



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO (IATF) EM FÊMEAS BUBALINAS (*Bubalus bubalis*) NA AMAZÔNIA
EQUATORIAL**

DANILO CUTRIM BEZERRA

**São Luís - MA
JUNHO/2016**

DANILO CUTRIM BEZERRA

SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) EM FÊMEAS BUBALINAS (*Bubalus bubalis*) NA AMAZÔNIA EQUATORIAL

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador(a): Prof., Dr. JOSÉ RIBAMAR DE SOUSA TORRES JÚNIOR.

São Luís - MA

JUNHO/2016

Bezerra, Danilo Cutrim.

Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) na Amazônia equatorial / Danilo Cutrim Bezerra._2016.

99fs.

Orientador: Prof.Dr.José Ribamar de Sousa Torres Júnior.

Tese(Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE,Universidade Federal do Maranhão,São Luís, 2016.

1.Búfalos – Baixada Maranhense. 2.Capacidade ovulatória – Reprodução.
I.Título.

CDU 636.293(812.1)

DANILO CUTRIM BEZERRA

**SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO (IATF) EM FÊMEAS BUBALINAS (*Bubalus bubalis*) NA AMAZÔNIA
EQUATORIAL**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador(a): Prof. Dr. JOSÉ RIBAMAR DE SOUSA TORRES JÚNIOR

Banca examinadora

Prof. Dr. José Ribamar de Sousa Torres Júnior
Orientador - Presidente da banca

Prof. Dr. José Adalmir Torres de Souza (UFPI)
Examinador 2

Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos (UEMA)
Examinador 3

Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira (UEMA)
Examinador 4

Prof. Dr. Ricardo de Macedo Chaves (UEMA)
Examinador 5

**São Luís - MA
JUNHO/2016**

A minha esposa Nancyleni P. Chaves Bezerra, uma das grandes responsáveis por mais esta vitória; por todo seu amor, compreensão, carinho, palavras de incentivo e força, e por nestes doze anos de convivência está sempre presente em todos os momentos da minha vida; por contribuir com meus conhecimentos profissionais e ensinar sempre a trilhar os caminhos com humildade e decência e, nos momentos tristes e difíceis a respirar fundo, ter calma e nunca desistir; ter sempre muita fé, perseverança e dedicação, três elos fundamentais para a realização de qualquer objetivo.

Nancyleni, esta é mais uma das etapas para concretização daquilo que sonhamos para nossa vida profissional e para continuarmos com maior estabilidade na construção da nossa família. A minha filha Maria Clara, fruto de nossa amável união, prêmio mais prazeroso, amado e esperado em nossas vidas e doado por Deus.

Aos meus pais, João José A. Bezerra e Mirtes C. Bezerra, grande bênção de Deus concedida em minha vida, exemplo pleno de amor, dedicação e doação, a vocês todo meu amor e minha eterna gratidão. Aos meus tios e segundos pais Altevir e Geusa, pilares do meu incentivo e caráter. Aos meus irmãos, Alencar, Celina, Marcos, Priscila e aos primos irmão Rodrigo e Bruno pela grande amizade, amor e carinho. A meus sobrinhos Nilo Eduardo, Alessandro, João Pedro, Pedro, Artur, Mariana, Ana Beatriz e Ellen Sophia pela fonte de amor sem medida, alegria e pelas brincadeiras.

Com amor dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo... pela minha vida, por me dar saúde, estrutura, por colocar pessoas amadas ao meu lado, por me mostrar o real valor das coisas e da recompensa pelo esforço próprio. Senhor sou grato por tudo que me cerca, por tudo que me acontece, até mesmo pelas decepções. Sou grato pela adversidade da vida que me desafia a ser melhor, a ser humano.

A minha esposa Nancyleni, meus pais Doca e Mirtes/Altevir e Geusa; meus irmãos Alencar, Celina, Marcos, Priscila, primos (irmãos) Robrigo e Bruno; a meus sobrinhos Nilo Eduardo, Alessandro, João Pedro, Pedro, Artur, Mariana, Ana Beatriz e Ellen Sophia; meus sogros Máximo Lucilio e Isaudelice; cunhados Jean, Nancy Raquel, Nair e Máximo Junior, por todo apoio, carinho, confiança e suporte nesta vida. Em especial aos meus pais, por serem um grande exemplo na minha vida... exemplo de transparência, prudência e ética... talvez não tenham noção que foram e sempre serão os verdadeiros incentivadores da minha busca pelo conhecimento. É de todo impossível expressar o quanto significam para mim. Amo vocês.

Ao meu orientador José Ribamar de Sousa Torres Junior pela oportunidade concedida. Professor fica aqui registrado a minha eterna gratidão, carinho, respeito e admiração. Espero que desta orientação tenha surgido uma amizade sincera e que esta permaneça mesmo com a distância natural da vida. Que possamos ainda trabalhar para o crescimento da medicina veterinária no nosso Estado. Saiba que estarei sempre a sua disposição e na torcida pelo seu sucesso. Meu muito obrigado de coração.

