

**MATHEUS CAVALCANTI DE FARIAS**

**CONTROLE DA OVULAÇÃO EM NOVILHAS BUBALINAS EM  
CLIMA TROPICAL FORA DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

**RECIFE**

**2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**MATHEUS CAVALCANTI DE FARIAS**

**CONTROLE DA OVULAÇÃO EM NOVILHAS BUBALINAS EM  
CLIMA TROPICAL FORA DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Antônio de Lemos Oliveira.

**RECIFE**

**2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DA OVULAÇÃO EM NOVILHAS BUBALINAS EM**  
**CLIMA TROPICAL FORA DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

Dissertação de Mestrado elaborada por  
**MATHEUS CAVALCANTI DE FARIAS**

**Aprovada em ...../...../.....**

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Marcos Antônio de Lemos Oliveira.  
Orientador – Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. Paulo Fernandes de Lima.  
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. Claudio Coutinho Bartolomeu.  
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

A Deus, o qual me guia e ilumina nessa jornada, dando-me saúde, força, sabedoria e perseverança para prosseguir com satisfação;

Aos meus pais, Plínio e Cleide, que sempre apoiaram e incentivaram meus estudos, motivo maior de minha formação;

À Tia Rosangela, pelo exemplo de caráter, personalidade, e pela confiança em mim depositada;

Aos meus irmãos, namorada e familiares, os quais amo e sem eles este sonho não seria realidade;

Aos meus professores e amigos, que muito contribuíram para minha formação.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre me guiar, iluminando minha alma.

Aos meus familiares, especialmente meus pais, Maria Lucicleide e Plínio Jorge, por sempre me ofereceram tudo do melhor, pela paciência, amor e conselhos.

Aos meus irmãos, Lêda e João, pelo apoio e incentivo.

Às minhas tias, especialmente Rosangela que sempre ajudou toda a família, independente das necessidades, sendo um exemplo de honestidade e caráter.

Aos meus avós, que sempre contribuíram ajudando na realização deste sonho.

À minha namorada, pela sua amizade incondicional, apoio e companheirismo.

Aos meus amigos. Boas amizades é tudo que uma pessoa precisa.

Aos meus professores e orientadores, em especial aos professores Paulo Lima, Cláudio Coutinho e Marcos Lemos, pelos conselhos, ensinamentos, confiança, oportunidades e amizade, serei eternamente grato.

À UFRPE e todos os técnicos que contribuíram com minha formação pessoal e profissional.

Ao CNPq/UFRPE pelo apoio financeiro.

À Agropecuária Tapuio, que me acolheu da melhor forma, durante o experimento de campo e pôs seus animais à disposição para meu aprendizado e pesquisa.

Aos Drs. José Roberto e Eugênio, profissionais exemplares, que se dedicaram a me ensinar todos os conhecimentos que possuem referente à reprodução, com paciência e perseverança, se tornando grandes amigos e professores.

Ao Dr. Andre Mariano, que muito contribuiu para a formação desta dissertação com suas idéias e senso crítico, qualificando o trabalho.

E por fim, aos animais, que devemos cuidar com respeito, gratidão e carinho, aos quais dedico minha vida.

OBRIGADO.

*“A felicidade não se resume na ausência de problemas, mas sim na sua capacidade de lidar com eles”*

*Albert Einstein.*

## **CONTROLE DA OVULAÇÃO EM NOVILHAS BUBALINAS EM CLIMA TROPICAL FORA DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

**RESUMO:** A espécie bubalina apresenta sazonalidade reprodutiva, esta característica resulta em heterogeneidade na oferta de leite durante o ano ao mercado consumidor, com oscilações drásticas nos preços dos produtos lácteos. A indução de ovulação em novilhas durante a estação reprodutiva desfavorável por meio de hormonioterapia, seguida de inseminação artificial em tempo fixo, é uma alternativa capaz de tornar a produção láctea estável. Objetivou-se avaliar a dinâmica folicular e indução de ovulação sincronizada em novilhas bubalinas da raça Murrah utilizando diferentes indutores exógenos de ovulação durante estação reprodutiva desfavorável. Utilizou-se protocolos de sincronização de ovulação baseados no uso de GnRH, progesterona, prostaglandina e eCG, em 48 novilhas bubalinas da raça Murrah divididas em G1 (n=14), G2 (n=17) e G3 (n=17). Para avaliação de dinâmica folicular foram selecionadas aleatoriamente oito novilhas de cada grupo. Como indutor de ovulação o G1 recebeu apenas 0,25 mg de Acetato de Gonadorelina; o G2 0,25 mg de Acetato de Gonadorelina e 0,75 mg de d-Cloprostenol, e o G3 apenas, 0,150 mg de d-Cloprostenol. Os dados da dinâmica folicular foram analisados por ANOVA. Não se observou diferenças estatísticas ( $P > 0,05$ ) entres os grupos referentes à taxa de crescimento do folículo dominante, diâmetro do folículo pré ovulatório, diâmetro do corpo lúteo, intervalo entre retirada do implante de progesterona e ovulação e taxa de ovulação. A concentração sérica de P4, no D18, foi maior para o G2. A indução de ovulação durante estação reprodutiva desfavorável foi possível, e se evidenciou a capacidade do d-Cloprostenol em induzir ovulação em novilhas bubalinas, associado ou não ao GNRH, sendo que em associação não houve maximização da taxa de ovulação.

Palavras-chave: búfalas, características foliculares, estro.

## **CONTROL OF OVULATION IN BUFFALO HEIFERS IN TROPICAL WEATHER DURING UNFAVORABLE BREEDING SEASON**

**ABSTRACT:** The buffalo species present reproductive seasonality, such trace results in heterogeneity in milk supply to the consuming market during the year, with radical variations in the price of milk-related products. Induction of ovulation in heifers during adverse reproduction season through hormonotherapy followed by TAI, is an alternative capable of making milk production stable. It was aimed to assess follicular dynamics and induction of ovulation synchronized in buffalo heifers from Murrah breed making use of different external inductors of ovulation during unfavorable breeding season. It was used protocols of synchronization of ovulation based on the use of GnRH, progesterone, prostaglandin and eCG, in 48 buffalo heifers of the Murrah breed divided in G1 (n=14), G2 (n=17) and G3 (n=17). For evaluation of follicular dynamics, eight heifers from each group were randomly selected. As an inductor of ovulation G1 received only 0,25 mg of Gonadorelin Acetate; G2 received 0,25 mg of Gonadorelin Acetate and 0,75 mg of d-Cloprostenol, and G3, only 0,150 mg of d-Cloprostenol. Data from follicular dynamics were analyzed by ANOVA. No statistic difference ( $P > 0,05$ ) was observed among groups referring to the growth rate of the dominant follicle, diameter of the pre-ovulation follicle, diameter of the corpus luteum, interval between the removal of the progesterone implant and ovulation and the rate of ovulation. The serum concentration of P4 at D18 was higher for G2. The induction of ovulation during adverse reproduction season was possible, and the d-Cloprostenol capacity for inducing ovulation in buffalo heifers was evidenced, being it associated with GNRH or not, whereas in association there was not the maximization of the ovulation rate.

**KEY WORDS:** buffalo, follicular characteristics, estrus.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Desenho experimental do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo e acompanhamento da dinâmica folicular por meio de ultrassonografia, utilizado nas novilhas bubalinas, durante estação reprodutiva desfavorável, Taipu – RN, 2017.

Figura 2- Concentração sérica de progesterona (P4) (média  $\pm$  EPM), de novilhas bubalinas, no D18, após início do protocolo de IATF, tratadas com GnRH e *d*-cloprostenol, ou associação de ambos, como indutor de ovulação em estação reprodutiva desfavorável (n=48). Taipu – RN, 2017 ( $P \leq 0,05$ , pelo teste ANOVA: fator único).



