

Avaliação dos níveis séricos de 17- α -OH progesterona e androstenediona durante o ciclo estral em marrãs (*Sus scrofa domestica* – Linnaeus, 1758)*

Progesterone –17 α -OH and androstenediona serum levels evaluation during the oestrus cycle in guilts (*Sus scrofa domestica* – Linnaeus, 1758)

Gilson Hélio TONIOLLO¹; Wilter Ricardo Russiano VICENTE¹;
Claudio Alvarenga de OLIVEIRA²; Euclides Braga MALHEIROS³; Antonio Carlos PUGLIESE⁴

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Gilson Hélio Toniollo
Departamento de Reprodução Animal
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP
Campus de Jaboticabal
Rodovia Carlos Tonanni, km 5
14870-000 – Jaboticabal – SP
e-mail: toniollo@fcav.unesp.br

1 - Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal – SP
2 - Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP – SP
3 - Departamento de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal – SP
4 - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal – SP

RESUMO

No presente trabalho, foram utilizadas 21 fêmeas suínas, virgens, sexualmente aptas, criadas e mantidas sob condições industriais, para observação dos perfis hormonais séricos de 17- α -OH progesterona e androstenediona, durante o ciclo estral. As colheitas de sangue foram efetuadas sempre no mesmo intervalo, entre 8 e 10 horas. Cada animal foi submetido a 14 punções venosas, distribuídas nos dias zero, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22 e 23 do ciclo estral. Considerou-se o dia zero como o primeiro dia da fase estral, e o 23º dia como o primeiro do estro subsequente. Os ensaios para dosagens hormonais foram executados utilizando-se a técnica de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida e para isso foi empregado conjunto de reagentes comerciais (Coat-A-Count®). Para o hormônio 17- α -OH progesterona, foram encontrados valores médios que variaram entre 0,18 e 2,7 ng/ml e para o hormônio androstenediona esses valores oscilaram entre 0,08 e 0,24 ng/ml.

UNITERMOS: Progesterona; Androstenediona; Suínos.

INTRODUÇÃO

Experimentos foram desenvolvidos, principalmente em ratas, demonstrando que a biossíntese de andrógenos é devida, em parte, ao estímulo do LH das enzimas 17 α -hidroxilase e C₁₇₋₂₀-liase, envolvidas na conversão da progesterona para 17 α -OH progesterona e androstenediona¹. Em verdade, a progesterona através da ação da enzima 17 α -hidroxilase transforma-se em 17 α -hidroxiprogesterona e esta, por sua vez, influenciada pela enzima C₁₇₋₂₀-liase, converte-se no hormônio androstenediona, ou seja, os hormônios 17 α -hidroxiprogesterona e androstenediona são subprodutos da progesterona^{1,9}.

Estudos da esteroidogênese nos folículos ovarianos da porca estão baseados na teoria sobre a função das células da teca e da granulosa. Os hormônios 17 α -hidroxiprogesterona e androstenediona são produzidos em grande quantidade pelo tecido tecal, mas a androstenediona é transportada para as células da granulosa, onde é convertida em testosterona, sendo então aromatizada para estradiol^{1,3,6}. Assim, o aumento da con-

centração intrafolicular de estradiol está associado com o desenvolvimento completo dos receptores de LH e FSH nos folículos destinados a ovulação e baixas concentrações de estradiol ou baixa taxa de estradiol/testosterona estão associados com folículos atrésicos na porca e na mulher^{4,5,8}. Portanto, os ovários de porcas são importantes fontes de hormônios esteróides, durante a gestação^{7,11}.

Vicente *et al.*¹² verificaram que as concentrações de androstenediona em porcas, durante a gestação, alcançaram valores entre 0,08 e 0,25 ng/ml. Oportuno destacar que no 1º dia da gestação foi observado valor máximo, caindo para o seu menor valor no 7º dia de gestação.

Assim, através deste trabalho, procuramos, além de dar continuidade a uma das linhas de pesquisa do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP-Campus de Jaboticabal, verificar os níveis séricos hormonais de 17- α -OH progesterona e androstenediona, durante o ciclo estral em marrãs, já que a literatura consultada não tem privilegiado a espécie suína.

* Trabalho financiado pela FAPESP - Processo nº 90/3594-5.