Aos meus queridos professores e hoje amigos, quero citar um por um, não em ordem de importância, pois, todos são igualmente importantes, mas em ordem de orientação. Porfirio Candanedo Guerra, orientador de iniciação científica e de monografia, exemplo de dedicação, professor o senhor tem participação direta na minha busca por qualificação profissional e amor pela Medicina Veterinária, se hoje consigo escrever algum texto com certa desenvoltura, certamente isso foi iniciado durante a sua orientação; Hamilton Pereira Santos, exemplo de bondade, companheirismo e responsável pelo amor à medicina veterinária preventiva, meu pai na veterinária. Hélder de Moraes Pereira, orientador de mestrado, por viabilizar um sonho, pelo convite da orientação de mestrado e pelos louros conseguidos com essa acertada orientação. Meu muito obrigada a todos vocês.

À Rede Bionorte e a Universidade Federal do Maranhão pela oportunidade da realização desta pós-graduação e por me fazer acreditar na seriedade e transparência de um curso em rede.

À Universidade Estadual do Maranhão, infinitas vezes obrigado; nessa Instituição de Ensino iniciei um sonho, construir e concretizei tantos outros e com ela, eu e minha esposa, conseguimos saber e valorizar o fato de que o trabalho dignifica o homem.

Aos professores do Curso de Biotecnologia por tornarem possível e prazerosa a realização deste curso e, em especial aos professores Francisco das Chagas Alves Lima (UESPI) e Ivan Sampaio (UFMA), exemplos de simplicidade, simplificação e desburocratização, vocês contribuíram não apenas com conhecimentos acadêmicos, mas, com conhecimentos para a vida.

Aos funcionários das Instituições de ensino integrantes da BIONORTE por permitirem um ambiente agradável no decorrer desta pós-graduação.

Aos meus amigos e como é dito no ditado popular irmãos camaradas de todas as horas e jornadas Cícero e Aline; quão prazerosa foi a nossa convivência, conversas, viagens, trabalhos, e até apertos. Quantas histórias, quantos risos e como fomos ajudados nesta pós-graduação. Que a amizade construída ao longo deste tempo continue para sempre. E que possamos futuramente construir grupos de estudo e pesquisa, meu todo e para sempre obrigado de todo coração, a concretização de um sonho depende de muitas pessoas, por isso, preciso registrar que vocês contribuíram para a realização deste sonho – o Doutorado.

Ao professor Dr. Sebastião Rolim (UFPA) pela atenção nas conversas sobre reprodução bubalina e na comercialização do sêmen para realização deste trabalho.

Aos colegas deste curso, e foram muitos, de diferentes Estados desta Federação, pela troca de experiência, angústias e perspectivas com a realização desta pós-graduação.

Aos produtores rurais de bubalinocultura – MA por abrir as portas das suas propriedades para a realização deste estudo. Sem o auxílio de vocês esse trabalho jamais possível.

Em especial a Fazenda Agropan, Sr. Colins, por disponibilizar a sua fazenda para realização deste experimento tão esperado, juntamente com o Sr. Thor e família, em

disponibilizar seu tempo para nos ajudar nos momentos mais difíceis e complicados de seleção dos animais para realização deste trabalho, meu muito muito muitíssimo obrigado.

A Professora Patricia, Coordenadora do BIONORTE no Maranhão, pela decência e educação na condução dessa coordenação. Agradeço também a Senhora Dyana Serra pela disponibilidade e ajuda sempre que foi necessário.

À banca de qualificação, Professores Ricardo Chaves, Abisai e Hamilton Pereira Santos pelas considerações, sugestões e críticas para a elaboração da versão final desse trabalho.

Enfim, a todos e todas que de forma direta ou indireta tornaram possível a construção de mais esta etapa da minha vida... da minha vida acadêmica e profissional. Vocês são responsáveis por o que já conquistei e conquistarei com esta pós-graduação. Sei que ajuda cada um faz de livre arbítrio, mas, quero retribuir com o meu sincero e cordial.

Muito Obrigado!

“No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo; ou se faz uma coisa bem feita ou não se faz. ”

Ayrton Senna.

