



**Universidade Federal do Pará
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental
Universidade Federal Rural da Amazônia**

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Kim de Borborema Nunes

**CI-synch: protocolo alternativo para inseminação artificial em
tempo fixo em búfalas, criadas em sistema extensivo na
Amazônia**

**Belém
2010**

Kim de Borborema Nunes

CI-synch: protocolo alternativo para inseminação artificial em tempo fixo em búfalas, criadas em sistema extensivo na Amazônia

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Haroldo Francisco Lobato Ribeiro

**Belém
2010**

Kim de Borborema Nunes

CI-synch: protocolo alternativo para inseminação artificial em tempo fixo em búfalas, criadas em sistema extensivo na Amazônia

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal.

Data da aprovação. Belém-PA: 20/05/2010

Banca Examinadora

Prof. Dr. Haroldo Francisco Lobato Ribeiro
Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. José Domingos Guimarães
Universidade Federal de Viçosa

Prof^a. Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Dedico este trabalho de pesquisa a Deus por mais uma vitória. A meus pais, Joaquim Nunes da Silva Neto e Lucia Emília de Borborema Nunes que em vida me ensinou o gosto pelos estudos e pela leitura, Ao meu irmão Gilberto Pinheiro Nunes da Silva Neto pelos momentos de carinho, alegria, amor e incentivo. A minha noiva Danielle Alves Guerra, por todo o amor e por ter me dado a minha jóia mais preciosa minha filha Lucinha.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que desviou o meu caminho seguindo os passos de meu pai e me tornar veterinário.

Aos meus pais (Joaquim Nunes da Silva Neto e Lucia Emília de Borborema Nunes) e irmão (Gilberto Pinheiro da Silva Neto) que me apoiaram em dois anos de estudos e mesmo com dificuldades estiveram sempre presentes, apesar da distância.

Ao meu orientador Prof. Dr. Haroldo Francisco Lobato Ribeiro, que nestes seis anos de convivência aceitou-me como orientador, filho e amigo.

A minha segunda família, o Setor de Reprodução Animal - SRA, a qual foi e sempre será minha família, quero agradecer e oferecer o meu sincero, **MUITO OBRIGADO** em especial aos amigos: Bruno Pinto, Henry Ayalla, Elizabeth Barbosa, Darcio Nunes, Rafaela Nunes, André Reale, Cristiane Barbas e Onel Solano pela paciência e pela ajuda na parte prática do presente projeto.

Ao **AMIGO** e Prof. Msc. Sebastião Rolim Filho que contribuiu realizando a parte estatística deste projeto com paciência e dedicação.

A todos os proprietários que cederam as fazendas e incentivaram a realização deste projeto, incluindo, aos excelentíssimos criadores Paulo Costa e Zequinha Mourão, eternos colaboradores em nossas linhas de pesquisa.

Ao meu tio Rodolfo Eugênio Fonseca Nunes, obrigada pelo incentivo e carinho.

Aos amigos e que conviveram com tamanha paciência, carinho, respeito e compreensão em todos esses anos.

Por fim, a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste projeto.

Muito obrigado!

RESUMO

Apesar dos avanços tecnológicos alcançados no manejo de criação de búfalos e de técnicas de melhoramento genético, pouco se utilizam na prática para búfalos criados de forma extensiva. O desenvolvimento de protocolos de sincronização, que diminuam o estresse de contenção e reduzem os custos, contribuirá para o incremento da utilização da IATF nos rebanhos bubalinos. O experimento objetivou avaliar um método de sincronização e IATF econômico e prático compatível ao tipo de criação extensiva. O experimento foi realizado em três fazendas distintas, duas em uma região de várzea, no Estado do Amapá (Local 1 e 2) conduzido na estação reprodutiva favorável. O terceiro no estado do Pará em pastagem cultivada de terra firme. Foram utilizadas 208 búfalas lactantes mestiças mediterrâneo/murrah com idades variadas de 2,5 a 10 anos com histórico de período pós parto ≥ 60 dias. As matrizes que portavam um corpo lúteo foi aplicado 2.0 ml Intra-Muscular de prostaglandina (PGF2 α) (150 μ g/D-cloprostenol) no Dia 0 = D0. Setenta duas horas depois (Dia 3 = D3), foram realizados exame ginecológico para verificar a presença de muco e contratilidade uterina, e posterior inseminação e aplicação de 1.0 ml (100 μ g) IM de GnRH, com sêmen, de diferentes reprodutores. O diagnóstico de prenhez foi realizado entre 45 a 90 dias, através da palpação retal. O CL-Synch proporcionou uma taxa de prenhez média de 42,79%. Houve efeito significativo das variáveis: presença de contratilidade uterina ($\chi^2= 10.9891$; P= 0.0009), muco ($\chi^2= 10.9891$; P= 0.0009) e a condição corporal, ($\chi^2= 20.2247$; P= 0.0005). A presença do tônus uterino e do muco uterino mostraram-se como excelentes sinais indicativos de uma resposta de crescimento e diferenciação folicular e ovulação à estimulação hormonal. A relação reprodutor e taxa de prenhez não foi estatisticamente significativo (P=0,1684), sugerindo a uniformidade na qualidade do sêmen congelado proveniente da mesma central. Concluí-se que o CL-synch é promissor e suas vantagens se concentram no manejo de contenção das fêmeas e o baixo custo, pois possibilita a contenção somente duas vezes, quando comparado aos demais protocolos que necessitam de contenção de quatro vezes ou mais, diminuindo consideravelmente o estresse.

Palavras-chave: CL-synch, bubalinos, inseminação artificial em tempo fixo, extensivo.

ABSTRACT

Despite technological advances in the management of buffalo ranching and breeding techniques, there is little use in practice for buffaloes in extensively breed. The development of synchronization protocols, which reduce the stress of restraint and reduce costs, contribute to increasing the use of TAI in the buffalo herds. The experiment aimed to evaluate a method of synchronization and TAI compatible economic and practical with extensively breed. The experiment was conducted at three different farms in two lowland region in the state of Amapá (Experiment 1 and 2) conducted in the favorable reproductive season. The third in the state of Pará in artificial pasture land held in the unfavorable season. We used 208 lactating crossbred buffaloes Mediterranean / Murrah ages varied from 2.5 to 10 years with a history of postpartum period ≥ 60 days. Mothers who bore a corpus luteum was applied 2.0 ml intramuscular prostaglandin (PGF 2α) (150 μ g/D-cloprostenol) on Day 0 = D0. Seventy two hours later (Day 3 = D3), were performed gynecological exam to confirm the presence of mucus and uterine contractions, and therefore, were inseminated immediately received 1.0 ml (100 μ g) of GnRH IM, with semen from different bulls. The diagnosis of pregnancy was performed between 45-90 days, through rectal palpation. CL-Synch provided an average pregnancy rate of 42.79%. Significant effect of variables: the presence of uterine contractility ($\chi^2 = 10.9891$, P = 0.0009), mucus ($\chi^2 = 10.9891$, P = 0.0009) and body condition ($\chi^2 = 20.2247$, P = 0.0005). The presence of mucus and uterine tone as shown excellent signs of a growth response and follicular differentiation and ovulation to hormonal stimulation. The relationship between bull and pregnancy rate was not statistically significant (P = 0.1684), suggesting uniformity in the quality of frozen semen from the same plant. We conclude that CL-synch is promising and its benefits are concentrated in management and cost containment, as it enables the restraint only twice, when compared to other protocols that need to contain four or more times, significantly lowering stress.

Key-words: Cl-synch, buffalos, fixed timed insemination, extensively.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Página

Figura 01. Local dos Experimentos.	28
Figura 02. Animal apresentando muco, sinal característico do estro, que demonstra a resposta positiva ao protocolo.	31
Figura 03. Útero com textura característica da fase estrogênica.	31
Figura 04. Esquematização do protocolo CI-synch utilizado em 208 búfalas mestiças lactantes criadas em condições extensivas. PGF2 α Preloban® D - (+) Cloprostenol GnRH=Conceptal®, laboratório Intervet.	32

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas, submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com a localidade da fazenda.	33
Tabela 2. Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas, submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com a presença de contratilidade uterina.	37
Tabela 3. Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas, submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com a presença de muco uterino.	39
Tabela 4. Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com o escore de condição corporal.	41
Tabela 5. Taxa de prenhez de acordo com o sêmen utilizado.	43
Tabela 6. Relação dos custos do protocolo CL-synch, incluindo custos medicamentosos e de dose de sêmen.	45

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. COMPORTAMENTO REPRODUTIVO	16
3.2. PARTICULARIDADES DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O CICLO ESTRAL EM BUBALINOS	17
3.3. INDUÇÃO DO CIO, SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E TAXA DE PRENHEZ NA IATF.	18
3.3.1. Ovsynch e suas modificações.	20
3.3.2. Cl- Synch.	23
3.4. ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL	24
3.5. PRESENÇA DE MUCO E CONTRATILIDADE UTERINA E TAXA DE PRENHEZ NA IATF	25
3.6. SÊMEN NA IATF	26
3.7. CUSTOS	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO	28
4.2. MANEJO SANITÁRIO E REPRODUTIVO DOS ANIMAIS	29
4.2.1 Sincronização e Inseminação Artificial (CL-synch)	30

5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6.1.	TRATAMENTOS E TAXA DE PRENHEZ	33
6.2.	PRESENÇA DE MUCO E CONTRATILIDADE UTERINA	37
6.2.1.	Presença de muco e taxa de prenhez	38
6.2.2.	Escore de condição corporal e taxa de prenhez	40
6.2.3.	Relação reprodutor e taxa de prenhez	43
6.3.	CUSTOS	44
7.	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da FAO (2010), o Brasil possui um rebanho bubalino de 1.131,986 milhões de cabeças (CRUZ, 2010).

A espécie é originária da Índia, numa região localizada entre os paralelos 2° Sul da linha equatorial (tropical) e 31° Norte (temperada), o que sugere que os búfalos se adaptam bem a climas quentes e úmidos, apresentando uma pele e mecanismo de defesa adaptados a agressão ambiental características das zonas equatoriais da Amazônia, de tal modo que as búfalas são mais sensíveis a baixa umidade do que a alta temperatura. (ZICARELLI, 2001).

Na Amazônia, a criação de búfalos é feita de forma semi-extensiva a extensiva, em ecossistemas de pastagens nativas e cultivadas, onde são criadas as raças Murrah, Mediterrâneo com maior expressividade e, em menor número, as raças Carabao, tipo Baio e Jafarabadi (LODOVINO, 1996).

Os animais permanecem o tempo todo na várzea, alimentados de canarana verdadeira ou de pico (*Echinochloa polystachia*), perimembeca (*Paspalum repens*), capim rabo-de-rato-grande (*Hymenachne amplexicaulis*), uamã (*Luziola spruceana*), arroz (*Oriza spp.*), mori (*Paspalum fasciculatum*), colônia ou mojuí (*Brachiaria mutica*), dentre outras gramíneas de terras inundáveis de alto valor nutritivo. Na época das cheias os animais podem se alimentar ainda de folhas de aningas (*Montrichardia sp.*) e mururé (*Brosimum sp.*) entre outras, as quais completam sua alimentação, sendo de valor nutritivo inferior (BARBOSA, 2005).

Entretanto, estudos têm apontado que a situação que se encontra a maioria dos meios criatórios de nossa região, não traduz o potencial que a espécie pode render na economia regional. Estes trabalhos têm revelado uma baixa taxa de desfrute, alta incidência de doenças da esfera reprodutiva, baixa produção de leite e de bezerros nascidos, traduzindo-se em índices de fertilidade desfavoráveis, quando comparado a outras regiões do Brasil (RIBEIRO, 2008).

As condições ecológicas e geográficas das áreas que o búfalo tem sido submetido a produzir, sofre um período de enchentes, do rio Amazonas e seus afluentes, determinando desta forma uma época de reprodução bastante limitada, variando de 3 a 5 meses, entre os meses de setembro a janeiro, período que corresponde a baixa dos rios.

Essa estação é a de fácil manejo e abundante disponibilidade de pastos, obrigatoriamente constituindo nesta região, o período ideal para a reprodução, entretanto os meses restantes um fator altamente limitante para esta prática, estando as fêmeas que não foram enxertadas, sujeitas de forma ociosa a espera da próxima época favorável a reprodução que conseqüentemente coincidirá com a próxima baixa dos rios. Assim sendo, os menores percentuais médio de fertilidade estão situados nos meses de enchentes, entre janeiro e junho (RIBEIRO et al., 1999).

Os rebanhos bubalinos criados de forma extensiva em áreas de várzea da região amazônica são estimados em mais de 1.300.000 cabeças os quais representam o maior contingente de animais criados desta forma. Entretanto, nem 0,001% estas propriedades praticam manejo diferenciado ou possuem infraestrutura mínima adequada para adotá-la a inseminação artificial convencional. Portanto é preciso que se busque um protocolo de inseminação artificial que se adapte ao sistema de produção pelo qual os bubalinos são submetidos a produzir e desta forma forçar as melhorias no sentido de implementar um avanço no melhoramento genético que a médio e a longo prazo transforme a criação extrativista para um sistema de produção com qualidade (RIBEIRO, 2008).

Apesar dos avanços tecnológicos no manejo de criação de búfalos e de técnicas de melhoramento genético, em que se pode tomar como referência a inseminação artificial, ainda nos deparamos com baixo desempenho reprodutivo, relacionado a problemas intrínsecos dos búfalos, em menor proporção, e a fatores externos como estresse térmico, nutricionais e manejos inadequados (RIBEIRO, 2002).