MATERIAL E MÉTODO

Animais

Foram utilizadas 21 fêmeas da espécie suína, mestiças (Landrace x Large White), pesando entre 110 e 120 kg e idade entre 6 e 7 meses, pertencentes ao plantel da empresa suinícola Humus Agrícola S.A., localizada no município de Pitangueiras, SP, destinadas à observação dos perfis hormonais do 17- α -OH progesterona e androstenediona, durante o ciclo estral.

Manejo dos animais

Durante o período próprio de observação, foram mantidas as condições de manejo empregadas na propriedade, que constou de ração balanceada duas vezes ao dia e água à vontade. Todas as marrãs estudadas foram escolhidas aleatoriamente dentre um grupo considerado clinicamente sadio, após exame hematimétrico de rotina, sendo agrupadas em instalação coletiva durante a realização do experimento, tendo manifestado sintomas de estro em pelo menos uma oportunidade. A partir da caracterização clínica do estro, associada ao auxílio do reprodutor especialmente treinado para tal finalidade, ou seja, rufiação duas vezes ao dia (manhã e tarde), é que se deu início à fase de colheita de sangue propriamente dita. Durante dois períodos de estro consecutivos, nenhuma das marrãs foi inseminada natural e ou artificialmente, perfazendo em média 23 dias de observação. No período experimental, as colheitas de sangue foram efetuadas sempre no mesmo intervalo, entre 8 e 10 horas. Cada animal foi submetido a 14 punções venosas, distribuídas nos dias zero, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22 e 23 do ciclo estral. Considerou-se o dia zero como o primeiro dia da fase estral, e o 23º dia como o primeiro do estro subsequente.

Colheita das amostras de sangue

As colheitas de sangue foram realizadas após venopunção da cava cranial, com os animais em posição quadrupedal, contidos mediante o emprego de aziar, utilizando-se, para tanto, seringas de 20 ml, munidas de agulhas hipodérmicas de 100 x 10 mm, ambas descartáveis. O sangue colhido, num volume aproximado de 20 ml por amostra, foi imediatamente transferido para tubo de vidro esterilizado e devidamente identificado, que, após tampado, foi mantido em estante adequada. O material foi transportado para o Laboratório de Patologia Clínica da FCAVJ-UNESP, onde, após a separação do coágulo sanguíneo, o soro foi centrifugado a 1.600 (g) por cinco minutos. Ato contínuo, o total do sobrenadante foi transferido para quatro frascos de vidro esterilizados, devidamente identificados e com volume similar, que foram estocados a -18°C e descongelados à temperatura ambiente, no momento de se efetuar as análises.

Dosagens hormonais

Os ensaios para dosagens hormonais foram executados no Laboratório do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade

de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, utilizando-se a técnica de radioimunoensaio (RIE), em fase sólida, e, para isso, foram utilizados conjuntos de reagentes comerciais**, desenvolvidos para avaliação quantitativa dos hormônios 17- α -OH progesterona e androstenediona, sem qualquer tipo de extração química e processo de purificação, exceto para a androstenediona, que foi quantificada após prévia extração em éter sulfúrico, valendo-se do I¹²⁵, como elemento radiativo traçador.

Para realização das análises hormonais, as amostras de soro foram descongeladas juntamente com o reagente específico para cada hormônio, até atingirem a temperatura ambiente, após o quê, os frascos contendo amostras de soro foram agitados antes do uso. Os procedimentos empregados nas dosagens foram os especificados pelo fabricante dos conjuntos de reagentes comerciais.

As contagens de radioatividade foram obtidas pela utilização de contador gama automático, de poço, modelo "Packard", calibrado automaticamente para I¹²⁵.

Os resultados foram fornecidos pelo emprego do programa específico de computador com impressora.

As características de desempenho dos ensaios foram realizadas verificando-se: 1- porcentagem de ligação máxima (% B0 sendo 14311,7 e 337,0); 2- porcentagem de ligações não-específicas (% L.N.E. sendo 213,7 e 337,0); 3- porcentagem dos coeficientes de variação intra-ensaios para valores baixos (% C.V.1) e para valores altos (% C.V.2), determinado a partir da média e desvio padrão das contagens de dois pares de tubos e 4- nível de sensibilidade do teste, que foi estimado a partir da média e desvio padrão das contagens de dois pares de tubos do calibrador de máxima porcentagem de ligação, calibrador zero, sendo a sensibilidade definida como a menor concentração aparente do hormônio a dois desvios padrões da média, sendo 0,01 ng/ml e 0,012 ng/ml para 17- α -OH progesterona e androstenediona, respectivamente.