RESUMO

BEZERRA, Danilo Cutrim. **Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Equatorial.** 2016. 88 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

O objetivo do estudo foi avaliar diferentes protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em fêmeas bubalinas, durante as estações reprodutivas favorável e desfavorável, na Amazônia equatorial. O experimento foi realizado na região da Baixada Maranhense, Maranhão – Brasil. Foram utilizadas 200 fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah, lactantes, criadas extensivamente em pastagem nativa, com água e sal mineral *ad libitum*. Com base na distribuição histórica retrospectiva dos nascimentos de bubalinos na região, caracterizou-se a estacionalidade reprodutiva em duas estações, a Favorável (mês de julho) e a Desfavorável (mês de janeiro). Foram aplicados quatro tratamentos/protocolos para sincronização de ovulações: “*GnRH/hCG*” (protocolo controle para estação favorável); “*GnRH/BE*” (protocolo proposto para estação favorável; “*P4/hCG*” (protocolo controle para estação desfavorável); “*P4/BE*” (protocolo proposto para estação desfavorável). As fêmeas foram submetidas a avaliações ultrassonográficas para acompanhamento da dinâmica folicular e taxa de ovulação e inseminadas artificialmente em tempo fixo para avaliação da taxa de concepção por tratamento. Todas as fêmeas responderam aos tratamentos e houve crescimento folicular similar desde a emergência até o desvio folicular. Houve efeito do indutor de ovulação no diâmetro do folículo dominante e ovulatório ($P < 0,05$). A taxa de ovulação foi maior nos animais submetidos a indução de ovulação com hCG (65%) do que nos tratados com BE (30%), independentemente de estação reprodutiva. Não houve diferença significativa entre as taxas de ovulação na mesma estação, independente de protocolo utilizado. No geral, as ovulações ocorreram em 55% das fêmeas sincronizadas na estação favorável e em apenas 40% na desfavorável ($P = 0,31$), apesar do uso de dispositivos de progesterona. O hCG induziu a ovulação em média 21,4 horas mais cedo que o BE na estação favorável e 24 horas mais cedo na desfavorável. A taxa de concepção média foi de 29% (29/100) na estação favorável e de apenas 3% (3/100) na desfavorável ($P < 0,01$), mas não houve diferença entre protocolos na mesma estação. Conclui-se que o hCG foi mais eficiente na indução de ovulação sincronizada que o benzoato de estradiol e que não foi possível obter taxas de prenhez satisfatórias na estação reprodutiva desfavorável em fêmeas bubalinas

criadas extensivamente em campos nativos, pobres e periodicamente alagados da Amazônia Equatorial.

Palavras-chave: Búfalas, Baixada Maranhense, Capacidade ovulatória, Reprodução.

ABSTRACT

BEZERRA, Danilo Cutrim. **Synchronization of ovulation for timed artificial insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*) on Equatorial Amazon**. 2016. 88 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

The aim of the study was to evaluate different synchronization protocols for timed artificial insemination (TAI) in buffalo during the breeding and nonbreeding seasons, in the equatorial Amazon. The experiment was conducted in Baixada Maranhense, Maranhão, Brazil. A total of 200 lactating Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*) cows, raised extensively on native pasture, water and minerals ad libitum were used. Based on retrospective historical distribution of births in the region, the reproductive seasonality was characterized in two seasons, Breeding (July) and Nonbreeding (January). Then four protocols for ovulation synchronization were performed: "GnRH/hCG" (control protocol for Breeding season); "GnRH/BE" (proposed protocol for Breeding season); "P4/hCG" (control protocol for Nonbreeding season); "P4/BE" (proposed protocol for Nonbreeding season). The females were ultrasonographically examined for monitoring the follicular dynamics and ovulation. Then were timed artificially inseminated to evaluate the conception rates. All treatments were effective to induce follicular growth from emergence until follicular deviation. There was effect of the ovulation inducer on diameter of dominant and ovulatory follicles ($P < 0.05$). The ovulation rate was higher in hCG-treated (65%) animals than in BE-treated (30%), regardless of breeding season. The ovulation rates were similar between seasons, regardless of synchronization protocol. In general, ovulations occurred in 55% of synchronized females in Breeding season and only in 40% during Nonbreeding ($P = 0.31$), despite the use of progesterone devices. The hCG-induced ovulations were 21.4 hours earlier than in BE-induced in Breeding season and 24.0 hours earlier in the Nonbreeding season. The average conception rate was 29% (29/100) in Breeding season and only 3% (3/100) in Nonbreeding season ($P < 0.01$), but no difference between protocols in the same season. We conclude that the hCG was more efficient to induce ovulation than estradiol benzoate and it was not possible to obtain satisfactory pregnancy rates in Nonbreeding season in buffalo raised extensively on native, poor and periodically flooded grasslands of the Equatorial Amazon.

