

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO AGROPECUÁRIO
NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –
AMAZÔNIA ORIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Nayma da Silva Picanço

**USO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO
(IATF) EM BUBALINOS CRIADOS EM SISTEMA DE
PRODUÇÃO NA VÁRZEA NO ESTADO DO AMAPÁ**

**Orientador (a): Prof. Associado I Dr. Haroldo
Francisco Lobato Ribeiro**

Belém - Pará
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO AGROPECUÁRIO
NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –
AMAZÔNIA ORIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Nayma da Silva Picanço

**USO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO
(IATF) EM BUBALINOS CRIADOS EM SISTEMA DE
PRODUÇÃO NA VÁRZEA NO ESTADO DO AMAPÁ**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia
Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia,
como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal. Área de concentração: Sanidade Animal.

Orientador (a): Prof. Associado I Dr. Haroldo
Francisco Lobato Ribeiro

Belém - Pará
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO AGROPECUÁRIO
NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –AMAZÔNIA ORIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Nayma da Silva Picanço

Uso da Inseminação Artificial em tempo Fixo (IATF) em Bubalinos Criados em Sistema de Produção na Várzea no Estado do Amapá

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Reprodução Animal.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora:

Belém - Pará
2006

*A Deus,
Ao meu Filho Hugo Victor,
Aos meus pais Hugo Picanço e Graça Picanço.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo supremo dom da vida, pela proteção e força que sempre me impulsionaram a ultrapassar cada obstáculo.

Aos meus pais, Raimundo Hugo de Oliveira Picanço e Maria das Graças da Silva Picanço, pelo amor incondicional, pelo apoio e companheirismo sempre presentes, amizade e compreensão aos quais muito contribuíram para minha formação.

Aos meus irmãos Paula Esteves, Layne Picanço, Hugo Sanches Picanço meus grandes amigos, pessoas fundamentais na minha vida. Aos meus sobrinhos Paola, Pedro Hugo e Vinicius por todos os momentos felizes.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) pela graduação em Medicina Veterinária, e à Universidade Federal do Pará (UFPA), por meio do curso de pós-graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de aperfeiçoamento.

Ao professor Dr. Haroldo Francisco Lobato Ribeiro, pela orientação, estímulo, amizade, pelos seus ensinamentos profissionais e de vida, pela confiança em nosso trabalho. Por todos os momentos de convívio durante esses cinco anos.

Ao professor Dr. William Gomes Vale, por seu exemplo, seus ensinamentos, pela oportunidade de ter sido sua aluna de graduação e pós - graduação.

Ao professor Dr. Rinaldo Batista Viana pelo incentivo e confiança sempre depositadas em mim.

Ao professor Dr. Cláudio Vieira Araújo pela atenção sempre prestada e colaboração imprescindível em estatística.

À Fazenda Motogeral Agropecuária LTDA, através de seu proprietário Dr. Paulo Afonso Lima Costa que disponibilizou seus animais, assim como seus funcionários na elaboração do manejo com os primeiros e também por todo apoio logístico e credibilidade a nós oferecida na realização das pesquisas.

Ao amigo e colega Veterinário MSc Luis André Barbas pela colaboração e sugestões.

Ao amigo de mestrado Sebastião Rolim Filho por todos os momentos de estudo, pela ajuda nas tabelas de estatística, descontração, apoio nas horas de dificuldades e principalmente por nossa amizade.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

Eu não me envergonho de corrigir meus erros e
mudar as opiniões, porque não me envergonho
de raciocinar.
Lao Tsé

RESUMO

Incrementa o uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em búfalas criadas em sistema produtivo extensivo de terras alagadas sazonalmente. O experimento realizado na cidade de Itaúbal, no estado do Amapá, mais precisamente na Fazenda Motogeral LTDA, no período de novembro de 2004 a fevereiro de 2005, na estação favorável à reprodução. A propriedade possui um rebanho bubalino mestiço, onde predomina as raças Mediterrâneo e Murrah. Os animais possuem idade média de seis anos, em sua maioria plurípara e todas amamentando. Utilizou-se 93 animais, sendo que 70 animais sincronizados e inseminados em tempo fixo e 23 animais como grupo controle. Todos os animais foram previamente selecionados através de exame ginecológico e escore de condição corporal (ECC). Os animais sincronizados dividiram-se em três grupos: No grupo 1 (G1) com 20 animais utilizou-se o protocolo ovsynch; No grupo 2 (G2) com 29 animais utilizou-se o protocolo DIB-synch; e no grupo 3 (G3), 21 animais compuseram o grupo denominado CL-synch. E os não sincronizados compuseram o grupo controle ou Grupo 4 (G4) composto por 23 animais que foram inseminados 12h após a visualização do cio. Das 93 búfalas inseminadas 52 (55,91%) tornaram-se gestantes. Das 70 búfalas sincronizadas e inseminadas em tempo pré-determinado 43 (61,43%) ficaram gestantes. No G1 12 (60%) búfalas ficaram gestantes, no G2 19 (65,5%) búfalas ficaram gestantes e no G3 12 (57,14%) búfalas ficaram gestantes. No grupo controle a taxa de prenhez foi de 39,13%. Não houve diferença significativa entre os grupos sincronizados e o grupo controle ($P=0,27$; $X^2=3,86$). Nos grupos sincronizados não se observou diferença significativa entre os grupos ($P=0,82$; $X^2=0,38$). As variáveis presença de muco ($P=4,11$; Fisher=0,99) e contratilidade uterina ($P=8,65$; Fisher=0,99) influenciaram significativamente na taxa de prenhez. Dos 70 animais sincronizados 34 (48,57%) apresentaram muco e 54 (77,14%) apresentaram contratilidade uterina durante a IATF. Quanto ao ECC apesar de estatisticamente não ter influencia nos resultados, notou-se que os animais com ECC $\geq 2,5$ apresentaram as maiores taxas de prenhez. Pode-se concluir que os protocolos utilizados mostram que a IATF em bubalinos, criados de forma extensiva em áreas pantanosas, são uma alternativa promissora para melhorar a eficiência reprodutiva desta espécie na região Amazônica. O protocolo CL-synch precisa de mais estudos, com maior número de animais. Os custos dos tratamentos, não inviabilizam a adoção da técnica em propriedades rurais com sistema de produção extensiva.

Palavras Chaves: Inseminação Artificial. Bubalinos. Várzea. Estado do Amapá.

ABSTRACT

The objective of this work was to potencialize the use of fixed time artificial insemination (FTAI) in buffaloes raised in extensive productive management on seasonally floodplain areas. The experiment took place in the city of Itauba, state of Amapá, more precisely at Motogeral LTDA farm, from november 2004 to february 2005 during favorable breeding season. The property has mostly a crossed Mediterranean and Murrah buffaloes herd. The animals aged around 6 years, the majority of them were pluriparous and were suckling. Amongst 250 female buffaloes available, 93 animals were selected and 70 animals were synchronized and inseminated in fixed time and 23 animals were used for a control group. All the animals were previously selected through gynecological examination and body condition score (BCS). The synchronized animals were assigned in three groups: In group 1 (G1), with 20 animals, the Ovsynch protocol was used; in group 2 (G2), with 29 animals, the DIB-Synch protocol was used and in group 3 (G3), 21 animals formed the CL-synch group. The non-synchronized group formed the control group or group 4 with 23 animal inseminated 12 hours right after heat detection. Amongst the 93 inseminated buffaloes 52 (55,91%) became pregnant. Amongst the 70 synchronized and inseminated buffaloes in fixed time 43 (61,43%) became pregnant. In G1 (n=20) 12 (60%) buffaloes became pregnant, in G2 (n=29) 19 (65,5%) buffaloes became pregnant and in G3 (n=21) 12 (57,14%) buffaloes became pregnant. The pregnancy rate in control group was 39,13%. Through statistical analysis there were no significant differences between the synchronized groups and the control group ($P=0,27$; $X^2=3,86$). It was not observed also through statistical analysis a significant difference among the synchronized groups ($P=0,82$; $x^2=0,38$), the presence of variables such mucus ($P=4,11$; Fisher=0,99) and uterine contractility ($P=8,65$; Fisher=0,99), significantly influenced on pregnancy rate. Amongst the 70 synchronized animals 34 (48,57%) showed mucus and 54 (77,14%) showed uterine contractility during FTAI. With regard to the BCS, although statistically not influencing the results, animals with $BCS \geq 2.5$ had higher pregnancy rates. As a conclusion, the utilized protocols showed that the FTAI in buffaloes raised in swamp areas represent a promising alternative path towards reproductive efficiency improvement of this species in the Amazon region. The CL-synch protocol requires further studies and a larger number of animals. The treatment costs did not make it impracticable for rural properties to adopt the technique in extensive production systems.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1 | Imagem de satélite mostrando o município de cutias, o município de Itaubal, a Fazenda Motogeral e a distância para capital Macapá..... | 37 |
| Figura 2 | Imagem de satélite mostrando a Fazenda Motogeral..... | 38 |
| Figura 3 | Valores de precipitação e temperaturas médias para o período em que o experimento foi realizado..... | 39 |
| Figura 4 | Tipos de transportes utilizados para acesso à Fazenda, localizados em áreas da Região Amazônica..... | 40 |
| Figura 5 | Manejo dos animais utilizando a canoa, na estação das enchentes, nas várzeas baixa de Rio Amazonas e seus afluentes..... | 40 |
| Figura 6 | Manejo dos animais utilizando o cavalo, período seco em que o estudo foi realizado..... | 41 |
| Figura 7 | Manejo realizado com reprodutores da fazenda a fim de impossibilitar a cópula com os animais separados para o experimento..... | 42 |
| Figura 8 | Esquematização do protocolo "Ovsynch" utilizado em 20 búfalas criadas em áreas de várzeas no Estado do Amapá. GnRH = Gestran Plus(Lecirelina), Laboratório Tecnopec e $PGF_2\alpha$ = Prostagladina (D+Cloprostenol), Laboratório Tortuga..... | 45 |
| Figura 9 | Esquematização do protocolo DIB- synch utilizado em 29 búfalas criadas em áreas de várzeas no Estado do Amapá. GnRH = Gestran Plus(Lecirelina), Laboratório Tecnopec; $PGF_2\alpha$ = Prostagladina (D+Cloprostenol), Laboratório Tortuga e DIB = Dispositivo Intravaginal Bovino (Progesterona) Laboratório Tecnopec..... | 46 |
| Figura 10 | Esquematização do protocolo CL- synch utilizado em 21 búfalas criadas em áreas de várzeas no Estado do Amapá. GnRH = Gestran Plus(Lecirelina), Laboratório Tecnopec; $PGF_2\alpha$ = Prostagladina (D+Cloprostenol), Laboratório Tortuga..... | 46 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabela 1 | Análise de custo da sincronização da ovulação com GnRH - PGF ₂ α - GnRH para inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos com redução das doses do primeiro GnRH (Acetato de buserelina, 20 µg vs 10 µg e Lecirelina, 50 µg vs 25 µg). São Paulo, 2001..... | 34 |
| Tabela 2 | Análise de custo da sincronização da ovulação com GnRH - PGF ₂ α - GnRH para inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos com redução da dose de prostaglandina (D-cloprostenol sódico, 75 µg vs 150 µg). São Paulo, 2001..... | 34 |
| Tabela 3 | Análise de custo da sincronização da ovulação nos grupos GI e GII com GnRH - PGF ₂ α - GnRH para inseminação artificial em tempo predeterminado e grupo GIII com cio natural, criados extensivamente em áreas de várzea amazônica..... | 35 |
| Tabela 4 | Análise de custo da aplicação do protocolo “Ovsynch” nas búfalas com inseminação artificial em tempo fixa de 00:00h e 24:00h nas fazendas pública e particulares no Estado do Pará..... | 36 |
| Tabela 5 | Grupos experimentais e tratamentos..... | 44 |
| Tabela 6 | Grupos, número de animais disponíveis e selecionados, animais inseminados e taxa de prenhez de acordo com o grupo de búfalas criadas em sistema de produção extensiva, Itaupal, Amapá..... | 50 |
| Tabela 7 | Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo (IATF) no estado do Amapá de acordo com os grupos experimentais e o grupo controle..... | 50 |
| Tabela 8 | Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com os grupos sincronizados..... | 51 |
| Tabela 9 | Número de animais inseminados, presença ou ausência de muco e contratilidade conforme o tratamento dos grupos sincronizados..... | 55 |
| Tabela 10 | Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com a presença ou ausência de muco vaginal..... | 55 |
| Tabela 11 | Número de animais inseminados, presença ou ausência de contratilidade conforme o tratamento dos grupos sincronizados..... | 56 |
| Tabela 12 | Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com a presença ou ausência de contratilidade uterina..... | 57 |
| Tabela 13 | Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com o escore de condição corporal..... | 59 |
| Tabela 14 | Análise de custo da aplicação do protocolo ovsynch, DIB – synch e CL- synch nas búfalas com inseminação artificial em tempo fixa e inseminação artificial (I.A) tradicional..... | 61 |
| Tabela 15 | Comparação dos custos do protocolo ovsynch, com valores por búfala e por prenhez obtidos em protocolos com diferentes bases hormonais, de acordo com os autores..... | 62 |

LISTA DE ABREVIATURA E SIMBOLOS

| | |
|---------------|---|
| BE | Benzoato de Estradiol |
| CE | Cipionato de Estradiol |
| CEBRAN | Central de biotecnologia de reprodução animal. |
| CIDR | Controlled internal releasing device |
| CL | Corpo Lúteo |
| CRESTAR | Implante auricular para liberação de progesterona |
| DIB | Dispositivo intravaginal bovino |
| EMBRAPA | Empresa brasileira de pesquisas agropecuárias |
| ECC | Escore de Condição Corporal |
| eCG | Gonadotrofina coriônica eqüina |
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| FSH | Hormônio Folículo Estimulante |
| GnRH | Fator Liberador de Gonadotrofinas |
| hCG | Gonadotrofina coriônica humana |
| I.A | Inseminação Artificial |
| IATF | Inseminação Artificial em Tempo Fixo |
| IBGE | Instituto brasileiro de geografia e estatística |
| IEPA | Instituto estadual de pesquisas Amapaenses |
| IM | Intra-muscular |
| IVSM | Intra-vulvar-submucosa |
| LH | Hormônio Luteinizante |
| MAP | Medroxi progesterona |
| MN | Monta Natural |
| P4 | Progesterona |
| PGF2 α | Prostaglandina |
| PMSG | Gonadotrofina sérica da égua prenha |
| PRID | Progesterone release intravaginal devices |
| UI | Unidade internacional |
| VE | Valeriato de estradiol |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO | 6 |
| ABSTRACT | 7 |
| LISTA DE FIGURAS | 8 |
| LISTA DE TABELAS | 9 |
| LISTA DE ABREVIATURA E SIMBOLOS | 10 |
| 1- INTRODUÇÃO | 12 |
| 2- OBJETIVOS | 16 |
| 2.1- OBJETIVO GERAL | 16 |
| 2.2- OBJETIVOS ESPECIFICOS | 16 |
| 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 17 |
| 3.1 - INDUÇÃO DO CIO, SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E TAXA DE PRENHEZ NA IATF. | 17 |
| 3.2 - ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL | 30 |
| 3.3 - CUSTOS | 33 |
| 4 - MATERIAL E MÉTODOS | 37 |
| 4.1- DELINEAMENTO DESCRITIVO | 37 |
| 4.1 1- Manejo dos animais | 40 |
| 4.2- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL | 42 |
| 4.2.1- Avaliação dos Animais | 42 |
| 4.2.2- Grupos Experimentais | 43 |
| 4.2.3- Tratamentos, drogas e doses. | 44 |
| 4.2.4- Manejo executado em cada grupo experimental. | 46 |
| 4.3- ANÁLISE ESTATÍSTICA | 48 |
| 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO | 49 |
| 5.1- TRATAMENTO E TAXA DE PRENHEZ | 49 |
| 5.2- MUCO, CONTRATILIDADE UTERINA E TAXA DE PRENHEZ. | 54 |
| 5.2.1- Presença de Muco | 54 |
| 5.2.1- Presença de contratilidade uterina | 56 |
| 5.3- ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL E TAXA DE PRENHEZ | 58 |
| 5.4- CUSTOS | 60 |
| 6- CONCLUSÃO | 63 |
| REFERÊNCIAS | 64 |

1 INTRODUÇÃO

A população mundial de búfalos é estimada em 170 milhões de cabeças, das quais 80% estão localizadas na Índia, China e Paquistão. Na América latina e Caribe estima-se um rebanho de 4 milhões de cabeças, possuindo o Brasil, um rebanho de 3,5 milhões de cabeças (PERERA et al., 2005). Nos últimos 10 anos, o rebanho bubalino mundial apresentou taxa de crescimento de 7,8% (FAO, 2005).