É notório, portanto, que a inseminação artificial em bubalinos criados de forma extensiva tem sido pouco estudada e empregada por criadores, devido a conscientização de aceitar mudanças, tipo de criação, infra-estrutura inexistente ou inadequadas, dificuldades no manejo relacionado à técnica, identificação do estro e do momento apropriado para realização da I.A. (VALE et al., 1990; RIBEIRO, 2002).

O primeiro trabalho no uso da IATF em bubalinos criadas em áreas de várzea na Amazônia foi na década de 90 (SOUZA et al., 1999). O fator limitante foi o estado corporal, os animais com baixo escore corporal, não apresentaram resultado satisfatório. Repetindo-se os experimentos em 2001, utilizaram-se 60 búfalas, criadas exclusivamente em áreas de várzea, obtiveram-se uma taxa de prenhez de 37,29%. Neste experimento os fatores limitantes foram novamente a condição corporal e o número de parto dos animais (COROA, 2001).

Diante disso, a utilização de Inseminação artificial em tempo fixo, que não necessitem de identificação de cios, é o instrumento mais indicado, que pode contribuir para o incremento da utilização da I.A nos rebanhos bubalinos, principalmente devido à facilidade de execução e, nesse contexto, surge o CL-synch (PICANÇO, 2006), uma ferramenta alternativa para rebanhos criados de forma extensiva, pois diminuem o manejo das contêncões (RIBEIRO, 2008). De acordo com o ultimo autor, as vantagens do esquema, se concentram na diminuição no número de contêncões, diminuindo consideravelmente o período de manejo das fêmeas, diminuição do estresse e possibilidades de realização da técnica principalmente em criações de bubalinos de forma ultra-extensiva com infraestrutura mínima.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver e adaptar um esquema de IATF para bubalinos criados extensivamente.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficiência reprodutiva do protocolo CL-synch na taxa de prenhez de búfalas criadas extensivamente.
- Verificar o efeito da presença de muco e da contratilidade uterina como indicadores de respostas ao protocolo CL-synch.
- Verificar a influencia do escore de condição corporal e do sêmen na IATF com Cl-synch e suas relações com a taxa de prenhez.
- Avaliar o custo e benefício do CL- synch com a taxa de prenhez obtida.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. COMPORTAMENTO REPRODUTIVO

A evolução do conhecimento sobre o comportamento reprodutivo dos bubalinos foi determinante para a implementação de estratégias reprodutivas específicas para esta espécie. Como nos bovinos, a característica mais evidente do estro nos bubalinos é a aceitação de monta pelo macho (VALE et al., 1991).

A falha na detecção do estro e a indefinição do momento ideal para a realização da inseminação artificial são fatores responsáveis pela baixa taxa de prenhez e pelo aumento no período de serviço nas propriedades que adotam essa biotécnica (BARUSELLI et al., 1997). A associação de tais fatores diminui a produção de carne e de leite pelo aumento do intervalo entre partos (RICHARDS et al., 1986).

Segundo alguns autores, sinais externos como descarga de muco, micção, mugidos frequentes e vulva edemaciada devem servir como auxiliares na detecção do estro, uma vez que o comportamento homossexual entre fêmeas bubalinas é da ordem de 3,44% (RIBEIRO et al., 1991).

Por esse motivo, o uso de rufiões vasectomizados e/ou de fêmeas androgenizadas é imprescindível para o sucesso na detecção do estro e o conseqüente emprego das biotécnicas da reprodução na espécie (BARUSELLI, 1994; BARUSELLI et al., 1994, 1999). Entretanto, o uso de machos vasectomizados apresenta limitações na espécie bubalina. Devem ser utilizados apenas animais jovens, com no máximo cinco anos de idade, para evitar as disputas e rivalidades, bastante comuns entre esses animais (PORTO-FILHO, 2000).

Além disso, o rufião deve ter bom desenvolvimento corpóreo e boa libido a fim de exercer dominância sobre as fêmeas. Mesmo tomando todas estas precauções, podem ocorrer doenças sexualmente transmissíveis com a utilização de rufiões sem desvio do pênis (BARUSELLI, 1994).

Também deve ser considerado, quando for realizado o manejo para a detecção do estro em bubalinos, a curta duração (PORTO-FILHO, 2000) e a variabilidade 6 a 48 horas (BARUSELLI, 1996) dos períodos de aceitação de monta das búfalas em estro. Estudando o comportamento estral de bubalinos pela radiotelemetria.

Porto-Filho (2000) observou que, em média, as búfalas apresentaram $24,6 \pm 18,2$ montas por estro (variação de 3 a 80 montas por estro). Nesse experimento, as montas ocorreram de forma uniforme (24 horas do dia), com média de duração de $3,6 \pm 0,7$ segundos por monta.

Além das características peculiares à espécie, a detecção do estro em bubalinos pode ser influenciada pelo estresse térmico, pela inexperiência dos funcionários, pelo tempo empregado e pelo aumento do número de observações de estro por dia (SAMARA et al., 1997).

Portanto, para que sejam obtidos melhores índices reprodutivos, são necessárias contínuas observações do rebanho, além da determinação do início e do final desse período, a fim de que a inseminação artificial seja realizada no momento mais apropriado (BARUSELLI et al., 1999).

3.2. PARTICULARIDADES DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O CICLO ESTRAL EM BUBALINOS

Os primeiros estudos voltados ao crescimento folicular em bubalinos foram realizados por Singh et al. (1984). Esses autores demonstraram que, semelhante aos bovinos, o crescimento folicular em bubalinos ocorre em ondas.

Le Van Ty et al. (1989) observaram menor número de folículos nos ovários de bubalinos do que nos bovinos, com os ovários de bubalinos apresentando 20% do total do folículos antrais encontrados nos ovários de bovinos ($47,5 + 23,8$ vs. $233,0 + 95,8$, respectivamente). Apesar do número reduzido de folículos primordiais e antrais nos ovários de bubalinos, o desenvolvimento das ondas foliculares desses animais é semelhante ao dos bovinos.

Por meio de estudos ultra-sonográficos dos ovários, Baruselli et al. (1997) comprovaram que, nesta espécie, o crescimento folicular durante o ciclo estral ocorre em ondas. Os autores observaram que há maior número de búfalas com duas ondas do que com três ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral, e que a quantidade de ondas de crescimento folicular está diretamente correlacionada à concentração de progesterona e ao diâmetro do folículo ovulatório.

Também constataram que os folículos dos animais que apresentavam duas ondas tinham maior diâmetro e duração da fase de crescimento do que aqueles com três ondas foliculares. Da mesma maneira que nos bovinos (SIROIS; FORTUNE, 1988), a prevalência de duas ondas foliculares em bubalinos promove o aumento da persistência de folículos dominantes durante o ciclo estral, sugerindo a utilidade de serem adotados protocolos de sincronização da ovulação (BARUSELLI, 1992).

De forma geral, independentemente do número de ondas de crescimento folicular, em cada onda desenvolve-se um folículo dominante, que suprime o crescimento de outros folículos menores. Os folículos dominantes que crescem e atingem seu diâmetro máximo no meio do ciclo estral, sob altas concentrações de progesterona, não ovulam, e iniciam um processo de regressão que permite o início de nova onda de crescimento folicular. O folículo dominante que se desenvolve durante a última onda de crescimento folicular de cada ciclo estral é o folículo ovulatório (LUCY et al., 1992).

Da mesma maneira que em bovinos, há grande interesse no controle das ondas de crescimento folicular em bubalinos, seja pelo aumento dos índices reprodutivos, seja pela praticidade no manejo dos animais (BARUSELLI et al., 1999).

3.3. INDUÇÃO DO CIO, SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E TAXA DE PREENHEZ NA IATF.

A $PGF2\alpha$ é o principal hormônio utilizado para controlar o ciclo estral, atuando na regressão do corpo lúteo. A elaboração de protocolos de sincronização do ciclo estral iniciou-se com o uso de prostaglandina ($PGF2\alpha$) para a indução da luteólise (ODDE, 1990).

Estudos demonstram boa eficiência na regressão do corpo lúteo em bovinos quando a $PGF2\alpha$ é aplicada entre os dias 6 e 17 do ciclo estral (ODDE, 1990;). Entretanto, Kastelic et al. (1990) descreveram que a $PGF2\alpha$ atua somente na regressão do corpo lúteo, não alterando o crescimento folicular. Com isso, observa-se grande variabilidade na sintomatologia de estro e subsequente ovulação.

Os primeiros estudos na Amazônia na indução do cio em búfalas foram realizados por Ribeiro (1985), o autor utilizou cloprostenol, verificou grande

variabilidade na exteriorização dos cios. O autor observou que a maior manifestação de cio ocorreu entre 48 e 72hs após a aplicação e concluiu a respeito do uso da PGF2 α para a indução do cio, que somente numa observação criteriosa, associada a exames ginecológicos, (presença de muco e tônus uterino) foi possível confirmar mais de 50% dos cios.

Na espécie bubalina, a utilização de PGF2 α para a indução do estro tem sido objeto de estudo tanto para melhorar a eficiência reprodutiva como para diminuir o intervalo entre os partos (CHAUHAN et al., 1985; EL-BELELY et al., 1995; PORTO-FILHO, 2000).

Em bubalinos Baruselli (1994) observou variação no tempo de manifestação do estro (36 a 96 horas) após a aplicação de PGF2 α . Em bovinos, Pursley et al. (1997) verificaram estro 62 ± 9 horas após a aplicação de PGF2 α no 7° ou 8° dias do ciclo estral. No mesmo experimento, quando a PGF2 α foi aplicada no 10° dia do ciclo estral, vacas foram detectadas em estro após 100 ± 35 horas.

Ainda em bubalinos, Porto-Filho (2000) observou que, quando a aplicação da PGF2 α foi feita antes do dia 10, as novilhas bubalinas apresentaram estro ($40,7 \pm 10,9$ h vs. $56,7 \pm 12,8$ h) e ovulação ($70,0 \pm 11,3$ h vs. $85,6 \pm 12,5$ h) antecipados em relação às novilhas tratadas após o dia 10.

Com o intuito de diminuir a variabilidade da ovulação após a aplicação da PGF2 α , vários pesquisadores estudaram o uso de GnRH para o controle da dinâmica folicular em bovinos (PURSLEY et al., 1995; TWAGIRAMUNGU et al., 1995; BARROS et al., 1998 a,b; BARROS et al., 2000).; em bubalinos (SOUSA et al., 1999; RIBEIRO et al., 2003; BARUSELI et al., 2009).

O tratamento com GnRH causa a ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento, desde que este esteja na fase de crescimento ou no início da fase estática. Não ocorrendo a ovulação, o folículo entra em processo de atresia, surgindo nova onda de crescimento folicular dois a três dias após o tratamento com GnRH (PURSLEY et al., 1995; TWAGIRAMUNGU et al., 1995).

Trabalhos demonstraram que folículos com 9 a 10 mm de diâmetro ovularam mesmo na presença de altas concentrações de progesterona (WILTBANK, 1997; DE RENSI; PETERS, 1999). A formação do corpo lúteo decorrente da ovulação induzida pelo GnRH inibe os sintomas de estro entre a aplicação de GnRH e a PGF2 α . No entanto, para (TWAGIRAMUNGU et al., 1995) 60 a 70% dos animais são detectados em estro quatro dias após a aplicação de PGF2 α .

A sincronização do estro e, em particular, da ovulação pode ser consideravelmente melhorada com a segunda aplicação de GnRH, 36 a 48 horas após a aplicação de PGF2 α (BARROS et al., 1998 a,b; GEARY et al., 1998; TAPONEN et al., 1999; BARTOLOME et al., 2000; BARROS, 2000). Esta aplicação de GnRH concentra as ovulações dentro de um período de 8 a 12 horas, o que permite a realização da inseminação artificial em tempo fixo (16 a 24 horas) após a segunda administração de GnRH (BARROS, 2000; BARUSELI et al., 2009).

Ribeiro et al. (1998) concluíram que doses de 250 μ g de Cloprostenol, via intra-útero-submucosa mostra-se eficiente para indução do cio em búfalas. Os autores enfatizaram que, em búfalas que não estão amamentando, com condição corporal satisfatória, portando um corpo lúteo funcional, a resposta de indução do cio foi maior (83,3%) quando comparada às búfalas com bezerro ao pé (59,3%).

Pesquisadores americanos, aproveitando a ação luteolítica da PGF2 α , associada à ação do GnRH na indução da ovulação do folículo dominante, desenvolveram um novo protocolo de sincronização, denominando-o ovsynch, para gado de leite (WILTBANK; HAUGHIAN, 2003). Segundo Pursley et al. (1995), a primeira dose de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) causa a ovulação e recrutamento de uma nova onda folicular. Sete dias após a primeira dose de GnRH, uma dose de prostaglandina (PGF2 α) é necessário para regredir o corpo lúteo (CL). Esse CL se apresenta maduro e sensível à ação da PGF2 α . A segunda dose de GnRH pode ser aplicada entre 36 e 48 horas após a PGF2 α , provocando a ovulação de um novo folículo dominante, permitindo entre 8 e 24 horas após a segunda dose de GnRH uma efetiva e pré-determinada inseminação.

Desde a introdução do Ovsynch em 1995, esse protocolo vem largamente sendo utilizado na indústria leiteira. Foram ainda lançados vários outros que também utilizam o GnRH, entre os quais se incluem: Co-synch, Pre-synch, Heat-synch e Select-synch (WILTBANK; HAUGHIAN, 2003).