Keywords: Buffaloes, Baixada Maranhense, Ovulatory capacity, Reproduction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Quantitativo de bubalinos (<i>Bubalus bubalis</i>) para corte na Baixada Maranhense, 2013.....	21
Figura 2	Protocolo “GnRH/hCG”.....	41
Figura 3	Protocolo “GnRH/BE”.....	41
Figura 4	Protocolo “P4/hCG”.....	42
Figura 5	Protocolo “P4/BE”.....	42
Figura 6	Dinâmica folicular em fêmeas bubalinas (<i>Buballus bubalis</i>) lactantes tratadas com diferentes protocolos na estação reprodutiva favorável.....	45
Figura 7	Dinâmica folicular em fêmeas bubalinas (<i>Buballus bubalis</i>) lactantes tratadas com diferentes protocolos na estação reprodutiva desfavorável.....	45
Figura 8	Distribuição das ovulações em horas após a administração de PGF.....	52
Figura 9	Distribuição das ovulações em horas após a administração do indutor de ovulação.....	52
Figura 10	Taxa de concepção em fêmeas bubalinas (<i>Buballus bubalis</i>) lactantes tratadas com diferentes protocolos nas estações Favorável e Desfavorável...	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Índices zootécnicos dos bubalinos criados na Baixada Maranhense, 2013.....	22
Tabela 2	Diâmetro do folículo dominante na remoção do dispositivo (D8), diâmetro máximo do folículo dominante (FD) e ovulatório (FO), intervalo entre a administração de PGF e a ovulação (h), taxa de ovulação e taxa de concepção em fêmeas bubalinas (<i>Buballus bubalis</i>) lactantes tratadas com diferentes protocolos nas estações Favorável e Desfavorável.....	47

LISTA DE SIGLAS

BE	Benzoato de Estradiol
CE	Cipionato de Estradiol
CIDR	Dispositivo Intravaginal de Progesterona
CL	Corpo Lúteo
CRESTAR	Implante Auricular de Norgestomet
ECC	Escore de Condição Corporal
E ₂	Estradiol
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GH	Hormônio do Crescimento
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante a Insulina
LH	Hormônio Luteinizante
P ₄	Progesterona
PGF _{2α}	Prostaglandina
TE	Transferência de Embriões
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Panorama da Bubalinocultura	19
2.1.1	Caracterização da Bubalinocultura de Corte no Estado do Maranhão	20
2.2	Comportamento Reprodutivo dos Bubalinos	23
2.2.1	Características Reprodutivas	24
2.2.2	Ciclo Estral	25
2.2.3	Foliculogênese e Dinâmica Folicular	27
2.3	ESTACIONALIDADE REPRODUTIVA	30
2.4	ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL (ECC)	33
2.5	INDUÇÃO DO CIO, SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E TAXA DE PRENHEZ NA IATF	34
3	OBJETIVO GERAL	38
3.1	Objetivo Geral	38
3.2	Objetivos Específicos	38
4	JUSTIFICATIVA	39
5	MATERIAL E MÉTODOS	40
5.1	Local de Estudo e Animais Experimentais	40
5.2	Delineamento Experimental	40
5.3	Dinâmica Folicular	43
5.4	Inseminação Artificial e Diagnóstico de Gestação	43
5.5	Análise Estatística	43
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÕES	57
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
	ANEXO	79

1. INTRODUÇÃO

Os búfalos são animais de origem asiática, da família Bovidae, subfamília Bovinae, espécie *Bubalus bubalis*. Trata-se de um animal extremamente rústico e de alta capacidade de adaptação, podendo sobreviver em diversos ambientes, com grandes variações de clima, relevo e vegetação. Esses animais são explorados para a produção de carne, tração animal, produção de esterco e de leite. São encontrados praticamente em todos os continentes, particularmente na Ásia (Índia, Paquistão, Tailândia, China, Vietnã), África (Egito), Europa (Itália) e América do Sul (Brasil, Argentina, Venezuela, Peru e Colômbia) (FAO, 2006).¹

A bubalinocultura é uma atividade recente no Brasil, mas este já é o maior detentor do rebanho da América do Sul, seguido pela Venezuela, Argentina e Colômbia (ANDRIGHETTO et al., 2005). Os búfalos chegaram ao país no final do século XIX, oriundos da Europa, Caribe e Ásia, e foram instalados inicialmente na Região Norte, na Ilha de Marajó (Estado do Pará), e depois se expandiram por toda a região. Posteriormente, foram introduzidos em outras regiões do país. Inicialmente esses animais foram trazidos apenas por curiosidade, sem nenhum interesse econômico e comercial (BERNARDES, 1997; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008).¹

O rebanho bubalino brasileiro concentra-se principalmente na Região Norte do país (65% do efetivo total), distribuído entre as raças Carabao, Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo (MARQUES; CARDOSO, 1997). O Estado do Maranhão ocupa a segunda posição, possuindo um efetivo bubalino de 86.648 animais (MARANHÃO, 2012).¹

O búfalo é comprovadamente um animal de fácil adaptabilidade às condições brasileiras e é caracterizado pela boa eficiência reprodutiva e rápido desenvolvimento ponderal. A eficiência da espécie bubalina, no Brasil, tem sido demonstrada por diversos grupos de pesquisa e, em diferentes sistemas de criação, o búfalo tem apresentado ótimo desempenho como produtor de leite e carne, o que é uma grande contribuição para a produção de alimentos (BARUSELLI; CARVALHO, 2002).