Entretanto, outros dados estimam que no Brasil o quantitativo do rebanho Bubalino era de 1.200.700 cabeças em 2004 (FAO 2005). De acordo com o Ministério da Agricultura (Brasil, 2005) e do censo Agropecuário (IBGE, 2005), relativo ao ano de 2003, o efetivo do rebanho bubalino apresentava 1.149.000 mil cabeças, distribuídas entre as cinco regiões do país nas seguintes quantidades/proporções: Norte - 722.299 (62,9%), Nordeste 106.117(9,2%), Sudeste 104.449 (9,1%), Sul 151.071 (13,2%) E Centro-Oeste 64.872 (5,6%).

Do rebanho nacional, 15% destina-se à produção de leite e 85% para corte, compreendendo um abate de 600.000 búfalos por ano, o que resultaria na produção de cerca de 150.000 toneladas de carne (MARIANTE et al., 2003; SILVA. M et al., 2003).

A criação de búfalos vem se difundindo mundialmente, devido a superioridade econômica que pode apresentar em relação a outros ruminantes domésticos, principalmente no que diz respeito à rusticidade e adaptação às variadas condições climáticas e manejo. A importância econômica na exploração desses animais reside também, nas vantagens proporcionadas quanto á fertilidade, longevidade, eficiência de conversão alimentar e aptidão para produção de leite, carne e trabalho (LOURENÇO, 2005).

A região amazônica possui uma pecuária bubalina com características totalmente extensivas e ultra-extensivas, face a grande área de várzea que proporcionam um habitat com

excelentes condições para criação dessa espécie, respondendo com satisfatória produtividade sazonal nas várzeas constituídas de pastos nativos da região (VALE et al., 1984).

Entretanto Vale et al. (1984), apontaram em seus estudos que a situação na qual se encontra a maioria dos criatórios da região, não traduz o potencial que a espécie poderia render para a economia regional.

Apesar da reconhecida vocação natural do Estado do Amapá para pecuária, e do crescente desenvolvimento desta atividade, principalmente ligada a bubalinocultura de corte, seus níveis de produção e produtividade ainda são ineficientes para atender a demanda regional. Acredita-se que este problema esteja associado em grande parte, aos sistemas de criação em uso, que na maioria das propriedades é ultra-extensivo no aproveitamento de pastagens nativas, sem cercas e praticamente sem nenhum controle sanitário e manejo reprodutivo dos rebanhos (PAIVA et al, 1986).

No estado do Amapá as condições ecológicas e geográficas das áreas onde o búfalo tem sido submetido a produzir, sofre um período de enchentes do Rio Amazonas e seus afluentes, determinando dessa forma, uma época de reprodução bastante limitada, variando de três a cinco meses, entre os meses de setembro a janeiro. Esse período corresponde a baixa dos rios, estação de fácil manejo e abundante disponibilidade de pastos, obrigatoriamente correspondendo nessa região, ao período ideal para a reprodução. Os meses restante representam um fator altamente limitante para esta prática, estando as fêmeas que não foram enxertadas, sujeitas de forma ociosa a espera da próxima época favorável para reprodução, que conseqüentemente coincidirá com a próxima baixa dos rios. Assim sendo, os menores percentuais médios de fertilidade estão situados nos meses de enchentes, entre janeiro e junho (RIBEIRO, 2002).

A população de búfalos no estado é de 161.710 de acordo com a Associação dos Pecuáristas do Estado do Amapá –ASPA, sendo o de bovinos de apenas 44.816 o que

caracteriza uma população de bubalinos três vezes maior que a de bovinos, demonstrando uma gradual troca do rebanho bovino pelo bubalino devido as condições ambientais ali existentes (Informação verbal)¹

Apesar dos avanços tecnológicos alcançados no manejo de criação de búfalos e de técnicas de melhoramento genético, podendo-se tomar como referência a inseminação artificial, ainda depara-se com baixo desempenho reprodutivo, relacionados com problemas intrínsecos dos búfalos em menor proporção e a fatores externos como sanitários, estresses térmicos, nutricionais, e manejos inadequados, onde, principalmente as fêmeas, recém-paridas ou em lactação, apresentam uma estacionalidade reprodutiva que se caracteriza por um longo período sem sinais fisiológicos de cio (anestro) ou apresentam estes sinais de forma muito tênue e na maioria das vezes sem capacidade de concepção - cio silencioso sem ovulação (RIBEIRO, 1996).

É notório, portanto, que a inseminação artificial em bubalinos criados de forma extensiva tem sido pouco estudada e empregada por criadores, devido certas dificuldades no manejo relacionado à técnica, tipo de criação, infra-estrutura adequada, a identificação do estro e do momento apropriado para realização da I.A. Uma característica reprodutiva que deve ser considerada nos bubalinos é a baixa incidência de comportamento homossexual durante o cio, isto é, o hábito das fêmeas montarem umas sobre as outras durante a fase de aceitação. Ao contrário dos bovinos, é raro observar esta sintomatologia nos bubalinos, este comportamento diminui a visualização externa de cio e, durante muito tempo, fez acreditar que os bubalinos apresentavam cios fracos e silenciosos e, demonstra que é indispensável à utilização de rufiões para detecção de cio nesta espécie (VALE et al,1990).

Diante disso, a utilização de protocolos que não necessitem de identificação de cios contribuirá para o incremento da utilização da I.A nos rebanhos bubalinos, principalmente

¹ Informação fornecida pelo Vice-Presidente da Associação dos Pecuaristas do estado do Amapá, Srº José Rabelo Mourão, na ASPA, no estado do Amapá, em Fevereiro de 2005.

devido a facilidade de execução. Estes protocolos objetivam sincronizar a I.A e empregá-la em todos os animais da propriedade, mesmo naqueles que não estejam manifestando estro ou ciclicidade, colaborando assim, para o aumento do emprego desta biotecnologia nos rebanhos de bubalinos permitindo que o melhoramento genético e o incremento da produtividade de carne e leite sejam mais rápidos e eficientes (BARUSELLI e CARVALHO, 2005).

Assim, o quadro mundial da bubalinocultura tende a mudar no início deste milênio, podendo-se afirmar que o búfalo, não é mais o animal do futuro e sim do presente, havendo a tendência marcante nos processos tecnológicos para essa espécie, esperando-se grandes avanços na aplicação de biotécnicas da reprodução, no sentido de aumentar a produção e a produtividade dos rebanhos (VALE e RIBEIRO, 2005).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Incrementar o uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em búfalas criadas em sistema produtivo de terras alagadas (várzea).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Verificar a eficácia do protocolo Ovsynch associado ao dispositivo intravaginal impregnado com progesterona;
- Verificar a eficácia do tratamento que consiste em uma aplicação de Prostagladina mediante a presença de um corpo lúteo associado ao GnRH.
- Aumentar a taxa prenhez de búfalas criadas na várzea, utilizando protocolos de sincronização e IATF.
- Verificar o custo x beneficia da IATF.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

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

Os primeiros estudos na Amazônia na indução do cio em búfalas foram realizados por Ribeiro (1985), o autor utilizou cloprostenol (estrumate) $PGF2\alpha$ sem associação com outros hormônios, verificou grande variabilidade na exteriorização dos cios. O autor observou que a maior manifestação de cio ocorreu entre 48 à 72 horas de intervalo após a aplicação e concluiu a despeito do uso da $PGF2\alpha$ para a indução do cio, que somente uma observação criteriosa, associada a exames ginecológicos foi possível detectar mais de 50% dos cios.

Baruselli (1994) detectou em bubalinos uma variação da manifestação do estro (de 36 a 96 horas) após a aplicação de prostaglandina. Devido a esta variação, que ocorre entre o tratamento e a manifestação estral e ovulação, faz-se necessária a detecção das sintomatologias de estro após o tratamento com prostaglandina para identificar o momento apropriado para inseminação artificial. Assim, protocolos que procuram utilizar a IATF, apenas com a utilização de prostaglandina, não tem apresentado bons resultados.

Também Ribeiro et al. (1998) concluíram que doses de 250 μ g de Cloprostenol (Ciosin) via intra-vulvo-submucosa apresentou ser eficiente para indução do cio em búfalas. Os autores enfatizaram que búfalas não amamentando, 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 $PGF2\alpha$, associada à ação do GnRH na indução da ovulação do folículo dominante, desenvolveram um novo protocolo de sincronização, denominado-o ovsynch, para gado de leite. 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 ($\text{PGF}_{2\alpha}$) é necessário para regredir o corpo lúteo (CL). Esse CL se apresenta maduro e sensível à ação da $\text{PGF}_{2\alpha}$. A segunda dose de GnRH pode ser aplicada entre 36 a 48 horas após a $\text{PGF}_{2\alpha}$, provocando a ovulação de um novo folículo dominante, permitindo entre 8 a 24 horas após a segunda dose de GnRH uma efetiva e pré-determinada inseminação.

Chohan (1999) utilizando o cloprostenol em doses reduzidas de 500 μg (via IM) para 125 μg via intra-vulvo-submucosa, comprovou que com esta última dose e via de administração é possível provocar a luteólise e indução deaios férteis, tanto em vacas adultas e novilhas como também em búfalas com anestro ou subestro.

Sousa et al. (1999) estudaram o efeito das associações da Prostaglandina e GnRH na indução de cio e taxa de prenhez em búfalas. O grupo 1 foi constituído de búfalas sem bezerro ao pé e portando um corpo lúteo. Os autores verificaram que o grupo 1 tratado com 250 μg de cloprostenol via submucosa vulvar e 250 μg de GnRH (IM) no dia da inseminação, obtiveram uma taxa de prenhez de 75%, enquanto que o grupo 2 que somente recebeu a Prostaglandina apresentou uma taxa de 65%.

Corôa (1999), trabalhando com bubalinos, 60 dias pós-parto e com escore de condição corporal (ECC) maior e menor que 2.0, testou o tratamento com CIDR associado a desmama por 48 horas. Obteve somente 15% de indução do estro nas búfalas com ECC inferior a 2.0 e de 100% nas búfalas com ECC acima de 2.0. O autor concluiu que os resultados mais eficazes são em animais que estejam mantidas em boas condições de pastagem, e também concluiu que o período de anestro pós-parto e a idade não interferiram na resposta ao tratamento.

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 (2001a), avaliando a eficiência do protocolo ovsynch, em búfalas acima de 60 dias pós-parto, obteve taxa de prenhez de 66,9% .

Bartolomeu et al. (2001), utilizando em búfalas GnRH/PGF₂ α /GnRH como grupo controle de quatro tratamentos com progestágeno, CIDR®/BE2 (n = 35); CIDR/GnRH (n = 18); CRESTAR®/BE2 (n = 33); CRESTAR®/GnRH (n = 19), obtiveram taxas de concepção de 55,6 % (10/18), 22,8 % (8/35), 16,7 % (3/18), 27,3 % (9/33) e 21,0% (4/19) respectivamente, evidenciando na espécie bubalina um resultado satisfatório no emprego do GnRH, associado a PGF₂ α e uma baixa taxa de concepção com a utilização de protocolos que empregam progesterona e/ou progestágenos na I.A em tempo fixo.

Observando Berber et al. (2001), 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.

Baruselli (2001a), estudando novas alternativas de sincronização da ovulação com gonadotrofinas, realizou um experimento com o intuito de avaliar o efeito da substituição do GnRH pelo LH (hormônio luteinizante) na segunda aplicação hormonal do protocolo "ovsynch" em bubalinos grupo 1(n = 15); GnRH/ PGF₂ α /GnRH e grupo 2 (n = 15); GnRH/ PGF₂ α /LH. Os autores observaram uma taxa de ovulação de 86,6 % (26/30), após a primeira aplicação de GnRH. A taxa de ovulação após a segunda dose de GnRH e ao LH para ambos os protocolos foi de 93,3 % (14/15). Ainda Baruselli et al. (2001b) afirmaram que o momento

da ovulação entre os dois grupos não diferiu estatisticamente (GnRH x LH; $p > 0,05$). Os autores realizaram outro experimento em campo, utilizando a mesma seqüência acima descrita em 305 búfalas divididas em dois grupos (GI = GnRH, $n = 151$ e GII = LH, $n = 151$), em que obtiveram uma taxa de concepção de 56,49 % ($n = 154$) e 64,24 % ($n = 151$), respectivamente ($P = 0,08$), concluíram que ocorreu a sincronização da ovulação e que conseqüentemente foi boa a eficiência do protocolo a campo nos dois grupos estudados, com tendência a melhores índices nos animais tratados com LH.

Campo e Jairo (2001), avaliaram o efeito dos métodos de sincronização do estro sobre a eficiência da inseminação artificial comparada com a monta natural. Foram utilizadas 80 búfalas, divididas em 4 grupos. O grupo A recebeu CRESTAR/ Valerato de Estradiol + PMSG, o grupo B aplicações de PGF2 α , sendo a primeira com previa palpação a fim de se detectar o corpo lúteo funcional. O grupo C foi observado o estro com monta natural e o Grupo D estro natural com inseminação artificial. Quanto a resposta da sincronização o grupo A obteve 85% e o grupo B 90%, em relação ao tempo em horas pós tratamento e apresentação do estro foram de 33h no grupo A e 53h no grupo B. Os autores concluíram que a utilização de PGF2 α e progestágenos são eficientes para sincronização do estro, entretanto quando compararam os serviços por monta natural com a inseminação artificial encontraram diferenças significativas ($P < 0,05$) a favor da monta natural o que lhes permitiram afirmar que a detecção do estro apresentou falhas em determinar o momento exato para inseminação artificial.

