

UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PERÍODOS DE FOTOESTIMULAÇÃO EM ÉGUAS ACÍCLICAS PARA O CONTROLE DA SAZONALIDADE REPRODUTIVA

Carlos Guilherme de Castro Schutzer¹
Hélène Lacerda de Resende¹
José Carlos de Figueiredo Pantoja²
Marco Antônio Alvarenga^{1*}

RESUMO

As éguas apresentam um período de atividade reprodutiva durante o verão e, no inverno, pouca atividade folicular (anestro). A fim de antecipar a fase reprodutiva, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes períodos de fotoestimulação sobre a ocorrência da primeira ovulação da estação de monta em éguas em anestro sazonal. O experimento foi conduzido durante as estações reprodutivas de 2009 e 2010, do dia 1 de junho ao dia 1 de agosto, para isso foram utilizadas 45 éguas mestiças, em anestro, entre quatro e 12 anos, em São Simão – SP, Brasil. Na ausência de corpo lúteo e folículos maiores de 20 mm, as éguas foram aleatoriamente separadas nos seguintes grupos: G1 – controle, sem estímulo com luz artificial (G1; n=15), G2 – estimulação com luz artificial por 35 dias (G2; n=15) e G3 – estimulação com luz artificial por 60 dias (G3; n=15). Utilizou-se o teste de Fisher para comparar a proporção de éguas que ovularam até os primeiros 60 dias do experimento entre os grupos de estudo. O método de Bonferroni foi usado para ajustar o nível α para comparações múltiplas. Curvas de sobrevivência e modelos de risco proporcional de Cox foram usados para comparar a taxa de ovulação entre os grupos de estudo (expressa estimando a razão dos riscos). Significância estatística foi definida como $P < 0,05$ ou $P < 0,02$ para o teste de Fisher com comparações múltiplas. A proporção de éguas que ovularam até 60 dias após o início do tratamento foi significativamente maior (84,6%) no grupo tratado com luz artificial por 60 dias, quando comparado ao grupo controle (15,4%, $P=0,001$). Houve diferença estatística entre o grupo controle e o grupo tratado com luz artificial por 35 dias (61,5%, $P=0,041$), porém não houve diferença entre os grupos tratados por 35 e 60 dias ($P=0,378$). O tempo mediano de ovulação no grupo tratado com luz artificial por 60 dias foi 53 dias, enquanto éguas no grupo tratado com luz artificial por 35 ou éguas no grupo controle ovularam aos 56 e 125 dias, respectivamente. Conclui-se que a redução do tratamento com luz artificial para 35 dias não foi tão eficaz quanto o protocolo convencional de 60 dias.

Palavras-chave: anestro, éguas, fotoperíodo, sazonalidade, transição

USE OF DIFFERENT PERIODS OF PHOTOSTIMULATION IN ACYCLIC MARES FOR REPRODUCTIVE SEASONAL CONTROL

ABSTRACT

The mares have a period of reproductive activity during the summer and in winter, poor follicular activity (anestrous). In order to anticipate the reproductive phase, this study aimed to evaluate the effect of different periods of photic stimulation on the occurrence of first ovulation of the breeding season in mares in seasonal anestrous. The experiment was conducted during the breeding seasons of 2009 and 2010, from 1 July to 1 August, were used

¹ Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu. *correspondência.

² Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. FMVZ - UNESP - Botucatu

45 mares crossbred in anestrus between four and 12 years in São Simão - SP, Brazil. In the absence of the corpus luteum and follicles larger than 20 mm, mares were randomly separated into the following groups: G1 - control, without stimulation with artificial light (G1, n=15), G2 - stimulation with artificial light for 35 days (G2; n=15) and G3 - stimulation with artificial light for 60 days (G3, n=15). We used the Fisher exact test for analysis of ovulation rate to the first 60 days of the experiment and ANOVA followed by Tukey test to analyze the average number of days to first ovulation, all statistics were considered significant when $P < 0.05$. The Fisher test was used to compare the mare proportion that ovulated until the first 60 days of experiment between the study groups. The Bonferroni method was used to adjust the α level for multiple comparisons. Survival curves and Cox proportional hazards model were used to compare the ovulation rate between the study groups (estimating the expression of hazard ratio). Statistical significance was defined as $P < 0.05$ or $P < 0.02$ for the Fisher test with multiple comparisons. The proportion of mares that ovulated until 60 days after the beginning of the treatment was significantly larger (84.6%) in the group treated with artificial light by 60 days, when compared to the control group (15.4%, $P = 0.001$). There was statistical difference between the control group and the group treated with artificial light by 35 days (61.5%, $P = 0.041$), however was not statistical difference between the groups treated by 35 and 60 days ($P = 0.378$). The average ovulation time in the group treated with artificial light by 60 days was 53 days, while mares in the group treated with artificial light by 35 or mares in the control group ovulated at the 56 and 125 days, respectively. It is concluded that the reduction of treatment with artificial light for 35 days was not as effective as the conventional protocol of 60 days.