Porém, para que índices produtivos sejam satisfatórios, os animais devem apresentar boa eficiência reprodutiva (BARUSELLI, 1994a). Dentre os fatores que interferem na eficiência reprodutiva da espécie bubalina, a detecção do estro é o que mais se destaca

¹ Os três primeiros parágrafos que integram a introdução deste estudo foram extraídos do artigo intitulado “Nível Tecnológico e Organizacional da Cadeia Produtiva da Bubalinocultura de Corte no Estado do Maranhão” publicado pelo autor no periódico Arquivos do Instituto Biológico, v. 83, p. 1-8, 2016 (Apêndice 1). Este periódico apresenta Qualis B3 Capes e está indexado na seguinte base de dados: Bibliography of Agriculture, Biological Abstracts, BVS Vet, Chemical Abstracts, DOAJ, Index Veterinarius, Latindex, LILACS, Review of Applied Entomology series A-B, Review of Plant Pathology, SciELO, Veterinary Bulletin.

devido à discricção da sintomatologia e à necessidade de pessoal capacitado e ferramentas técnicas para executar essa tarefa (BARUSELLI, 1994b; OHASHI, 1994; RAO; RAO; VENKATARAMAIAH, 1995; BARUSELLI et al., 1997). Portanto, elevados índices reprodutivos, associados ao melhoramento genético do rebanho, devem ser metas que norteiam os técnicos e criadores a alcançarem maior produtividade.

Nesse contexto, o uso de biotecnologias reprodutivas, a exemplo da Inseminação Artificial (IA), proporcionam maior retorno econômico à atividade pecuária, pois permitem a seleção e multiplicação de animais geneticamente superiores. Logo, o conhecimento dos aspectos reprodutivos, tanto das fêmeas quanto dos machos, são requisitos básicos para a implantação dos rebanhos, como também para o melhoramento e a avaliação da fertilidade destes animais (OBA, 2003).

Uma característica fisiológica importante apresentada pelos bubalinos é a estacionalidade reprodutiva. Segundo Bittman e Karsch (1984), Zicarelli (1994), Zicarelli e Vale (2002), Vale e Ribeiro (2005) e Garcia (2006), os búfalos são considerados animais sazonais, pois, sua ciclicidade reprodutiva é, geralmente, influenciada pela sua exposição diária à luz. Em vários países do mundo, a época em que os animais apresentam maior atividade reprodutiva é o outono (fotoperíodo negativo), quando a concentração de partos ocorre de julho a dezembro, no hemisfério norte, e de janeiro a março, no hemisfério sul. Durante os meses quentes do ano, existe um aumento na incidência de estros “silenciosos” e ciclos estrais irregulares na fêmea, além da diminuição na libido e qualidade seminal nos machos. Não há relatos de que este comportamento ocorra nas regiões equatoriais, onde a função reprodutiva é influenciada principalmente pela oferta de alimentos. Nestas regiões, acredita-se que o búfalo é um animal poliéstrico contínuo. Em um estudo recente realizado na Amazônia equatorial, mais especificamente na região da Baixada Maranhense – Brasil, Saldanha (2014) reuniu evidências de que há sazonalidade reprodutiva em búfalas criadas em condições extensivas, que, segundo a autora, podem provir de um somatório entre fatores biometeorológicos e nutricionais.

O efeito sazonal fotoperiódico na função reprodutiva é comandado pela melatonina, hormônio sintetizado pela glândula pineal, que inibe a produção dos hormônios liberador de gonadotrofina (GnRH), folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH).

O ciclo estral na búfala varia entre 16 a 33 dias, com maior concentração entre 21 a 24 dias (VALE; RIBEIRO, 2005). Essa amplitude se deve a fatores como clima, manejo, alimentação e genética. Animais submetidos a manejo inadequado e alimentação deficiente em energia, proteína e minerais têm tendência a apresentar estros curtos ou longos (VALE; WEITZE; GRUNERT, 1984).

Para Baruselli (1994b), a sincronização do estro pode facilitar o emprego da IA e a introdução de material genético de alto mérito nos rebanhos bubalinos. Vários protocolos de sincronização do estro são utilizados com sucesso na espécie bubalina, mas, esquemas que sincronizam a ovulação são considerados mais vantajosos, pois, diminuem a necessidade de mão-de-obra especializada para a detecção do estro e favorecem a utilização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (BARUSELLI; CARVALHO, 2003a).