Barile et al (2001), estudaram o tempo adequado para IATF, utilizando 56 búfalas, na qual todos os animais receberam o PRID/ PMSG + PGF2 α . No grupo A foram realizadas três inseminações (48, 72 e 96h) e no Grupo B duas inseminações (72 e 96h), depois da retirada do PRID. Quinze dias após as inseminações as búfalas foram mantidas com um búfalo reprodutor. A taxa de concepção com PRID foi de 48,2% na I.A e 69,6% ao estro seguinte

(I.A + MN). Quanto aos diferentes horários da I.A a que utilizou dois horários obteve uma taxa de concepção de 56,7% e a que utilizou três horários 38,5%. Portanto, os autores concluíram que 72 a 96h após remoção do PRID poderia ser considerado o tempo mais adequado para I.A em búfalas sincronizadas.

Pacelli et al (2001), avaliaram a possibilidade de induzir um cio fértil em búfalas pré-púberes a fim de inseminá-las em época desfavorável no Sul da Itália. Foram formados tres grupos. Os grupo A e B receberam o PRID (progesterona + BE) por dez dias, sendo que no setimo dia foi aplicado eCG, com dose de 1000UI no grupo A e 750UI no grupo B, com IATF 48 a 72 h após a remoção do PRID. O grupo C como controle usaram monta natural. Quanto a indução do cio o grupo A obteve 66,6% e o grupo B 73,3% . Em relação a taxa de concepção utilizando-se somente a I.A foi de 40% no grupo A e de 33,3% no B. Já a taxa de concepção utilizando-se tanto a I.A como a monta natural foi de 66,6% nos dois grupos tratados e no grupo C foi de 33,3%.

Baruselli et al (2001b), ao analisarem a eficiência da inseminação artificial em tempo fixo com sincronização usando protocolo ovsynch, demonstraram que o tratamento é viável tecnicamente. No entanto, para a obtenção de bons resultados devem ser inseminados animais com condição corporal \geq a 3,5 no inicio do tratamento, evitando sincronizar primíparas por apresentarem taxas inferiores de concepção.

Bartolomeu et al. (2002), estudaram a sincronização do ciclo estral e a ovulação usando o CIRD e CRESTAR, o grupo 1 utilizou o CIDR/ Benzoato de estradiol + PGF2 α e o grupo 2 utilizou CRESTAR/ Norgestomet/Valeriato de estradiol. O intervalo entre a retirada do implante e a emergência da onda folicular foi de $3,5 \pm 0,9$ dias no grupo 1 e de $6,3 \pm 0,4$ dias no grupo 2. O comportamento de estro foi observado em 20% dos animais em $54 \pm 0,0$ h após a remoção do implante no grupo 1. No grupo 2 o estro foi observado em $44,0 \pm 2,8$ h após remoção do implante em 40% dos animais.

Baruselli et al (2002a), estudaram também o efeito da administração de GnRH 7 dias antes do início do protocolo ovsynch, em dois experimentos. O primeiro experimento 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 somente recebeu o protocolo ovsynch. Após 24 h da pré-sincronização com GnRH, os autores observaram que no G1 52,9% das búfalas havia ovulado e no G2 62%. A taxa de ovulação em G1 e G2, após a segunda dose de GnRH, foi de 70% e 50% respectivamente, não havendo diferenças estatísticas. No experimento dois foram também usados os mesmos protocolos G1 e G2, as taxas de concepção foram para G1 de 56% e G2 de 39,5%. 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.

Baruselli et al. (2002b), avaliaram a eficiência de diferentes protocolos de sincronização de ovulação com IATF em búfalas. O grupo 1 recebeu como tratamento o seguinte protocolo: CIRD/BE + PGF2 α + eCG com I.A 14 h depois da última aplicação. O grupo 2 recebeu como tratamento GnRH + PGF2 α + GnRH. A taxa de concepção dos grupos foi de 53,5% e 28,2% respectivamente para G1 e G2 (P<0,01). Os autores concluíram que o tratamento com progestágenos + eCG + hCG apresentou resultados satisfatórios na taxa de concepção de búfalas.

Ainda Baruselli et al. (2003), realizaram um outro estudo objetivando verificar a eficiência da utilização do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR – B) associado ao protocolo ovsynch para a IATF. Foram utilizadas 171 búfalas divididas em dois grupos. O grupo 1 (n=65) recebeu o protocolo ovsynch tradicional. No grupo 2 (n= 106) recebeu o protocolo ovsynch + P4 . Todas as búfalas foram inseminadas 16 h após a última aplicação, a taxa de concepção G1 e G2 foram respectivamente de 55,4% e 57,5%.

Também Camelo (2002) avaliou diferentes horários na inseminação artificial em tempo fixo em búfalas após o uso do protocolo ovsynch com taxa de prenhez de 37,29% e verificou que a IATF em diferentes horários, não influenciou na taxa de prenhez ($P=0,1208$), porém foi observado que um dos grupos obteve um maior desempenho quando inseminados num período de 8h à 12h, sugerindo assim maiores estudos comparativos quanto a melhor hora da I.A nesta espécie quando submetidas ao protocolo ovsynch.

Queiroz (2003) trabalhando com 30 búfalas com $ECC \geq 3,0$ criadas em regime de várzea, na região do médio amazonas, obteve através do protocolo ovsynch uma taxa de prenhez de 53,3% , demonstrando resultados satisfatórios dentro da média nacional.

De Rensis et al, (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 através 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 método ovsynch associado a um progestágenos na taxa de prenhez de búfalas criadas na Amazônia, os animais foram divididos em dois grupos, o grupo I recebeu o tratamento GnRH+CIRD /PGF2 α / GnRH, e as búfalas do grupo II, o tratamento foi GnRH/ PGF2 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 progestágenos mostrou-se eficaz na sincronização da ovulação e na taxa de prenhez.

Silva.R et al. (2003), compararam em búfalas a eficiência entre dois protocolos de sincronização da ovulação para IATF, o experimento foi constituído de dois grupos sendo o grupo I testado o protocolo ovsynch e no grupo II usou-se também o protocolo ovsynch, com

a diferença de esse grupo ter sido pré-sincronizado com $\text{PGF2}\alpha$. As taxas de prenhez para os dois grupos não diferiram estatisticamente e foram respectivamente de 31,82% e 30%.

Malfatti et al, (2003). verificaram a sincronização de búfalas utilizando PRID + PMSG associado ou não ao GnRH para antecipar o pico de LH e o momento da ovulação. Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo A (n=10) recebeu o seguinte tratamento como protocolo: PRID (1,55 g de progesterona + 10 mg de BE) por 10 dias, sendo que no 8º dia recebeu a administração de 1000UI de PMSG + 0,15 mg de $\text{PGF2}\alpha$. O grupo B recebeu o mesmo tratamento que o grupo A sendo que recebeu 100µg de GnRH 16 h antes da I.A. Nos dois grupos os animais foram inseminados 72 à 96 h após a remoção do PRID. A taxa de fertilidade nos dois grupos foi de 63,1%. O pico de LH foi observado antes do momento da injeção ou não do GnRH em 66,6% e 50% respectivamente no grupo A e B.

Ronci e De Rensis (2005), estudaram em búfalas pluríparas a eficácia do protocolo original ovsynch (Grupo 1) que consistiu no dia 0 aplicação da 1ª dose de GnRH no dia 7 aplicação de $\text{PGF2}\alpha$ e no dia 9 a 2ª dose de GnRH com I.A 16 -22 h após a 2ª dose de GnRH, comparado a um segundo protocolo que consistiu em duas doses de $\text{PGF2}\alpha$ 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 ultrassom para avaliar a resposta folicular aos tratamentos. As taxas de prenhez obtida foram de 56% e de 47.5% respectivamente não havendo diferença estatística entre os tratamentos.

Linpinski et al. (2005), avaliaram a IATF em búfalas, com $\text{ECC}=3,5$, onde na escala 1 (muito magra) a 5 (muito gorda) e fora do período de reprodução. Os animais foram divididos em três grupos. Sendo o grupo I, composto por animais que receberam tratamento: no dia zero pessário vaginal de poliuretano impregnado com 350mg de medroxi progesterona (MAP) + 2mg intra-muscular de benzoato de estradiol (BE) + 25mg intra-muscular de MAP, no dia 9 o pessário vaginal foi retirado e aplicado 150µg de d-cloprostenol e mais 500 UI de eCG, no dia 11 os animais receberam 1000 UI de hCG (IV), 56h após a

retirada do pessário era executada a IATF. As búfalas do grupo II recebeu o mesmo tratamento do grupo I, à exceção do eCG; O grupo III receberam o seguinte tratamento: no dia zero DIB + 2mg BE, no dia 9 retirou-se o DIB e foi aplicado 150 µg de d-cloprostenol + 500UI de eCG, no dia 11 foi aplicado 1000 UI hCG (IV) e 56 h após a retirado do DIB executou-se a IATF. Os resultados observados para taxa de prenhez foram: grupo I 39,4%, grupo II 22,2% e grupo III 42,8%. Os autores demonstraram que houve significância ($P < 0,05$) em prol do grupo III quando comparado aos demais, concluíram que os protocolos que utilizaram progestágenos associados ao eCG e ao hCG, mostram-se eficientes na indução ao estro e na taxa de prenhez, na baixa estação.

Objetivando aumentar a taxa de prenhez, em búfalas criadas em dois diferentes regimes de produção, Ribeiro et al. (2005), realizaram dois experimentos, em ambos usaram esteróides nos protocolos de IATF. No primeiro experimento (semi-intensivo), no (G1), no dia 0, usaram um dispositivo intra-vaginal de progesterona e Benzoato de Estradiol, no dia oito PGF2 α , no dia nove Benzoato de Estradiol e inseminaram 24hs após a última dose de BE. O G2 recebeu o mesmo tratamento que G1, com exceção da progesterona. No segundo experimento (semi-extensivo), o G1 recebeu o dispositivo vaginal de progesterona/GnRH + PGF2 α + GnRH com I.A 16h após a última dose de GnRH, já o grupo G2 recebeu o protocolo Ovsynch. A taxa de prenhez no primeiro experimento (semi-intensivo) foi de 71,35% no G1 e de 59,75% no G2 ($P > 0,05$). No segundo experimento, a taxa de prenhez foi de 65,5% para G1 e 60% para G2 ($P > 0,05$). Os autores concluíram que nos diferentes tipos de manejo da região amazônica, o uso da progesterona intra-vaginal nos protocolos de IATF em búfalas mostrou-se eficiente.

Carvalho et al. (2005), verificaram o efeito de dispositivos de progesterona (novo e reutilizado) e de indutores da ovulação (hCG e GnRH) na taxa de ovulação de búfala na estação reprodutiva desfavorável. Pelos resultados, os autores não verificaram diferenças

estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Eles concluíram que os dispositivos (novo e reutilizado) associados aos hCG e GnRH apresentaram a mesma eficiência para sincronizar e induzir a ovulação em búfalas fora da estação reprodutiva. Eles indicaram que é possível reutilizar os implantes de progesterona e induzir a ovulação com GnRH, diminuindo os custos do protocolo de IATF.

Na estação reprodutiva favorável, Stella et al. (2005), avaliaram a taxa de ovulação em fêmeas bubalinas submetidas a três diferentes protocolos com CRESTAR. Todos os animais em (G1, G2 e G3), receberam um implante auricular para liberação de progesterona/ BE + PGF2 α , sendo que o G1 e o G3 receberam também, eCG + hCG, com I.A 56h após a PGF2 α , tendo as taxas de ovulação nos três grupos (G1, G2 e G3) de 62,5%, 50,0% e 75% respectivamente. Os autores não verificaram diferença estatística na taxa de ovulação.

Pellerano et al. (2005a), na argentina estudaram em búfalas, a influência da estação favorável e desfavorável ao uso do protocolo ovsynch tradicional associado ao dispositivo de progesterona e a taxa da prenhez na primeira IATF, assim como na resincronização. O grupo 1 e o grupo 2 foram sincronizadas na época reprodutiva favorável e o grupo 3 na época reprodutiva desfavorável: O grupo 1 recebeu o protocolo ovsynch, sendo administrado no dia zero a 1^o dose de GnRH, no dia 7 uma dose de PGF2 α e no dia 9 a 2^o dose de GnRH o grupo 2 e 3 receberam o mesmo protocolo que o grupo 1, sendo que associado a um dispositivo intra-vaginal de progesterona. Os três grupos foram inseminados no dia 10, 16h após a administração da 2^o dose de GnRH. Dezoito dias após as inseminações foi realizada uma resincronização, sendo administrada uma dose de GnRH em todas as fêmeas inseminadas e dispositivo intravaginal foi utilizado preventivamente nas fêmeas do grupo 2 e 3. No dia 25 foi realizado o diagnóstico de prenhez através do ultrassom. Nos animais negativos para prenhez foi administrada uma dose de PGF2 α e continuou um protocolo similar ao da sincronização. No dia 29 as fêmeas foram inseminadas artificialmente, após 30 dias da

segunda inseminação artificial foi realizado o resultado final da prenhez. O resultado da taxa de prenhez na primeira sincronização foi respectivamente de 66,6%, 40,5%, 33,3% nos grupos 1, 2 e 3. Na segunda sincronização os resultados obtidos foram de 33,3%, 40,9% e 0% respectivamente no grupo 1, 2 e 3 o resultado final da prenhez foi de 77,7%, 64,9% e 33,3% nos grupos 1, 2 e 3. Os resultados demonstram que se pode utilizar a IATF tanto na época favorável como na época desfavorável.

Pellerano et al. (2005b) na Argentina, compararam os resultados da taxa de prenhez utilizando o protocolo ovsynch tradicional e o protocolo Ovsynch modificado, onde a segunda dose de GnRH foi associada a ½ dose e dose inteira de cipionato de estradiol (CE). O experimento foi em três grupos de búfalas. O grupo 1 (n= 20) recebeu o protocolo ovsynch tradicional, o grupo 2 (n= 18) recebeu o protocolo ovsynch, sendo que a 2ª dose de GnRH foi associada a ½ dose de CE (3ml), o grupo 3 (n= 18) recebeu o mesmo tratamento que o grupo 2 sendo que nesse grupo a dose de CE foi total (6ml). A taxa de prenhez foi de 30%, 11,1% e 11,1 % respectivamente no grupo G1, G2 e G3, havendo diferença estatística de G1 quando comparado ao G2 e G3 (P<0,05).

Barile et al. (2005), compararam a eficiência de diferentes protocolos de sincronização de estro e da IATF em 141 búfalas, em sete diferentes fazendas. Foram realizados dois tratamentos: O grupo 1 recebeu o tratamento: PRID + (PMSG+ PGF2 α) e o grupo 2 o protocolo ovsynch tradicional. O grupo 1 foi inseminado às 72 e 96 horas após remoção do PRID e o grupo 2, inseminado 84 horas após a aplicação da PGF2 α . A taxa de prenhez foi similar nas diferentes fazendas, a taxa de concepção total foi 35,46%, a taxa de prenhez foi de 43,66% e de 27,14% respectivamente nos grupos G1 e G2 (P<0,05).

Como resultados preliminares, Neglia et al. (2005) na Itália, avaliaram o efeito da administração intravenosa de PGF2 α no dia da I.A, utilizando 116 búfalas multíparas e 57 novilhas em lactação, sincronizadas pelo protocolo ovsynch. Cada búfala foi inseminada duas

vezes, 16 e 40 horas após a segunda aplicação de GnRH. No dia da primeira inseminação, o grupo A recebeu uma aplicação intravenosa de PGF2 α (Cloprostenol) e o grupo B não recebeu nenhuma aplicação. O diagnóstico de gestação foi realizado 26 dias após as inseminações, através do ultra-som. Os autores encontram uma maior taxa de prenhez no grupo A, tanto nas vacas, quanto nas novilhas, embora não estatisticamente significativa.