Análise estatística

A heterogeneidade de variâncias para cada hormônio foi analisada através do teste de Bartlett¹⁰, tendo como repetição os animais, ao nível de 5% de probabilidade. Para estudar o comportamento dos hormônios, ao longo do ciclo estral, utilizaram-se análises de regressão polinomial com valores transformados em logaritmo de $x + 1$.

O teste estatístico não-paramétrico de Wilcoxon², ao nível de 5% de probabilidade, foi realizado para analisar-se, comparativamente, os valores médios, séricos, obtidos de cada perfil hormonal para cada dia de observação.

RESULTADOS

Durante o experimento, não foi verificada nenhuma alteração comportamental. Tampouco houve necessidade de substituição de alguma dessas fêmeas. As condições impostas a esses animais, no que se referiram ao manejo e alimentação, foram mantidas procurando-se respeitar a rotina da Granja. Quanto à colheita do material biológico, foi freqüentemente observado que as fêmeas acei-

** Coat-A-Count® - Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA, USA.

taram as contenções para a realização da punção venosa. O soro obtido foi de ótima qualidade, oriundo de sangue não hemolizado, cujo volume foi suficiente para que as amostras fossem subdivididas até o momento de se realizar as análises hormonais.

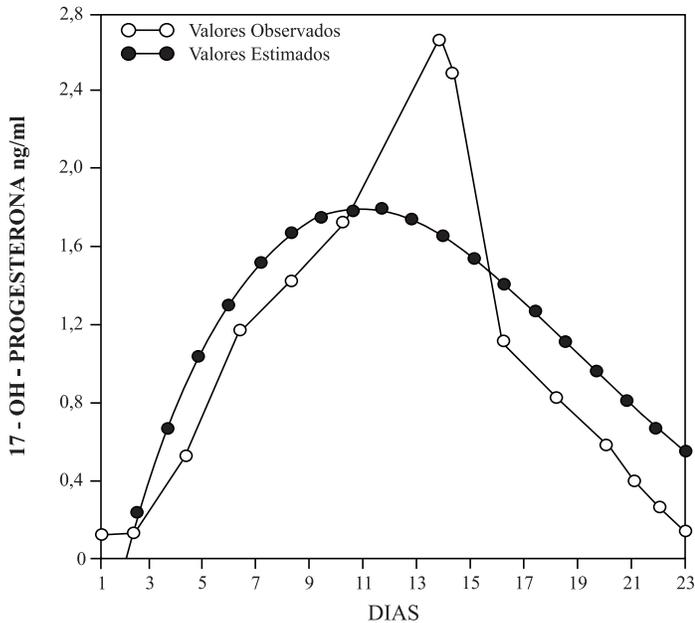


Figura 1

Representação gráfica dos valores médios observados e estimados (equação de regressão polinomial), referente à concentração de 17- α -OH progesterona no soro sanguíneo, durante o ciclo estral em 21 fêmeas suínas.

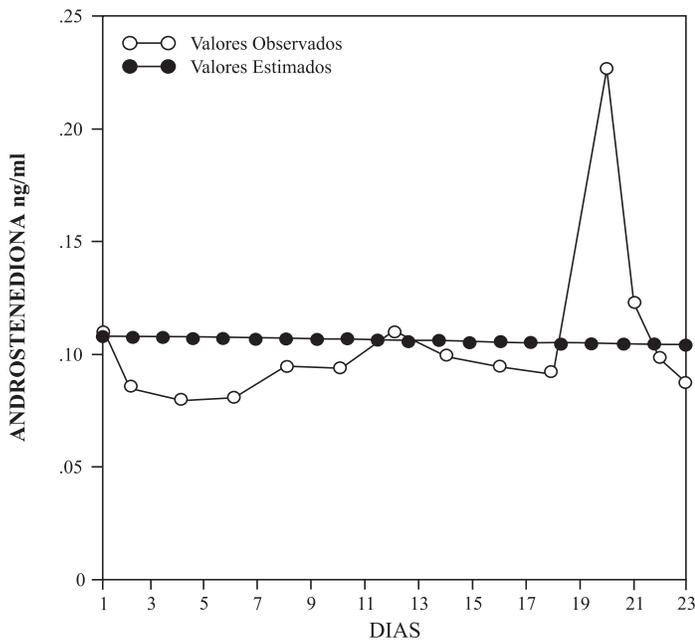


Figura 2

Representação gráfica dos valores médios observados e estimados (equação de regressão polinomial), referente à concentração de androstenediona no soro sanguíneo, durante o ciclo estral em 21 fêmeas suínas.