No Brasil, há relatos de que a utilização da IATF em búfalas pode ser prejudicada pela estacionalidade reprodutiva da espécie (BARTOLOMEU, 2004; BARUSELLI; CARVALHO, 2003b; MOURA, 2003). Entretanto, desde o ano de 2001, a utilização de alguns protocolos desenvolvidos com objetivo de minimizar a sazonalidade reprodutiva de bubalinos tem apresentado resultados satisfatórios, permitindo a realização da IATF mesmo durante a estação reprodutiva desfavorável (BARUSELLI et al., 2003).

No sentido de contribuir com a bubalinocultura no Estado do Maranhão é necessário estudar e compreender os fenômenos fisiológicos associados ao crescimento folicular e à ovulação de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*), na perspectiva de otimizar as biotécnicas da reprodução e, conseqüentemente, a eficiência reprodutiva dos rebanhos nesta região.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Panorama da Bubalinocultura²

Os búfalos são animais de origem asiática, da família Bovidae, subfamília Bovinae, espécie *Bubalus bubalis*. Animal extremamente rústico e de alta capacidade de adaptação, podendo sobreviver em diversos ambientes, com grandes variações de clima, relevo e vegetação. São animais explorados para a produção de carne, tração animal, produção de esterco e de leite. Encontrados, praticamente, em todos os continentes, particularmente na Ásia (Índia, Paquistão, Tailândia, China, Vietnã), África (Egito), Europa (Itália) e América do Sul (Brasil, Argentina, Venezuela, Peru e Colômbia) (FAO, 2006; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008; BERNARDES, 2011).

A bubalinocultura é uma atividade recente no Brasil, mas este já é o maior detentor do rebanho da América do Sul, seguido pela Venezuela, Argentina e Colômbia (ANDRIGHETTO et al., 2005). Os búfalos chegaram ao país no final do século XIX, oriundos da Europa, Caribe e Ásia, e foram instalados inicialmente na Região Norte, na Ilha de Marajó (Estado do Pará), e depois se expandiram por toda a região e outras regiões do país. Inicialmente esses animais foram trazidos apenas por curiosidade, sem nenhum interesse econômico e comercial (BERNARDES, 1997; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008).

O rebanho bubalino brasileiro concentra-se principalmente na Região Norte do país (65% do efetivo total), distribuído entre as raças Carabao, Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo (MARQUES; CARDOSO, 1997; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008). O Estado do Maranhão ocupa a segunda posição, possuindo um efetivo bubalino de 86.648 cabeças (MARANHÃO, 2012).

Os produtores brasileiros notaram o potencial de mercado destes animais e passaram a investir na bubalinocultura. De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - FAO, de 1961 a 1980 o rebanho brasileiro evoluiu 686%, e de 1980 a 2005 o crescimento foi de 143%; enquanto a evolução da produção de frangos nos mesmos períodos foi, respectivamente, 234% e 149%; a de bovinos 112% e 61%; a de suínos, 34% e -3%; e de ovinos 31% e -23% (FAO, 2006).

² O item 2.1 e seus respectivos subitens que integram a revisão de literatura deste estudo foi extraído do artigo intitulado “Nível Tecnológico e Organizacional da Cadeia Produtiva da Bubalinocultura de Corte no Estado do Maranhão” publicado pelo autor no periódico Arquivos do Instituto Biológico, v. 83, p. 1-8, 2016 (Apêndice 1). Este periódico apresenta Qualis B3 Capes e está indexado na seguinte base de dados: Bibliography of Agriculture, Biological Abstracts, BVS Vet, Chemical Abstracts, DOAJ, Index Veterinarius, Latindex, LILACS, Review of Applied Entomology series A-B, Review of Plant Pathology, SciELO, Veterinary Bulletin.

O conjunto de agentes que compõe a cadeia pecuária bovina apresenta grande heterogeneidade: de pecuaristas altamente capitalizados a pequenos produtores empobrecidos, de frigoríficos com alto padrão tecnológico, capazes de atender a uma exigente demanda externa, a abatedouros que dificilmente preenchem requisitos mínimos da legislação sanitária (BUAINAIN; BATALHA, 2007).