Pacelli et al. (2005), estudaram o uso do PRID associado ao PMSG para indução de cio, comparando com o protocolo ovsynch tradicional em 163 novilhas búfalas, em seis diferentes fazendas. No início do experimento, as novilhas tinham em média $27,2 \pm 7.2$ meses de idade. O experimento foi realizado no período de fevereiro até abril, em dois diferentes anos. Os animais foram divididos em dois grupos: grupo I (PRID por 10 dias+ 1000UI PMSG e PGF2 α no sétimo dia e IATF 48 e 72 horas após a retirada do PRID). O grupo II foi inseminado 60 e 84 horas após a PGF2 α . A taxa de prenhez no total foi de 32,5% e não foi diferente significativamente entre as fazendas, entre as classes da idade, entre os meses e entre os anos. A taxa de prenhez no grupo PRID foi maior que no grupo ovsynch.

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.

Em 94 búfalas inseminadas em tempo fixo na estação chuvosa e não chuvosa na região Nordeste do Estado do Pará, Ribeiro et al. (2006) avaliaram a eficiência da sincronização da ovulação com duas doses de eCG, nos protocolos (BE+P4) no dia 0; (PGF2 α +eCG) no dia oito, na retirada da P4 ; BE no dia nove; IATF no dia 10. Vinte quatro animais foram inseminados na época chuvosa e foram divididos em dois Grupos: No grupo I foi utilizado um

dispositivo intra-vaginal de progesterona (P_4) reutilizado (2º Uso) e no grupo II, um dispositivo de progesterona novo. Na estação menos chuvosa, os autores utilizaram 70 animais, divididos em três grupos: No grupo I, foi utilizado um dispositivo de progesterona novo, no grupo II, um dispositivo reutilizado (2º Uso) e no grupo III foi realizado o protocolo ovsynch. Os animais tratados com progesterona receberam doses de eCG (400 e 300UI). A taxa de prenhez dos animais inseminados na época chuvosa e na época seca, foi de 41,6% e 50% ($P < 0,05$) respectivamente. A taxa de prenhez do grupo com progesterona novo foi de 41,6% e de segundo uso também, 41,6%. A taxa de prenhez dos grupos com progesterona novo e eCG (400UI) foi de 25% e no grupo de progesterona segundo uso e eCG (300UI) foi de 50%, As búfalas do protocolo ovsynch a taxa de prenhez foi de 66,6%.

Vale et al, (2006) estudaram o uso de hormônios para sincronização da ovulação e IATF na estação reprodutiva favorável e desfavorável. O experimento foi realizado em duas fazendas. A fazenda “A” foi realizada na região Amazônica na época favorável à reprodução no período de abril a maio, com 45 animais e $ECC > 3$ foram divididos em três grupos, sendo utilizado o protocolo ovsynch usando o seguinte esquema: GI, GII e GIII todos com 15 animais e IATF às 0:00h, 12:00h e 24:00h respectivamente. A taxa de prenhez usando o protocolo ovsynch foi de 53,33% em GI, 66,7% em GII e 46,67% em GIII. Na época desfavorável o experimento foi realizado na fazenda B região central do Brasil numa região de savana, onde foi avaliado o efeito do BE+ DIB, $PGF_{2\alpha}$, hCG, eCG e GnRH na IATF, dividido em dois grupos, utilizando, no grupo GI DIB+hCG e no GII DIB+ GnRH a taxa de prenhez foi de 53,3% e 46,3% respectivamente.

Vale estudando o protocolo CL-synch em 28 búfalas amamentando com $ECC > 3.0$ onde a presença do CL foi diagnosticado por palpação e confirmado por ultra-sonografia. No dia 0 (presença do CL) foi aplicado 2 ml $PGF_{2\alpha}$ e 48 horas 1 ml (100 μ g) GnRH com a IA 24 horas após. Dos 28 animais utilizados no presente experimento, 20 (71,4%) ficaram gestantes

com a primeira IA e as outras 8 foram inseminadas com o próximo cio natural, quando 5 ficaram gestantes e as outras 3 fêmeas, foram acasaladas com o touro e ficaram gestantes (informação verbal)².

3.2 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 para 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 uma queda na fertilidade. Conseqüentemente, o bom estado nutricional do rebanho é fundamental para o sucesso do manejo reprodutivo em bubalinos.

De acordo com Wright et al. (1992) foi descrito que em bovinos a influência do escore de condição corporal (ECC) sobre a frequência dos pulsos de LH parece ser mediado através de um efeito na frequência de liberação do GnRH do hipotálamo, onde uma disfunção do hipotálamo por deficiente ingestão de nutrientes parece ser a causa da inatividade ovárica, cuja duração estará relacionada à severidade da deficiência. A condição corporal é relatada em bovinos como um bom indicativo do funcionamento dos sistemas orgânicos, e apresenta grande relação com a atividade ovariana luteal cíclica (SARTUNINO e DIAS, 1993).

A clássica deficiência ou excesso de nutrientes e o balanço energético negativo pós-parto em bovinos tem grande impacto na fertilidade uma vez que o consumo inadequado de energia e proteína, refletidas por baixa condição corporal são apontadas como causas de diminuição da expressão ou ausência do cio, assim como, decréscimo na taxa de concepção e

² Resultados fornecidos pelo Prof^o Dr^o Willian Gomes Vale, na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém, em junho de 2006.

anestro prolongado. (VALE, 1997; BARUSELLI et al, 1997; ZICARELLI et al, 1997; SAMARA. et al 1993; HAFEZ, 1995; GORDON,1996)

Jolly et al. (1995) evidenciaram que em bovinos, a subalimentação moderada antes e após o parto, influencia na maturação do folículo ou na ovulação, no caso acentuado influencia no crescimento e regressão do folículo dominante, numa severa subnutrição pode ocorrer a ausência de folículo.

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, foi verificado, que as búfalas manifestaram cio na época de escassez de alimento, ou seja, quando estavam perdendo peso.

Esse mesmo autor realizou uma pesquisa com 476 búfalas visando correlacionar a condição corporal ao parto com os índices reprodutivos de búfalas inseminadas artificialmente e obteve os seguintes resultados. Comparando a condição corporal ao parto com o primeiro cio pós-parto, observou que vaca com $ECC \leq 2,5$ manifestavam 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 60 a 40 dias pós parto respectivamente. Outro parâmetro analisado foi o percentual de anestro pós parto versus ECC , (BARUSELLI et al, 1995) obtiveram uma percentagem de 50% em média de anestro em búfalas com condição corporal $\leq 2,5$ ao passo que aquelas com condição corporal entre 3,0 e 3,5 apresentaram uma percentagem de 25% em média, búfalas com condição corporal 5, tiveram uma percentagem um pouco maior de anestro do que aquelas que possuíam condição corporal 4,5 em média menor que 5% (BARUSELLI et al, 1995)

No experimento acima citado, também foram analisados o número de dose/ concepção versus condição corporal, animais com condição corporal 2,0 necessitaram de 2,8 de dose/concepção, enquanto animais com condição corporal entre 3,0 e 4,5 necessitavam em

média de 1,8 de dose/concepção. Entretanto ao contrário do esperado, animais com condição corporal 5,0 necessitavam de 2,8 de dose/concepção (BARUSELLI et al, 1995).

Também foi avaliado nesse mesmo experimento, o período de serviço de acordo com a condição corporal ao parto e observou-se que animais com condição corporal 2,0 possuíam um período de serviço maior que 115 dias e animais com condição corporal entre 3,0 e 3,5 em média, possuíam um período de serviço de 85 dias enquanto que animais com condição corporal entre 4,0 e 4,5 tinha entre 75 e 80 dias de período de serviço respectivamente, já os animais com condição corporal 5,0 aumentaram o período de serviço ficando em média em 80 dias (BARUSELLI et al, 1995).

Foi também estabelecida à correlação entre a taxa de concepção e a ECC ao parto, os autores observaram que animais com ECC 2,0 a 2,5 possuíam uma taxa de concepção em média de 30%, animais com condição corporal 3,0 a 3,5 possuíam em média 75% de taxa de concepção, enquanto animais com condição corporal 4,0 a 4,5 possuíam uma taxa de concepção de 80%, notou-se que animais com condição corporal 5,0 diminuíram a taxa de concepção que ficou em torno de 65%. De acordo com os autores, esse fato revelou uma queda da eficiência reprodutiva em búfalas que pariram extremamente gordas (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 a qual apresentaram taxa de concepção média de 50,2%, sendo observada uma taxa de 39,7% em animais com condição corporal $\leq 3,0$, um taxa 53,9% em animais com condição corporal 3,5, e uma taxa de 56,7% em animais com ECC $\geq 4,0$, os autores sugeriram que as búfalas devem 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) 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 %.

3.3 CUSTOS

Baruselli et al. (2001a) estudando a viabilidade do uso do protocolo ovsynch testaram doses hormonais reduzidas, buscando diminuir o custo por prenhez em bubalinos. No primeiro experimento, compararam dois análogos do GnRH (Acetato de buserelina vs. Lecirelina) em doses normais e reduzidas (Tabela 1) e verificaram uma taxa de prenhez maior nas búfalas do experimento dois. Descreveram que o custo por prenhez no experimento 1 com dose reduzida, foi 23,74 % menor quando comparado à dose completa e que no experimento 2 o custo por prenhez na dose reduzida foi 21,93 % menor, quando comparada à dose completa. Porém, verificaram que o custo por prenhez diminuiu do experimento 1 para o 2, em 49,05 % na dose completa e em 43,96 % na dose reduzida, respectivamente.

Tabela 1 - Análise de custo da sincronização da ovulação com GnRH - PGF₂α - GnRH para inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos com redução das doses do primeiro GnRH (Acetato de buserelina, 20 µg vs 10 µg e Lecirelina, 50 µg vs 25 µg). São Paulo, 2001.

| Itens | Experimento 1 (Acetato de buserelina) | | Experimento 2 (Lecirelina) | |
|-------------------------|--|-----------|-------------------------------|-----------|
| | Dose total | Meia dose | Dose total | Meia dose |
| Número de animais | 84 | 86 | 155 | 157 |
| Número de Prenhez | 47 | 45 | 76 | 76 |
| Total por búfala (R\$) | 32,29 | 23,00 | 14,40 | 11,10 |
| Total por prenhez (R\$) | 57,64 | 43,96 | 29,37 | 22,93 |

Fonte: Baruselli (2001).

Em um segundo experimento Baruselli et al., (2001a) testando a metade da dose recomendada de PGF₂α no protocolo ovsynch, observaram que a taxa de prenhez foi similar (55,95 % e 49,03 %) entre o experimento um e dois, com um custo por prenhez de 32,34 % menor utilizando a dose reduzida de PGF₂α (tabela 2).

Tabela 2 - Análise de custo da sincronização da ovulação com GnRH - PGF₂α - GnRH para inseminação artificial em tempo fixo em bubalinos com redução da dose de prostaglandina (d-Cloprostenol sódico, 75 µg vs 150 µg). São Paulo, 2001.

| Itens | Experimento 1 | Experimento 2 |
|-------------------------|-------------------|----------------------------|
| | (1/2 dose; 75 µg) | (Dose recomendada; 150 µg) |
| Número de animais | 125 | 137 |
| Número de Prenhez | 60 | 56 |
| Total por búfala (R\$) | 8,85 | 11,10 |
| Total por prenhez (R\$) | 18,44 | 27,25 |

Fonte: Baruselli (2001).

Camelo 2002 numa região de várzea obteve um custo total com os hormônios de R\$ 31,51 por búfala tratada e R\$ 84,50 por búfala prenhe (tabela 3).

Tabela 3 - Análise de custo da sincronização da ovulação nos grupos GI e GII com GnRH - PGF₂α - GnRH para inseminação artificial em tempo pré-determinado e grupo GIII com cio natural, criados extensivamente em áreas de várzea amazônica.

| Itens | Grupos GI e GII | | Grupo GIII |
|---|-----------------|----------------------------|-----------------------|
| | Hormônios | Hormônios + Inseminador | |
| Numero de animais | 59 | 59 | 15 |
| Número de Prenhez ³ | 22 | 22 | 11 |
| Custo do GnRH ⁴ por búfala (R\$) | 27,40 | 27,40 | - |
| Custo do GnRH ⁵ por Prenhez (R\$) | 73,48 | 73,48 | - |
| Custo da PGF ₂ α ⁶ por búfala (R\$) | 4,11 | 4,11 | - |
| Custo da PGF ₂ α por Prenhez (R\$) | 11,02 | 11,02 | - |
| Custo com inseminador (R\$) | - | 187.50 ⁷ | 1.500,00 ⁸ |
| Total Por búfala (R\$) | 31,51 | 34,69 | 100,00 |
| Total por Prenhez (R\$) | 84,50 | 93,03 | 136,36 |

Conceição 2003 na região Amazônica observou que o custo total do seu experimento variou com relação às fazendas. Na Fazenda A foi de R\$ 12,50 por búfala tratada e de R\$ 44,53 por búfala prenhe, calculado somente sobre os custos hormonais. Na Fazenda B foi de R\$ 12,50 por búfala tratada e de R\$ 46,18 por búfala prenhe nesta foi levado em consideração os custos hormonais, mais os custos com o inseminador. (Tabela 4)

³ Número de búfalas prenhe pelo método de palpação retal aos 45 a 60 dias após a IA.

⁴ Custo do hormônio por cada dose orçado na Tortuga companhia zootécnica agrária. prostaglandina Tortuga (D+cloprostenol) R\$ 4,11 e Profertil (Gonadorelina = GnRH) R\$ 27,40.

⁵ Custo por prenhez foi calculado dividindo o total do custo com os hormônios pelo número de búfala prenhe.

⁶ Valor de 2,5 salários mínimos vigentes na época do experimento igual a r\$ 375,00.

⁷ Valor correspondente a 15 dias.

⁸ Valor correspondente a 120 dias.

TABELA 4 - Análise de custo da aplicação do protocolo ovsynch nas búfalas com inseminação artificial em tempo fixa de 00:00h e 24:00h nas fazendas pública e particular no Estado do Pará.

| Itens | Fazendas | | Fazendas (A e B) |
|---|----------|----------------------|----------------------|
| | A | B | |
| Numero de animais | 57 | 45 | 102 |
| Número de Prenhez ⁹ | 16 | 19 | 35 |
| Custo do GnRH ¹⁰ por búfala (R\$) | 8,00 | 8,00 | 16,00 |
| Custo do GnRH ¹¹ por Prenhez (R\$) | 28,50 | 18,94 | 47,44 |
| Custo da PGF ₂ α por búfala (R\$) | 4,50 | 4,50 | 9,00 |
| Custo da PGF ₂ α por Prenhez (R\$) | 16,03 | 10,58 | 26,61 |
| Custo com inseminador (R\$) ¹² | - | 250,00 ¹³ | 250,00 ¹⁴ |
| Total Por búfala (R\$) | 12,50 | 12,50 | 25,00 |
| Total por Prenhez (R\$) | 44,53 | 46,18 | 90,71 |

⁹ Número de Prenhez, pelo método de palpação retal.