A duração do estro variou de 36 a 60 horas, sendo que cada marrã foi observada por dois estros consecutivos, sempre com auxílio do reprodutor e verificação do reflexo de tolerância.

Os resultados obtidos das análises séricas referentes ao 17- α -OH progesterona, realizadas nas amostras colhidas de 21 fêmeas ao longo do ciclo estral, são descritos em valores médios que variaram entre 0,18 a 2,7 ng/ml (Fig. 1), apresentando valor mínimo no dia um do ciclo estral e aumento a partir daí até o 14º dia (valor máximo), decaindo a seguir rapidamente para valores mínimos no 23º dia do ciclo estral. Para efeito de comparação, na mesma figura encontram-se representados os valores estimados referentes à equação de regressão polinomial de $x + 1$ (Teste de Bartlett).

Os resultados obtidos com as análises séricas referentes à androstenediona, realizadas nas amostras colhidas de 21 fêmeas ao longo do ciclo estral, são descritos em valores médios que oscilaram entre 0,08 a 0,24 ng/ml (Fig. 2), sendo que do 1º ao 18º dia esses valores permaneceram baixos, e a partir do 18º dia aumentou bruscamente atingindo o máximo nível no dia 20, para decaírem rapidamente a níveis baixos no 23º dia. A título de comparação, na mesma figura encontram-se representados os valores estimados referentes à equação de regressão polinomial de $x + 1$ (Teste de Bartlett).

Analisando-se estatisticamente os dados através do teste de Bartlett, utilizado para o estudo da heterogeneidade das variâncias de cada perfil hormonal, verificamos ter havido significância ao nível de 5% de probabilidade, o que permitiu transformar esses dados em logaritmo de $x + 1$ para fins de análise de regressão polinomial. Assim, as representações gráficas estão apresentadas em valores estimados na Fig. 1, para 17- α -OH progesterona e Fig. 2, para androstenediona.

Foi comparada dia a dia, após utilização do teste de Wilcoxon a nível de 5% de probabilidade, a variação das concentrações hormonais, evidenciando, desta forma, onde existiu ou não diferença significativa, dentro de cada perfil hormonal. Com o intuito de propiciar melhor interpretação, apresentamos, na seqüência, estes resultados abrangendo os hormônios 17- α -OH progesterona (Tab. 1) e androstenediona (Tab. 2).

Tabela 1

Níveis de significância entre dias, ao longo do ciclo estral, relativos aos valores séricos de 17- α -OH-progesterona em 21 fêmeas suínas, após aplicação do teste de Wilcoxon. Jaboticabal – SP, 1995.

d	1º	2º	4º	6º	8º	10º	12º	14º	16º	18º	20º	21º	22º
2º	NS												
4º	*	*											
6º	*	*	*										
8º	*	*	*	*									
10º	*	*	*	*	*								
12º	*	*	*	*	*	*							
14º	*	*	*	*	*	*	*	NS					
16º	*	*	*	NS	*	*	*	*	*				
18º	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
20º	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	
21º	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	NS
22º	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
23º	NS	NS	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	NS

17- α -OH-PROGESTERONA ng/ml; d = dias do ciclo estral; * = significativo ao nível de 5% de probabilidade; NS = não-significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2

Níveis de significância entre dias, ao longo do ciclo estral, relativos aos valores séricos de androstenediona em 21 fêmeas suínas, após aplicação do teste de Wilcoxon. Jaboticabal – SP, 1995.

d	1°	2°	4°	6°	8°	10°	12°	14°	16°	18°	20°	21°	22°
2°	NS												
4°	*	NS											
6°	*	NS	NS										
8°	NS	NS	*	*									
10°	NS	NS	NS	*	NS								
12°	NS	*	*	*	*	*							
14°	NS	*	*	*	NS	NS	NS						
16°	NS	NS	*	*	NS	NS	*	NS					
18°	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	NS	NS				
20°	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
21°	*	*	*	*	*	*	NS	*	*	*	*		
22°	NS	*	*	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	*	
23°	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	*	*