Keywords: anestrus, mares, photoperiod, seasonality, transition

UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PERIODOS DE FOTOESTIMULACIÓN EN YEGUAS ACÍCLICAS PARA EL CONTROL DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

RESUMEN

Las yeguas presentan el período de actividad reproductiva durante el verano y poca actividad folicular (anestro) durante el invierno. Con la intención de anticipar la temporada de monta, este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes períodos de fotoestimulación en la presentación de la primera ovulación de la temporada reproductiva. El experimento se llevó a cabo durante las temporadas reproductivas de 2009 y 2010, del 1 día del mes de junio al 1 de agosto, se utilizaron 45 yeguas mestizas, en anestro, de cuatro a 12 años, en São Simão/SP, Brasil. En la ausencia de cuerpo lúteo y de folículos mayores de 20 mm, las yeguas fueron separadas al azar en los siguientes grupos: Grupo 1- testigo, sin estímulo con luz artificial (G1, n=15), Grupo 2 - estimulación con luz artificial por 35 días (G2; n=15), y Grupo 3 - estimulación con luz artificial por 60 días (G3; n=15). Se utilizó el teste exacto de Fischer para la análisis del porcentaje de ovulación hasta los primeros 60 días del experimento y el ANOVA seguido del teste de Tukey para el análisis del número medio de días hasta la ovulación, todas las estadísticas se consideraron significativas cuando $P < 0,05$. Se utilizó la prueba de Fisher para comparar la proporción de yeguas que ovularon hasta los primeros 60 días del experimento entre los grupos de estudio. El método de Bonferroni fue utilizado para ajustar el nivel α para múltiples comparaciones. Las curvas de sobrevivencia y los modelos de riesgo proporcional de Cox fueron usados para comparar la tasa de ovulación entre los grupos de estudio (expresa la relación entre los riesgos estimados). La significancia estadística se definió como $P < 0,05$ o $P < 0,02$ para la prueba de Fisher con comparaciones múltiples. La proporción de yeguas que ovularon hasta 60 días después del inicio del tratamiento fue

Schutzer CGC, Resende HL, Pantoja JCF, Alvarenga MC. Utilização de diferentes períodos de fotoestimulação em éguas acíclicas para o controle da sazonalidade reprodutiva. Vet. e Zootec. 2014 mar.; 21(1): 148-153.

significativamente mayor (84,6%) en el grupo tratado con la luz artificial por 60 días, cuando son comparados con el grupo control (15,4%, $P=0,001$). Diferencia estadística entre los grupos control y el grupo tratado con la luz artificial por 35 días (61,5%, $P=0,041$), pero no hubo diferencia entre los grupos tratados por 35 y 60 días ($P=0,378$). El tiempo medio de la ovulación en el grupo tratado con luz artificial durante 60 días fue de 53 días, mientras que las yeguas en el grupo tratado con luz artificial por 35 o las yeguas en el grupo de control ovularon a los 56 y 125 días, respectivamente. Se concluye que la reducción del tratamiento con luz artificial para 35 días no fue tan eficiente cuanto el protocolo convencional de 60 días.

Palabras clave: Anestro, yeguas, fotoperíodo, estacionalidad, transición

INTRODUÇÃO

As éguas são classificadas como poliéstricas estacionais, pois possuem sua estação reprodutiva durante a primavera e verão. Três são os fatores básicos que explicam o caráter estacional dos ciclos estrais nas éguas: fotoperíodo, temperatura e nutrição (1).

A sazonalidade reprodutiva da égua tem importantes consequências para a criação comercial de equinos. Criadores que utilizam a técnica de transferência de embriões precisam adequar o manejo do período reprodutivo de doadoras ao calendário esportivo destes animais. Além disso, criadores, pertencentes às associações de raças adotam a idade hípica como critério de nivelamento de potros, assim procuram acasalar as éguas o mais cedo possível, para obter o nascimento dos potros o mais próximo possível à data oficial imposta para cavalos de *performance* (2).