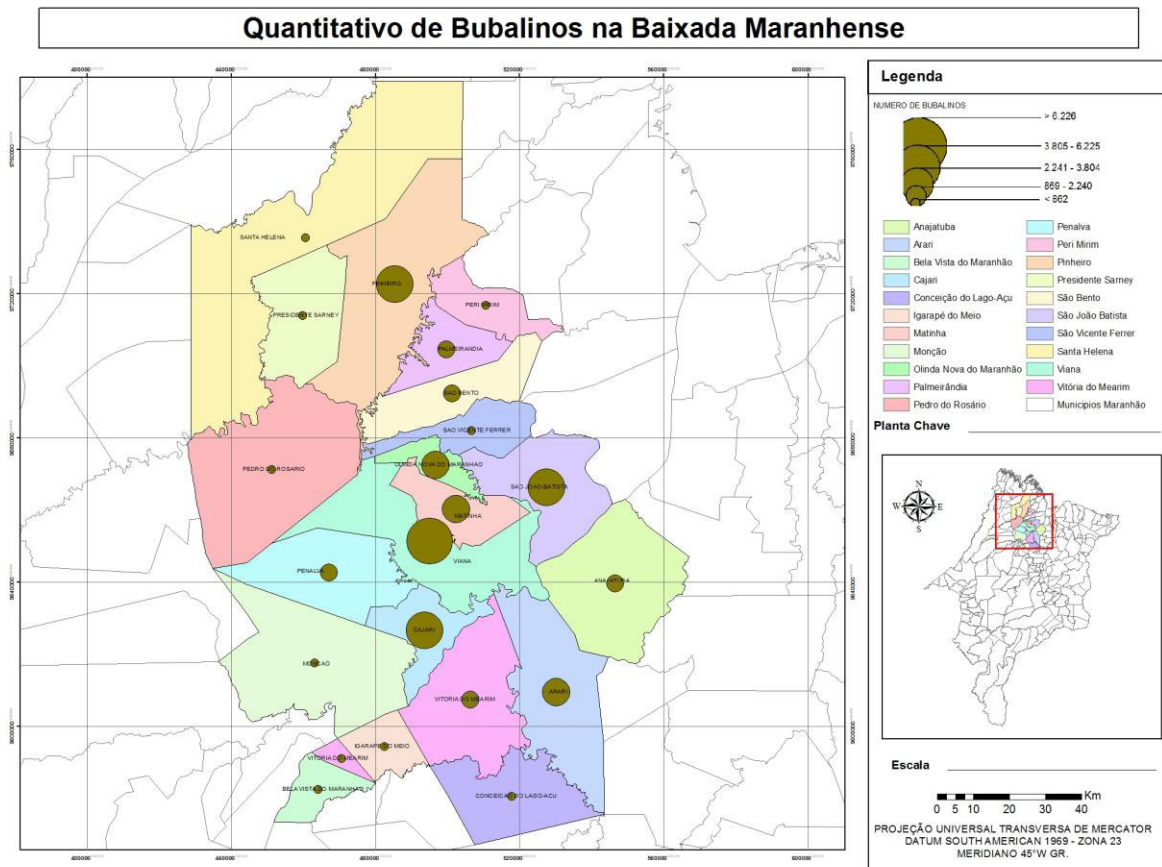
Para Zylbersztajn et al. (1993) e Jank et al. (1999), a cadeia produtiva é constituída por uma sequência de operações interdependentes que têm por objetivo produzir, modificar e distribuir um produto. Em se tratando de cadeias produtivas agroindustriais, engloba as atividades de apoio à produção agropecuária (fornecimento de insumos, assistência técnica, pesquisa etc.), a produção agropecuária dentro da fazenda, o seu armazenamento, beneficiamento, a transformação industrial e a distribuição (atacado e varejo) de um produto, “*in natura*” ou transformado, até o consumidor final. Os atores da cadeia produtiva são os produtores, industriais, distribuidores e consumidores, que são os tomadores de decisão e podem influenciar e interferir em sua coordenação.

2.1.1 Caracterização da Bubalinocultura de Corte no Estado do Maranhão

O rebanho bubalino do Estado do Maranhão é composto por 86.648 animais, distribuído em 146 Municípios dos 218 que compõem o Estado.

O rebanho bubalino do Estado está em sua maioria concentrado na Baixada maranhense (n=56.321; 65% do total) (Figura 1). Os 35% restantes (n= 30.327) estão distribuídos de forma bastante pulverizada em pequenos criatórios localizados em 125 Municípios Maranhenses.

Figura 1. Quantitativo de bubalinos (*Bubalus bubalis*) para corte na Baixada Maranhense, 2013.



Fonte: Santos et al. (2016)

A Baixada Maranhense, formada por 21 Municípios, detém uma área de 1.775.035,6 hectares, situa-se no noroeste do Estado ($1^{\circ}00'S$ - $4^{\circ}00'S$ e $44^{\circ}21'W$ - $45^{\circ}21'W$). Corresponde a uma área de transição entre a Amazônia e o Nordeste e constitui um eco-complexo que inclui rios, lagos, estuários, agroecossistemas e áreas urbanas, além de campos naturais e um grande sistema de áreas inundáveis peculiares a esta região, muito rico em fauna e flora. Seus ecossistemas mais representativos são: babaçal, campos inundáveis, manguezais, mata ciliar e floresta ombrófila (SANTOS, 2004; BERNARDI, 2005).