¹⁰ Custo do hormônio por cada dose orçado em pontos comerciais locais. Ciosin (Cloprostenol) R\$ 5,00 e Profertil (Gonadorelina = GnRH) R\$ 4,00.

¹¹ Custo por prenhez foi calculado dividindo o total do custo com os hormônios pelo número de búfalas prenhes.

¹² Valor de 2,5 salários mínimos vigentes na época do experimento igual a R\$ 500,00.

¹³ Valor correspondente a 15 dias.

¹⁴ Valor correspondente a 15 dias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DESCRITIVO

O experimento foi realizado na Fazenda Agropecuária Motogeral LTDA, distante 148 km da cidade de Macapá (Fig. 1), estado do Amapá, localizada no Leste do referido estado. No período de 28/11/2004 á 17/02/2005 na estação favorável à reprodução, à margem direita do Rio Piririm, Município de Itaubal, localizada a $00^{\circ} 45'48.93''$ de Latitude Norte e $50^{\circ} 33'33.32''$ de Longitude Oeste (Fig. 2), em uma região de várzea.

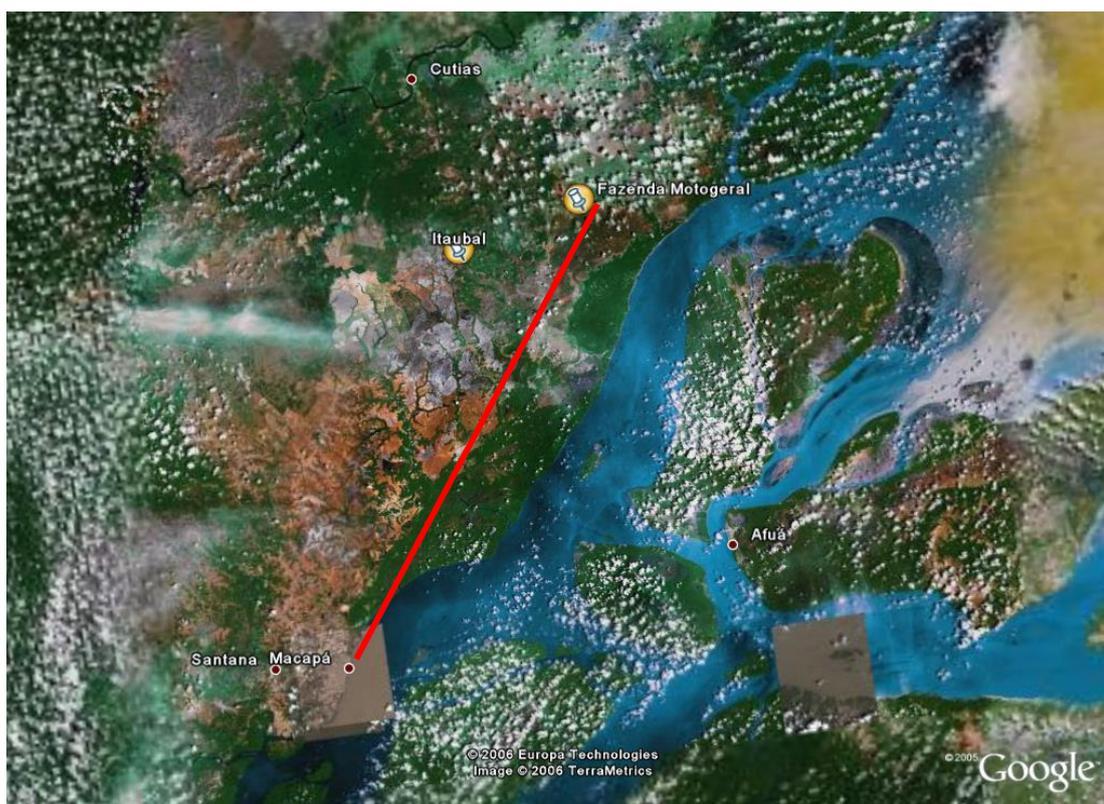


Figura 1: imagem de satélite mostrando o município de Cutias, o município de Itaubal, a fazenda motogeral e a distancia para capital Macapá.

Fonte: Google Earth (2006)

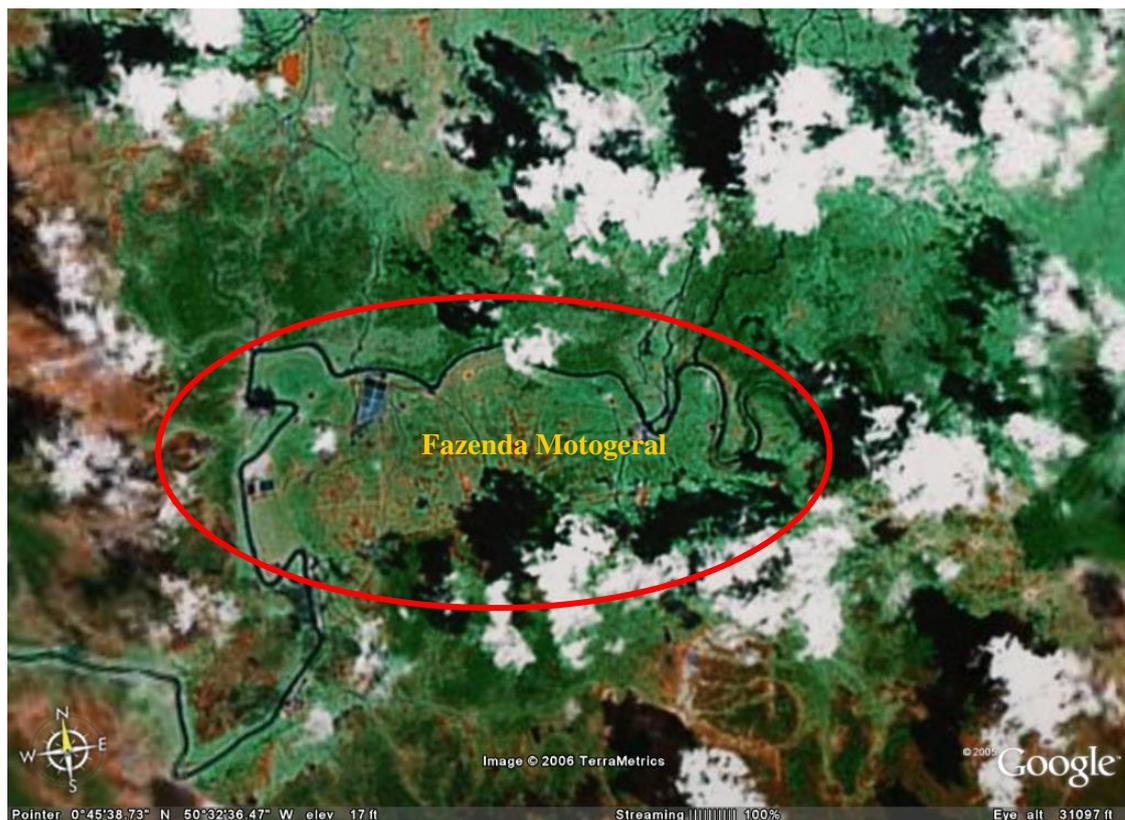


Figura 2: imagem de satélite mostrando a fazenda motogeral.
Fonte: Google Earth (2006)

O clima predominante é o tropical úmido, no Amapá ocorre à 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 (IEPA, 2005).

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. Percebe-se uma grande diminuição na precipitação, da ordem de 1.700mm, partindo do nordeste/leste (média de 4.000mm) em direção ao oeste sudeste (média de 2.300mm). As precipitações mais elevadas no nordeste e a leste do estado,

em relação ao interior, podem ser explicadas pelas proximidades da costa atlântica e do canal do norte do Rio Amazonas (IEPA, 2005).

O acesso à fazenda é por via rodoviária e fluvial (8 km) (Fig. 4). A fazenda mantém um rebanho bubalino mestiço predominando as raças Mediterrâneo e Murrah (*Bubalus bubalis*) destinado para cria, recria e engorda e atualmente a venda de novilhas e reprodutores produtos de inseminação artificial.



Figura 4 - Tipos de transporte utilizado para acesso à fazenda, localizados em áreas de várzeas da região Amazônica.

Na topografia local predomina as áreas de várzea flúvio-marítimas inundadas sazonalmente pelo Rio Piririm nos meses de fevereiro a julho (Fig. 5) apresentando um período intermediário de vazante agosto a setembro, onde o solo mostra-se encharcado, sem drenagem, exigindo um desgaste maior de energia dos animais na procura por alimento e um período seco (Fig 6) de outubro a janeiro, período em que o estudo foi realizado.



Figura 5 – Manejo dos animais utilizando a canoa, na estação das enchentes, nas várzeas baixa de Rio Amazonas e seus afluentes.



Figura 6 – Manejo dos animais utilizando o cavalo, período seco em que o estudo foi realizado.

4.1 1 Manejo dos animais

O rebanho de inseminação era constituído de 250 fêmeas que foram selecionados de acordo com o padrão zootécnico, sanitário e reprodutivo. Em função do sistema de criação

extensiva apenas 93 búfalas constituíram o grupo experimental e o grupo controle da referida estação.

O manejo dos reprodutores da fazenda foi realizado quatro meses antes do início do tratamento, os mesmos foram separados do lote de fêmeas ao qual faziam parte do grupo experimental e do controle, sendo algemados com correntes que cruzavam-se entre si formando a letra “X” nas patas dianteiras (Fig. 7) a fim de impossibilitar a copula com as fêmeas separadas para o experimento. Esses reprodutores eram constantemente vigiados, quanto aos machos das fazendas circunvizinhas quando encontrados na propriedade, eram presos e imediatamente era avisado ao seu proprietário, caso os mesmos não fossem recapturados era realizado a epididimoectomia.



Figura 7 - Manejo realizado com os reprodutores da fazenda a fim de impossibilitar a copula com os animais separados para o experimento.

Foram selecionados para o presente experimento 93 animais registrados zootecnicamente com idade média de cinco (05) anos, identificados por números individuais marcadas a fogo no chifre, tatuagem na face interna da orelha e ou parte inferior da cauda, sendo a grande maioria pluríparas, foram realizados os exames de brucelose e tuberculose e controle de endo e ectoparasitas como controle sanitário.

O controle reprodutivo foi realizado através de fichas individuais que eram atualizadas de três em três meses. Nestas, constavam dados gerais do animal e dados reprodutivos tais como: data provável de parto; de possível aborto; observação de cio e retorno ao cio; estruturas ovarianas; útero; data da I.A; protocolo utilizado na sincronização; sêmen utilizado na I.A; ECC em todas as etapas do experimento e o histórico do animal que eram coletados a partir de informações obtida dos tratadores dos animais e repassadas para as fichas.

Os animais foram mantidos em regime de manejo rotacional a campo, em pastagem nativa de “capim de marreco” (*Paspalum conjugatum*), no período de vazante e “capim rabo de rato” (*Hymenache amplexicaulis*) e “mururé” (*Eichhornia crassipes*) no período de enchentes, não sendo fornecido nenhuma suplementação mineral. As búfalas foram manejadas em piquetes, de aproximadamente 50 hectares cada.

Durante o tratamento, as fêmeas foram marcadas no flanco direito com tinta branca atóxica e no chifre esquerdo de tinta vermelha para melhor controle e visualização do lote. Essa marcação era refeita a cada comparecimento das mesmas para aplicação de hormônios. Caso alguma se separasse do restante do lote era imediatamente contabilizada e procurada pelos tratadores para administração do hormônio em tempo hábil para a continuação do tratamento.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 Avaliação dos Animais

Os animais foram submetidos previamente a exames ginecológicos via palpação retal, seguindo-se a metodologia preconizada por Grunert e Gregory (1989). Posteriormente, foram selecionadas para o presente experimento somente os animais sem alterações clínicas no

aparelho reprodutor, com ou sem evidência de corpo lúteo palpável nos ovários, como indicativo de ciclicidade ou anestro.

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 e RIBEIRO, 1996). Para melhor estudo e análise estatística as búfalas foram classificadas em $ECC \geq 2,5$ e $ECC < 2,5$, sendo então classificados como “bom” aquelas com $ECC \geq 2,5$ e “ruim” com $ECC < 2,5$ segundo o estado nutricional de acordo com o ECC no dia do tratamento.

4.2.2 Grupos Experimentais

O experimento foi composto por quatro grupos, sendo o número de animais de cada grupo e o tratamento recebido demonstrado conforme a tabela 5 abaixo.

Tabela 5 - Grupos Experimentais e Tratamentos

| Grupo | Número | Tratamentos |
|---------|--------|---|
| Grupo 1 | 20 | Ovsynch (GnRH)+ (PGF2 α)+(GnRH) |
| Grupo 2 | 29 | (Progesterona +GnRH) + PGF2 α + GnRH |
| Grupo 3 | 21 | (Palpação C. L + PGF2 α) + GnRH |
| Grupo 4 | 23 | Sem tratamento |
| Total | 93 | |

4.2.3 Tratamentos, drogas e doses.

O grupo 1 foi composto por 20 búfalas, as quais após avaliação ginecológica e avaliação do escore de condição corporal ($\geq 2,5$), receberam como tratamento o protocolo ovsynch: no dia zero (quinta a tarde) aplicação intra- muscular da primeira dose de GnRH, (Lecirelina) (1ml/25 μ g), sete dia após (quinta a tarde) aplicação intra-muscular da D+cloprostenol PGF₂ α ¹⁵ (2ml/150 μ g). No nono dia (sábado a tarde) receberam aplicação intra-muscular da segunda dose de GnRH (1ml/25 μ g) e no décimo dia (domingo pela manhã) ocorreu a inseminação artificial (Fig. 8).

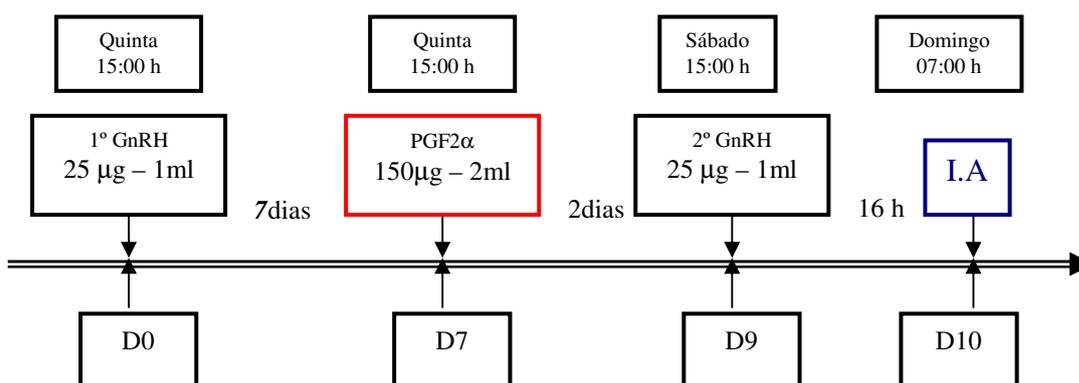


FIGURA 8 – Esquemática do protocolo “Ovsynch” utilizado em 20 búfalas criadas em áreas de várzeas no Estado do Amapá. GnRH = Gestran Plus(Lecirelina), Laboratório Tecnopec e PGF₂ α = Prostaglandina (D+Cloprostenol), Laboratório Tortuga.