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultados referentes às respostas ovarianas e foliculares de novilhas bubalinas (média  $\pm$  desvio padrão), submetidas a protocolo de IATF a base de progesterona, tratadas com GnRH (G1) e *d*-cloprostenol (G3), ou associação de ambos (G2), como indutor de ovulação em estação reprodutiva desfavorável, Taipu – RN, 2017.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CL - Corpo lúteo  
°C - Graus Celsius  
D0 - Dia zero do protocolo  
D7 - Dia sete do protocolo  
D8 - Dia oito do protocolo  
D10 - Dia dez do protocolo  
eCG - Gonadotrofina Coriônica equina  
FSH - Hormônio folículo estimulante  
GnRH - Hormônio Liberador de Gonadotrofinas  
G1 - Grupo experimental um  
G2 - Grupo experimental dois  
G3 - Grupo experimental três  
g - Unidade de medida em grama  
h - Hora  
IATF - Inseminação artificial em tempo fixo  
IM - Intramuscular  
LH - Hormônio Luteinizante  
mL - Mililitro  
mm - Milímetro  
mg - Miligrama  
µg - Micrograma  
MH<sub>2</sub> - Megahertz  
PGF - Prostaglandina  
P4 - Progesterona  
US - Exame ultrassonográfico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Bubalinocultura no Brasil.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>Características reprodutivas da fêmea bubalina.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3</b>	<b>Controle exógeno da ovulação em búfalas.....</b>	<b>16</b>
<b>2.4</b>	<b>Prostaglandinas na reprodução animal.....</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Local do experimento.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Delineamento experimental.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Exames ultrassonográficos .....</b>	<b>20</b>
<b>3.4</b>	<b>Colheita de sangue para dosagem hormonal.....</b>	<b>21</b>
<b>3.5</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>21</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>5.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>25</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>25</b>
<b>8.</b>	<b>APÊNDICE E ANEXOS.....</b>	<b>35</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O rebanho bubalino brasileiro é estimado em 1,37 milhões de animais, e vem apresentando aumento expressivo em seu efetivo nos últimos anos comparado ao rebanho bovino (3,5% versus 1,3%, respectivamente), sendo a região Norte detentora de maior parte deste rebanho, onde 66,3% do efetivo encontra-se, mais especificamente, em dois estados, Pará e Amapá, que, em conjunto, detêm 59,1% do efetivo nacional dessa espécie, estando o Nordeste em terceiro lugar com 9,5% do rebanho (IBGE, 2017).

Esta espécie tem grande potencial como produtora de carne e leite de alto valor biológico, com alto rendimento industrial, principalmente na fabricação de queijos e iogurtes, quando comparados ao o leite bovino, além de se caracterizar por extrema rusticidade e alta capacidade de adaptação, o que permite sua criação em regiões alagadas, muitas vezes inadequadas a bovinocultura (AMARAL; ESCRIVÃO, 2005), podendo sobreviver em diversos ambientes com grandes variações de clima, relevo e vegetação (BERNARDES, 2007). Essas características, atreladas ao bom retorno financeiro, garantem a expansão e o sucesso da criação bubalina em todo o mundo (MACHADO, 2014).

Como ocorre em qualquer exploração econômica de espécies zootécnicas, o crescimento do rebanho bubalino deve estar associado ao controle da produtividade mediante a identificação dos indivíduos que possuem mérito genético e multiplicação destes animais melhoradores, o que somente é possível por meio das biotecnologias da reprodução como inseminação artificial (IA), superovulação (SOV), transferência de embriões (TE) e desestacionalização sazonal, que devem estar presentes para maximizar a produtividade dos rebanhos e consequentemente o retorno financeiro da atividade pecuária (VALE, 1998 e SOUSA, 2016).

A búfala é classificada como poliéstrica estacional de dia curto, o que resulta em concentração dos partos (BARUSELLI, 1994 e ZICARELLI, 1990). Consequentemente há também concentração na produção de leite restringindo-se a apenas três meses do ano, época em que a produção chega a atingir o triplo da quantidade ofertada, quando comparado aos demais trimestres do ano, saturando o mercado consumidor e inviabilizando a cadeia produtiva dos derivados de leite bubalino (BARUSELLI et al., 2003). Os bubalinocultores de leite do Brasil vêm buscando estratégias para desestacionalizar as parições de suas búfalas a

fim de atingir maior regularidade na oferta de matéria prima durante todo ano (MONTERIO, 2015).

Apesar da sua importância econômica e social, a produtividade das búfalas permanece negativamente afetada por características reprodutivas, incluindo a puberdade tardia em novilhas, má expressão de estro, intervalos entre partos longos e sazonalidade reprodutiva (SINGH et al., 2000). Para superar essas limitações, tratamentos hormonais estão sendo usados para controlar o ciclo estral e aperfeiçoar a gestão reprodutiva (PFIEFER et al., 2017).

O estudo da viabilidade de novos protocolos de inseminação artificial para novilhas bubalinas pré-púberes ou púberes em período reprodutivo desfavorável é uma alternativa para tornar a produção de leite homogênea durante todo o ano, fazendo com que a comercialização dos produtos lácteos seja estável, sem oscilações drásticas de preços (FRARES, 2013).

Protocolos comerciais de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos e bubalinos no Brasil utilizam como agentes indutores de ovulação principalmente o Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), este apresenta custo elevado, e o estradiol e seus ésteres, com custo acessível, contudo proibido em alguns países da Europa, por ser considerado como agente carcinogênico completo pelo SCVPH (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health) (SCHMIDT et al., 2013).

O d-cloprostenol é utilizado em protocolos reprodutivos com o objetivo de promover regressão do corpo lúteo funcional (LEONARDI et al., 2012). Contudo este é um análogo sintético das prostaglandinas que desempenha várias funções no controle da reprodução, estando relacionadas com a fisiologia do parto e a ovulação (PFEIFER et al., 2009 e GABRIEL, 2011). Leonardí et al. (2012) usando 500 µg de d-cloprostenol, dose única, obtiveram sucesso na indução da ovulação de novilhas bovinas pré-púberes, descartando o uso de hormônios como progesterona e estrógeno, e conseqüentemente reduzindo o custo de protocolos utilizados para esta finalidade. Pfeifer et al. (2016), trabalhando com fêmeas bovinas, constatou a eficácia do d-cloprostenol como indutor de ovulação em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), em substituição a ésteres de estradiol, em fêmeas bovinas múltiparas.

A indução de ciclicidade em fêmeas bubalinas durante estação reprodutiva desfavorável apresenta maior viabilidade em nulíparas, quando comparado a múltipara em um mesmo rebanho, tendo em vista o objetivo de incrementar a produção leiteira no período de entressafra (CARVALHO, 2016). Neste contexto objetivou-se avaliar a indução de ovulação em novilhas bubalinas da raça Murrah durante estação reprodutiva desfavorável, utilizando diferentes indutores de ovulação.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Bubalinocultura no Brasil

O búfalo foi introduzido no Brasil proveniente dos continentes europeu (Itália), asiático (Índia) e americano (Caribe) há pouco mais de um século (MARQUES, 1999, 2000). Com várias importações no início, de animais da raça Mediterrâneo, principalmente da Itália, que foram a base da população de búfalos do País (MARQUES, 1999, 2000). Sua adaptabilidade ao ecossistema encontrado, segundo Bernardes (2007) fez o rebanho, que não passava de duzentos animais, resultasse em um plantel de 495 mil búfalos em 1980, com crescimento médio anual de 10,8% entre os anos de 1961 e 1980.

O búfalo vem se difundindo mundialmente devido a superioridade que pode apresentar em relação a outros ruminantes domésticos, quanto a rusticidade e adaptação às variadas condições climáticas e de manejo, sendo classificado como um animal de múltiplas aptidões, o que resultou em aumento de 91% no efetivo mundial de bubalinos entre 1961 e 2001, (FAO, 2005). No Brasil, a bubalinocultura se caracteriza principalmente pela produção de carne e leite, sendo também o búfalo utilizado, como animal de trabalho (sela, tração, aração e afins), meio de transporte e atração turística (MARQUES et al., 2013).

A exploração econômica dos bubalinos no Brasil teve início na década de 1980, quando alguns criadores passaram a avaliar e a quantificar as características zootécnicas nesta espécie (ANDRIGHETTO, 2005). O leite produzido foi classificado como excelente para a preparação de produtos e derivados, pois sua composição química apresenta maiores valores de sólidos totais, gordura, proteína, e lactose, com alto valor nutritivo e rendimento (VERRUMA et al., 1994). Laticínios capacitados no Brasil para o processamento deste leite, ainda são poucos, porém existe grande interesse, por parte das indústrias em reter e aumentar a produção do leite de búfala, para fabricação de queijos, tendo em vista suas qualidades que agregam alto valor nutritivo e econômico aos derivados (BERNARDES, 2006).