Pesquisas sobre reprodução equina vêm buscando melhor entender e manipular os mecanismos que determinam sua sazonalidade reprodutiva. Para antecipação da primeira ovulação do ano, o método mais prático é a aplicação de fotoperíodo artificial, simulando dias longos (3).

O tratamento com iluminação diária de 16 horas utilizando luz artificial durante meados do inverno constitui um dos mais antigos e confiáveis métodos de indução da atividade ovariana no início da primavera (4). O tratamento tem duração média de 6 a 12 semanas, porém após duas semanas significativa atividade folicular pode ser observada (5). Guillaume et al. (6) conseguiram um tempo médio de 76 dias após o início do tratamento até a primeira ovulação para éguas tratadas (G1: 35 dias e G2: até primeira ovulação) e 131 dias para o grupo controle. Não houve diferença entre o grupo tratado por 35 dias e o grupo tratado por período prolongado. Devito et al. (7) trataram éguas em anestro por 35 e 60 dias, em um regime de 17 horas de luz (natural + artificial), os grupos tratados não apresentaram diferença ($P=0,188$) quanto ao tempo médio até primeira ovulação. No entanto, 90% dos animais tratados por 35 dias ovularam até 70 dias, contra 77,78% dos animais tratados por 60 dias. O grupo 1 ainda apresentou maior sincronização ($P=0,064$) no intervalo das ovulações.

A fim de adiantar a primeira ovulação da estação de monta e antecipar a fase reprodutiva das éguas, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes períodos de fotoestimulação sobre a ocorrência da primeira ovulação da estação de monta em éguas em anestro sazonal.

MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido durante as estações reprodutivas 2009 e 2010, do dia 1 de junho ao dia 1 de agosto, nas dependências da Embrio-Equi (Centro Avançado de Reprodução Equina), localizada no município de São Simão, São Paulo (Latitude $-21^{\circ} 28' 45''$; Longitude $-47^{\circ} 33' 03''$). Foram utilizadas 45 éguas sem raça definida, com idade entre 4 e 12 anos, com peso entre 400 e 500 kg.

Schutzer CGC, Resende HL, Pantoja JCF, Alvarenga MC. Utilização de diferentes períodos de fotoestimulação em éguas acíclicas para o controle da sazonalidade reprodutiva. Vet. e Zootec. 2014 mar.; 21(1): 148-153.

Previamente ao início do experimento, todas as éguas foram avaliadas por ultrassonografia trans-retal com o intuito de observar a condição uterina e ovariana, sendo critério para o estudo a ausência de corpo lúteo bem como de folículos maiores que 20 mm. Posteriormente a esta avaliação, os animais foram separados aleatoriamente aos grupos e monitorados duas vezes por semana. Quando detectado um folículo ≥ 35 mm de diâmetro, foi administrado 1500 UI de hCG (Vetecor[®], Laboratório Hertape Calier, MG, Brasil) segundo Gastal et al. (8) e 1 mg de acetato de deslorelina associadas, por via intramuscular, com objetivo de indução da ovulação e o monitoramento continuou sendo diário até a ovulação, avaliada pela presença de corpo lúteo. As avaliações foram realizadas utilizando um aparelho de ultrassonografia equipado com um transdutor linear de 5 MHz (Aloka SSD-500, Japão).

Após a seleção dos animais, os mesmos foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos: grupo 1 – controle, sem estímulo com luz artificial (G1; n=15), grupo 2 – estimulação com luz artificial por 35 dias (G2; n=15) e grupo 3 – estimulação com luz artificial por 60 dias (G3; n=15). Os grupos tratados foram estimulados por 35 dias (1 de junho a 5 de julho) ou 60 dias (1 de junho a 1 de agosto) de luz artificial, cada grupo de 15 animais foi confinado em um piquete de 100 m², com holofotes bem distribuídos, na tentativa de se evitar áreas de sombreamento. A intensidade utilizada foi de 80 lux de luz incandescente fria, permitindo a leitura confortável de um texto a 50 cm dos olhos, iniciando das 17 às 22 horas.