3.3.1. Ovsynch e suas modificações.

O Select-synch (GnRH-7d PGF2 α - IA no estro detectado) talvez seja o protocolo mais simples e econômico. Esse protocolo descarta a 2ª injeção de GnRH,

baseando-se em vez disso na detecção do estro após a $PGF2\alpha$. O Select-synch não é considerado um protocolo de inseminação programada em termos técnicos, por causa da dependência da detecção do estro (WILTBANK; HAUGHIAN 2003).

Em um experimento comparativo entre o protocolo-padrão Ovsynch e o Select-synch, Stevenson et al. (1999) relataram que apesar das taxas de concepção um pouco melhores em vacas acasaladas com estro natural após o Select-synch, as taxas de prenhez foram numericamente maiores após o protocolo Ovsynch devido a baixa taxa de submissão à IA nas vacas do Select-synch (68,2% no caso do Select-synch contra 100% do Ovsynch).

O protocolo Heat-synch, que substitui a 2ª injeção de GnRH por uma de ECP é relativamente barato. Além do menor custo, alguns pesquisadores acreditam que uma vantagem adicional no uso do ECP é que muitas vacas apresentam estro após o tratamento. A seqüência de injeções no protocolo Heat-synch é semelhante a do Ovsynch, exceto que a injeção de ECP é administrada mais próxima ao momento da injeção da $PGF2\alpha$ (24 horas mais tarde) e a IA em tempo fixo é realizada 48 horas após o ECP (WILTBANK; HAUGHIAN, 2003).

Pancarci et al. (2002) relataram que as taxas de prenhez após uma combinação do protocolo Pre-synch e Heat-synch não foram diferentes daquelas depois obtidas com o uso do protocolo Pre-synch apenas. Além disso, esses autores relataram que aproximadamente 75% das vacas apresentam estro após o tratamento com ECP.

Sousa et al. (1999) estudaram o efeito das associações da Prostagladina e GnRH na indução de cio e taxa de prenhez em 63 búfalas. Segundo os autores, o grupo 1 foi constituído de búfalas sem bezerro ao pé, $ECC=3,5$ e portando um corpo lúteo. Os autores verificaram que o grupo 1 tratado com 250 μ g de cloprostenol via submucosa vulvar e 250 μ g de GnRH (IM) no dia da inseminação obteve uma taxa de prenhez de 75%, enquanto que o grupo 2 que somente recebeu a Prostagladina apresentou uma taxa de 65%.

Baruselli et al. (1999) estudaram a eficiência do protocolo ovsynch em búfalas com 45-60 dias pós-parto. Verificaram uma taxa de concepção de 50,2% entre 261 búfalas tratadas. Os autores concluíram que a técnica era viável em bubalinos. Em outro estudo, Baruselli (2001), avaliando a eficiência do protocolo ovsynch em búfalas acima de 60 dias pós-parto, obteve taxa de prenhez de 66,9%.

Mais recentemente, de um total de 235 búfalas inseminadas Crudeli et al. (2008) também estudando o protocolo ovsynch obtiveram 53% (125) de taxa de prenhez em

animais criados em sistema extensivo. Utilizando o mesmo protocolo no Egito, (KAREN; DARWISH, 2010) em época reprodutiva desfavorável (verão) com prévia avaliação ultrassonográfica do status ovariano, os animais foram divididos em dois grupos, grupo de búfalas cíclicas com um folículo de diâmetro superior a 8mm e de um CL e o grupo de fêmeas não cíclicas. As taxas de concepção foram 18% e 0% respectivamente

Berber et al. (2001), observando o aproveitamento do estro (16 a 25 dias após a I.A. pré-determinada) subsequente à sincronização com protocolos GnRH-PGF2 α - GnRH e GnRH-PGF2 α -LH em bubalinos, demonstraram um incremento na taxa de concepção de 56,5 % (grupo GnRH) e 64,2 % (grupo GnRH-PGF2 α -LH), para uma taxa de prenhez de 66,9% e 75,5%, respectivamente.

Campos e Jairo (2001) avaliaram o efeito dos métodos de sincronização do estro sobre a eficiência da inseminação artificial comparada com a monta natural, concluindo que a utilização de PGF2 α e progestágenos é eficiente para sincronização do estro.

Baruselli et al. (2002) estudaram também o efeito da administração de GnRH sete dias antes do início do protocolo ovsynch, em dois experimentos. O primeiro foi composto por dois grupos, sendo o grupo 1 pré-sincronizado com GnRH sete dias antes do início do protocolo ovsynch e o grupo 2, o protocolo ovsynch. Após 24h da pré-sincronização com GnRH, os autores observaram que no G1 52,9% das búfalas havia ovulado e no G2 62%. As taxas de ovulação, após a segunda dose de GnRH, foram de 70% e 50% nos G1 e G2 respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre os grupos. No experimento dois foram também usados os mesmos protocolos G1 e G2, as taxas de concepção foram para G1 de 56% e de 39,5% para G2. Os autores concluíram, então, que não existe diferença na taxa de ovulação com os diferentes tratamentos. Contudo, a taxa de concepção é superior em búfalas que foram pré-sincronizadas.

De Rensis e Scaramuzi (2003) avaliaram o efeito do protocolo ovsynch de acordo com o status ovariano no momento do tratamento. As fêmeas foram divididas em dois grupos: tanto no grupo 1 como no grupo 2 foi utilizado o protocolo ovsynch tradicional, sendo que no grupo 2 o início do tratamento se deu quando da presença de um folículo com diâmetro superior a 7mm e de um CL. Essa constatação foi realizada por meio de ultra-sonografia. A taxa de prenhez diferiu estatisticamente, sendo respectivamente de 36% e 51% nos grupos 1 e 2.

Ribeiro et al. (2003) verificaram o efeito do protocolo ovsynch associado a um progestágeno na taxa de prenhez de búfalas criadas na Amazônia. Os animais foram

divididos em dois grupos, o grupo I recebeu o tratamento GnRH+CIDR /PGF2 α /GnRH, e nas búfalas do grupo II o tratamento foi GnRH/ PGF α /GnRH. O grupo I obteve uma taxa de prenhez de 50% ($p<0,05$) com média de ECC=3,0 e o grupo II de 36,6% com média de ECC=3.1. Com isso os autores concluíram que o ovsynch associado a um progestágeno mostrou-se eficaz na sincronização da ovulação e na taxa de prenhez.

Ronci e De Rensis (2005) estudaram em búfalas pluríparas a eficácia do protocolo original ovsynch (Grupo 1), que consistiu no dia 0 aplicação da 1^o dose de GnRH, no dia 7 aplicação de PGF2 α , e no dia 9 a 2^o dose de GnRH com I.A 16 -22 h após a 2^o dose de GnRH, comparado a um segundo protocolo que consistiu em duas doses de PGF2 α no dia 0 e 13 e GnRH no dia 15 (Grupo 2). No dia da I.A foi realizado nos dois grupos o exame de ultra-som para avaliar a resposta folicular aos tratamentos. As taxas de prenhez obtidas foram de 56% e de 47.5%, respectivamente, não havendo diferença estatística entre os tratamentos ($P>0,05$).

Baruselli e Carvalho (2005), objetivando substituir o hCG pelo GnRH como indutor de ovulação em búfalas sincronizadas para IATF durante a estação reprodutiva desfavorável pela avaliação ultra-sonográfica, não verificaram diferença na taxa e na sincronização da ovulação. Os autores concluíram que o hCG pode ser empregado como indutor de ovulação, possibilitando ainda mais a redução dos custos do protocolo. Eles sugeriram mais estudos para averiguar a taxa de concepção com o emprego de hCG.

3.3.2. CI- Synch.

Picanço (2006) avaliou a taxa de prenhez em 93 búfalas em regime de várzea. O grupo 1 (n=20) foi usado o Ovsynch. O Grupo 2 (n=29) receberam o protocolo (Progesterona +GnRH + PGF2 α + GnRH). O Grupo 3 (n=21), que consistiu em prévia palpação e identificação do corpo lúteo (CL): no D0, aplicação de PGF2 α (D-cloprostenol); no D2, aplicação de GnRH; e no D3, pela manhã a IATF. O Grupo 4 (controle) com 23 animais não foram sincronizadas e a inseminação artificial foi realizada 24h depois da detecção do cio. No grupo 1, 2, 3 e 4 as taxas de prenhez foram 60%, 65,5 57,14 e 39,13% respectivamente.

Corroborando o autor citado acima, Vale (informação verbal), testando o protocolo CL-synch usou vinte e oito búfalas amamentando com $ECC > 3.0$, em que a presença do CL foi diagnosticado por palpação retal e confirmado por ultra-sonografia. Dos vinte e oito animais utilizados no experimento, vinte (71,4%) ficaram gestantes.

Warriach et al. (2008), também trabalharam com prévia identificação do corpo lúteo antes da inseminação. Os autores detectaram o corpo lúteo via ultrassonografia e aplicaram duas doses de 0,150 mg de $PGF2\alpha$ num intervalo de doze horas. Foram feitas observações diárias de estro com a utilização de um rufião e a inseminação após 12 horas do termino do estro. As taxas de prenhez foram 62,5% na estação favorável e 55,5% na estação desfavorável.

3.4. ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL

Bhalaru et al. (1987) observaram que o estado corporal das búfalas interferia nos índices de fertilidade obtidos em inseminação artificial e no aparecimento do cio. Búfalas que estavam muito magras na ocasião do parto demoravam em manifestar cio e tinham uma fertilidade reduzida, quando comparadas a outras em bom estado corpóreo. Animais que perdem muito peso após o parto também têm queda na fertilidade.

Baruselli (1993) analisando o aspecto nutricional de um rebanho bubalino na região centro-sul do País, realizou um levantamento comparando o peso médio de fêmeas bubalinas adultas com a época de aparecimento do cio. O autor verificou, que as búfalas manifestaram cio na época de escassez de alimento, ou seja, quando estavam perdendo peso. Em outro estudo com 476 búfalas visando a correlacionar a condição corporal ao parto com os índices reprodutivos de búfalas inseminadas artificialmente obteve os seguintes resultados: comparando a condição corporal ao parto com o primeiro cio pós-parto, observou que vaca com $ECC \leq 2,5$ manifestava o primeiro cio entre 70 e 80 dias pós-parto, ao passo que aquelas com ECC entre 3,0 e 4,5 manifestavam cio entre 40 e 60 dias pós-parto respectivamente (BARUSELLI et al, 1995).

Baruselli et al. (1999) compararam a condição corporal e a taxa de concepção de búfalas inseminadas artificialmente em tempo fixo, empregando a sincronização da ovulação pelo método ovsynch e observaram uma influência ($P < 0,05$) da condição

corporal na taxa de concepção das 261 búfalas tratadas, que apresentaram taxa de concepção média de 50,2%, sendo observada uma taxa de 39,7% em animais com condição corporal $\leq 3,0$, de 53,9% em animais com condição corporal 3,5, e de 56,7% em animais com ECC $\geq 4,0$. Os autores sugeriram que as búfalas devem ter ECC $\geq 3,5$ para obtenção de boa eficiência ao tratamento.

Baruselli (2000) verificou a interferência ($P < 0,05$) do escore corporal na taxa de concepção de búfalas inseminadas artificialmente. Estes resultados corroboraram Ribeiro Filho et al. (2003), que verificaram a influência do escore corporal sobre a taxa de prenhez de búfalas inseminadas artificialmente em tempo fixo pelo protocolo ovsynch e observaram que os animais com escore corporal $\leq 2,5$ obtiveram taxa de prenhez de 20% e aqueles com escore corporal $> 2,5$ obtiveram taxa de prenhez de 50 %.

3.5. PRESENÇA DE MUCO E CONTRATILIDADE UTERINA E TAXA DE PRENHEZ NA IATF

A contratilidade uterina pode significar resposta à estimulação hormonal, uma consequência do crescimento folicular e ovulação (COUTO, 2007).

Segundo Vale e Ribeiro (2005), o tônus uterino é o melhor indício da ovulação, sendo mais evidente o tônus uterino que em bovinos, no entanto as búfalas demonstram, além da pouca atividade homossexual, pouca descarga de muco em relação ao bovino.

Freitas et al. (2005), estudaram o comportamento de cio em fêmeas pré-pubescentes com indução por GnRH (Gonadorelina) e PGF 2α (D-cloprostenol) e em apenas 18% das observações se visualizou descarga espontânea de muco.

Picanço (2006) correlacionou à taxa de prenhez em diferentes protocolos de acordo com a presença de muco no momento da inseminação. Dos 70 animais avaliados, 34 apresentaram muco no momento da IATF, desses 28 (82,35%) búfalas ficaram gestantes.

Já Crudeli et al. (2008) trabalhando com 235 búfalas criadas extensivamente na Argentina, utilizando o protocolo ovsynch, observaram que somente 16,6% das búfalas sincronizadas apresentaram muco no momento da IA. Destas 89% tornaram-se gestantes. Resultados semelhantes a Couto (2007), utilizando P $_4$ ovsynch e PEPE, em

búfalas mestiças na Amazônia, que obteve taxa de prenhez de 75% nos animais que apresentara muco no momento da IA.

3.6. SÊMEN NA IATF

De acordo com Berndtson et al. (1976), o mau manejo do sêmen ocasiona queda na fertilidade das inseminações. Segundo Pace e Sullivan (1978), reportaram que a motilidade dos espermatozóides e a percentagem de acrossomas intactos declinou significativamente quando o sêmen envasado em palhetas foi levantado e baixado no botijão de nitrogênio líquido, um total de 480 vezes durante um período de seis meses.