No segmento de corte, o Brasil dispõe de animais com desempenho bem mais expressivo que as existentes nos países de origem (BERNARDES, 2007). A carne bubalina em comparação à bovina tem coloração vermelha mais forte, sua gordura é totalmente branca, além disso, possui excelentes características nutricionais, com menor teor de colesterol (JORGE, 2005). A carne bubalina pode ser classificada como um *commodity*, porém em nosso país, quando comercializada, é tratada sem forma definida de identificação de suas

próprias características, principalmente relacionadas à qualidade, desestimulando a produção e impossibilitando a competitividade dentro do mercado nacional (SILVA et al., 2014; JORGE, 2005).

As pesquisas com búfalos no Brasil foram iniciadas há aproximadamente 50 anos, fator responsável pelo pouco conhecimento sobre esta espécie, que embora apresente rebanhos consideravelmente menores em comparação ao de bovinos, representa uma fonte importante de renda em determinadas regiões, especialmente no região norte, com destaque para os estados do Pará e Amapá, onde a proporção de bubalinos é consideravelmente maior do que no resto do país (EMBRAPA, 2007; CASTRO, 2015; IBGE 2017).

## **2.2 Características reprodutivas da fêmea bubalina**

Os bubalinos são influenciados positivamente pela diminuição da luminosidade. Sendo classificados como poliéstricos estacionais de dia curto, assim como a ovelha e a cabra, onde a variação na concentração sanguínea de melatonina sinaliza a estação do ano para o sistema reprodutivo, especialmente quando criados distantes da região equatorial (BARUSELLI, 1994; ZICARELLI, 1990; OHASHI et al., 2012; BARUSELLI et al., 2013; CARVALHO et al., 2016).

Esta estacionalidade reprodutiva influencia diretamente as características produtivas, como a produção de leite, já que pode alterar os padrões de manifestação de ciclo estral e distribuição de partos nesta espécie, o que interfere no ciclo da lactação (DI FRANCESCO et al., 2012; BARUSELLI et al., 2013; CARVALHO et al., 2016).

Já em regiões tropicais, onde o fotoperíodo é relativamente constante, como no Nordeste do Brasil, outros fatores como a umidade, temperatura ambiental, disponibilidade e qualidade das forragens também estão relacionadas com esse padrão cíclico de reprodução, e parece influenciar a ciclicidade estral diminuindo as taxas de concepção e a qualidade e competência dos oócitos (PERERA et al., 1987; BRITT, 2008).

A sazonalidade na búfala é comandada pela ação da melatonina, hormônio sintetizado pela glândula pineal, que inibe a produção dos hormônios GnRH, FSH e LH. A melatonina é secretada no período noturno (ausência de luz), estando associada a inúmeras funções fisiológicas nas búfalas (REITER et al., 1993; SKENE; ARENDT, 2006). Sua síntese ocorre a

partir do triptofano, sendo controlada “à distância” via ciclo circadiano localizado no núcleo supraquiasmático e “proximamente” por noraepinefrina em respostas aos sinais do ciclo circadiano (CHATTORAJ et al., 2009).

A glândula pineal, através da síntese de melatonina, é responsável pela tradução do fotoperíodo ambiental em sinalização hormonal endócrina (ZETOUNI, 2012). O anestro nas búfalas está relacionado com a insuficiência de LH pulsátil para suportar o desenvolvimento folicular final e ovulação com liberação de um oócito competente para fertilização e geração de uma prenhez (KHAN et al., 2010).

Em vários países do mundo o período de outono corresponde a estação de monta, resultando na concentração de partos de julho a dezembro, no hemisfério norte, e de janeiro a março, no hemisfério sul (ZICARELLI; VALE, 2002). Em regiões equatoriais a função reprodutiva é influenciada principalmente pela oferta de alimentos, que resulta em concentração do período fértil nas épocas de melhor disponibilidade de forragens (BITTMAN; KARSCH, 1984; ZICARELLI, 1994; ZICARELLI; VALE, 2002). A concentração de partos resultante da estação reprodutiva faz com que a produção de leite seja heterogênea durante o ano, prejudicando a atividade e lucratividade do setor (BARUSELLI; CARVALHO, 2003).

A duração do ciclo estral na búfala varia entre 16 a 33 dias, com maior concentração entre 21 a 24 dias. Já a duração do estro é cerca de cinco a 27 h (média de 20 h), e a ovulação ocorre entre 24 a 48 h após o início do estro ou seis a 21 h após o final do estro (VALE; RIBEIRO, 2005). Em novilhas bubalinas, Porto-Filho et al. (2005), observaram grande variação com relação à duração dos estros (1 a 25 h). A frequência de estros noturnos é mais elevada que em bovinos, especialmente em regiões tropicais úmidas, e os sinais clínicos são menos evidentes (VALE et al., 1984).

A idade à puberdade nas búfalas é bastante contraditória, sendo considerada mais tardia que em raças de *Bos taurus* (VALE; RIBEIRO, 2005). Vale (2000) reportou que a puberdade foi atingida, em novilhas da raça Murrah, com a idade média de 17,6 (14,5 - 20) meses com peso corporal médio de  $391 \pm 33$  (365 - 444) Kg. Já Sousa et al. (1999) estudaram a puberdade em 12 novilhas da raça Murrah criadas no Vale do Ribeira, encontraram que os valores médios para idade ao primeiro estro, foi de  $659 \pm 21,49$  dias (~ 22 meses) com peso corporal de  $372,58 \pm 24,37$  Kg. Novilhas bubalinas mantidas sob as condições de manejo extensivo, sem os devidos cuidados profiláticos sanitários, atingem a puberdade com idade nunca inferior a 30 meses (VALE et al., 1990).



### 2.3 Controle exógeno da ovulação em búfalas

O desempenho da IA em bubalinos é fortemente prejudicado pela baixa eficiência de detecção de estros, esse entrave, resulta em aumento do período de serviço e intervalo entre partos, e conseqüentemente muitos criadores não utilizam essa biotecnologia para o melhoramento genético de seus rebanhos (BARUSELLI et al., 2009).

Desde o final da década de noventa várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de avaliar a eficácia de diferentes protocolos de sincronização da ovulação para IATF em búfalas, com intuito de aumentar a eficiência da IA e facilitar o manejo reprodutivo (BARUSELLI, 1999; BARTOLOMEU, 2003). O protocolo Ovsynch (Dia 0: GnRH; Dia 7: PGF2 $\alpha$ ; e Dia 9: GnRH; IATF 16 horas após a segunda injeção de GnRH) (WILTBANK 1994) foi amplamente utilizado e estudado proporcionando taxas de concepção em torno de 50% (BARUSELLI et al., 2009; BARUSELLI et al., 2016). Entretanto as taxas de prenhez resultantes destes protocolos são reduzidas no período de anestro sazonal, e sofrem forte influência de fatores como escore de condição corporal e ordem de partos, e fêmeas múltíparas respondem melhor que primíparas (CARVALHO et al., 2016).

Com intuito de aumentar a taxa de ovulação e prenhez, estudos utilizando tratamentos com dispositivos intravaginais de progesterona, associados ao uso de eCG, foram desenvolvidos para serem utilizados durante a estação reprodutiva desfavorável em búfalas (BARRUSELLI et al., 2002; BARTOLOMEU 2003; CARVALHO et al., 2007). Com a possibilidade de usar benzoato de estradiol como indutor de ovulação, em substituição ao GnRH, com semelhantes taxas de ovulação e de prenhez (CARVALHO 2012).

Para sincronização da ovulação atualmente são realizadas associações hormonais entre uma fonte de progesterona e um indutor de ovulação no início do protocolo com intuito de induzir nova onda folicular, uma dose luteolítica de prostaglandina geralmente no D7 ou D9, e um indutor de ovulação no final do protocolo, com finalidade de induzir as ovulações no menor intervalo de tempo possível. Um indutor de ovulação ideal é aquele que promove, dentro de um intervalo máximo de 24 horas, todas as ovulações, sendo esta o mais aproximado possível do momento da inseminação (CASTRO, 2015).