Na análise estatística o teste de Fisher foi utilizado para comparar a proporção de éguas que ovularam até os primeiros 60 dias do experimento entre os grupos de estudo. O método de Bonferroni foi usado para ajustar o nível α para comparações múltiplas. Curvas de sobrevivência (9) e modelos de risco proporcional de Cox (9) foram usados para comparar a taxa de ovulação entre os grupos de estudo (expressa estimando a razão dos riscos). Significância estatística foi definida como $P < 0,05$ ou $P < 0,02$ para o teste de Fisher com comparações múltiplas.

RESULTADOS

A proporção de éguas que ovularam até 60 dias após o início do tratamento foi significativamente maior (84,6%) no grupo tratado com luz artificial por 60 dias, quando comparado ao grupo controle (15,4%, $P=0,001$). Houve diferença estatística entre o grupo controle e o grupo tratado com luz artificial por 35 dias (61,5%, $P=0,041$), porém não houve diferença estatística entre os grupos tratados por 35 e 60 dias ($P=0,378$).

O tempo mediano de ovulação no grupo tratado com luz artificial por 60 dias foi 53 dias, enquanto éguas no grupo tratado com luz artificial por 35 ou éguas no grupo controle ovularam aos 56 e 125 dias, respectivamente. Dessa forma, a taxa de ovulação (Figura 1) foi 8,7 (intervalo de confiança=1,9 – 40,0) vezes maior no grupo tratado com luz artificial por 60 dias, quando comparado ao grupo controle ($P=0,005$), e 5,3 (intervalo de confiança=1,1 – 25,0) vezes maior no grupo tratado com luz artificial por 35 dias quando comparado ao grupo controle ($P=0,035$).

Tabela 1. Média e desvio padrão de dias até a primeira ovulação em éguas tratadas com luz artificial com 80 lux de intensidade por diferentes períodos.

Grupos ¹	Tempo mediano (dias) até a 1 ^a ovulação	Mín.	Máx.
G1	125	51	154
G2	56	48	143
G3	53	48	136

¹ G1= Controle (n=13); G2= Luz artificial por 35 dias (n=13); G3= Luz artificial por 60 dias (n=13).

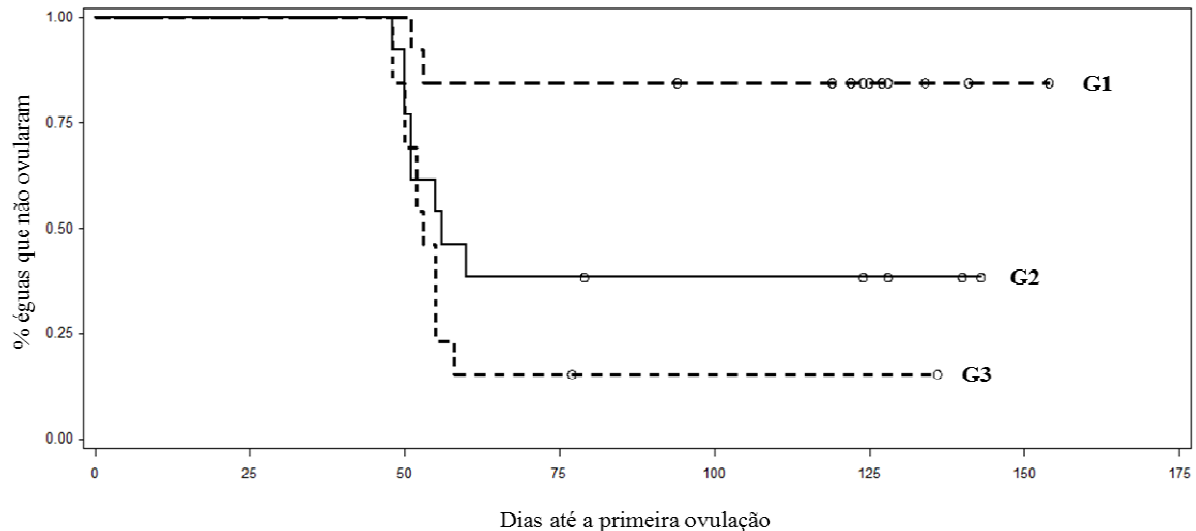


Figura 1. Taxa de ovulação entre os grupos estudados. G1= Controle (n=13); G2= Luz artificial por 35 dias (n=13); G3= Luz artificial por 60 dias (n=13).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, os protocolos propostos aceleraram o início da atividade cíclica ovariana em éguas em anestro criadas em condições subtropicais. Interessante é o fato de que este foi o segundo experimento controlado sobre o uso de luz artificial no Brasil, a despeito da utilização rotineira da luz artificial há mais de 50 anos em criatórios de equinos no Brasil, bem como a literatura é falha em relatar outros experimentos sobre o tema em éguas criadas na América do Sul.