O horário da inseminação tem uma influência considerável na taxa de prenhez. O sêmen deve passar por uma série de mudanças antes de adquirir habilidade para fertilizar o óvulo. Essas mudanças são chamadas de capacitação e levam de 4 a 8 horas no sêmen descongelado (BARROS et al., 2000).

De acordo com Barth (1993), muitas evidências levam a crer que o sêmen congelado deve permanecer sempre a 130°C negativos ou menos, para evitar o fenômeno da recristalização que ocasionam danos a estrutura celular. Estes danos são cumulativos, e a incubação deste sêmen durante 2 a 4 horas pós-descongelação pode tornar evidente esta redução de viabilidade.

Segundo Senger (1980), ocorrem situações em que palhetas de sêmen congelado são repetidamente expostas à temperatura ambiente, a vento e sol. O formato da palheta francesa apresenta-se com uma grande superfície de área e pequeno volume (0,5 mL e 0,25 mL), permitindo rápidas mudanças na temperatura interna, podendo estas ser causadas pela passagem de palhetas de sêmen congelado de um botijão para outro, manipulação do sêmen do botijão, que podem levar a uma descongelação parcial.

3.7 CUSTOS NA IATF

Camelo (2002) testando o ovsynch numa região de Várzea obteve um custo total com os hormônios de R\$ 31,51 (trinta e um reais e cinquenta e um centavos) por búfala tratada e R\$ 84,50 (oitenta e quatro reais e cinquenta centavos) por búfala prenhe.

Couto (2007), avaliando os custos de diferentes protocolos na Amazônia, obteve com utilização de (P₄ 1° uso+Ovsynch) R\$ 21,81 por búfala tratada e de R\$ 37,20 por búfala gestante e R\$ 47,02 por búfala gestante no grupo que recebeu a (P₄ 2° uso+Ovsynch). No grupo (Progesterona+Estrógeno+ 300 UI de eCG) o custo por dose foi R\$ 24,95 e R\$ 28,27 (400 UI de eCG), respectivamente. Neste grupo o custo por prenhez foi de R\$ 163,17 (P₄ 1° uso 300 UI de eCG) e de R\$ 98,94 no grupo de (P₄ 1° uso + 400 UI ECG) . Os grupos de (P₄ 2° uso + 300 UI de eCG) cada prenhez custou R\$ 71,70 e o de (P₄ 1° uso + (400 UI de eCG) custou R\$ 78,34.

Picanço (2006) ao utilizar o protocolo Cl-synch, encontrou um custo total por búfala de R\$ 8,70 e um custo total por búfala prenhe de R\$ 15,22, valor consideravelmente menor que os protocolos usuais de sincronização de bubalinos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO (DELINEAMENTO DESCRITIVO)

O experimento foi realizado em três fazendas distintas (figura 1), na Fazenda Moto Geral, as margens do Rio Piririm no município de Itaúbal, em uma região de várzea, distante em linha reta 80 km de Macapá no Estado do Amapá. Na fazenda Perolina localizada no baixo Araguari também no Estado do Amapá as margens do rio Araguari. E na propriedade Santa Lúcia II, localizada no Km 48, município de Mãe do Rio, estado do Pará, constituída de pastagem artificial em terra firme. As três fazendas constituem-se em criatórios de bubalinos com rebanho mestiço com predominância das raças Murrah e Mediterrâneo (*Bubalus bubalis*).

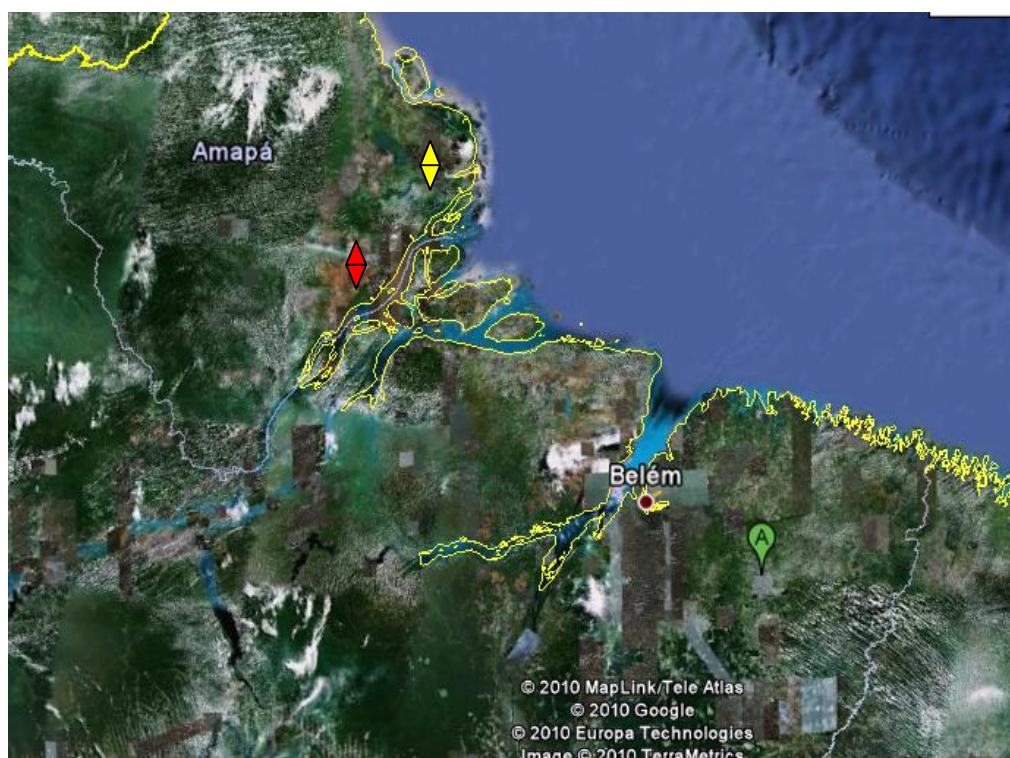


Figura 1: Marco em vermelho local 1 fazenda Motogeral LTDA, localizada a $00^{\circ} 45'48.93''$ de Latitude Norte e $50^{\circ}33'33.32''$ de Longitude Oeste. Em amarelo, local 2 fazenda Perolina localização C: $1^{\circ}16'35.16''$ latitude norte $50^{\circ}15'34.64''$ latitude oeste). Em verde, local 3, fazenda Santa Lúcia II, $02^{\circ}02'47''$ latitude sul e longitude $47^{\circ}33'02''$ oeste.

Fonte: Google Earth (2010).

O período do experimento nas duas propriedades situadas no estado do Amapá foi conduzido na estação de vazante do rio Amazonas e seus afluentes (estação favorável) nos meses de setembro a dezembro de 2009. O sistema de manejo utilizado é o extensivo, nos quais os animais permaneceram o tempo todo nas várzeas baixa e alta, alimentados em pastagem nativa de “capim-de-marreco” (*Reima rochloa acuta*).

O clima predominante é o tropical úmido, categoria Am, clima de monção, com precipitação excessiva durante alguns meses e um período seco caracterizado por precipitações abaixo de 60 mm; e categoria Aw, clima quente e úmido, que apresenta estação chuvosa no verão, de novembro a abril, e nítida estação seca no inverno de maio a outubro. A temperatura média anual no estado do Amapá é de 26,1°C, os valores de insolação total anual no estado variam de 1.800 a 2.200 horas, existe uma variação significativa de precipitação média anual no estado. (IEPA, 2010).

Já na fazenda Santa Lúcia II (local 3), situada no município de Mãe do Rio, no Pará, o experimento foi conduzido nos meses de agosto a novembro, correspondendo a estação reprodutiva desfavorável, Uma estação classificada como menos chuvosa, entre os meses de junho e novembro com temperatura máxima variando entre 29° C e 31°C e umidade relativa do ar entre 78% e 93% (SEPOF, 2009). Os animais foram mantidos em regime de manejo rotacional a campo, em pastagem cultivada de *brachiaria humidicola* (“quicuío”), sendo fornecida suplementação mineral.

4.2. MANEJO SANITÁRIO E REPRODUTIVO DOS ANIMAIS

As búfalas com idades variadas de, 2,5 a 10 anos, foram submetidas a exames de brucelose, com soro aglutinação pela Técnica de Aglutinação Rápida, e tuberculose (prova intradérmica cervical comparativa) segundo normas descritas no PNCEBT, concomitantemente a aferição das condições corporais e exames ginecológicos. Todas as fêmeas foram identificadas com brincos na orelha e numeração a fogo no chifre.

Na ocasião do exame ginecológico, seguindo-se a metodologia preconizada por Grunert e Gregory (1989), tomavam-se informações sobre dados gerais da fêmea e informações da data do último parto; abortamentos, qualquer alteração no ovário (cisto e aderências) e no útero (metrites) estas fêmeas eram descartadas do estudo. Assim como a presença de um corpo lúteo.

Todos os animais que participaram do experimento tinham histórico de período pós parto ≥ 60 dias, lactentes com presença de bezerro ao pé. A seleção de cada animal para a avaliação do escore de condição corporal foi baseada na escala de um a cinco (HOUGHTON et al. 1990) correspondendo de muito magra (1) a muito gorda (5), utilizando-se também valores intermediários de 0,5 ponto para melhor definir alguns casos duvidosos, segundo a metodologia usada para bubalinos (BARUSELLI et al.,1995; RIBEIRO, 1996).

4.2.1. Sincronização e Inseminação Artificial (CL-synch)

Após exames sanitários e ginecológicos as matrizes que portavam um corpo lúteo e apresentavam condição corporal entre 2,0 a 4,0, na escala de 1,0 a 5,0. Sendo 10 animais com ECC = 2,0; 64 com EC = 2,5; 97 com EC = 3; 34 com EC = 3,5 e 3 com EC = 4 . Nestes animais foram aplicados 2.0 ml Intra-Muscular de prostaglandina (PGF2 α) (150 μ g/D-cloprostenol) no Dia 0 = D0. Setenta duas horas depois (Dia 3 = D3), foram realizados exame ginecológico para comprovar a presença de muco e contratilidade uterina, e assim sendo, foram inseminados, (Figura 2 e 3) imediatamente receberam 1.0 ml (100 μ g) IM de GnRH, com sêmen, de sete touros, contendo 30 milhões (0,3ml) de espermatozóides, de forma intra uterina e desta maneira foram inseminadas 208 búfalas.



Figura 2: Animal apresentando muco, sinal característico do estro que demonstra a resposta positiva ao protocolo.

Fonte: Arquivo pessoal.

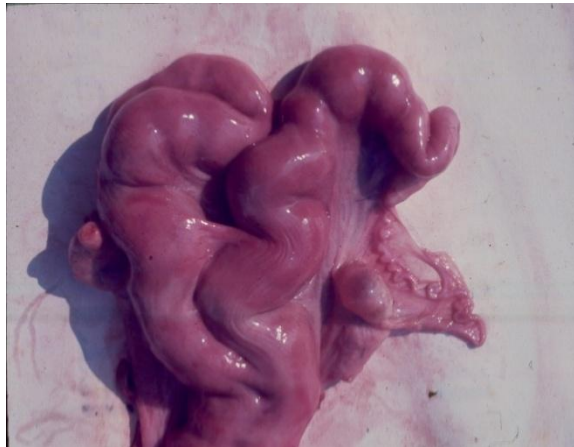


Figura 3- Útero com textura característica da fase estrogênica.

Fonte: Vale (2008).

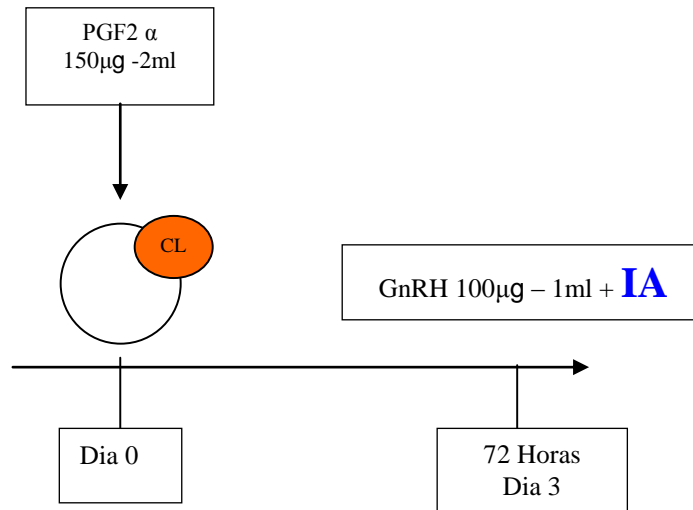


Figura 4 – Esquematização do protocolo CI-synch utilizado em 208 búfalas mestiças lactantes criadas em condições extensivas. $\text{PGF2}\alpha$ Preloban® D - (+) Cloprostenol GnRH=Conceptal®, laboratório Intervet.

Fonte: Arquivo pessoal.

O sêmen utilizado foi proveniente da Central de Biotecnologia de Reprodução Animal, CEBRAN, descongelado a 37 - 40°C durante 15 a 30 segundos. O diagnóstico de prenhez foi realizado entre 45 a 90 dias, através da palpação retal.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados em planilha eletrônica através do Programa Estatístico SAS (2000) utilizando o teste do Qui-quadrado com nível de significância de 5%. Foram comparadas as diferenças de frequências da contratilidade uterina, presença de muco uterino, escore de condição corporal e a variável reprodutor (sêmen) de acordo com a taxa de prenhez. Para comparar a taxa de prenhez nas três fazendas foi utilizado o teste exato de Fisher.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 TRATAMENTOS E TAXA DE PRENHEZ

Das 208 búfalas inseminadas o CL-Synch proporcionou uma taxa de prenhez de 42,79%. Sendo 51,49% (49/101), no primeiro experimento, 40,74% (22/54) no segundo e 33,96% (18/53), no terceiro (Tabela 1).