O grupo 2 foi constituído por 29 búfalas, as quais após avaliação ginecológica e escore corporal ($\geq 2,5$) receberam como tratamento o protocolo progesterona + ovsynch: no dia zero (quinta a tarde) aplicação intra- muscular da primeira dose de GnRH¹⁶, (1ml/25 μ g) associado

¹⁵ PGF₂ α = Prostaglandina Tortuga (D+Cloprostenol) Laboratório Tortuga

¹⁶ GnRH = Gestran Plus (Lecirelina) Laboratório Tecnopec.

a introdução do dispositivo intra-vaginal (DIB)¹⁷, contendo progesterona natural 1,0g. Sete dias após (quinta a tarde) foi realizada a aplicação intra-muscular da D+cloprostenol PGF₂ α (2ml/150 μ g) e a retirada do dispositivo intravaginal (DIB). No nono dia (sábado a tarde) ocorreu a aplicação intra-muscular da segunda dose de GnRH (1ml/25 μ g) e no décimo dia (domingo pela manhã) inseminação artificial sem detecção de cio (Fig. 9).

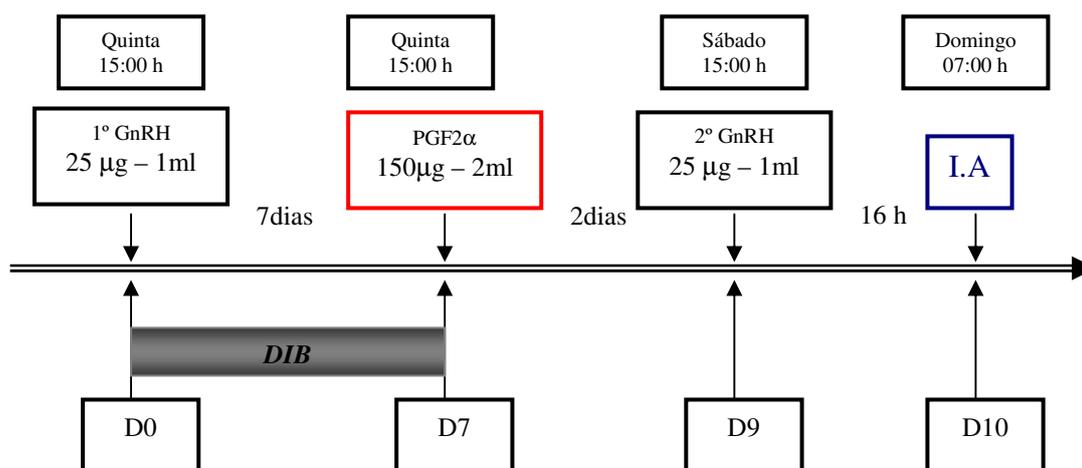


FIGURA 9 – Esquemática do protocolo DIB- synch utilizado em 29 búfalas criadas em áreas de várzeas no Estado do Amapá. GnRH = Gestran Plus(Lecirelina), Laboratório Tecnopec; PGF₂ α = Prostagladina (D+Cloprostenol), Laboratório Tortuga e DIB = Dispositivo Intravaginal Bovino (Progesterona) Laboratório Tecnopec.

O grupo 3 foi constituído por 21 búfalas, as quais após avaliação ginecológica e avaliação do escore de condição corporal ($\geq 2,0$) receberam como tratamento o protocolo que consistiu em prévia palpação e identificação do corpo lúteo (CL): no dia zero (quinta a tarde) aplicação intra-muscular de PGF₂ α (D-cloprostenol) (2ml/150 μ g), nas búfalas portando um corpo lúteo, no segundo dia (sábado a tarde) aplicação intra-muscular de GnRH (1ml/25 μ g) e no terceiro dia (domingo pela manhã) inseminação artificial (Fig. 10).

¹⁷.DIB = Dispositivo Intravaginal Bovino (Progesterona) laboratório Tecnopec

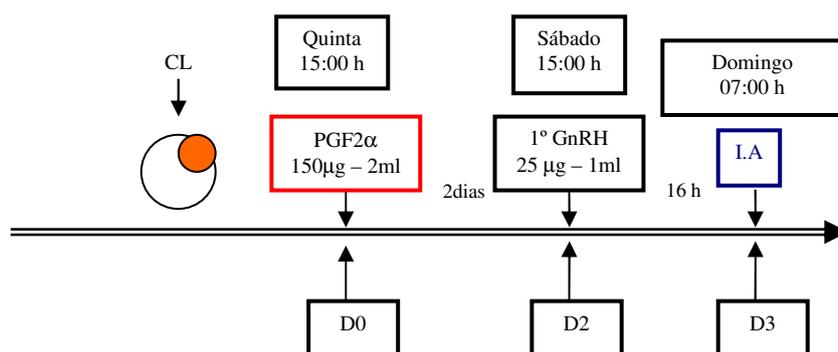


FIGURA 10 – Esquemática do protocolo CL- synch utilizado em 21 búfalas criadas em áreas de várzeas no Estado do Amapá. GnRH = Gestran Plus(Lecirelina), Laboratório Tecnopec; PGF2 α = Prostagladina (D+Cloprostenol), Laboratório Tortuga.

O grupo 4 foi composto de 23 animais, com escore corporal ($\geq 2,5$), as búfalas não foram sincronizadas e a inseminação artificial foi realizada 24hs depois da detecção do cio, por dois vaqueiros treinados e auxiliados por rufiões e os reprodutores algemados.

Todas as búfalas selecionadas para os tratamentos, estavam com bezerro ao pé, possuíam escore corporal com exceção de 03 animais do grupo III todos possuíam ECC \cdot 2.5 (na escala de 1,0 a 5,0), sendo que foi impossível precisar o período pós parto, devido principalmente ao manejo extensivo. Para o grupo III foram usadas somente as búfalas portando um corpo lúteo, o sêmen utilizado foi proveniente da CEBRAN e da EMBRAPA e os custos de cada grupo por animal e por búfala gestante foram analisados.

O diagnóstico de gestação foi realizado 60 dias após o término das inseminações, através do método de palpação retal.

4.2.4 Manejo executado em cada grupo experimental.

No grupo Ovsynch o manejo consistiu em quatro contenções sendo a 1º contenção para a 1º aplicação de GnRH, a 2º contenção para a aplicação da PGF2 α , a 3º contenção para a 2º aplicação de GnRH e a 4º contenção para a IATF. No grupo DIB-synch também consistiu em quatro contenções diferindo do grupo ovsynch somente na associação do DIB na 1º

contenção e retirada do dispositivo quando da aplicação da $PGF2\alpha$. O grupo CL-synch consistiu em somente três contensões que consistiram em avaliação do CL e aplicação da $PGF2\alpha$, aplicação de GnRH e IATF.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os dados de taxa de prenhez foi utilizado o teste de Qui-quadrado (χ^2), aplicado através do Microsoft Excel versão 1997, para estudar a independência da distribuição em relação aos grupos. Para as variáveis tais como: escore de condição corporal (ECC) < 2.5 e ≥ 2.5 , presença ou ausência de muco e contratilidade uterina foi utilizado o teste exato de Fisher para avaliar a influência desta variável entre e dentro de cada grupo, respectivamente (Beiguelman, 1996; Hoel, 1989; Siegel, 1975).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TRATAMENTO E TAXA DE PREENHEZ

As 120 búfalas foram previamente examinadas e somente 93 apresentaram requisitos mínimos para compor os três grupos experimentais e o grupo controle. As búfalas restantes foram descartadas pelos seguintes critérios: condição corporal menor que 2,0, búfalas de primeiro parto, búfalas recém-paridas e as búfalas que apresentaram alguma suspeita de alterações do sistema genital.

Das 93 búfalas aqui inseminadas 52 (55,91%) tornaram-se gestante. Das 70 búfalas sincronizadas e inseminadas em tempo pré-determinado 43 (61,43%) ficaram gestantes. No grupo 1 das 20 búfalas inseminadas 12 apresentaram-se gestante (60%). O grupo 2 dos 29 animais, 19 (65,5%) apresentaram-se gestante. O grupo 3 dos 21 animais inseminados 12 (57,14%) apresentaram-se gestante. A taxa de serviço dos grupos tratados foi de 100%. O grupo 4 (controle) dos 23 animais inseminados, 09 (39,13%) apresentaram-se gestante (Tabela 6). A taxa de serviço no grupo controle também foi de 100% entretanto, o tempo necessário foi de 120 dias, enquanto que os grupos sincronizados foram no máximo de apenas 10 dias. Apesar dos grupos sincronizados apresentarem uma taxa de prenhez bem maior do que o grupo controle, pela análise estatística, os resultados da taxa de prenhez não apresentaram diferença estatística significativa ($P=0,27$; $\chi^2= 3,86$) (Tabela 7).

Tabela 6 - Grupos, número de animais disponíveis e selecionados, animais inseminados e a taxa de prenhez de acordo com o grupo de búfalas criadas em sistema de produção extensiva, Itauba, Amapá

| Grupos | Animais | | Animais inseminados | Taxa de prenhez | |
|-------------|-------------|--------------|------------------------|-----------------|-------|
| | Disponíveis | Selecionados | | n | % |
| 1 Ovsynch | - | 20 | 20 | 12 | 60 |
| 2 DIB-synch | - | 29 | 29 | 19 | 65,5 |
| 3 CL-synch | - | 21 | 21 | 12 | 57,14 |
| Sub-total | - | 70 | 70 | 43 | 61,43 |
| 4 Controle | - | 23 | 23 | 09 | 39,13 |
| Total | 120 | 93 | 93 | 52 | 55,91 |

Tabela 7 – Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo (IATF) no estado do Amapá de acordo com os grupos sincronizados e o grupo controle.

| Grupo experimental | Positivo | | Negativo | |
|--------------------|----------|---------|----------|---------|
| CL-synch | 12 | 12,90 % | 9 | 9,68 % |
| Ovsynch | 12 | 12,90 % | 8 | 8,60 % |
| DIB-synch | 19 | 20,43 % | 10 | 10,75 % |
| Cio natural | 9 | 9,68 % | 14 | 15,05 % |
| Total | 52 | 55,91 % | 41 | 44,09 % |

(P= 0,27; $\chi^2= 3,86$)

A taxa de prenhez obtida nos grupos sincronizados foi de 61,43% estando de acordo com os resultados divulgados na literatura voltada à espécie bubalina, reportando taxas de prenhez que variam de 30 a 75%, usando o protocolo ovsynch, suas modificações com ou sem o uso de esteróides. (BARUSELLI et al.; 1999 BARUSELLI et al., 2002^a; SILVA et al., 2003; CAMELO et al., 2003; QUEIROZ, 2003; RONCI e DE RENSIS (2005); RIBEIRO et al., 2005; STELLA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2006).

Na tabela 7 podemos observar que não houve diferença estatística significativa ($P=0,82$; $X^2= 0,38$) entre os protocolos utilizados nos grupos experimentais e a taxa de prenhez. Entretanto, pode-se observar que no grupo DIB-synch, ou seja, a presença da progesterona mostrou uma taxa de prenhez maior do que os outros grupos.

Tabela 8 – Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com os grupos sincronizados.

| Grupo experimental | Positivo | | Negativo | |
|--------------------|----------|---------|----------|---------|
| CL-synch | 12 | 17,14 % | 9 | 12,86 % |
| Ovsynch | 12 | 17,14 % | 8 | 11,43 % |
| DIB-synch | 19 | 27,14 % | 10 | 14,29 % |
| Total | 43 | 61,43 % | 27 | 38,57 % |

($P= 0,82$; $\chi^2= 0,38$)

O grupo 1 sincronizado com o protocolo Ovsynch, obteve uma taxa de prenhez de 60%, resultados semelhantes aos encontrados por Baruselli et al. (1999), Baruselli (2001a), Baruselli et al (2001b) e Baruselli et al. (2003) que foram de 50,2%, 55,4%, e 66,9%, respectivamente. Outro resultado semelhante ao obtido no grupo I, no presente experimento, foi o de Berber et al. (2001) que reportaram uma taxa de prenhez 66,9%.

Taxas de prenhez menores que o presente trabalho foi publicado, por Camelo (2002) num estudo pioneiro, na mesma região do presente experimento, utilizando o protocolo Ovsynch conseguiu uma taxa de 37,29%. Ainda na Amazônia, Queiroz (2003) numa região de várzea no município de Santarém, no médio Amazonas obteve uma taxa de prenhez de 53,3% usando o protocolo Ovsynch. Silva. R et al. (2003) também obtiveram uma taxa menor que a encontrada no presente experimento que foi de 30%. Na Itália Ronci e De Rensis (2005) obtiveram uma taxa de prenhez de 56%.

Resultados com taxas de prenhez maiores que os resultados encontrados no presente experimento, usando o protocolo Ovsynch, são reportados por Berber et al. (2001) que

encontraram uma taxa de prenhez de 75,5%. No entanto, esse resultado foi obtido quando os autores substituíram a segunda dose de GnRH pelo LH no protocolo Ovsynch.

Outro trabalho com taxa de prenhez maior do que nesse estudo foi reportado por Pellerano et al. (2005a), na Argentina. Os autores na primeira inseminação obtiveram 24 (66,6%) búfalas gestantes e na re-sincronização 4 (33,3%) do total de 36 animais do grupo sincronizado com Ovsynch, somando uma taxa de 77,7% de prenhez. Como pode-se observar os autores, somente obtiveram essa taxa quando da re-inseminação.

Segundo Baruselli et al. (1999), Baruselli (2001a), Baruselli (2001b) Baruselli et al. (2003), Berber et al. (2001), Silva et al. (2003), Ronci e De Rensis (2005) e Pellerano et al. (2005a), os resultados alcançados, usando o protocolo ovsynch têm enfatizado que o protocolo é um protocolo viável para a utilização da IATF em búfalas e de fundamental importância para a melhoria genética e eficiência reprodutiva dos rebanhos bubalinos, particularmente da região Amazônica inclusive na região de várzea (CAMELO 2002; QUEIROZ 2003), como confirma-se no presente experimento.

No grupo 2 DIB-SYNCH a taxa de prenhez foi de 65,5%, resultados compatíveis com os da literatura. Bartolomeu et al. (2001) obtiveram a partir de quatro tratamentos com progestágenos utilizando CIDR/ BE; CIDR/GnRH; CRESTAR/ BE e CRESTAR/ GnRH respectivamente as seguintes taxas de prenhez 22,8%, 16,7%, 27,3% e 21%. Baruselli et al. (2003), obtiveram uma taxa de prenhez de 57,5% um pouco menor que a encontrada nesse experimento. Ribeiro et al. (2003) na região amazônica obtiveram uma taxa de prenhez de 50%. Os autores concluíram que o ovsynch associado à progestágenos mostrou-se eficaz na sincronização da ovulação e na taxa de prenhez. Resultados semelhantes á este experimento foram obtidos na Amazônia, por Ribeiro et al. (2005), com uma taxa de prenhez de 65,5%.

Pellerano et al. (2005) na Itália, utilizando a progesterona associada ao protocolo ovsynch obteveram uma taxa de prenhez de 40,5% e 33,3% respectivamente na época

favorável e desfavorável. Resultados maiores que os encontrados em nesse experimento foram reportados por Ribeiro et al. (2005) que obtiveram uma taxa de prenhez de 71,3% em búfalas criadas em regime semi-intensivo associando BE ao dispositivo intravaginal de progesterona/ PGF2 α / BE como protocolo utilizado.