Deve-se programar as inseminações, de acordo com o indutor utilizado, já que o mecanismo de ação varia de acordo com o hormônio aplicado (CASTRO, 2015). Os indutores de ovulação mais utilizados no Brasil para sincronização de ovulação e IATF, em bubalinos,

são os análogos de GnRH (ex. busserelina, lecirelina), o estradiol 17 $\beta$  e os ésteres de estradiol (Benzoato, Valerato e Cipionato de estradiol) (CASTRO, 2015).

Os ésteres de estradiol são amplamente utilizados no Brasil, devido ao seu baixo custo (CASTRO, 2015). Contudo apresenta um poder residual em produtos cárneos e lácteos, sendo seu uso proibido em alguns países (COMUNIDADE EUROPEIA, 2008). Já GnRH é o principal indutor de ovulação utilizado nos protocolos aplicados nos EUA, Canadá e nos países da Europa, onde o uso de estrógenos é proibido (CASTRO, 2015).

## **2.4 Prostaglandinas na reprodução animal**

As prostaglandinas têm como precursor o ácido araquidônico e fazem parte de um grupo de compostos denominados eicosanóides, ao contrário de outros agentes humorais, estas não estão localizadas em um único tecido em particular, sendo produzidas em praticamente todos os tecidos animais, exercendo diversas funções, e podem ser transportadas na corrente circulatória para atuar em tecidos-alvos distantes do sítio de produção (HAFEZ et al., 2004; RICCIOTTI; FITZGERALD, 2011).

As prostaglandinas possuem como ação de destaque a indução de contrações ou relaxamento das células musculares lisas em diversos órgãos (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007), sendo que a propriedade terapêutica mais utilizada em medicina veterinária é a capacidade de algumas prostaglandinas da série F provocarem a luteólise (TSAI; WILTBANK, 1997), causando a regressão morfológica e funcional do corpo lúteo (CL) (KOTWICA et al., 2002). Com esta finalidade, na década de 70, vários compostos análogos à Prostaglandina F $2\alpha$  natural foram sintetizados, como o Cloprostenol, e implementados nas rotinas de programas de reprodução animal (COOPER; FURR, 1974).

Nas últimas décadas, a prostaglandina (PGF) tem sido associada à ovulação em diversas espécies (BRIDGES; FORTUNE, 2007; DAVIES et al., 2006; PEIFER et al., 2009, 2014; NEGLIA et al., 2012; LEONARDI et al., 2012). Estudos recentes demonstraram que a PGF está diretamente ligada à ovulação em novilhas e vacas, atuando por um mecanismo independente da luteólise (PFEIFER et al., 2014; LEONARDI et al., 2012). Entretanto, o mecanismo de atuação deste hormônio ainda não foi totalmente esclarecido, tendo diversos

estudos buscado compreender como ocorre à indução da ovulação pela PGF (MURDOCH et al., 1993; RANDEL et al., 1996; NAOR et al., 2007; FORTUNE et al., 2009).

O primeiro mecanismo de ação sugerido foi que a PGF poderia estar envolvida na liberação de GnRH (ZOR et al., 1970). Posteriormente, diversos experimentos relacionaram a administração exógena de PGF ao aumento na liberação de LH em ovelhas (CARLSON et al., 1973), camundongos (RATNER et al., 1974) e vacas pós-parto (RANDEL et al., 1988, 1996). De acordo com Weems et al. (2006), a PGF exerce um efeito direto sobre a hipófise anterior aumentando a capacidade de resposta da hipófise ao GnRH, resultando, assim, na maior liberação de LH (RANDEL et al., 1996).

Contudo, há controvérsias referentes aos efeitos da PGF sobre a secreção de LH, pois embora sua administração cause ovulação em vacas e ovelhas em anestro (CRUZ et al., 1997; DAVIES et al., 2006), a relação com o aumento na liberação de LH é citada apenas em vacas. Logo acredita-se que a PGF pode atuar localmente no ovário induzindo a ovulação (CASTRO, 2015).

O folículo pré ovulatório produz prostaglandinas E2 e F2 $\alpha$ , nas células da granulosa, estando ligadas intimamente com o processo ovulatório (MURDOCH et al. 1993). Assim, pode-se considerar o fato da PGF atuar de duas formas distintas, agindo sobre os receptores de GnRH presentes na hipófise e também de forma direta nas células do folículo pré-ovulatório (CASTRO, 2015).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local do experimento**

As atividades de campo foram desenvolvidas na Agropecuária Tapuio, localizada a 50 km de Natal – RN, município de Taipu. Em clima tropical chuvoso com estação chuvosa no outono, sendo o período de chuva de abril a junho, temperatura média anual de 25,3 °C, umidade relativa média anual de 79% e 2.700 horas de insolação, a uma altitude de 41 metros, latitude 05° 37' 18" e longitude 35° 35' 48" (IDMA, 2005). Durante o experimento o índice pluviométrico foi de 74 mm.

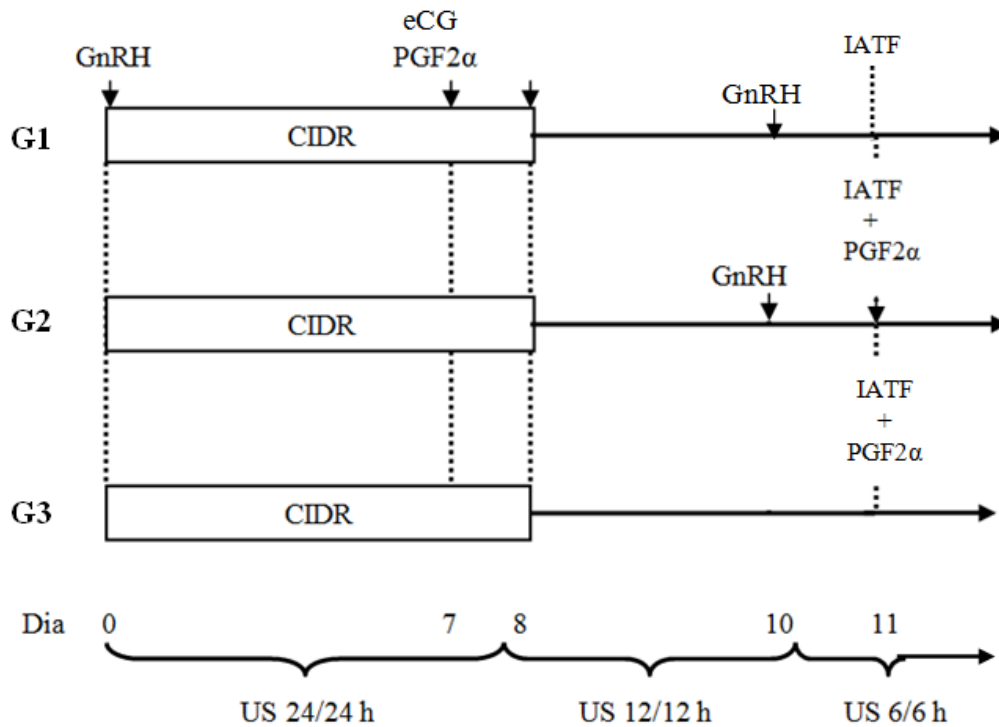
### 3.2 Delineamento experimental

Foram e utilizadas nesta pesquisa após avaliação clínica ginecológica, 48 novilhas bubalinas da raça Murrah (*Bubalus bubalis*), com idade média de  $21 \pm 2,1$  meses e peso médio de  $335 \pm 0,7$  kg, com escore corporal três em escala de um a cinco, conforme Jefferies (1961); entre os meses de janeiro a março de 2017, estação reprodutiva desfavorável para espécie.

Os animais foram mantidos sob as mesmas condições de manejo e ambiente, de forma extensiva em pasto de capim *Panicum maximum* cv. Massai, recebendo suplementação mineral e água ad libitum. Estando todo rebanho vermifugado com endoectocida a base de ivermectina, e vacinado com vacina antirrábica, anti leptospira, e para clostridioses. As fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos (G1, G2 e G3). Onde o G1 foi composto por quatorze animais, o G2 e G3 por dezessete.