Tabela 01 – Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas, submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com a localidade da fazenda.

Local	Animais gestantes	Animais não gestantes	Total
Fazenda 1	51,49% (52) ^a	48,51% (49) ^a	48,56% (101)
Fazenda 2	40,74% (22)	59,26% (29)	25,96% (54)
Fazenda 3	33,96% (18) ^b	66,04% (35) ^b	25,48% (53)
Total	42,79% (89)	57,21% (119)	100% (208)

Fisher = 0.0588 P= 0.0309. Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente.

Os resultados dos locais 1 e 2 foram maiores, uma vez que os mesmos foram realizados na estação de vazante, época de fácil manejo e abundante disponibilidade de

pastos, obrigatoriamente constituído nesta região, no estado do Amapá, a estação ideal para reprodução. Por outro lado, a taxa de prenhez do experimento 3 que foi menor, pois pode estar relacionada a estação reprodutiva a qual e é considerada desfavorável na região. Que segundo Dantas (2001) pode influenciar nos resultados de IATF, em detrimento de um período de escassez de forragem e de altas temperaturas.

Nas condições de clima tropical quente e úmido da Amazônia Oriental, as variáveis climáticas de precipitação pluvial, umidade relativa do ar, temperaturas mínima, média e máxima e radiação solar global se relacionam à concepção (GARCIA, 2006).

GARCIA et. al (2007) na Amazônia, avaliaram a taxa de concepção de um protocolo de inseminação (OVSYNCH) em 2 grupos. As búfalas foram mantidas em pastagem não-sombreada (Controle; n = 30) ou em sistema silvipastoril (SSP; n = 26), com pastagem de *Cynodon nlemfuensis*, associada a nim indiano (*Azadirachta indica*) e mogno africano (*Khaya ivorensis*). A taxa de concepção aferida no grupo SSP foi de 53,84% (14/26), numericamente superior à taxa de 43,33% (13/30) observada no grupo Controle (P<0,05).

Dantas (2001), objetivando estudar o efeito dessas variáveis, encontrou uma influencia mais marcante na taxa prenhez no grupo de bufalas inseminadas do que as de monta natural.

A influência do período do dia da IATF na concepção foi observada por Baruselli (1994), o qual detectou concepção em 72,22% das inseminações realizadas pela manhã, contra apenas 46,29% de concepção nas inseminações efetuadas à tarde, o que levou à conclusão que o estresse por calor ao qual o animal é submetido durante o dia pode ser responsável pela baixa concepção nos períodos da tarde.

Chohan (1998) também reportou que a taxa de prenhez foi significativamente menor no verão (26% vs. 53.1%) comparado a inseminações realizadas no outono e inverno em búfalas sincronizadas com um protocolo a base de PGF2 α . Resultados estes também semelhantes aos (33,96% vs. 51,49%; 40,74%) de estação desfavorável e favorável do nosso experimento.

O ambiente uterino também é modificado, reduzindo a probabilidade da implantação do embrião (De RENSIS; SCARAMUZZI, 2003). Os níveis de progesterona no plasma podem ser aumentados ou diminuídos dependendo se o estresse térmico é agudo ou crônico, e do estado metabólico do animal. Estas mudanças endócrinas reduzem a atividade folicular e alteram o mecanismo ovulatório, levando ao

decréscimo na qualidade do oócito e do embrião além de ser responsável pela manutenção da gestação (HANSEN 2005).

Karen e Darwish, (2010) em condições climáticas semelhantes, ao presente estudo no Egito, obtiveram 9,5% de taxa de prenhez com o protocolo ovsynch na estação desfavorável, dados estes inferiores aos 33,96% do experimento 3. Segundo os autores o estresse calórico pode ter afetado diretamente na qualidade dos oócitos.

O resultado da taxa de prenhez média das três fazendas foi menor que os (57,14%) encontrado por Picanço (2006) na estação favorável. E também inferior aos informado por Vale (2007 informação pessoal) que obteve 71,4% de prenhez em búfalas criadas de forma intensiva.

O protocolo, prostagladina + GnRH, foi usado pela primeira vez por Souza et al. (1999). Os autores usaram búfalas não lactantes sem bezerro ao pé, com condição corporal ≥ 3.0 e portando um corpo lúteo, obtiveram uma taxa de prenhez de 75%.

Trabalho com resultado similar ao presente estudo, foi de Ronci e De Rensis (2005) que usaram duas doses de prostagladina, sem a prévia palpação do corpo lúteo, sendo as duas doses de PGF 2α no D0 e D13 respectivamente, e GnRH no D15 conseguiram uma taxa de prenhez de 47,5%.

Warriach et al. (2008), identificando o corpo lúteo antes da inseminação e induzindo a luteólise com duas doses de 0,150mg de PGF 2α num intervalo de doze horas, obtiveram taxas de prenhez de 62,5% na estação favorável e 55,5% na estação desfavorável. Neste estudo os autores utilizaram rufiões para melhorar a detecção do estro.

A taxa de prenhez obtida no presente trabalho esta de acordo com os resultados divulgados na literatura nacional e internacional, voltada à espécie bubalina, reportando taxas de prenhez que variam de 30 a 75%, usando o protocolo ovsynch, e suas modificações com ou sem o uso de esteróides (BARUSELLI et al., 1999; BARUSELLI et al., 2002; CAMELO et al., 2003; QUEIROZ, 2003; RONCI e DE RENSIS 2005; RIBEIRO et al., 2005; STELA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2006; CRUDELLI et al., 2009).

Os 42,79% de prenhez, no presente estudo, pode estar relacionado a fase do ciclo estral no momento do tratamento (aplicação da prostagladina), ou seja, fase progesterônica com presença de um corpo lúteo maduro juntamente com folículos maiores ou menores que 8,0 mm (BARUSELLI, 2000). Segundo Warriach et al. (2008), que detectaram o corpo lúteo via ultrassonografia e obtiveram 62,5% de taxa de prenhez

após aplicação de PGF2 α . Segundo os autores, essa alta taxa deve-se não só pela identificação do corpo lúteo, mas também a escolha de búfalas com folículos superiores a 9.0mm.

A criação extensiva com inadequadas ou ausência de controle sanitário, principalmente as doenças sexualmente transmitidas podem estar relacionada as nossas baixas taxas de prenhez. Segundo Ferreira (2009) existe uma alta prevalência da IBR em reprodutores bubalinos na Amazônia (82,44%). Levantamentos bibliográficos reportam baixos índices de gestação em vacas infectadas. Além de baixos índices de concepção, a ocorrência de endometrites, lesões na tuba uterina, altas taxas de retorno ao cio, encurtamento do ciclo estral, vulvovaginites e necrose focal do corpo lúteo. Ainda segundo a autora o IBR pode ser considerado um dos causadores da baixa eficiência reprodutiva de bubalinos criados extensivamente, na região do Baixo Amazonas, Brasil.

O estudo do CL-synch é uma forma alternativa que se busca para melhorar a taxa de prenhez em bubalinos criados de forma extensiva, suas vantagens se concentram no manejo de contenção e o baixo custo nos hormônios e na remuneração do técnico. O esquema possibilita a contenção somente duas vezes, quando comparado aos demais protocolos que necessitam de contenção de quatro vezes ou mais, diminuindo consideravelmente o estresse, possibilitando a realização da técnica principalmente em criações de bubalinos de forma extensiva, em que a contenção é um processo dificultoso. Entretanto, só poderá ser aplicado por técnicos habilitados, na palpação retal de búfalas ou utilizando o ultrassom. (PICANÇO 2006; RIBEIRO, 2008).

Os fatores que podem influenciar na taxa de prenhez em bubalinos criados em sistema intensivo e extensivo, usando a inseminação artificial em tempo fixo são reportados sendo: escore da condição corporal, tipos de manejo, números de parto, intervalo parto/ tratamento, (BARUSELLI 1993; BARUSELLI et al., 1995; RIBEIRO 2002), presença do bezerro, (COROA, 1999); resposta individual a sincronização, (CRUDELLI et al. 2008; KAREN; DARWISH 2010), fase do ciclo estral no momento do tratamento, (BARUSELLI et al., 2002) estado sanitário (CAMELO et al., 2003; FERREIRA 2009) sêmen e habilidades do inseminador. (RIBEIRO et al., 2003).

6.2. PRESENÇA DE MUCO E CONTRATILIDADE UTERINA

A presença de muco e a contratilidade uterina são respostas fisiológicas às modificações que o útero sofre, respondendo a ação do hormônio estradiol, na fase de proestro e estro, em decorrência do estímulo do FSH e LH da hipófise anterior, permitindo ambiente uterino favorável aos espermatozóides atingirem o local de fecundação (HAFEZ 1995; CUNNIGHAN 1999).

Na Tabela 2 pode-se observar das duzentos e oito búfalas tratadas, sessenta e oito (32,69%) apresentaram contratilidade uterina moderada no momento da inseminação, dessas dezoito animais tornaram-se gestantes (26,47%). Dos cento e quarenta animais que apresentaram contratilidade uterina considerada forte (67.31%), setenta e um animais (50,71%) encontraram-se gestantes.

Tabela 02 – Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas, submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com a presença de contratilidade uterina.

Contratilidade uterina	Animais gestantes	Animais não gestantes	Total
Moderada	26,47 % (18)	73,53 % (50)	32,69% (68)
Forte	50,71 % (71)	49,29 % (69)	67,31% (140)
Total	42,79% (89)	57,21% (119)	100% (208)

$\chi^2 = 10.9891$; $P = 0.0009$

A presença do tônus uterino, pelo teste do qui-quadrado, na tabela 1, mostra que houve uma correlação significativa entre a taxa de prenhez alcançada e a contratilidade uterina considerada moderada e forte no momento da IATF, sendo estatisticamente significativo. ($\chi^2 = 10.9891$; $P = 0.0009$).

De acordo com (COUTO, 2007) a presença da contratilidade uterina nos protocolos de sincronização é um sinal clínico que indica uma resposta de crescimento e diferenciação folicular e ovulação à estimulação hormonal.

Nossos resultados estão de acordo com Queiroz (2003) que, utilizando a presença da contratilidade uterina, verificou que de trinta búfalas sincronizadas com ovsynch no momento da inseminação 66,6% apresentaram um grau forte de contratilidade uterina, destas 53,3% ficaram gestantes. O autor concluiu que a contratilidade mostrou-se um sinal clínico de reação positiva ao efeito da terapia hormonal em búfalas usando o protocolo ovsynch.

Picanço (2006) usando o CL-synch obteve uma percentagem de 76,20% de búfalas com contratilidade uterina, valor superior ao verificado no presente trabalho (67,31%), indicativo que o protocolo em ambos os experimentos proporcionaram uma resposta satisfatória a sincronização. O autor verificou também uma taxa de prenhez de 55,71% dos animais que obtiveram contratilidade uterina, valores também superiores aos 50,71 % do presente estudo, para fêmeas apresentando tônus uterino moderado ou forte.

Esses dados são corroborados por Crudeli et al. (2008), que estudaram também as diferentes variáveis sobre a taxa de prenhez de 235 búfalas submetidas ao protocolo ovsynch. Uma das variáveis pesquisadas foi o grau de dificuldade da inseminação, que está intimamente ligado com a contratilidade uterina, presença de muco e a resposta da búfala ao tratamento hormonal. Os autores dividiram as búfalas em três graus de dificuldade: grau 0 sem dificuldade, grau 1 dificuldade moderada e grau 2 grande dificuldade com impossibilidade de depositar o sêmen no corpo da última porção da cervix. As taxas de prenhez foram 62,7% 30,7% e 0% respectivamente. Os resultados entre os graus de dificuldade foram estatisticamente significativos $P < 0,05$ advertindo que maiores dificuldades no momento da IA possuem menores chances de prenhez.

6.2.1 Presença de muco e taxa de prenhez

Por meio da presença de muco, na tabela 3, pode-se observar o número e percentagem de búfalas que apresentaram muco uterino no momento da inseminação. A taxa de prenhez correlacionada à presença ou ausência de muco no momento da IATF, foi estatisticamente significativo ($P=0,0009$).

Do total de 208 búfalas inseminadas o muco uterino esteve presente em 119, destas 69 (57,98%) tornaram-se gestantes e esteve ausente em 89, destas 22,47% tornaram-se gestantes.

Tabela 03 – Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas, submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com a presença de muco uterino.

Muco uterino	Animais gestantes	Animais não gestantes	Total
Ausente	22,47 % (20)	77,53 % (69)	42,79 % (89)
Presente	57,98 % (69)	42,02 % (50)	57,21% (119)
Total	42,79% (89)	57,21% (119)	100% (208)

$\chi^2 = 10.9891$; $P = 0.0009$

Os resultados obtidos são semelhantes ao de Picanço (2006), que dos 70 animais sincronizados 34 apresentaram muco no momento da IATF, desses 82,35% ficaram gestantes, resultados superiores aos 57,98% do presente experimento. A autora verificou que apenas 8,57% animais apresentaram muco e não obtiveram prenhez positiva, dados inferiores aos obtidos no nosso estudo (22,47%).