ANDROSTENEDIONA ng/ml; d = dias do ciclo estral; * = significativo ao nível de 5% de probabilidade; NS = não-significativo ao nível de 5% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Os valores observados e estimados da Fig. 1, com relação aos níveis séricos de 17- α -OH progesterona, durante o ciclo estral, em marrãs, tiveram comportamento semelhante ao descrito para a progesterona, diferindo nos valores e dia da ocorrência de pico. A Tab. 2 mostra dia a dia que as diferenças nos níveis plasmáticos desse hormônio foram significativas em quase sua totalidade. Cabe dizer, neste segmento, que os resultados aqui obtidos são originais, já que na literatura consultada nenhum autor pesquisado fez referência a este hormônio androgênico, durante o ciclo estral em suínas. A título de ilustração, com o intuito de se estabelecer padrão comparativo, muito embora utilizando principalmente ratas, experimentos foram desenvolvidos no sentido de provar que a biossíntese de andrógenos é devida, em parte, ao estímulo do LH das enzimas 17- α -hidroxilase e C₁₇₋₂₀- liase, envolvidas na conversão da progesterona para 17- α -OH progesterona e androstenediona^{1,9}, fato que permite inferir sobre a possibilidade da ocorrência desse fenômeno de modo similar na porca. É necessário destacar, novamente, com base na Fig. 1, que os valores séricos obtidos para 17- α -OH progesterona, variaram entre 0,18 e 2,7 ng/ml. O valor mínimo foi observado no dia um do ciclo estral e o pico ocorreu no 14° dia do ciclo, o que está de acordo com os achados da literatura, já que a progesterona é biotransformada no progestágeno 17- α -OH progesterona, conforme comentários retromencionados. Ratificando esses resultados, podemos relembrar que o pico progesterônico, neste experimento, e nas condições em que este foi realizado, ocorreu no 13° dia do ciclo. Os valores numéricos para o hormônio 17- α -OH progesterona, a partir do 14° dia (Fig. 2), sofreram queda rápida, até atingirem valor mínimo no 23° dia do ciclo estral.

Relacionado ainda aos hormônios androgênicos, e com base na Fig. 2, observa-se que os níveis séricos encontrados para a androstenediona são descritos em valores médios observados e estimados, que oscilaram no intervalo de 0,08 a 0,24 ng/ml. Os va-

lores estimados não se alteraram, contudo, os observados permaneceram baixos até o 18° dia do ciclo, quando então elevaram-se bruscamente, atingindo valor máximo no 20° dia, declinando rapidamente para valores baixos no 23° dia. Esses resultados, e aqui deve-se destacar que o pico do hormônio ocorreu no 18° dia, muito embora não-significativo pela análise estatística de regressão polinomial (Tab. 2), possui significado funcional importante, pois indicariam retorno ao estro.

Novamente observando a Fig. 2, fica claro que o pico de androstenediona ocorreu durante o início da fase folicular, ou seja, no 18° dia; e considerando que a androstenediona é subproduto da 17- α -OH progesterona, que por sua vez o é da progesterona, desse modo, pode-se interpretar que níveis altos de androstenediona durante o início da fase folicular, como está evidente na Fig. 2, nos facultam dizer que este fenômeno é indicativo de rápido retorno ao estro. Por outro lado, nessa mesma fase, níveis baixos podem demonstrar anestro. Retomando as Fig. 1 e 2, verificamos que os níveis séricos mais elevados dos hormônios 17- α -OH progesterona e androstenediona ocorreram em dias diferentes do ciclo estral, ou seja, nos dias 14 e 18, respectivamente, aspecto que reforça, em nosso entendimento, de modo bastante claro, os fenômenos biológicos de biotransformação de hormônios, revelando de forma evidente a inter-relação desse mecanismo. Segundo a literatura consultada, os dados são compatíveis, demonstrando que a metodologia empregada, assim como o grupo de marrãs que compuseram o lote de animais para a experimentação, foram condizentes com os objetivos delineados.

Vicente *et al.*¹² observaram níveis séricos altos de androstenediona no primeiro dia de gestação em porcas. Não podemos deixar de comentar que os resultados obtidos por Vicente *et al.*¹², com relação à androstenediona, são semelhantes ao da presente pesquisa, quando nos referimos aos valores de 0,08 e 0,25 ng/ml, mas divergentes quanto ao momento em que ocorreu o valor máximo. Esses autores verificaram que o pico ocorreu no primeiro dia de gestação, e logo depois declinaram para valores baixos, sendo que no 7° dia de gestação foi observado seu menor valor (0,08 ng/ml). Esta ocorrência talvez, acreditamos, possa ser explicada em função desses animais apresentarem condições fisiológicas distintas. Contudo, estudos dessa natureza, envolvendo hormônios como androstenediona, não são comuns, fato que dificulta a realização de interpretação mais acurada, para o que se tornam imperativos novos estudos.