Todas as novilhas receberam tratamento hormonal para sincronização de onda folicular e ovulação, onde um dispositivo intravaginal de progesterona (P4), foi inserido na porção cranial da vagina e 0,25 mg de Acetato de Gonadorelina (Gestran, Agener ®) administrado por via intramuscular (IM), para induzir emergência e sincronia de onda folicular (D0), as dezessete horas (17:00 h); 0,150 mg de *d*-Cloprostenol IM (Prolise, Agener ®) e 300 Unidade Internacional (UI) de Gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Novohormon, Zoetis ®), foram administrados no D7 (17:00 h), e no D8 foi procedida a remoção do dispositivo de P4 (D8; 17:00 h); no D10 (17:00 h) foi feita a indução da ovulação com 0,25 mg de Acetato de Gonadorelina (G1). Nos demais grupos as novilhas foram submetidas ao mesmo tratamento hormonal, alterando-se apenas os indutores de ovulação, onde no G2 foi usado (D10; 17:00 h) 0,25 mg de Acetato de Gonadorelina, seguido de 0,75 mg de *d*-Cloprostenol no D11 (9:00 h), e no G3 apenas 0,75 mg de *d*-Cloprostenol no D11 (9:00 h).

Os implantes intravaginais de progesterona utilizados eram do modelo em “T” com 1,9 g de progesterona, antes do experimento, estes foram utilizados por oito dias em búfalas múltíparas, ou seja, utilizou-se implantes de segundo uso. Após uso foi feita higienização com água e detergente desengordurante, seguida de acondicionamento em embalagens revestidas internamente com alumínio, sendo estocados sob refrigeração em geladeira a temperatura entre 2 a 8°C.



**Figura 1:** Desenho experimental do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo e acompanhamento da dinâmica folicular por meio de ultrassonografia, utilizado nas novilhas bubalinas, durante estação reprodutiva desfavorável.

### 3.3 Exames ultrassonográficos

O acompanhamento da dinâmica folicular foi realizado com auxílio do Aparelho de Ultrassom Veterinário PIE Medical, equipado com transdutor linear de 7,5 MHz, pelo mesmo operador para minimizar erros. Os exames por ultrassonografia trans-retal foram realizados em intervalos de 24 horas até o D8, em seguida em intervalos de doze horas até o D10 e posteriormente em intervalos de seis horas até o momento da ovulação nas fêmeas que ovularam, para as que não ovularam até 48 horas após indução da ovulação (GINTHER et al., 1989) (Fig.1).

O momento da ovulação foi estimado pelo intervalo médio entre a observação do maior diâmetro do folículo dominante e seu desaparecimento na imagem ultrassonográfica do exame seguinte, seguido pela formação de um corpo lúteo na mesma posição

(BARTOLOMEU, 2003). A emergência da onda folicular foi determinada quando se identificou o surgimento de um *pool* de folículos entre três a cinco milímetros (mm).

O transdutor foi introduzido no reto, sendo movimentado sobre o aparelho reprodutor e deslocado lateralmente para exame dos ovários. A imagem adequada foi congelada no monitor para mensuração do tamanho do primeiro e segundo maior folículo e registro do número de folículos (BARTOLOMEU, 2003).

### **3.4 Colheita de sangue para dosagem hormonal**

Amostras de sangue foram colhidas por venopunção da veia jugular, em tubos estéreis sem anticoagulante, para avaliação dos níveis hormonais de progesterona, sete dias após a IATF. Foi coletado o soro de cada amostra, e armazenado em microtubos de 2 mL acondicionados sob refrigeração em freezer a vinte graus Celsius negativos ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).

As amostras foram colhidas no dia dezoito (D18) após início do protocolo de IATF, em todos os animais do experimento ( $n=48$ ). As concentrações plasmáticas de progesterona foram determinadas por meio da eletroquimioluminescência em analisador Access 2 da Beckman Coulter no Laboratório do Cenapesq da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado em Recife-PE.

### **3.5 Análise estatística**

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SPSS 16.0. Os dados referentes a variáveis contínuas foram avaliados por Análise de variância – Fatorial ANOVA. Já dados de variáveis descontínuas, como taxa de ovulação, foram analisados pelo teste do Qui-quadrado. A taxa de ovulação sincronizada foi calculada pelo número de novilhas que ovularam em intervalo de 24h sobre o total de ovulações. Os valores foram considerados significativos quando a probabilidade (valor de P) foi menor ou igual a 0,05 ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4. RESULTADOS

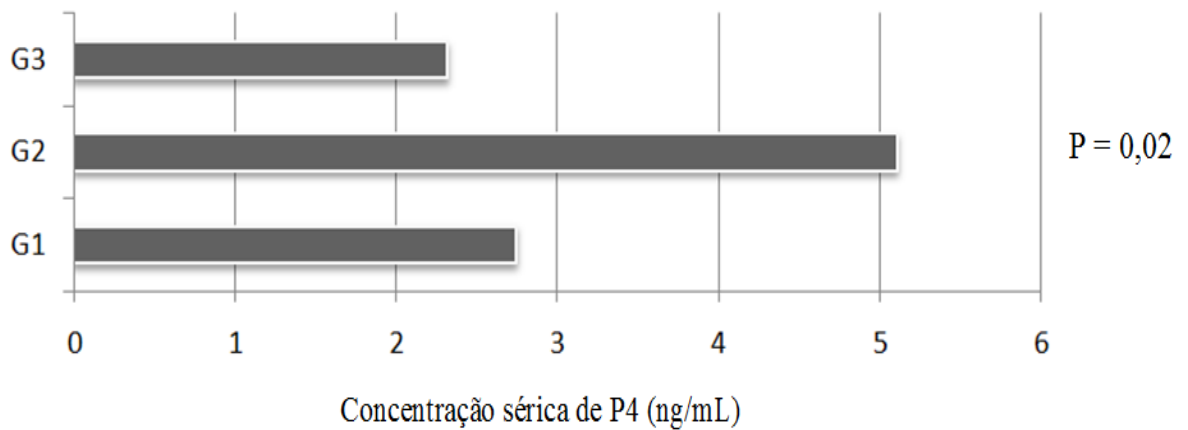
Os grupos G1, G2 e G3, não apresentaram diferenças referentes às respostas ovarianas. A taxa de ovulação não diferiu ( $P > 0,05$ ), onde esta foi de 87,5% (7/8) para os três grupos. O momento da ovulação também não diferiu entre os Grupos ( $P = 0,85$ ), sendo que ocorreu, em média aproximadamente 71 horas após a remoção do implante de progesterona (Tab. 1).

O intervalo de sincronização de onda em dias não diferiu entre os grupos com média de dois dias após o início do tratamento hormonal ( $P = 0,91$ ). Assim como a taxa de crescimento do maior folículo do D3 ao D8 ( $P = 0,09$ ), sendo está em média 1,08 mm/dia (Figura 3), e a taxa de crescimento do folículo dominante do D8 ao D11 ( $P = 0,42$ ), com média de  $1,08 \pm 0,07$  mm/dia (Tab. 1). A concentração sérica de progesterona foi maior para o G2 no D18 ( $P = 0,02$ ) (Figura 2).

**Tabela 1:** Resultados referentes às respostas ovarianas e foliculares de novilhas bubalinas (média  $\pm$  desvio padrão), submetidas a protocolo de IATF a base de progesterona, tratadas com GnRH (G1) e *d*-cloprostenol (G3), ou associação de ambos (G2), como indutor de ovulação em estação reprodutiva desfavorável, (n = 24), Taipu – RN, 2017.