Em 305 búfalas sincronizadas divididas em 2 grupos, G1:GnRH/PGF2 α /GnRH e G2:GnRH/PGF2 α /LH. No G1, 51 (26%) animais apresentaram muco no momento da IA, e taxa de prenhez de 51%, resultados também inferiores ao do presente experimento 57,21% e 57,98% respectivamente, já no G2, o muco esteve presente em 33% das búfalas, no entanto 73,3% destas búfalas ficaram gestantes. Dados estes superiores ao 57,98% do presente experimento. No entanto os autores concluíram que as taxas de prenhez não diferiram estatisticamente de acordo com a presença de muco (BERBER et al., 2002).

Crudelli et al. (2008), trabalhando com búfalas em condições de manejo extensivo utilizando o protocolo ovsynch, observaram que somente 16,6% dos animais sincronizados apresentaram muco no momento da IA, dados estes inferiores ao do presente experimento. No entanto 89% delas vieram a conceber, ou seja, taxa de prenhez superior aos nossos achados 57,98%, em contrapartida 50% das que não apresentaram muco tornaram-se gestantes. Os autores concluíram que tanto a ovulação quanto a resposta ao protocolo foram superiores nestes animais que apresentaram muco.

O protocolo CL-Synch é baseado na aplicação de prostaglandina para induzir a luteólise do corpo lúteo e ovulação de um folículo dominante após a aplicação de GnRH. Fernandes et al. (2006) mostram os efeitos de diferentes doses de um análogo da prostaglandinas (Cloprostenol) em animais selecionados para luteólise de acordo com o dia do ciclo estral. Estes autores concluíram que o corpo lúteo apresenta diferença de sensibilidade aos análogos da prostaglandina, de acordo com o dia do ciclo estral em que estes produtos são aplicados.

Também Porto Filho et al. (1999), objetivando estudar detalhadamente as variações do estro e da ovulação após a aplicação de prostaglandina realizou um experimento dividido em 2 grupos: o Grupo 1 recebeu prostaglandina antes do Dia 10 e o Grupo 2 recebeu prostaglandina após o Dia 10 do ciclo estral, dessa forma as búfalas tratadas antes do dia 10 apresentaram menor intervalo de tempo para as manifestações do estro ($40,4 \pm 2,1$ a horas) e da ovulação ($70,0 \pm 11,3$ a), comparadas com animais tratados após o dia 10 do ciclo estral ($56,3 \pm 3,2$ b.) e ($87,2 \pm 12,9$ b), respectivamente.

Os resultados demonstram que neste grupo ocorreu, provavelmente, a ovulação do folículo dominante da primeira onda, presente no momento da aplicação da prostaglandina. Segundo Porto Filho et al. (1999) as diferenças das respostas de presença de muco e contratilidade uterina das búfalas sincronizados no presente experimento podem estar ligadas à fase do ciclo estral em que as búfalas se encontravam no momento da aplicação da prostaglandina, já que o CL é responsivo a prostaglandina dos dias 6 a 17 do ciclo estral, mas com variabilidades no período de estro e ovulação.

6.2.2 Escore de condição corporal e taxa de prenhez

O bom estado nutricional da búfala que vai receber alguma biotécnica é imprescindível para se obterem índices reprodutivos satisfatórios. Búfalas magras na ocasião do parto demoram muito para manifestar cio. Animais que perdem muito peso após o parto também têm uma queda na fertilidade, ou seja, a búfala, sem adequada alimentação, não entra em cio e quando entra, apresenta taxa de concepção reduzida (BARUSELLI et. al 1995;RIBEIRO 1996).

De acordo com a tabela 4 pode-se observar a influência ($P < 0,05$) da condição corporal na taxa de concepção.

Tabela 04 – Taxa de prenhez em fêmeas mestiças bubalinas submetidas ao protocolo CL-Synch de acordo com o escore de condição corporal

Escore da Condição Corporal	Animais gestantes	Animais não gestantes	Total
ECC 2	40,00% (4)	60,00% (6)	4,81% (10)
ECC 2,5	21,88% (14) ^a	78,13% (50)	30,77% (64)
ECC 3	49,48% (48) ^b	50,52% (49)	46,63% (97)
ECC 3,5	55,88% (19) ^b	44,12% (15)	16,35% (34)
ECC 4	100% (3) ^b	0% (0)	1,44% (3)
Total	42,79% (89)	57,21% (119)	100% (208)

$\chi^2 = 20.2247$; $P = 0.0005$. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si.

Analisando as taxas de prenhez em relação ao total de búfalas, podemos observar que os animais $ECC \geq 3$ apresentaram uma taxa de prenhez maior ($P = 0.0005$), do que os animais com $ECC < 3$. As maiores taxas de prenhes concentraram-se nos grupos ECC 3 (49,48%), ECC 3,5 (55,88%) e ECC 4 (100%). Estes resultados são semelhantes aos de Baruselli (2000) que verificou a interferência ($P < 0,05$) do escore de condição corporal na taxa de concepção de búfalas inseminadas artificialmente. Estes resultados corroboram Ribeiro Filho et al. (2003), em que os autores também verificaram a influência do escore corporal sobre a taxa de prenhez de búfalas inseminadas artificialmente em tempo fixo e observaram que os animais com escore corporal $< 2,5$ obtiveram taxa de prenhez de 20% e aqueles com escore corporal $> 2,5$ obtiveram taxa de prenhez de 50 %.

O presente trabalho apresentou também resultados inferiores aos valores obtidos por Sousa et al. (1999) que com búfalas lactantes e com escore corporal acima de 3 adquiriram uma taxa de prenhez de 75%, utilizando o protocolo CL-synch e semelhantes a Picanço 2006 que, utilizando o CL-synch, obteve uma taxa de prenhez de 54,29% em animais com escore acima de 2,5.

Baruselli et al. (1999), comparando a condição corporal e a taxa de concepção de búfalas inseminadas artificialmente em tempo fixo, observaram uma influência ($P > 0,05$) da condição corporal na taxa de concepção, sendo observada uma taxa de

39,7% em animais com condição corporal $<3,0$, taxa de 53,9% em animais com condição corporal 3,5, e uma taxa de 56,7% em animais com condição corporal $>4,0$. Os autores sugeriram que as búfalas devem apresentar condição corporal $>3,5$ para obtenção de boa eficiência ao tratamento.

Mais recentemente Crudelli et al. (2008), trabalhando com o protocolo ovsynch obteve taxas de prenhez de 53,9% em animais com condição corporal entre 3 e 4 e 44,4% em escores menores que 3. Segundo os mesmos autores a IATF aumenta de forma diretamente proporcional a presença de muco genital, o bom escore corporal e a ausência de dificuldade de inseminação, em bubalinos criados de forma extensiva em regiões tropicais. Também Garcia et al. (2008), sincronizando búfalas com o mesmo protocolo e média de ECC=3,5 obtiveram taxas de prenhez de 50%, em animais criados na Amazônia dados estes também superiores ao presente estudo.

Assim, os resultados apresentados sugerem que búfalas com $ECC \geq 3$ apresentam maiores taxas de prenhez quando sincronizadas com protocolos a base de GnRH e PGF2 α para IATF. Resultados estes que também já eram esperados já que estudos demonstram forte influência do ECC na taxa de concepção de búfalas submetidas à IA (BHALARU et al., 1987; BARUSELLI et al., 2001). Rasby et al. (1992) relataram que a restrição alimentar tem influencia negativa na liberação de LH e que animais em anestro apresentam diminuição no diâmetro do folículo dominante com conseqüente redução na taxa de ovulação ao tratamento com GnRH. Outros estudos também demonstram efeito negativo do baixo ECC na ciclicidade ovariana em bovinos de corte (D'OCCHIO et al., 1990; VISCARRA et al., 1998). De acordo com DeRouen et al. (1994) o ECC é utilizado como indicador do status energético e do potencial reprodutivo no período pós-parto.

Ainda segundo Garcia (2006), o máximo desempenho reprodutivo é observado quando os animais se encontram com ECC entre 3 e 3,5 ao momento da inseminação, devendo esses escores ser considerados como metas para se obter a máxima fertilidade em rebanhos bubalinos.

6.2.3 Relação reprodutor e taxa de prenhez

Somente no 2º Local (Fazenda Motogeral LTDA) situado no estado do Amapá, a variável reprodutor foi avaliada. Nas outras propriedades somente um touro foi utilizado nas inseminações impossibilitando assim comparações.

Na tabela 5, pode-se observar que a relação reprodutor e taxa de prenhez não foi estatisticamente significativo $P=0,1684$. Esses dados sugerem a uniformidade na qualidade do sêmen congelado proveniente da CEBRAN (Central de Biotecnologia de Reprodução Animal) caracterizando o rigor na escolha de touros para congelamento.

Tabela 05 – Taxa de prenhez de acordo com o sêmen utilizado

Reprodutor	Animais gestantes	Animais não gestantes	Total
Dubak	39,13% (9)	60,86% (14)	22,77% (23)
Vulcão	59,25% (16)	40,74% (11)	26,73% (27)
Galeão	14,28% (1) ^a	85,71% (7)	7,9% (8)
Importante	83,33% (5) ^b	16,66% (1)	5,94% (6)
Moreno	45,45% (5)	54,54% (6)	10,89% (11)
Obandith	75% (3)	25% (1)	3,96% (4)
Vidrado	45,45% (10)	54,54% (12)	21,78% (22)
Total	51,69% (49)	48,31% (52)	100% (101)

$P=0,1684$. Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si.

Os reprodutores denominados, Importante e Galeão, ambos da raça Mediterrânea, diferiram entre si estatisticamente ($P<0,05$). O touro Importante apresentou taxa de prenhez de 83,33% em contrapartida aos 14,28% do touro Galeão.

Monard (2007) ao trabalhar com zebuínos mestiços comparou o índice de prenhez de cada sêmen utilizado e encontrou resultados diferentes comparados ao presente estudo, identificando diferenças na eficiência do sêmen de cada touro utilizado. O sêmen usado na IATF influenciou na taxa de prenhez, sendo o sêmen de nº 2 apresentou um índice individual de prenhez de 47,4% (54/114) e o touro nº. 4 obteve

um índice de prenhez 77,8% (14/18). Ainda segundo o autor ocorreram variações em relação às quantidades de doses de sêmen utilizadas de cada touro, tendo diferença na taxa de prenhez, no índice geral da eficiência do sêmen, e no índice dentro das classes ou seja, de cada inseminador.

Também Kurykin et al. (2007), compararam duas partidas de touros bovinos leiteiros e não obtiveram diferenças nas taxas de prenhez do touro A: 39,6% (44/111) e nem do touro B 46,9% (46/98) resultados também semelhantes ao presente estudo.

Segundo Cunha et al. (2002), afirmam que na IA existem alguns fatores que influenciam a eficiência do sêmen congelado, como por exemplo: o manejo do sêmen antes da inseminação, a inseminação durante o momento mais adequado do estro, a deposição do sêmen no órgão genital da fêmea e o sistema de controle do rebanho. Dentro deste contexto deve-se ressaltar a importância da prática do inseminador, sendo esta fundamental para a obtenção de bons resultados.

Por isso é imprescindível que se estabeleça um banco de informações sobre a eficiência de touros e partidas utilizadas tanto em programas IATF quanto em IA convencional (PENTEADO et al.2006).

6.3. CUSTOS

Nas duzentos e oito búfalas sincronizadas com o protocolo CL-synch o custo foi de R\$ 9,00 (nove reais) por búfala tratada e R\$ 21,03 (vinte e um reais e três centavos) por búfala prenhe. O custo total da inseminação por búfala prenhe foi de R\$ 31,03 (trinta e um e três centavos) incluindo a dose do sêmen comercial no valor de R\$ 10,00 (dez reais) (Tabela 6).

Tabela 6 – Relação dos custos do protocolo CL-synch, incluindo custos medicamentosos e de dose de sêmen.

Itens	Custo/ Búfala R\$	Custo búfala/prenhez R\$	Total por búfala R\$	Total por prenhez R\$
GnRH	4,2	9,81		
PGF2 α	4,8	11,21	9 *	21,03
Sêmen	10,00	23,37	19	31,03

*GnRH+ PGF2 α

Os custos por búfala tratada foram maiores que os obtidos por Picanço (2006) que, ao utilizar o protocolo Cl-synch, registrou um custo total por búfala de R\$ 8,70 (oito reais e setenta centavos) e um custo por total por búfala prenhe de R\$ 15,22 (quinze reais e vinte e dois centavos), resultado inferior ao do presente estudo. Vale ressaltar, que o autor não calculou os custos com a dose do sêmen.

O resultado do presente experimento foi inferior aos custos totais por búfala prenhe e por búfala tratada, reportados por Baruselli et al. (2001) utilizando o protocolo “ovsynch” com diferentes doses hormonais em bubalinos, obtendo R\$32,29 (trinta e dois reais e vinte e nove centavos) e R\$ 14,40 (catorze reais e quarenta centavos) por búfala e de R\$ 57,64 (cinquenta e sete reais e sessenta e quatro centavos) e R\$ 29,37 (vinte e nove reais e trinta e sete centavos) por prenhez, respectivamente. É importante frisar que o protocolo ovsynch é composto de uma dose a mais de GnRH do que o CL-synch.

Camelo (2002) testando o Ovsynch numa região de Várzea obteve um custo total com os hormônios de R\$ 31,51 (trinta e um reais e cinquenta e um centavos) por búfala tratada e R\$ 84,50 (oitenta e quatro reais e cinquenta centavos) por búfala prenhe. O custo com o protocolo foram 29,6% mais barato que se fosse utilizado o cio natural para obter o mesmo número de prenhez num grupo semelhante de animais.