CONCLUSÕES

Analisando os resultados obtidos nas condições em que este experimento foi conduzido, pode-se concluir que:

a) a metodologia e o conjunto de reagentes utilizados para as dosagens hormonais, no soro sanguíneo de marrãs, durante o ciclo estral, foram eficazes;

b) o perfil hormonal observado após análises séricas referentes à 17- α -OH progesterona oscilou entre 0,18 a 2,7 ng/ml com valor mínimo no estro e máximo no 14° dia do ciclo;

c) o perfil hormonal observado após análises séricas referentes à androstenediona variou entre 0,08 a 0,24 ng/ml, aumentando somente a partir do 18° dia do ciclo estral e decaindo a partir do 20° dia a níveis mínimos no 23° dia.

SUMMARY

In the present study 21 young female swines, sexually mature, reared and kept under a industrial management system were assessed for their progesterone serum profiles during the oestrus cycle. Blood sampling was performed always at the same interval, from 8:00 to 10:00 AM. Each animal was submitted to 14 venal punctions at days 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22 and 23 of the oestrous cycle. the first day of the oestrous phase was assumed to be Day 0 and the 23rd as the first of the next cycle. Hormone determinations were performed employing a solid phase radioimmunoassay (RIA). For progesterone 17- α -OH hormone, the observed mean values ranged from 0.18 to 2.7 ng/ml and for the androstenedione hormone those values ranged from 0.08 to 0.24 ng/ml.

UNITERMS: Progesterone; Androstenedione; Swine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BOGOVICH, K.; RICHARDS, J.S. Androgen synthesis during follicular development: evidence that rat granulosa cell 17-ketosteroid reductase is independent of hormonal regulation. **Biology Reproduction**, Champaign, v.31, n.1, p.122-31, 1984.
- 2- CAMPOS, H. de. **Estatística experimental não paramétrica**. 4.ed. Piracicaba : ESALQ-USP, 1986. 349p.
- 3- EVANS, G.; DOBIAS, M.; KING, G.J. Estrogen, androgen and progesterone biosynthesis by theca and granulosa of preovulatory follicles in the pig. **Biology Reproduction**, Champaign, v.25, n.12, p.673-82, 1981.
- 4- FOXCROFT, C.R.; HUNTER, M.G. Basic physiology of follicular maturation in the pig. **Journal Reproduction Fertility**, Cambridge, v.33, p.19, 1985. Supplement 1.
- 5- FRAUTSCHY, S.A.; LIPTRAP, R.M. Anovulation and plasma hormone concentrations after administration of dexamethasone during the middle of the luteal phase in sows undergoing estrous cycle. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.49, n.8, p.1270-5, 1988.
- 6- HANEY, A.F.; SCHOMBERG, D.W. Estrogen and progesterone production by developing porcine follicles in vitro: Evidence for estrogen formation by theca. **Endocrinology**, Baltimore, v.109, n.3, p.971-7, 1981.
- 7- HEAP, R.B.; FLINT, A.P.F. **Reproduction in mammals: hormonal control of reproduction**. Cambridge : University Press, 1984. p.153-94: **Pregnancy**.
- 8- McNATTY, K.P.; BAIRD, D.T. Relationship between follicle-stimulating hormone, androstenedione and oestradiol in human follicular fluid. **Journal Endocrinology**, Bristol, v.76, n.11, p.527-31, 1978.
- 9- REMBIESA, R.; MARCHUT, M.; WARCHOL, A. Ovarian-placental dependency in rat. Part I. Biotransformation O_{C21} steroids to androgen by rat placenta in vitro. **Steroids**, Stoneham, v.19, n.1, p.65-84, 1972.
- 10- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics; with special reference to the biological sciences**. New York : McGraw -Hill, 1960. 481p.
- 11- STONE, B.A.; PETRUCCO, O.M.; QUINN, P.; SEAMARK, R.F. Estimated utero-ovarian production rates of steroids in unmated and in pregnant gilts between days 9 and 17 after oestrous/coitus. **Proceedings Australian Society of Reproduction Biology**, v.17, n.8, p.85-92, 1985.
- 12- VICENTE, W.R.R.; TONIOLLO, G.H.; OLIVEIRA, C.A.; MALHEIROS, E.B. Avaliação da concentração sérica de androstenediona e testosterona em fêmeas suínas durante a gestação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.15, n.1-2, p.91-101, 1991.

Recebido para publicação: 03/02/1996
Aprovado para publicação: 30/03/1998