	G1	G2	G3
<b>Intervalo entre o início do tratamento e emergência da onda folicular (dias)</b>	$2,25 \pm 0,1^a$	$2,25 \pm 0,2^a$	$2,12 \pm 0,2^a$
<b>Taxa de crescimento do maior folículo do D3 ao D8 (mm/dia), em intervalo de 24 horas</b>	$0,98 \pm 0,4^a$	$0,84 \pm 0,3^a$	$1,10 \pm 0,4^a$
<b>Taxa de crescimento do maior folículo do D8 ao D10 (mm/dia), em intervalo de 12 horas</b>	$1,08 \pm 0,1^a$	$0,98 \pm 0,1^a$	$1,18 \pm 0,2^a$
<b>Intervalo entre retirada do dispositivo de progesterona e ovulação (horas)</b>	$70 \pm 4,6$	$71,4 \pm 5,1^a$	$71,2 \pm 4,1^a$
<b>Diâmetro médio do folículo ovulatório (mm)</b>	$15,3 \pm 0,1^a$	$15,1 \pm 0,1^a$	$16,5 \pm 0,4^a$
<b>Diâmetro médio do corpo lúteo (mm)</b>	$14,7 \pm 0,1^a$	$14,7 \pm 0,1^a$	$14,6 \pm 0,1^a$

Letras diferentes (a  $\neq$  A), na mesma linha, diferem ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste ANOVA: fator único.



**Figura 2:** Concentração sérica de progesterona (P4) (média  $\pm$  EPM), de novilhas bubalinas, no D18, após início do protocolo de IATF, tratadas com GnRH e *d*-cloprostenol, ou associação de ambos, como indutor de ovulação em estação reprodutiva desfavorável (n=48). Taipu – RN, 2017 ( $P \leq 0,05$ , pelo teste ANOVA: fator único).

## 5. Discussão

Os dados referentes ao uso do *d*-cloprostenol em novilhas durante estação reprodutiva desfavorável, demonstram a possibilidade de utilizar este fármaco como indutor de se ovulação em programas de IATF em fêmeas nulíparas bubalinas em substituição ao GnRH. Cuervo-Arango e Martínez-Bov (2016), trabalhando com éguas, também evidenciaram o potencial das prostaglandinas em induzir ovulação sincronizadas quando administradas intra-folicular, sem alteração nos níveis séricos de estrógeno e hormônio luteinizante, assim como na morfologia e função do corpo lúteo, nove dias após a ovulação.

Pfiefer (2016), utilizando o *d*-Cloprostenol e benzoato de estradiol como agentes indutores de ovulação em fêmeas múltiparas Girolando, constatou fertilidade semelhante entre a ação dos fármacos com taxa de ovulação, de 85,2 e 72,7%, respectivamente, entre os grupos. Em nosso experimento o *d*-Cloprostenol foi capaz de induzir ovulação sincronizada em novilhas bubalinas, com taxa de ovulação idêntica nos três grupos experimentais, 87,5%, com agentes indutores de ovulação distintos.

Para que boas taxas de fertilidade sejam atingidas em programas de IATF, é necessário que as ovulações ocorram de forma sincronizada na maior parte das fêmeas, em um intervalo máximo de 24 horas (CASTRO, 2015). O que foi constatado neste experimento em ambos os



protocolos utilizados, sendo que ocorreu, aproximadamente 71 horas após a remoção do implante de progesterona. Estes resultados concordam com estudos anteriores em outras espécies de ruminantes, em que foi demonstrado que PGF induz a ovulação sincronizada em vacas e novilhas bovinas submetidas a protocolos de sincronização de estro, seguido de IATF (PFEIFER et al., 2014).

Os grupos não apresentaram diferenças referentes às respostas ovarianas. O diâmetro do folículo ovulatório no G1, G2 e G3 é similar ao encontrado por Garcia et al. (2011), que avaliou a dinâmica folicular de novilhas bubalinas de várias raças, assim como o diâmetro médio do corpo lúteo e taxas de crescimentos foliculares.

A concentração sérica de progesterona foi superior no G2, onde houve associação de ambos os indutores de ovulação, possivelmente se espera maiores taxas de concepção para este grupo tendo em vista que conforme Carter et al., (2008) concentrações elevadas de P4 no período pós-concepção imediato estão associadas à maior alongamento do concepto e viabilidade deste.

Forde et al. (2011), observaram que em novilhas bovinas condições de baixa concentração de P4 circulante nos primeiros dias após o estro, prejudicam a habilidade do endométrio em suportar o alongamento do concepto e resulta em baixas taxas de concepção.

O emprego de biotecnologias da reprodução como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), em fêmeas nulíparas é uma alternativa possível de induzir ciclicidade em fêmeas bubalinas durante estação reprodutiva desfavorável e conseqüentemente torna a produção de leite homogênea durante o ano, com base nos resultados de ovulação obtidos neste estudo.

A inserção de novilhas em programas reprodutivos no período de estação reprodutiva desfavorável possibilita distribuição mais uniforme dos partos durante o ano e estas são menos sensíveis ao fotoperíodo em comparação a fêmeas bubalinas múltíparas (CARVALHO, 2016).

Associação do GnRH com o *d*-cloprostenol como agentes indutor de ovulação simultâneos não resultou em maximização da taxa de ovulação. Estudo com amplificação do número de animais são necessários para avaliarmos as taxas de prenhez e concepção utilizando o *d*-Cloprostenol como agente indutor de ovulação em novilhas bubalinas.

## 6. Conclusões

A indução de ovulação em fêmeas bubalinas nulíparas durante estação reprodutiva desfavorável é possível, utilizando diferentes indutores de ovulação, e se evidenciou a capacidade do *d*-Cloprostenol em induzir ovulação nesta espécie, associado ou não ao GnRH, sendo que em associação ao GnRH não houve maximização da taxa de ovulação. Contudo foi observado maiores concentrações séricas de progesterona no diestro inicial quando utilizada a associação de ambos os indutores de ovulação.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, F. R.; ESCRIVÃO, S. C. Aspectos relacionados à búfala leiteira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.29, n.2, p.111- 117, abril/jun. 2005.

ANDRIGHETTO, C. et al.; Efeito da Monensina Sódica sobre a Produção e Composição do Leite, a Produção de Mozzarella e o Escore de Condição Corporal de Búfalas Murrah. **Rev. Bras. Zootec.** v. 34, n. 2, p. 641-649, 2005. Disponível em: < <http://www.dracena.unesp.br> >. Acesso em: 04 de jul. 2017.

BARTOLOMEU, C. C. Estudo da dinâmica folicular durante o tratamento com CIDR-B e Crestar visando, a inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*). **Dissertação**. 2003. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo.

BARUSELLI, P.S. Basic requirements for artificial insemination and embryo transfer in buffaloes. **Buffalo Journal**. Supplement 2, p.53-60, 1994.

BARUSELLI, P. S. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. In: BARNABE, W. H.; TONHATI, H.; BARUSELLI, P. S. (Ed). **Bubalinos: sanidade, reprodução e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. p. 126-142.

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T. Controle do desenvolvimento folicular para emprego de biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.27, n.2, p.94-102, 2003.

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T.; JACOMINI, J. O. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. Belo horizonte. v. 6, p. 104-110, 2009.

BARUSELLI, P. S.; SOARES, J. G.; GIMENES, L. U.; MONTEIRO, B. M.; OLAZARRI, M. J.; CARVALHO, N. A. T. Control of buffalo follicular dynamics for artificial insemination, superovulation and in vitro embryo production. **Buffalo Bulletin**, v.32, p.160-176, 2013.

BERNARDES, O.; Os Búfalos no Brasil. In: II SIMPÓSIO DE BÚFALO DE LAS AMÉRICAS E, II SIMPÓSIO EUROPA-AMERICA, 2006, Medellín, Proceedings., Medellín/Colombia; v.3, p.18-23, CD ROM, 2006. Disponível em:<<http://www.bufalos.org.ar/archivos/SimposioDeBufalos2006.pdf>>. Acesso em: 10 de out. 2017.

BERNARDES, O.: Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. 2007 *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.293-298, jul./set. 2007. Disponível em:<[www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br)> Acesso em: 15 ago. 2017.

BITTMAN E. L.; KARSCH F. J. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. **Biol Reprod**. v.30, p.583-593, 1984.

BRIDGES, P. J.; FORTUNE, J. E. Regulation, action and transport of prostaglandins during the periovulatory period in cattle. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v. 263, p. 1-9, 2007.

BRITT, J. H. Oocyte development in cattle: physiological and genetic aspects. *Revista Brasileira de Zootecnia* v. 37, n. 5, p.110, 2008.