Conceição (2003) na região amazônica analisou os custos do protocolo Ovsynch em uma fazenda pública e outra particular, obtendo um gasto de R\$ 12,50 (doze reais e cinquenta centavos) com hormônios por vaca, maior do que o reportado neste trabalho. O custo por prenhez também foi mais elevado, R\$ 44,53 (quarenta e

quatro reais e cinquenta e três) e R\$ 46,18 (quarenta e seis reais e dezoito centavos), respectivamente. Na fazenda pública (A) os custos foram 3,7% menor que na particular (B).

Couto (2007), avaliando os custos de diferentes protocolos na Amazônia no período chuvoso, obteve com utilização de P₄Ovsynch R\$ 21,81 (vinte e um reais e oitenta e um centavos) por búfala tratada e de R\$ 37,20 (trinta e sete reais e vinte centavos) por búfala gestante no grupo de P₄ 1º uso e R\$ 47,02 (quarenta e sete reais e dois centavos) no grupo que recebeu a P₄ 2º uso. No grupo PEPE do período seco esse custo foi R\$ 24,95 (vinte e quatro reais e noventa e cinco centavos) e R\$ 28,27 (vinte e oito reais e vinte e sete centavos) por búfala tratada para os grupos que receberam 300 e 400 UI de eCG, respectivamente. Por prenhez o custo com hormônios foi de R\$ 163,17 (cento e sessenta e três reais e dezessete centavos) no PEPE1- com P₄ de 1º uso - de 300 UI e R\$ 98,94 (noventa e oito reais e noventa e quatro centavos) no grupo de 400 UI. Os grupos de PEPE2 – com P₄ utilizada pela 2ª vez – cada prenhez para o grupo de 300 UI custou com drogas R\$ 71,70 (setenta e um reais e setenta centavos) e o de 400 UI custou R\$ 78,34 (setenta e oito reais e trinta e quatro centavos). Para o grupo Ovsynch, o custo das medicações por búfala tratada foi de R\$ 10,56 (dez reais e cinquenta e seis centavos) e por búfala gestante foi de R\$ 15,84 (quinze reais e oitenta e quatro centavos), os custos hormonais deste último grupo foram maiores por búfala tratada, mas tiveram maiores valores por prenhez do que o Cl-synch do presente experimento.

Por outro lado, quando se fazem comparações com os custos mencionados por outros trabalhos deve-se levar em conta que em anos anteriores os hormônios têm sempre valores mais altos, cujos preços vêm sofrendo queda gradual em decorrência de mais laboratórios entrarem neste crescente mercado, forçando a quedas dos preços das drogas. Sendo assim, é provável que experimentos subsequentes a esse apresentem custos ainda mais baixos com o passar dos anos, sendo um dos objetivos das pesquisas com a IATF torná-la acessível comercialmente.

7. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados no presente experimento, pode-se concluir que:

- 1- O CL-synch mostra-se como uma boa alternativa para disseminar o uso da inseminação artificial em bubalinos criados nas condições da região Amazônica;
- 2- O manejo com duas contenções mostrou-se satisfatório;
- 3- Que uma boa condição corporal ($ECC > 3$) é um fator limitante, para obterem-se boas taxas de prenhes;
- 4- A presença de muco e a contratilidade uterina mostraram-se como excelentes indicadores (sinais clínicos) da resposta positiva a indução hormonal;
- 5- O sêmen (touro) utilizado não influenciou no resultado.
- 6- Os custos do protocolo em comparação aos resultados foram satisfatórios.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, N. G. S. Bubalinocultura no Estado do Pará. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 1, p. 34-38, jan./mar., 2005.

BARROS, C. M.; FERNANDES, P.; GAMBINI, A. L. G.; MOREIRA, M. B. P.. Timed artificial insemination using GnRH, PGF2 α and estradiol benzoate. **J. Anim. Sci.** v. 76, Supplement 1, 272 p. 1998a.

BARROS, C. M.; GAMBINI, A. L. G.; MOREIRA, M. B. P.; CASTILHO, C. Synchronization of ovulation in Gir cows with GnRH-PGF-GnRH treatment. **Reprod. Dom. Ruminants**, v. 4, 516 p. 1998b.

BARROS, C. M.; MOREIRA, M. B. P.; FIGUEIREDO, R. A; TEIXEIRA, A. B.; TRINCA, L. A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF 2 α and estradiol benzoate. **Theriogenology**. v. 53, p. 1121-1134. 2000.

BARTH, A. D. Factors affecting fertility with artificial insemination. **Veterinary Clinics of North America**, v.9, p.275-287. 1993.

BARTOLOME, J.A.; ARCHBALD, L.F.; MORRESEY, P.; HERNANDEZ, J.; TRAN, T.; KELBERT, D.; LONG, K.; RISCO, C.A.; THATCHER, W.W. Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. **Theriogenology**. v. 53, p. 815-825, 2000.

BARUSELLI, P. S. Reprodução de bubalinos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BUBALINOCULTURA, 1, 1996, Cruz das Almas. **Anais...** 1996. p. 117-153.

BARUSELLI, P. S.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C.; VISINTIN, J.A.; MOLERO-FILHO, J. R. Artificial insemination in buffalo. In: WORLD BUFFALO CONGRESS. 4, 1994, São Paulo. **Anais...** 1994. p. 649-651.

BARUSELLI,P.S.;MADUREIRA,E.H.; VISINTIN,J.A.;BARNABE,R.C.;AMARAL,R. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 23,n.3, p.360-362. 1999.

BARUSELLI, P. S.; MUCCILOLO, R. G.; VISINTIN, J. A.; VIANA, W. G.;ARRUDA, R. P.; MADUREIRA, E. H.; OLIVEIRA, C. A.; MOLERO-FILHO, J. R. Ovarian Follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**. v. 47, n. 8, p. 1531-1547, 1997.

BARUSELLI, P.S e CARVALHO, N. A. T. Biotecnologia da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 29, n.1, p. 4-17. 2005.

BARUSELLI, P.S. Controle farmacológico do ciclo estral e da superovulação em bubalinos. In: Simpósio sobre o controle do ciclo estral em ruminantes. São Paulo. Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, **Anais...** 2000.p. 332.

BARUSELLI, P.S. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Buffalo Journal**. v.1, 70-75, 2001.

BARUSELLI, P.S. **Manejo reprodutivo de bubalinos. (Reproductive management in buffaloes)**. Secretaria da Agricultura e Abastecimento, Instituto de Zootecnia. Registro, São Paulo. 1993. 46p.

BARUSELLI, P.S., CARVALHO N. A. T., JACOMINI J. O. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos *Artificial Insemination efficiency in buffalo*, 18, 2009, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2009

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

BARUSELLI, P.S.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C.; VISINTIN, J.A; MOLEROFILHO, J.R.; PORTO-FILHO, R. Condição corporal ao parto e eficiência reprodutiva de fêmeas bubalinas inseminadas artificialmente. In: IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, **Anais...** v.1, p.380, 1995.

BARUSELLI, P.S; CARVALHO, N.A.T; HENRIQUEZ, C.H.P; NICHI, M. Présynchronization with GnRH days before ovsynch protocol for timed insemination in Buffalo. **1ST Bufalo Symposion of Americas**. Belém-Pa, p. 414, 2002.

BARUSELLI, Pietro Sampaio. **Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalos (Bubalus bubalis)**. 1992. 99f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Curso de Pós-Graduação em Reprodução Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1992.

BARUSELLI,P.S.;MADUREIRA E.H.; VISINTIN,J.A.;BARNABE,R.C.;AMARAL,R. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 23,n.3, p.360-362. 1999.

BERBER, R.C.A.; BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H. Avaliação do aproveitamento do estro subsequente à sincronização da ovulação com protocolos “Ovsynch” (GnRH vs. LH) em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.25, n.3, p.379-381, 2001.

BERBER, R.S.A.; MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Buballo bubalis*). **Theriogenology**, v57, p 1421-1430, 2002.

BERNDTSON, W. E., B. W. PICKETT, C. D. RUGG. 1976. Procedures for field handling of bovine semen in plastic straws. In: Tech. Conf. Artif. Insem. Reprod, 6, Nat Assoc Anim Breeders, Columbia, **Proceedings**. p. 51-60.

BHALARU S.S, TIWANA M.S, SINGH N. Effect of body condition at calving on subsequent reproductive performance in buffaloes. **Indian J Anim Sci**, v.57, p.33-36, 1987.

CAMELO, A.S.A. **Taxa de prenhez de búfalas amamentando submetidas à sincronização da ovulação e inseminação em tempo fixo**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará - UFPA. Belém. 125p. 2002.

CAMELO, A.S.A; RIBEIRO, H.F.L.; VALE, W.G; SILVA, .A.O.A; SOUZA, J.S Inseminação artificial em tempo fixo em búfalas após o uso do protocolo ovsynch, diferentes horários. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 27,n.3, p.324-325. 2003.

CAMPOS, E ; JAIRO, J. Oestrus synchronization and artificial insemination and their economic assessment in water buffalo. **Anais:** In: VI World Buffalo Congress, V II, Maracaibo, Venezuela, 2001.p 106.

CHAUHAN, F. S.; SHARMA, R. D.; SINGH, G. B. Compatibility between serum progesterone profile and rectal/clinical findings in normal cycling, suboestrus, and after treatment with prostaglandin in suboestrous buffaloes. **Anim. Reprod. Sci**. v.8, n.1/2, p.137- 42, 1985.

CONCEIÇÃO, J.C.S. **Taxa de prenhez de búfalas (*Bubalus bubalis*), submetidas a sincronização com protocolo “ovsynch”, utilizando a via submucosa vulvar e inseminadas em tempo fixo de 0h e 24 h**. 2003. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal do Pará -UFPA. Belém. 2003.

CORÔA, A. C. **O uso do CIDR associado a desmama de 48 horas na indução de cio em vacas búfalas (*Bubalus bubalis*) em anestro pós-parto.** 1999. 45p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro Agropecuário, Universidade Federal do Estado do Pará. 1999.

COUTO, G.B. **Reutilização de dispositivo intra-vaginal de progesterona na Inseminação Artificial Em Tempo Fixo (IATF) em búfalas criadas no estado do Pará.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará - UFPA. Belém. 74p. 2007.

CHOHAN, K.R., 1998. Estrus synchronization with lower dose of PGF₂ and subsequent fertility in sub-estrous buffalo. **Theriogenology** 50, 1101–1108.

CRUDELI, G.A.; DE LA SOTA, R.L.; SCARNATTO, R.E.; KONRAD, J.L.; PATIÑO, E.M.: Tasa de preñez en búfalas sometidas a distintos protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo en el nordeste argentino. **Rev. vet.** 20: 1, 41–44, 2009

CRUDELI, G.A.; PELLERANO, G.S.; OLAZARRI, M.J.; KONRAD, J.L.; PATIÑO, E.M.; CEDRES, J.F.: Efecto de diferentes variables sobre la preñez en búfalas sometidas a sincronización del celo e inseminación artificial a tiempo fijo. **Rev. vet.** 19: 1, 14–17, 2008

CRUZ. L.C. Recent developments in the buffalo industry of Asia, **Rev.vet** 21, Sup. 1, 7-19, 2010.

CUNHA, A. P.; SEGUI, M. S.; SOUZA, A. L. B.; FALEIROS, E. S. Estudo do tempo de inseminação sobre a taxa de concepção, em bovinos de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPECIALIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA, 2002, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2002.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária.** 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004. v. 1, 397p.

D'OCCHIO M.J, NEISH A, BROADHURST L. Differences in gonadotrophin secretion postpartum between Zebu and European breed cattle. **Anim Reprod Sci**, v.22, p.311-317, 1990.

DANTAS, JAS. **Influência de variáveis climáticas na fertilidade de búfalas Murrah e Mediterrâneo na Amazônia Oriental.** 2001. 56f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Pará, 2001.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, J.R. Heat Stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review. **Theriogenology**. v. 60, p. 1139-1151, 2003.

DE RENSIS, F.; PETERS, A.R. The control of follicular dynamics by PGF 2 α , GnRH, hCG and oestrus synchronization in cattle. A review. **Reprod. Dom. Anim.** v. 34, p. 49-59, 1999.

DEROUEN S.M, FRANKE DE, MORRISON D.J, WIATT W.E, COOMBS D.F, WHITE T.W, HUMES P.E, GREENE B.B. Parturition body condition and rate influences on reproductive performance of first-calf beef cows. **J Anim Sci**, v.72, p.1119-1125, 1994.

EL-BELELY, M. S.; EISSA, H. M.; EZZO OMAIMA, H.; GHONEIM, I. M. Assessment of fertility by monitoring changes in plasma concentrations of progesterone, oestradiol-17 β , androgens and oestrone sulphate in suboestrous buffalo cows treated with prostaglandin F 2 α . **Anim. Reprod. Sci.** v. 40, n.1/2, p.7-15, 1995.

FERREIRA, R. N. **Prevalência da Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR) em touros bubalinos em propriedades localizadas no Amapá e Ilha de Marajó (PA), Brasil:** 2009. 63f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Pará, 2009.

FERNANDES C.A.C, FIGUEIREDO A.C.S, OLIVEIRA, E.R, O.B.A E, VASCONCELOS T.D.. Efficiency of different pgf2 α analogous in the postpartum period of dairy cows. *In: World Buiatrics Congress*, 2006, Nice, France. Nice: WBC, 2006. p.17.