Conforme esperado, o tratamento com adição de 5 horas de luz artificial durante 60 dias encurtou a fase de inatividade ovariana em aproximadamente 54 dias. Sendo este resultado mais longo que os achados por Devito et al. (7) com 49 dias em média até a primeira ovulação. Porém, mais curto que os achados por Guillaume et al. (6) com média de 76 dias até a primeira ovulação utilizando o tratamento com luz artificial por período prolongado.

O protocolo de encurtamento do tempo de luz artificial para 35 dias se mostrou tão eficiente quanto o tradicional (luz artificial por 60 dias) onde o percentual de éguas que ovularam até 60 dias diferiu do grupo controle, porém não houve diferença estatística entre o grupo tratado por 60 dias. Esses resultados discordam de Devito et al. (7), que observaram um percentual de éguas ovuladas até 70 dias superior no grupo tratado por 35 dias em relação ao grupo tratado por 60 dias com luz artificial (90% x 78%).

Acredita-se que essa diferença possa estar relacionada ao dia do início do tratamento, onde o presente estudo teve início dia 1 de junho e no trabalho de Devito et al. (7) o início foi em 21 de junho. Assim, os animais do experimento de Devito et al. (7) foram expostos à luz artificial durante os dias curtos por mais tempo (20 dias), enquanto no atual experimento a exposição das éguas à luz artificial durante 20 dias ocorreu quando os dias ainda eram considerados longos.

No que diz respeito ao tempo mediano para a ocorrência da primeira ovulação o protocolo com luz artificial por 35 dias se mostrou similar ao de luz artificial por 60 dias. Esses dados concordam com os experimentos de Guillaume et al. (6) e Devito et al. (7) que também verificaram uma antecipação na primeira ovulação da EM, no protocolo de 35 dias de luz artificial, com médias de 56 e 76 dias até a primeira ovulação da EM, respectivamente.

Um fato importante é que após a interrupção dos tratamentos todos os animais continuaram a apresentar ciclos ovulatórios.

CONCLUSÃO

Os resultados do experimento nos permitem concluir que a redução da fotoestimulação para 35 dias é tão eficaz quanto o protocolo convencional de 60 dias na antecipação da ciclicidade de éguas em fase de anestro sazonal.

Adicionalmente, pode-se concluir que os tratamentos com luz artificial por 35 ou 60 dias foram eficientes na antecipação da primeira ovulação da estação de monta, em éguas em fase de anestro sazonal, em condições subtropicais.

REFERÊNCIAS

1. Arruda RP. Manejo reprodutivo das fêmeas equinas. In: Anais da 13ª Semana de Zootecnia; 1990, Pirassununga. Campinas: Fundação Cargill; 1990.
2. Donadeu FX, Watson ED. Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. *Anim Reprod Sci.* 2007;100:225-42.
3. Ginther OJ. Reproductive biology of the mare. 2nd ed. Ann Arbor: McNaughton and Gunn Inc.; 1992.
4. Besonet B, Hansen B, Daels PF. Dopaminergic regulation of gonadotrophin secretion in seasonal anestrus mares. *J Reprod Fertil.* 1996;108:55-61.
5. Nagy P, Guillaume D, Daels P. Seasonality in mares. *Anim Reprod Sci.* 2000;60/61:245-62.
6. Guillaume D, Duchamp G, Nagy P, Palmer E. Determination of minimum light treatment required for photo stimulation of winter anoestrous mares. *J Reprod Fertil Suppl.* 2000;(56):205-16.
7. Devito LG, Carmo MT, Alvarenga MA, Santos JF, Oliveira JV. Effect of short of light exposure for the advance of ovarian activity of mares in seasonal anestrus. *Acta Sci Vet.* 2006;34:347.
8. Gastal EL, Silva LA, Gastal MO, Evans MJ. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Anim Reprod Sci.* 2006;94:186-90.
9. SAS Institute. SAS/STAT 9.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.; 2009.

Recebido em: 03/02/2012

Aceito em: 31/01/2014