CASTRO, N. A. Prostaglandina F2 $\alpha$  como indutor de ovulação em bovinos e bubalinos criados no bioma Amazônia. 2015. **Dissertação**. Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho-RO.

CARLSON, J. C.; BARCIKOWSKI, B.; MCCracken, J. A. PGF2 $\alpha$  and the release of LH in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 34, p. 357-361, 1973.

CARVALHO, N. A. T.; NAGASAKU, E. M.; VANNUCCI, F. S.; TOLEDO, L. M.; BARUSELLI, P. S. Ovulation and conception rate according to intravaginal progesterone device and hCG or GnRH to induce ovulation in buffalo during the off breeding season. **Italian Journal of Animal Science**. v. 6, n. 2, p. 646-648, 2007.

CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; SOUZA, D. C.; MAIO, J. R. G.; SALES, J. N. S.; MARTINS, B. J.; MACARI, R. C.; BARUSELLI, P. S. Ovulation synchronization with EB or GnRH in buffalo TAI during the non breeding season. **Proceedings of the XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**. Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. v.9, p. 523-523, 2012.

CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; BARUSELLI, P. S. Strategies to overcome seasonal anestrus in water buffalo. **Theriogenology**, v.86, p.200-206, 2016.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifer. **Reproduction, Fertility and Development**. v. 20, p. 367-365, 2008.

CHATTORAJ, A.; LIU, T.; ZHANG, L. S.; HUANG, Z.; BORJIGIN, J. Melatonin formation in mammals: In vivo perspective. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**. v. 10, p. 237-243, 2009.

CUERVO-ARANGO, J.; MARTÍNEZ-BOVÍ, R. Follicle Diameter and Systemic Hormone Interrelationships during Induction of Follicle Collapse with Intrafollicular Prostaglandin E2 and F2a in Mares. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, p.322–329, 2016.

EUROPEAN COMMUNITY 2008/97/EC, C. D. **Official Journal European Community**.Bruxelas, L318/9, p. 8-36, 2008.

COOPER, M. J.; FURR, B. J. Control of oestrus cycle of heifers with synthetic prostaglandin analogue. **Veterinary Record**. v. 94, p. 61, 1974.

CRUZ, L. C.;VALLE, E. R.; KESLER, D. J. Effect of prostaglandin F2 alpha-and gonadotropin releasing hormone-induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows. **Animal reproduction science**. v. 49, p.135-142, 1997.

DAVIES, K. L.; BARTLEWSKI, P. M.; EPP, T.; DUGGAVATHI, R.; BARRETT, D. M.; BAGU, E. T.; COOK, S. J.; RAWLINGS, N. C. Does injection of prostaglandin F(2alpha) (PGF2alpha) cause ovulation in anestrous Western White Face ewes? **Theriogenology**. v. 66, 1195 p. 251-259, 2006.

KHAN F. A. G. K.; Summer anoestrus inbuffalo-a review. **Reprod Domest Anim**. v. 45, p. 94-483, 2010.

DI FRANCESCO, S.; NOVOA, M. V. S.; VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; BOCCIA, L.; CAMPANILE, G.; ZICARELLI, L.; GASPARRINI, B. Ovum pick-up and in vitro embryo production (OPU-IVEP) in Mediterranean Italian buffalo performed in different seasons. **Theriogenology**, v.77, p.148-154, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA CENTRO DE PESQUISA AGROFLORESTAL DE RONDÔNIA MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – EMBRAPA. 2007. Documento 123. Eficiência reprodutiva de Búfalos. Porto Velho, RO.

FAO. FAOSTAT. Data Base 2004. Disponível em <http://faostat.fao.org/faostat/collections?Version=ext&hasbulk=0>. Acesso em 14/08/20016.

FERNANDES, A. C. F.; FIGUEIREDO, A. C. S. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.31, n.3, p.406-414, jul./set. 2007. Acessado em 10 de fevereiro de 2014. Disponível em [www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br).

FORDE, N.; CARTER, F.; SPENCER, T. E. BAZER, F. W.; SANDRA, O.; MANSOURIATTIA, N.; OKUMU, L. A.; MCGETTINGAN, P. A.; METHA, J. P.; MCBRIDE, R.; O`GAORA, P.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Conceptus-induced changes in the endometrial transcriptome: how soon does the cow know she is pregnant? **Biology of Reproduction**. v. 85, p.144-156, 2011.

FORTUNE, J. E.; WILLIS, E. L.; BRIDGES, P. J.; YANG, C. S. The periovulatory period in cattle: progesterone, prostaglandins, oxytocin and ADAMTS proteases. **Anim. Reprod.** v. 6, p. 60-61, 2009.

FRARES, L.F.; WEISS, R. R.; KOZICKI, L. E.; SANTANGELO, R. P.; ABREU, R. A.; SANTOS, I. W.; JUNIOR, J. A. D.; BREDA, J. C. Estrus Synchronization and Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) in Dairy Buffaloes during Seasonal Anestrus. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.56, p. 575-580, 2013.

GARCIA, A. R. Características foliculares de novilhas bubalinas das raças Murrah, Mediterrâneo e mestiças submetidas a controle exógeno da ovulação. **In: XXV Reunião ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES (SBTE) 2011, CEARÁ. Anais de Congresso: SBTE, 2011. v. 25, p 373.**

GABRIEL, H. G.; WELLENHORST, S.; DIETRICH E.; HOLTZ, W. The effect of prostaglandin F(2 $\alpha$ ) administration at the time of insemination on the pregnancy rate of dairy cows. **Anim Reprod. Sci.** v. 123, p. 1-4, 2011.

GINTHER, O .J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, p. 223-230, 1989.

HAFEZ E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ªed. São Paulo: Ed. Manole, 2004. p.513.

INSTITUTO DE DEFESA DO MEIO AMBIENTE EM NATAL- IDMA. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Taipu, estado do Rio Grande do Norte / Organizado por João de Castro Mascarenhas, Breno Augusto Beltrão, Luiz Carlos de Souza Junior, Saulo de Tarso Monteiro Pires, Dunaldson Eliezer Guedes Alcoforado da Rocha, Valdecílio Galvão Duarte de Carvalho. Recife: CPRM/PRODEEM, p.11, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção da Pecuária Municipal. v. 43, Rio de Janeiro, 2015, p. 1-47.

JEFFERIES, B. C. Body condition scoring and its use in management. **Tasmanian Journal Agricultural**, v. 32, p. 19-21, 1961.

JORGE, A.M., et al.; Correlações entre o California Mastitis Test e a Contagem de células somáticas do leite de búfalas Murrah. **Rev. Bras. Zootec.** v.34, n.6, p. 2039-2045, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php>>. Acesso em: 24 de Setembro de 2017.

KOTWICA, J.; BOGACKI, M.; REKAWIECKI, R. Neural regulation of the bovine corpus luteum. **Domestic Animals Endocrinology**. v. 5341, p.1-10, 2002

LEONARDI, C. E. P.; PFEIFER, L. F. M.; RUBIN, M. I. B.; SINGH, J.; MAPLETOFT, R. J.; PESSOA, G. A.; BAINY, A. M.; SILVA, C. A. M. Prostaglandin F2 $\alpha$  promotes ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**. v. 78, p. 1578-1582, 2012.

MACHADO, A. L. Desempenho produtivo de búfalas (*bubalus bubalis*) da raça Murrah. Dissertação. 2014. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas – BA.

MARQUES, J. R. F. Búfalos: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa - SCT/Embrapa – CPATU. Coleção 500 Perguntas 500 respostas. Embrapa-SCT. 2000. p.176.

MARQUES, J. R. F.; CAMARGO, R. N. C.; MARQUES, L. C.; RODRIGUES A. E. A bubalinocultura no Brasil: criação, melhoramento e perspectivas. 2013. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/5932474/a-bubalinocultura-no-brasil>. Acesso em : 16/06/2016.

MARQUES, J. R. F.; SOUZA, H. E. M. Programa de melhoramento genético da Embrapa Amazônia Oriental. Belém: EAO, 1999. 49p.

MCNEIL, R. E.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; MORRIS, D. G. Associations between Milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**. v.65, p.1435-1441, 2006.