O grupo 3 denominado de CL-synch a taxa de prenhez foi de 57,14% considerado dentro da média obtida em outros trabalhos, este protocolo foi usado pela primeira vez por Souza et al. (1999). Os autores usaram búfalas sem bezerro ao pé, com condição corporal \geq 3.0 e portando um corpo lúteo, obtiveram uma taxa de prenhez de 75%.

Outro trabalho bem mais atual, Ronci e De Rensis (2005) usando duas doses de prostagladina sem a prévia palpação do corpo lúteo, sendo as duas doses de PGF2 α no dia 0 e 13 e GnRH no dia 15 conseguiram uma taxa de prenhez de 47,5%.

Vale (2006) em um estudo para confirmar a eficácia do protocolo CL-synch, obteve uma excelente taxa de prenhez de 71,4%, em um rebanho bubalino suplementados ao cocho na Amazônia Oriental, em Manaus com búfalas amamentando, criadas de forma intensiva, e com ECC > 3.0. O autor informou que utilizou um ultra-som para confirmar a presença do corpo lúteo no momento da aplicação da prostagladina. (Informação Verbal)².

O estudo da eficácia do CL-synch é inédito em bubalinos, suas vantagens se concentram no manejo de contenção e o baixo custo, pois possibilita a contenção somente três vezes, quando comparado aos demais protocolos que necessitam de contenção de quatro vezes ou mais, diminuindo consideravelmente o estresse. Entretanto, só poderá ser aplicado por técnicos habilitados.

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, presença do bezerro, resposta individual a sincronização, fase do ciclo estral no momento do

tratamento, estado sanitário e habilidades do inseminador. (BARUSELLI 1993; BARUSELLI et al., 1995; BARUSELLI et al., 2001 ;COROA et al., 2001; RIBEIRO 2002; RIBEIRO et al., 2003; CAMELO et al., 2003).

5.2 MUCO, CONTRATILIDADE UTERINA E TAXA DE PRENHEZ.

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).

5.2.1 Presença de Muco

Através da presença de muco, na tabela 9, pode-se observar o número e percentagem de búfalas que responderam ao tratamento. No grupo 1 dos 20 animais inseminados 10 (50%) mostraram a presença de muco. No grupo 2 dos 29 animais, 17 (58,62%) apresentaram muco. No grupo 3 dos 21 animais 07 (33,34%) mostraram muco. Do total de 70 animais sincronizados 34 (48,57%) mostraram muco.

Ainda na tabela 9 pode-se observar que o grupo 3, o número de búfalas que não mostraram muco foi de 60,66%, maior percentagem entre os três grupos.

Tabela 9 - Número de animais inseminados, presença ou ausência de muco e contratilidade conforme o tratamento dos grupos sincronizados.

| Grupos | Nº de animais inseminados | Muco | | | |
|-------------|------------------------------|------|-------|-----|-------|
| | | com | | sem | |
| | | n | % | n | % |
| 1 Ovsynch | 20 | 10 | 50 | 10 | 50 |
| 2 DIB-synch | 29 | 17 | 58,62 | 12 | 41,38 |
| 3 CL-synch | 21 | 07 | 33,34 | 14 | 60,66 |
| Total | 70 | 34 | 48,57 | 36 | 51,43 |

Tabela 10 – Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com a presença ou ausência de muco vaginal.

| Grupo Experimental | Positivo | | Negativo | |
|--------------------|----------|---------|----------|---------|
| Com Muco | 28 | 40,00 % | 6 | 8,57 % |
| Sem Muco | 15 | 21,43 % | 21 | 30,00 % |
| Total | 43 | 61,43 % | 27 | 38,57% |

(P= 4,11; Fisher = 0,99)

Pelo teste de Fisher, a tabela 10 mostra que a taxa de prenhez correlacionada à presença ou ausência de muco no momento da IATF, foi estatisticamente significativa (P= 4,11; Fisher= 0,99). Na mesma tabela pode-se observar que dos 70 animais selecionados para compor os grupos experimentais, 34 apresentaram muco no momento da IATF, desses 28 (82,35%) búfalas ficaram gestantes. Vale ressaltar, que apenas 06 (8,57%) animais apresentaram muco e não obtiveram prenhez positiva, o que corresponde 17,65% dos animais. Por outro lado, 36 animais não apresentaram muco no momento da IATF, desses 15 (21,43%) animais obtiveram prenhez positiva (41,67%) e 21 (30%) animais não ficaram gestantes (58,33%).

5.2.1 Presença de contratilidade uterina

Pela tabela 11 podemos observar que dos 70 animais sincronizados 54 (77,14%) apresentaram contratilidade uterina no momento da inseminação, desses 39 (55,71%) animais obtiveram prenhez positiva (72,22%) e 15 (21,43%) animais obtiveram prenhez negativa (27,78%), os 16 (22,86%) animais restantes não apresentaram contratilidade uterina no momento da inseminação, sendo que desses, 04 (5,71%) apresentaram prenhez positiva (25%) e 12 (17,14%) animais apresentaram prenhez negativa (75%).

Tabela 11 - Número de animais inseminados, presença ou ausência de contratilidade conforme o tratamento dos grupos sincronizados.

| Grupos | Nº de animais inseminados | Contratilidade uterina | | | |
|-------------|------------------------------|------------------------|-------|-----|-------|
| | | Com | | sem | |
| | | n | % | n | % |
| 1 Ovsynch | 20 | 15 | 75 | 05 | 25 |
| 2 DIB-synch | 29 | 23 | 79,31 | 06 | 20,69 |
| 3 CL-synch | 21 | 16 | 76,20 | 05 | 23,8 |
| Total | 70 | 54 | 77,14 | 16 | 22,86 |

A presença ou ausência de contratilidade, pelo teste de Fisher, na tabela 12, mostra que houve uma correlação significativa entre a taxa de prenhez alcançada e a presença ou ausência de contratilidade uterina no momento da IATF, sendo estatisticamente significativo (P=8,65; Fisher= 0,99).

Tabela 12 – Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com a presença ou ausência de contratilidade uterina.

| Grupo experimental | Positivo | | Negativo | |
|--------------------|----------|---------|----------|---------|
| Com Contratilidade | 39 | 55,71 % | 15 | 21,43 % |
| Sem Contratilidade | 4 | 5,71 % | 12 | 17,14 % |
| Total | 43 | 61,43 % | 27 | 38,57% |

(P= 8,65; Fisher = 0,99)

Os resultados obtidos no presente trabalho, indicam que a presença de muco e da contratilidade uterina nos protocolos de sincronização, são sinais que significam uma resposta satisfatória de crescimento folicular e ovulação a estimulação hormonal. Nossos resultados estão de acordo com Queiroz (2003), que utilizando a presença da contratilidade uterina, o autor verificou, que de 30 búfalas sincronizada 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 significativo de reação positiva ao efeito da terapia hormonal em búfalas usando o protocolo ovsynch.

O mecanismo fisiológico do ovsynch na primeira dose de GnRH do protocolo é estimular o crescimento folicular com ovulação. Dependendo do estágio do ciclo estral que se encontra a fêmea, a resposta irá variar neste aspecto. O estudo da dinâmica folicular durante o ciclo estral pode ajudar a esclarecer os fenômenos que interferem na sincronização do ciclo estral e na ovulação, colaborando para o aumento da fertilidade. Por definição, a dinâmica folicular pode ser resumida como o processo contínuo de crescimento e de regressão de um grupo de folículos antrais, um dos quais se desenvolve até folículo pré-ovulatório (LUCY et al. 1992).

Já o mecanismo fisiológico da progesterona utilizado no protocolo denominado DIB-synch é a liberação exógena de progesterona a partir do dispositivo o qual atinge níveis supra-luteais (superiores a 1 ng/ml) poucos minutos após a colocação destes, exercendo um

importante efeito sobre a dinâmica folicular e sobre o ciclo estral. Em associação com estrógenos ou GnRH, a progesterona provoca regressão do folículo dominante e reinício de uma nova onda folicular. Por outro lado, após a retirada do dispositivo e a conseqüente queda dos níveis de progesterona, o bloqueio do eixo hipotálamo-hipofisário é liberado, permitindo que a gonadotrofina responsável pelo desenvolvimento final do folículo e ovulação atue. Partindo-se deste princípio de controle do ciclo estral, vários protocolos associando a progesterona a outros hormônios, foram desenvolvidos com diversas finalidades (Lamb et al 2001).

5.3 ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL E TAXA DE PREENHEZ

Segundo Baruselli et al. (1995) o bom estado nutricional do rebanho que vai receber alguma biotécnica é imprescindível para se obterem índices reprodutivos satisfatórios. A búfala, sem adequada alimentação, não entra em cio e quando entra, apresenta taxa de concepção reduzida. No entanto, devido a errônea visão que alguns criadores têm sobre a rusticidade da espécie, ocorrem quedas na produção de carne e leite e diminuição da fertilidade, quando a alimentação do rebanho é precária. Os autores enfatizam que quando se pretende obter bons índices reprodutivos, a propriedade deve estar preparada para fornecer corretamente alimentação de boa qualidade para que os animais possam exercer adequadamente suas funções de reprodução.

Baruselli (2000) verificou ainda, a interferência ($P < 0,05$) do escore corporal na taxa de concepção de búfalas inseminadas artificialmente. Estes resultados corroboram Ribeiro Filho et al. (2003), onde 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 $\leq 2,5$ obtiveram taxa de prenhez de 20% e aqueles com escore corporal $> 2,5$ obtiveram taxa de prenhez de 50 %.

Na tabela 13 observamos que a taxa de prenhez não foi influenciada ($P=0,29$; Fisher= $0,66$) pelo escore de condição corporal (ECC) no presente experimento. Para melhor análise estatística, os animais com escore de condição corporal $\geq 2,5$ foram classificados como “bom” e os animais com $ECC < 2,5$ foram considerados como “ruim”. Pode-se analisar que 62 animais (88,57%) foram considerados bons e possuíam ECC $\geq 2,5$, destes 38 (54,29%) animais foram positivos para prenhez e 24 (34,29%) negativos. E somente 08 (11,43%) destes animais foram considerados ruins ECC $< 2,5$, sendo que 05 (7,14%) foram positivos para prenhez e 03 (4,29%) negativos.

Diante desses resultados expostos na tabela 13, pode-se observar que os animais com ECC $\geq 2,5$ possuíam as maiores taxas de prenhez. Barusselli et al. (1999) compararam 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 $\leq 3,0$, uma taxa 53,9% em animais com condição corporal 3,5, e uma taxa de 56,7% em animais com condição corporal $\geq 4,0$, os autores sugeriram que as búfalas devem apresentar condição corporal $\geq 3,5$ para obtenção de boa eficiência ao tratamento.

Tabela 13 – Análise estatística da taxa de prenhez de búfalas inseminadas em tempo fixo no estado do Amapá de acordo com o escore de condição corporal.

| Grupo experimental | Positivo | | Negativo | |
|--------------------|----------|---------|----------|---------|
| Bom | 38 | 54,29 % | 24 | 34,29 % |
| Ruim | 5 | 7,14 % | 3 | 4,29 % |
| Total | 43 | 61,43 % | 27 | 38,57% |

($P= 0,29$; Fisher = $0,66$)

5.4 CUSTOS

Nos grupos sincronizados, o custo total variou em relação ao protocolo utilizado, no grupo ovsynch o custo foi de R\$ 13,30 por búfala tratada e de R\$ 22,16 por búfala gestante, no grupo DIB-synch o custo foi de R\$ 36,30 por búfala tratada e de R\$ 55,30 por búfala prenhe, o grupo CL-synch o custo por búfala tratada foi de R\$ 8,70 e por búfala gestante foi de R\$ 15,22. Ressaltando que nos grupos sincronizados, o cálculo foi feito somente sobre os custos hormonais, não foi incluído o custo do sêmen e nem os honorários técnicos. (tabela 14).

Já no grupo controle, os gastos foram calculados somente em relação aos custos com o inseminador. Uma vez que no grupo controle foram necessários quatro meses para inseminar os 23 animais a partir da visualização do cio e considerando que o custo com o inseminador foi de 2,5 salários mínimo mensal e que na época do experimento o salário mínimo vigente era de R\$ 260,00. Observou-se que os custos por búfala tratada e por búfala prenhe nos grupos sincronizados foram visivelmente inferiores quando comparados ao custo dos nove animais com prenhez positiva a partir da observação de cio natural e posterior inseminação, conforme evidencia a tabela 14.

Tabela 14 - Análise de custo da aplicação do protocolo Ovsynch, DIB- synch e CL- synch nas búfalas com inseminação artificial em tempo fixa e Inseminação artificial (I.A) tradicional.

| Itens | Protocolos | | | Controle |
|---|------------|-----------|----------|------------------------|
| | Ovsynch | DIB-synch | CL-synch | |
| Numero de animais | 20 | 29 | 21 | 23 |
| Número de prenhez ¹⁸ | 12 | 19 | 12 | 09 |
| Custo do GnRH ¹⁹ por búfala (R\$) | 8,40 | 8,40 | 4,20 | - |
| Custo do GnRH ²⁰ por prenhez (R\$) ²¹ | 14,00 | 12,82 | 7,35 | - |
| Custo da PGF ₂ α ²² por búfala (R\$) | 4,90 | 4,90 | 4,50 | - |
| Custo da PGF ₂ α ²³ por prenhez (R\$) ²⁴ | 8,16 | 7,47 | 7,87 | - |
| Custo do DIB ²⁵ por búfala (R\$) | - | 23,00 | - | - |
| Custo do DIB ²⁶ por prenhez (R\$) ²⁷ | - | 35,01 | - | - |
| Custo com inseminador (R\$) ²⁸ | - | - | - | 2.600,00 ²⁹ |
| Total por búfala (R\$) | 13,30 | 36,30 | 8,70 | 113,043 |
| Total por prenhez (R\$) | 22,16 | 55,30 | 15,22 | 288,88 |

O resultado do presente experimento foi inferior aos custos total por búfala tratada e por búfala prenhe, reportados por Baruselli et al. (2001a) utilizando o protocolo “ovsynch”

¹⁸ Número de prenhez, pelo método de palpação retal.

¹⁹ Custo do hormônio por cada dose orçado em pontos comerciais no estado do Pará. Prostaglandina Tortuga (D+Cloprostenol) R\$ 4,90; Gestran Plus (Lecirelina = GnRH) R\$ 4,20; DIB (Progesterona) R\$ 23,00.

²⁰ Ibidem.

²¹ O custo por prenhez foi calculado dividindo o total do custo com os hormônios no caso dos grupos sincronizados e dividindo o custo total do inseminador pelo número de búfalas prenhes no caso do grupo controle.

²² Idem. Ver Nota 20.

²³ Ibidem.

²⁴ Idem. Ver Nota 22.

²⁵ Idem. Ver Nota 20.

²⁶ Ibidem.

²⁷ Idem. Ver Nota 22.

²⁸ Valor de 2,5 salários mínimos vigentes na época do experimento igual a R\$ 650,00.