FREITAS L. AZEVEDO, M. SILVA, D.F.; SANTOS JUNIOR, R. A.; SOUSA, A. O. Avaliação comportamental do estro induzido por gonadotrofina e prostaglandina em novilhas bubalinas. Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal (Conera), III. 2006, Belém,PA, Brasil. CD-ROM. In Revista de Ciências Agrárias, **Anais...** Belém, UFRA, n. 43. Jun-jul. 2005.

KURYKIN J, JAAKMA U, JALAKAS M, AIDNIK M, WALDMANN A, MAJAS L. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. **Theriogenology**, v.67, p.754-759, 2007.

GARCIA, A.R. Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). **Revista de Ciências Agrárias**, n. 45, 2006.

GARCIA A. R, MATOS L.B, NAHÚM B de S, LORENÇO J.B, GONÇALVES K, S, MYIASAKI M.Y.A. Importância de sistemas silvipastoris no conforto térmico de

búfalas submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. In **59^a Reunião Anual da SBPC**, UFPA, Belém, PA, de 2007

GARCIA A. R.; NAHÚM B. S.; LOURENÇO JUNIOR J. B.; COSTA N. A.; GONÇALVES K. S.; MIYASAKI M. Y. A.; ANDRADE A. F. C.; ARRUDA. R. P. Associação da medroxiprogesterona ao protocolo Ovsynch para inseminação artificial em tempo fixo de búfalas cíclicas (*Bubalus bubalis*) criadas na Amazônia Oriental. **Acta amazônica** v. 38, n. 3.2008.p 369 – 378

GEARY, T.W.; WHITTIER, J.C; DOWNING, E.R., LEFEVER, D.G.; SILCOX, R.W.; HOLLAND, M.D.; NETT, T.M.; NISWENDER, G.D. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate-Bâ or the ovsynch protocol. **J. Anim. Sci.** v. 76, p. 1523 -1527, 1998.

GRUNERT, E. e GREGORY, M. R. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca**. 2. ed. Sulina, Porto Alegre. 1989. v 1, 128p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. São Paulo: Manole. 6. ed. 1995. 59-113p.

HANSEN, J.P. Managing the Heat-Stressed Cow to Improve Reproduction. In: **western dairy management conference**, 7, March 9-11, 2005.

HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P.; HORSTMAN, L.A.; HENDRIX, K.S.; MOSS, G.E. Effects of body composition, postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. **J. Anim. Sci.** v. 68, p. 1438-1446. 1990.

IEPA. Nucleo de Hidrometeorologia e Recursos Hídricos – NHMET. Disponível em: <http://www.iepa.ap.gov.br/metereologia/index.php>. Acesso em 10/02/2010.

KAREN A.M., DARWISH S.A. Efficacy of Ovsynch protocol in cyclic and acyclic Egyptian buffaloes in summer. **Anim. Reprod. Sci** v. 119, p.17–23. 2010.

KASTELIC, J. P.; KNOFF, L.; GINTHER, O. J.. Effect of day of prostaglandin F 2 α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Anim. Reprod. Sci.** v.23, n.3, p.169-80, 1990.

KURYKIN J.; JAAKMA U.; JALAKAS M.; AIDNIK M.; WALDMANN A, MAJAS L. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites

within the uterus in estrus-synchronized heifers. **Theriogenology**, v.67, p.754-759, 2007.

LE VAN TY; CHUPIN, D.; DRIANCOURT, D.A. Ovarian follicular population in buffaloes and cows. **Anim. Reprod. Sci.** v. 19, p. 171-8, 1989.

LODOVINO, R.M.R. **Agricultura e pecuária em manejo (Pará-Brasil): diagnóstico dos sistemas de produção da agricultura familiar**. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa. Instituto superior de agronomia, 1996.174p.

LUCY, M.C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, RL.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **J. Anim. Sci.** v. 70, p. 3615-26, 1992.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **J. Anim. Sci.**, Savoy, v. 68, p. 817, 1990.

PACE, M. M.; J. J. SULLIVAN.. A biological comparison of the 0,5 ml ampula and 0,5 ml french straw system for packaging bovine spermatozoa. In: Tech. Conf. Artif. Insem. Reprod., 7, 1978. **Proceedings**. p. 22-32,

PANCARCI, S.M.; JORDAN, E.M.; RISCO, C.A.; SCHOUTEN, M.J.; LOPES,.F.L.; MOREIRA, F.; THACTHER, W.W. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactatingdairy cattle. **J Dairy Scie.** v. 85, p. 122-131. 2002

PENTEADO. L.; MARQUES, M. O.; SILVA, R. C. P.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P.S. Taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo em diferentes períodos pós parto. **Acta Scientiae Veterinariae**,. v. 34. p. 402, 2006

PICANÇO, N. S. **Uso da Inseminação Artificial Em Tempo Fixo (IATF) em Bubalinos criados em sistema de produção na várzea no Estado do Amapá**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará - UFPA. Belém. 125f. 2006.

PORTO-FILHO, R. M. BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA E.H.; MUCCILOLO R.G. Detecção de cio em búfalas através do sistema de radiotelemetria. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, p. 356-358, 1999.

PORTO-FILHO, R. **Emprego da radiotelemetria na detecção do estro em fêmeas bubalinas: luteólise durante duas fases do ciclo estral, ultra-sonografia da ovulação**

e perfis hormonais. Curso de Pós-Graduação em Reprodução Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000. 112p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) 2000.

PURSLEY, J. R., M. R. KOSOROK, AND M. C. WILTBANK. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **J. Dairy Sci.** v.80.p :301–306.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF2 α . **Theriogenology.** v. 44, p.915-923, 1995.

QUEIROZ, A.C.L. **Sincronização do ciclo estral e inseminação artificial em tempo fixo em búfalas criadas em várzea no município de Santarém-Pará.** 2003. 125f. Especialização (Especialização em Produção e Sanidade Animal) – Centro de Produção e Sanidade animal, Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA. 2003.

RASBY R.J; WETTEMANN R.P; HARMS P.G; LUSBY K.S; WAGNER J.J; GnRH in infundibular stalk-median eminence is related to percentage body fat in carcasses of beef cows. **Domest Anim Endocrinol**, v.9, p.71-76, 1992.

RIBEIRO FILHO, A DE L.;SILVA, R.D.G.; CHALHOUB, M.; GUSMÃO, A.L. influência do escore corporal sobre a taxa de prenhez em búfalas (*Bubalus bubalis*) submetidas a protocolo de sincronização de ovulação para inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** v. 27,n.3. p.471-472. 2003.

RIBEIRO H. F. L.; SOUSA, J. S.; SILVA, A. O. A. da; VALE, W. G. Inseminação artificial em bubalinos. IN: IX CONG. BRAS. REP. ANIMAL, 1991, **Anais...** Belo Horizonte -.MG. CONG. BRAS. REP. ANIMAL (CBRA). 1991.

RIBEIRO, H. F. L; SOUSA, J. S.; SILVA, A. O. A.; VALE, W. G. Inseminação artificial em búfalas criadas em terras alagadas no Estado do Amapá. **Revista Brasileira de Reprodução animal**, v. 23, n. 3, 1999.

RIBEIRO, H. F. L. Characteristics of the reproductive handling in búfalas in the Amazonian Brazilian In: Congresso of Specialties in Medicina Veterinária.I., Curitiba.Paraná. **Anais...** 2002. SPrMV. v.1: 101-104. 2002.

RIBEIRO, H.F.L SOUSA, J. S.; SILVA, A. O. A.; VALE, W. G. Taxa de prenhez em Búfalas inseminadas na época chuvosa e na época seca com diferentes protocolos de sincronização e diferentes doses de eCG. **Rev. Ciênci. Agrárias.** nº 43,. p.70- 76. jun/jul.2006.

RIBEIRO, H.F.L. Inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos criados em sistema de produção extensivo em várzea. **V Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal (CONERA)**. Palestra, Imperatriz, PA, Brasil, 2008

RIBEIRO, H.F.L. **Puerpério na búfala (*Bubalus bubalis*): Aspectos clínicos e histológicos da involução uterina e atividade ovariana**. 1996. 125f. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Minas Gerais. 1996

RIBEIRO, H.F.L. **Sincronização deaios em búfalas com prostagladina (Cloprostenol)**. In: Bubalinos: Fisiopatologia da Reprodução. Cargill, Campinas, SP. 1985.

RIBEIRO, H.F.L.; VALE, W.G; SOUSA, J.S.; SILVA, A.O.A.; The luteolitic effect of small doses of prostagladin for oestrus sinchronization and fertility in buffaloes. 4th SIPAR Followup Seminar on **Animal Reproduction and Biotechnology for Latin America**. Castanhal/Pará/Brazil, v.2, p.70-75. 1998.

RIBEIRO, H.F.L., SOUZA.J.S, MARQUES J.R.F., LOURENÇO JÚNIOR, J.B., CONCEIÇÃO, J.C.S. Inseminação artificial em tempo fixo de búfalas com sincronização da ovulação através do ovsynch + progesterona. In: Congresso Brasileiro de Reprodução animal. **Anais...** Porto Seguro - Ba, v 27, n 3, p.469-470, 2003.

RIBEIRO, H.F.L; PICANÇO, N.S; ROLIM FILHO, S.T; PINHO, R.O; ARAÚJO, C.V; VALE, W.V. Eficiência da Inseminação Artificial em Tempo fixo com progesterona intravaginal na taxa de prenhez em búfalas criadas em diferentes sistema de produção na Amazônia. In: XIX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 2005, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro, p.211. 2005.

RICHARDS, M. W.; SPITZER, J. C.; WARNER, M. B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition of calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **J. Anim. Sci.** v. 62, p. 300, 1986.

RONCI, G; DE RENSIS, F. Comparison between Ovsynch protocol or Prostaglandin plus GnRH for Fixed Time Artificial Insemination in Buffalo cows. Proc. Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo. **Anais...** 1St Buffalo Symposium of Europe and the Americas Ottobre. 12-15, v.I, p.248, 2005.

SAMARA, S. I.; DUTRA, I. S.; FRANCESCHINI, P. H.; MOLERO FILHO, J. R.;

SANTOS FILHO, A. S.; FIRMINO NETO, J. E.; ANDRADE, J. C. O. Uso de gonadorelina no dia da inseminação artificial de vacas leiteiras. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 21, n. 2, p. 107-108, 1997.

SATURNINO, H.M. & DIAS, F.M.G.N. Condição corporal e eficiência reprodutiva em bovinos. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 10, Belo Horizonte, 1993. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, v.2, p.153-166, 1993.

SENGER, P. L.. Handling frozen bovine semen - Factors which influence viability and fertility. **Theriogenology**, v 13 51-62. 1980

SEPOF. Secretaria executiva de Estado de Planejamento, Orçamento e Finanças. 2009. Disponível em: <http://www.sepof.pa.gov.br>. Acesso em 23/01/2009.

SINGH, G.; SINGH, G. B.; SHARMA, S. S.; SHARMA, R. D.. Studies on oestrous symptoms of buffalo heifers. **Theriogenology**. v. 21, p. 849 858, 1984.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biol. Reprod.** v. 39, p. 308-317, 1988.

SOUSA, A. O.; BARUSELLI, P. S.; OHASHI, O. M.; OLIVEIRA, C. A.; SOLANO, F. R.; BLUME, H.; SANTOS, H. P. Puberdade em fêmeas Murrah (*Bubalus Bubalis*) do Vale do Ribeira-Sp. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**.v. 23, n.3,p.173- 174. 1999.

STELA, E.D; OBA,E; MOTA, A.V; LIMA NETO, J.F; GIOSO, M.M. Taxa de ovulação em búfalas submetidas a Protocolo de Inseminação Artificial Fixo. In: XIX REUNIÃO ANUAL DE SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 2005 Angra dos Reis- RJ. **Proceedings...** Rio de Janeiro, 2005.

STEVENSON, J.S.; KOBAYASHI, Y.; THOMPSON K,E. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding system including Ovsynch and combinatios of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin. **J Dairy Sci** 1999; 82: 506-515.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L. A.; DUFOUR, J. J. Synchronization of ovarian waves with a gonodotropin-releasing hormone agonist to increase the the precision of estrus in cattle: a review. **J. Anim. Sci.** v. 73, p. 3141-3151, 1995.

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; OHASHI, O.; RIBEIRO, H. F. L.; SOUSA, J. S. Semen freezing and artificial insemination in the water buffalo in the amazon valley. **Buffalo Journal**. v. 7, n. 2, p. 137-144, 1991.

VISCARRA J.A, WETTERMANN R.P, SPITZER J.C, MORRISON D.G. Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin and non-esterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. **J Anim Sci**, v.76, p.493-500, 1998.

WARRIACH H.M/ CHANNA A.A, AHMAD N. Effect of oestrus synchronization methods on oestrus behaviour, timing of ovulation and pregnancy rate during the breeding and low breeding seasons in Nili-Ravi buffaloes. **Animal Reproduction Science** 107 (2008) 62–6.

WILTBANK, M.C. e HAUGHIAN, J. M. GnRH: bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização. **VII Curso de Novos Enfoques na Produção e Reprodução de bovinos**. Uberlândia – Minas Gerais em 10 a 11 de abril de 2003

WILTBANK, M.C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. Proc. Annual Meeting Society for Theriogenology. **Theriogenology**. Supplement., p. 83-97, 1997.

ZICARELLI, L. **Alimentazione della Bufala da Latte**. Dipartimento di Scienze Zootecniche e Ispezione degli Alimenti, Faculta di Medicina Veterinaria. UNIVERSITA DEGLI STUDI NAPOLI FEDERICO II. 2001