MONTEIRO, B. M. Eficiência reprodutiva de búfalas leiteiras submetidas a protocolos de IATF à base de P4/E2 e eCG durante as estações reprodutivas favorável e desfavorável. 2015. **Tese** (Doutorado em Ciência Veterinária). Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

MURDOCH, W. J.; PETERSON, T. A.; VAN KIRK, E. A.; VINCENT, D. L.; INSKEEP, E. K. Interactive roles of progesterone, prostaglandins, and collagenase in the ovulatory mechanism of the ewe. **Biology Reproduction** v. 35, p. 1187–1194, 1993.

NAOR, Z.; JABBOUR, H. N.; NAIDICH, M.; PAWSON, A. J.; MORGAN, K.; BATTERSBY, S.; MILLAR, M. R.; BROWN, P.; MILLAR, R. P. Reciprocal cross talk between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin receptors regulates GnRH receptor expression and differential gonadotropin secretion. **Molecular Endocrinology**. v. 21, p. 524–537, 2007.

NEGLIA, G.; VECCHIO, D.; RUSSO, M.; DIPALO, R.; PACELLI, C.; COMIN, A.; GASPARRINI, B.; CAMPANILE, G. Efficacy of PGF(2alpha) on pre-ovulatory follicle and corpus luteum blood flow. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 47, p. 26-31, 2012.

OHASHI, O. M.; MIRANDA, M. S.; SANTOS, S. D.; CORDEIRO, M. S.; COSTA, N. N.; SILVA, T. V. Distúrbios reprodutivos do rebanho bubalino nacional. **Ciência Animal**, v.22, p.171-187, 2012.



PERERA, B.M.A.O.; A review of experiences with oestrous synchronisation in buffaloes in Sri Lanka. **Buffalo Journal**, n.1, p.105–114, 1987.

PFEIFER L. F. M.; CASTRO, N. A. Use of a Five-day progesterone-based timed artificial insemination protocol for dairy water buffaloes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 6, p. 3927-3932, 2017.

PFEIFER L.F.M.; SIQUEIRA L.G.; ARASHIRO, E.K.N.; CASTRO N.A.; VIANA J.H.M. Prostaglandin F2 $\alpha$  or estradiol benzoate to induce ovulation in timed artificially inseminated dairy. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.51, n.6, p.738-744, 2016.

PFEIFER, L. F. M.; LEONARDI, C. E. P.; CASTRO, N. A.; VIANA, J. H. M., SIQUEIRA, 806 L. G. B.; CASTILHO, E. M.; SINGH, J.; KRUSSER, R. H., RUBIN, M. I. B. The use of PGF 807 2 $\alpha$  as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. **Theriogenology**. v. 81, p. 808 689-695, 2014.

PFEIFER L. F. M.; SIQUEIRA L. G.; MAPLETOFT R. J.; KASTELIC J. P.; ADAMS G. P.; COLAZO M. G.; SINGH J.; Effect of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**. v.72, p.1054 – 1064, 2009.

PORTO-FILHO, R. M.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. Uso da radiotelemetria para detecção do estro em fêmeas búfalas: luteólise durante duas fases do ciclo estral, ultrassonografia da ovulação e perfís hormonais. **Bol. Med. Vet.** v.1, p.13-32, 2005.

RANDEL, R. D.; DEL VECCHIO, R. P.; NEUENDORFF, D. A.; PETERSON, L. A. Effect of alfaprostol on postpartum reproductive efficiency in Brahman and heifers. **Theriogenology**. v. 29, p. 657- 670, 1988.

RANDEL, R. D.; LAMMONGLIA, M. A.; LEWIS, A. W.; NEUENDORFF, D. A.; GUTHRIE, M. J. Exogenous PGF(2) $\alpha$  enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. **Theriogenology**. v.45, p. 643–54, 1996.

RATNER, A.; WILSON, M. C.; STRIVASTAVA, L.; PEAKE, G .R. Stimulatory effect of PGE, on rat anterior pituitary cyclic AMP and luteinizing hormone release. **Prostaglandins**. v. 5, p. 165-171, 1974.

REITER, R. J.; PEOGGELER, B.; TAN, D. X.; CHEN, L. D.; MANCHESTER, L. C.; GUERRERO, J. M. Antioxidant capacity of melatonin, a novel action not requiring a receptor. **Neuroendocrinology Letters**. v. 15, p.103-116, 1993.

RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and Inflammation. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. v. 31, n. 5, p. 986-1000, 2011.

SCHMIDT, C.; GAJEWSKI, Z.; WEHREND, A. Strategische hormonelle Fruchtbarkeitsprogramme bei Kühen. **Tierärztliche Praxis Großtiere**,v. 2, n.1, p. 95-104, 2013.

SINGH, J.; NANDA, A. S.; ADAMS, G. P. The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.593-604, 2000.

SKENE, D. J.; ARENDT, J. Human circadian rhythms: Physiological and therapeutic relevance of light and melatonin. **Annals of Clinical Biochemistry**. v. 43, n. 5, p. 344-353, 2006.

SILVA, S. L.; JUNIOR. G. N. Produção de derivados bubalinos e mercado consumidor. **Tekhne e Logos**, Botucatu, SP, v.5, n.1, Abril - Julho, 2014.

SOUSA, D. C. Efeito da administração de progesterona após a IATF no desenvolvimento do conceito e na taxa de prenhez em búfalas lactantes. **Dissertação**. São Paulo, 2016.

SOUSA, A. O.; BARUSELLI, P.S.; OHASHI, O. M.; OLIVEIRA, C. A.; SOLANO, F. R.; BLUME, H.; SANTOS, H. P. Idade a puberdade em fêmeas bubalinas da raça Murrah criadas no Vale do Ribeira. **Rev Bras Reprod Anim**. v.23, p.173-175, 1999.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; BAZER, F. W. Progesterone and placental hormones actions on the uterus: insights from domestic animals. **Biology of Reproductions**. v. 135, p. 165-179, 2008.

TSAI, S.; WILTBANK, M. C. ProstaglandinF2  $\alpha$  induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of Reproduction**. v.57, p.1016-1022, 1997.

VALE W. G. Enhancing the puberty in buffalo heifers. **In: International Congress on Animal Reproduction**. 14th , Stockholm. Stockholm: ICAR, 2000. v.1, p.271, 2000.

VALE, W. G. Novos avanços na reprodução de bubalinos. **In: 1ª Congresso Nordestino de Produção Animal**. Anais p. 149-164. 1998.

VALE W.G.; OHASHI, O. M.; SOUSA, J. S.; RIBEIRO, H. F. L. Studies on the reproduction of water buffalo in the Amazon basin. *Livestock in Latin America*. **Vienna: International Atomic Energy Agency**. p.201-210, 1990.

VALE, W. G.; RIBEIRO, H. F. L. Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** Belo Horizonte, v.29, n.2, p.63-73, abril/jun. 2005.

VALE, W. G.; WEITZE, K. F.; GRUNERT, E. Estrous behaviour and ovarian function in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) under Amazon conditions. **In: International Congress on Animal Reproduction and AI**. ano 10, 1984. Urbana, IL. Proceedings ... Urbana, IL: ICAR, 1984. v.2, p.154-156.

VERRUMA, M.R.; SALGADO, J.M.; Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Sci. agric**. Piracicaba, Braz., Abr 1994, vol.51, no.1, p.131-137, Abr. 1994. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf>>. Acesso em: 27 de Setembro de 2017.

WEEMS, C. W.; WEEMS, Y. S.; RANDEL, R. D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. **The Veterinary Journal**. v. 171, p. 206-228, 2006.



ATIVIDADES	ANO 2017											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Disciplinas do programas				X								
Levantamento Bibliográfico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Seleção e avaliação das novilhas	X	X										
Experimento no campo		X	X									
Coleta de Sangue		X	X	X								
Dosagens hormonais em Laboratório					X	X	X					
Análise estatística							X	X	X	X		
Elaboração da Dissertação							X	X	X	X	X	X

ATIVIDADES	ANO 2018											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Levantamento Bibliográfico	X	X										
Elaboração da Dissertação	X	X										
Defesa da Dissertação		X										

#### ANEXO A - Licença CEUA.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de ética no uso dos animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob número da licença: 079/2016 – Processo: 23082.012216/2016.