²⁹ Valor Correspondente a 4 meses.

com diferentes doses hormonais em bubalinos, obtendo R\$32,29 e R\$ 14,40 por búfala e de R\$ 57,64 e R\$ 29,37 por prenhez, respectivamente.

O mesmo autor em outro estudo com diferentes GnRH (acetato de busirelina e lecirelina), R\$ 11,10 e R\$ 27,25 por búfala e por prenhez utilizando a dose completa da PGF₂ α e meia dose de lecirelina, R\$ 11,10 e R\$ 28,12 para o ovsynch convencional como controle do protocolo utilizando em comparação a pré-sincronização que foi de R\$ 14,40 e R\$ 25,73 por búfala e por prenhez (tabela 14).

Tabela 15 – comparação dos custos do protocolo ovsynch, com valores por vaca, por búfala e por prenhez obtidos em protocolos com diferentes bases hormonais, de acordo com os autores.

| Protocolo “ovsynch” Diferentes doses hormonais | Búfala | Prenhez | Autor |
|--|----------------------------|----------------------------|----------------------|
| GnRH – PGF ₂ α - GnRH 20 μ G busirelina + 150 μ g d-cloprostenol + 10 μ g busirelina | R\$ 32,29 | R\$57,64 | Baruselli (2001a) |
| GnRH – PGF ₂ α - GnRH 50 μ g lecirelina + 150 μ g d-cloprostenol + 25 μ g lecirelina | R\$ 14,40 | R\$29,37 | Baruselli (2001a) |
| GnRH – PGF ₂ α - GnRH 25 μ g lecirelina + 150 μ g d-cloprostenol + 25 μ g lecirelina | R\$ 11,10 | R\$27,25 | Baruselli (2001a) |
| sol. salina – GnRH – PGF ₂ α - GnRH 25 μ g lecirelina + 150 μ g d-cloprostenol + 25 μ g lecirelina | R\$ 11,10 | R\$28,12 | Baruselli (2001a) |
| GnRH – PGF ₂ α - GnRH 100 μ g gonadorelina + 150 μ g d- cloprostenol ³ + 100 μ g gonadorelina | R\$31,51 | R\$ 84,50 | Camelo (2002) |
| GnRH – PGF ₂ α - GnRH 100 μ g gonadorelina + 100 μ g cloprostenol + 100 μ g gonadorelina | R\$ 12,50 (A) 12,50 (B) | R\$ 44,53 (A) 46,18 (B) | Conceição (2003) |

6 CONCLUSÃO

Pelas condições em que o estudo foi realizado, pode-se concluir:

- 1- Os tratamentos utilizados mostraram que a IATF em bubalinos criados de forma extensiva em áreas pantanosas, mostraram-se como uma alternativa promissora para melhorar a eficiência reprodutiva desta espécie na região Amazônica.
- 2- Uma ótima condição corporal ($ECC > 2,5$) é realmente um fator limitante, para obter-se maiores taxas de prenhez.
- 3- A presença de muco e a contratilidade uterina mostraram-se como excelentes indicadores da resposta positiva a indução hormonal.
- 4- Os custos do protocolo não inviabilizam a adoção da técnica em propriedades rurais com sistema de produção extensiva.
- 5 - O protocolo CL-synch é restrito a búfalas sem bezerro ao pé e ciclando.

REFERÊNCIAS

- BARTOLOMEU, C.C; DEL REI, A.J.M; MADUREIRA, E.H; SOUZA, A.J; SILVA, A.O; BARUSELLI, P.S. Inseminação em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos utilizando-se CIDR-B, Crestar e Ovsynch. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, MG, v.25, n.3, p.334-336, 2001.
- BARTOLOMEU, C.C; DEL REI, A.J; BARUSELLI, P.S; BARNABE, R.C. Synchronization of estrous cycle and ovulation using CIDR-B and CRESTAR in buffalos out of the breeding season. In: Buffalo Symposium of Americas, 1st., 2002, Belém. **Proceedings ...** Belém, 2002. v.1, p.410-413.
- BARILE, V.L; GALASSO, A; CARETTA, A; MARCHIORI, E; BORGHESE, A. Evaluation of different timed Inseminations on Conceptions rate in synchronized Italian Buffaloes. **Anais: VI World Buffalo Congress**, v II, Maracaibo, Venezuela, 2001.
- BARILE, V.L. et al. Conception at Artificial Insemination using two different oestrus synchronization schedule in buffaloes . **Proc. Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo**. 1st Buffalo Symposium of Europe and the Americas Ottobre 12-15, v.I, p.226, 2005.
- 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. Basic requirements for artificial insemination and embryo transfer in buffaloes. **Buffalo Journal.**, Suppl. 2, p. 53-60, 1994 .
- BARUSELLI, P.S.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C.; VISINTIN, J.A; MOLERO-FILHO, J.R.; PORTO-FILHO, R. Condição corporal ao parto e eficiência reprodutiva de fêmeas bubalinas inseminadas artificialmente. IN: **IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, v.1, p.380, 1995.
- BARUSELLI, P. S.; MUCIOLO, R. P.; 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. **Theriogenology**,1997.n.47,p.1531-1547.
- 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**, Belo Horizonte, Minas Gerais. 1999. v. 23,n.3,p.360-362.
- BARUSELLI, P.S. Controle farmacológico do ciclo estral e da superovulação em bubalinos. Simpósio sobre o controle do ciclo estral em ruminantes. São Paulo; **Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, USP, 332 P, 2000.
- BARUSELLI, P.S. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Buffalo Journal**, v.1, 70-75, 2001a.
- BARUSELLI, P.S.; BERNARDES, O; BRAGA, D.P.A.F.; ARAUJO, D.C.; TONHATI, H. Calving distribution throughout the year in buffalo raised all over Brazil. **Anais**. VI World Buffalo Congress. V. 6 , P. 234-240. 2001b.

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

BARUSELLI, P.S; CARVALHO, N.A.T; HENRIQUEZ, C.H.P; AMARAL, R; NICHI, M. Synchronization of ovulation for timed insemination during the off breeding season en the Buffalo. **1ST Bufalo Symposium of Americas**. p 414, Belém, Pará, 2002b.

BARUSELLI, P.S et al. Use of progesterone associated to “Ovsynch” protocol for timed artificial insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*) . In: Congresso Nazionale Sull’ Allevamento, and, 2003, **Proceedings**.... Roma: 2003. v.1, p.265-268.

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

BEIGUELMAN, B. Curso Prático de Bioestatística. 4^a ed. Ribeirão Preto: Ed. Revista Brasileira de Genética, 1996. 254p.

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**, Belo Horizonte, v.25, n.3, p.379-381, 2001.

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

BRASIL. **Ministério da Agricultura**. Rebanho Bubalino brasileiro – Efetivo por Estado. Disponível em www.agricultura.gov.br. Acesso em: 02/10/2005.

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

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**, Porto Seguro, Bahia. 2003. v. 27,n.3,p.324-325.

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

CARVALHO, N.A.T; CARVALHO, M.V; VISINTIN, J.A; VANNUCCI, F.S; SÁ FILHO, M.F; NICHI, M; REICHERT, R.H; BARUSELLI, P.S. Uso de dispositivos intravaginais de Progesterona associados ao hCG ou GnRH pra sincronização da ovulação em búfala na estação reprodutiva desfavorável. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiânia, Goiás, V 16, p127-166, 2005.

CAVALCANTE, E.S. Experiências agrícolas nas várzeas do Estado do Amapá. **Anais do I Workshop sobre as potencialidades de uso do ecossistema de várzeas da Amazônia**. EMBRAPA- Conselho Assessor Regional Norte, Manaus, Brasil, 1996.

CHOHAN, K. R. Estrous synchronization with lowers dose of PGF2 α and subsequent fertility in subestrous buffalo. **Theriogenology**, v.50, n.7, p.1101-1108, 1999.

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 Agropecuario, Universidade Federal do Estado do Pará. 1999.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária** 2º ed. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1999.

DE RENSIS, F. et al. Fertility of buffalo cows following synchronization and timed artificial insemination according to the ovarian status. **Proc. Atti 2º Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo.** Monterotondo-Roma. Agosto 28-30, p.297, 2003.

FAO. FAOSTAT. Data Base 2004. Disponível em: <http://faostat.fao.org/faostat/collections?version=ext&hasbulk=0>. Acesso em 14/08/2005.

GORDON, I. **Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos.** Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. P-514. 1996.

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

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**, Ed. Manole, 6ª Ed. São Paulo, SP. 1995. P. 59-113

HOEL, P.G. **Estatística Elementar**, 4ª ed. Porto Alegre: Ed. Fundo de Cultura, 1972. 132p.

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. **Journal Animal Science.** v. 68, p. 1438-1446. 1990.

IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação e Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2003. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 25/10/2005.

IEPA. Nucleo de Hidrometeorologia e Recursos Hidricos – NHMET. Disponível em: <http://www.iepa.ap.gov.br/metereologia/index.php>. Acesso em 30/05/2005.

JOLLY, P.D.; MCDOUGALL, L.A.; FITZPATRICK, K.L.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. **J. Reprod Fert. Suppl.**, V. 49, P. 477-492, 1995.

LAMB et al. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2α for ovulation control in post partum suckled beef cows. **Journal Animal Science.** V 79, p. 2253-2259. 2001.

LIPINSKI, L.C; KOZIEKI, L.E; PIASECKI JR, S.J. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) fora do período de reprodução em búfalos (*Bubalus bubalis*). In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiânia, Goiás, v 16, p 092- 365, 2005.

LOURENÇO JUNIOR, J.B. Produção de búfalos na Amazônia. In: Simpósio do Núcleo de Estudos em Bovinocultura, II., 2005, Seropédica. **Anais...** Rio de Janeiro: Instituto de Zootecnia da UFRURALRJ, 2005, V.1, p. 207-226.

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

MALFATTI, A et al. Evaluation of LH peak in buffalo cows (*Bubalus bubalis*) synchronized with two different hormonal protocols for fixed time insemination. **Proc. Atti 2° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo**. Monterotondo-Roma, agosto 28-30, p.255, 2003.

MARIANTE A.S; MCMANUS, C; MENDONÇA J.F. **Country report on the state of animal genetic resources**. Brasília. Brasília: Embrapa/Genetic Resources and Biotechnology, 2003. 121p. (documentos, n.99)

NEGLIA, G. et al. Intravenous PGF2 α administration at the time of artificial insemination in buffalo species: Preliminary results. **Proc. Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo**. 1st Buffalo Symposium of Europe and the Americas Ottobre 12-15, v.I, p.239, 2005.

PACELLI, C; BARILE, V.L; LENZA, R; TERZANO, G.M; MONTEMORRO, N; BORGESSE, A. Comparison of two different doses of PMSG on conception rate in Mediterranean Buffalo Heifers treated with PRID. **Anais: VI World Buffalo Congress**, v II, Maracaibo, Venezuela, 2001.

PACELLI, C. et al. Fixed time artificial insemination in buffalo heifers. **Proc. Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo**. 1st Buffalo Symposium of Europe and the Americas Ottobre 12-15, v.I, p.245, 2005.

PAIVA, M.G.S et al. Ocorrência de parasitos gastrintestinais nos rebanhos bovino e bubalino do Amapá. **Boletim** de Pesquisa da Embrapa nº 05, junho, 1986, EMBRAPA UEPAT-Macapá- AP.

PELLERANO, G et al. Confronto di Protocolli di Sincronizzazione e Risincronizzazione con Inseminazione Artificiale a Tempo Fisso Dentro e Fuori La Stagione Riproduttiva Nel Nord Est Argentino. **Proc. Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo**. 1st Buffalo Symposium of Europe and the Americas Ottobre 12-15, v.I, p.220, 2005a.

PELLERANO, G et al. Fixed Artificial Insemination in Buffalo: Effects of different doses of Estradiol Cipionate in Ovsynch protocol. **Proc. Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo**. 1st Buffalo Symposium of Europe and the Americas Ottobre 12-15, v.I, p.221, 2005b.

PERERA et al. Livestock and welth creation: Improving the husbandry of animals kept by poor people in developing countries. Livestock production programme. **Natural resources international** Ltd, chapter 22: Buffalo, 2005.

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

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.

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**, Porto Seguro, Bahia. 2003. v. 27,n.3,p.471-472.

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

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

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

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**. Porto Seguro, Bahia, 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, 2005. p.211.

RIBEIRO, H.F.L et al. Taxa de prenhez em Búfalas inseminadas na época chuvosa e na época seca com diferentes protocolos de sincronização e diferentes doses de eCG. In: III Congresso Brasileiro Norte Nordeste de Reprodução Animal (CONERA). **Rev. Ciênci. Agrárias** Belém, Pará, nº 43, jun/jul.2006.

RONCI, G; DE RENSIS, F. Comparison beteween Ovsynch protocol or Prostaglandin plus GnRH for Fixed Time Artificial Insemination in Buffalo cows. **Proc.** Atti 3° Congresso Nazionale sull' Allevamento del Bufalo. 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.; CHACUR, M. G. M. **Sanidade e Produtividade em Búfalos**. FUNEP. Jaboticabal, São Paulo.1993.P. 87-95.

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.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica (Para as Ciências do Comportamento)**, Ed. McGraw-hill do Brasil LTDA., São Paulo, 1975. 120p.

SILVA, R.D.G.; RIBEIRO FILHO, A DE.L.; CHALHOUB, M.; GUSMÃO, A.L. Comparação entre dois protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo em búfalas (*Bubalus bubalis*) . **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Porto Seguro. v.27, n.3, p.467-468.2003.

SILVA M.S.T; LOURENÇO JR. J.B; MIRANDA, H.Á; ERCHESEN R; FONSECA, R.F.S.R; MELO; J.Á; COSTA,J.M. **Programa de Incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores** – PRONAF. Pará, agosto de 2003. Disponível em: www.cpatu.silva et al, 2003.br/bufalo. Acesso em 15/08/2005.

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. In: **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte,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.

VALE, W.G.; WEITZ, K.F.;GRUNERT,E. Estruos behavior and ovarian function in water buffalo cows (*Bubalus bubalis* Lin) under amazon condition. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 10.,Urbana, 1984. **Proceedings...** Urbana, University of Illinois: v. 2, 1984. p.159.

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,1990. P. 201-210.

VALE, W. G. Problemas de reprodução em fêmeas bovinas e bubalinas de leite criadas nos trópicos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. 1997. v. 21, n.3, p.70-76.

VALE, W.G.; RIBEIRO H.F.L. Características reprodutivas dos bubalinos: Puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.2, p 63-73, abril/jun.2005.

VALE, W. G et al. The use of hormones for ovulation synchronization in Buffalos in the breeding and off breeding season followed by a timed artificial insemination (TAI). **Proc. of the 5 th Asian buffalo congress on social economic contribution of buffalo to rural areas**. Nanning-China, April 18-22, v.I, p.594, 2006.

WRIGHT, I. A.; RHIND, S. M.; WHYTE, T. K. A note on the effects of pattern of food intake and body condition on the duration of the post-partum anoestrous period and LH profiles in beef cows. **Animal Production**, v.45, p.143-146, 1992.

ZICARELLI, L.; ESPOSITO, L.; CAMPAALINE, G.; Di PALO, R.; ARMSTRONG, D. T. Effects of using vasectomized bulls in artificial insemination practice on reproductive efficiency of Italian buffalo cows. **Animal Reproduction Science**, 1997.v.47,n.3, p.171-180.