A partir das décadas de 1950 a 1970, a Baixada Maranhense começou a apresentar expansão na criação de búfalos, seja pela elevação no efetivo do rebanho bubalino, seja pelo aumento no número de propriedades envolvidas nessa atividade ou ainda, pelo incentivo do governo ao programa de introdução de bubalinos no Estado, financiando criadores. Entretanto, isso ocorreu, com uma visão simplista na época, em função da experiência obtida com a criação de búfalos na Ilha de Marajó, cujas características acreditavam serem as mesmas da Baixada maranhense (SANTOS, 2004).

Atualmente, o Estado do Maranhão apresenta 1.551 produtores de bubalinos e a produção de búfalos com a finalidade para corte é realizada na sua maioria por unidades familiares, sendo a administração da propriedade rural realizada somente pelo proprietário, ou pelo proprietário e membros da família. O nível de escolaridade dos produtores oscila do ensino fundamental ao ensino superior, sendo o fundamental completo o predominante.

A concentração fundiária, na Baixada Maranhense, é elevada e representa padrões de uso da terra de baixo nível tecnológico, com baixa produtividade e gradativo processo de degradação dos recursos naturais. Estabelecimentos agropecuários maiores que 500 ha representam aproximadamente menos de 1% do total na maioria dos municípios desta região, mas, ocupam entre 30-70% de suas áreas (BERNARDI, 2005).

Uma característica da criação de búfalos no Estado do Maranhão é que poucos criadores são proprietários da área onde os búfalos são criados e, estas apresentam proporções bastante diferenciadas (variando de 10-49 hectares, para mais de 500 hectares na minoria dos casos). A grande maioria dos criadores, não apresenta propriedade rural, criando os animais totalmente soltos nos campos da Baixada Maranhense, predominando na maioria das situações, a criação de baixo padrão tecnológico.

A reprodução ocorre por meio de monta natural e, na maioria dos casos não há registro genealógico. Ainda existem muitas barreiras para o uso de inseminação artificial, com destaque para infraestrutura deficiente, falta de mão-de-obra especializada, dificuldade na aquisição do sêmen e também falta de informações e capital de giro por parte dos produtores.

Na Tabela 1 são discriminados os índices zootécnicos dos bubalinos criados na Baixada Maranhense (SANTOS et al., 2016). Estes índices assemelham-se a alguns dados de desempenho encontrados por Kasprzykowski (1978) em pesquisa realizada no Município de Pinheiro, pertencente à Baixada Maranhense.

Tabela 1. Índices zootécnicos dos bubalinos criados na Baixada maranhense, 2013

Índices zootécnicos	Espécie bubalina
Índice de natalidade	20 a 58%
Vida útil do reprodutor	12 a 14 anos
Número de crias por matriz	8 a 10
Idade do primeiro parto	3 anos
Período de gestação	10 meses
Intervalo entre partos	18 meses
Período de lactação	8 a 10 meses

Produção de leite/dia	3 a 3,5 litros
Peso ao nascer	28 Kg
Idade da desmama	8 a 10 meses
Peso vivo adulto	600 Kg
Idade de abate	3 a 4 anos
Peso vivo á idade de abate	430 a 600 Kg
Mortalidade de bezerros	4 a 10%

De acordo com Nantes e Scarpelli (2008), em decorrência da globalização no mercado de alimentos, a lucratividade está cada vez menor, conduzindo os proprietários rurais a desenvolverem uma nova ótica empresarial, praticando uma agropecuária moderna e ligada às agroindústrias ou canais de distribuição, para que possam ser competitivos.

Especificamente referente a melhorias de índices produtivos, existe a necessidade de incremento qualitativo na produção, inclusive no tocante às características reprodutivas, a fim de se acelerar os efeitos positivos do melhoramento genético, que possibilita progressos genéticos significativos nesses animais (PORTO, 2004).

2.2 Comportamento Reprodutivo dos Bubalinos

A evolução do conhecimento sobre o comportamento reprodutivo dos bubalinos foi determinante para a implementação de estratégias reprodutivas específicas (VALE et al., 1991). A eficiência reprodutiva é um dos fatores que tem maior influência sobre a produtividade em rebanhos bubalinos. As causas de baixa eficiência reprodutiva em fêmeas bubalinas, por exemplo, podem ser atribuídas a interações entre o genótipo e o meio ambiente, incluindo o clima, manejo, nutrição e a ocorrência de doenças infecciosas e parasitárias (MADAM; PATA, 1996). Vários trabalhos realizados em diferentes países, inclusive no Brasil, têm enfatizado que a eficiência reprodutiva nos bubalinos é mais influenciada por fatores ambientais que genéticos. Assim, o uso de biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial (IA) e a transferência de embrião (TE), torna-se limitado devido às citadas dificuldades e às características comportamentais da espécie (BARUSELLI et al., 1993; ZICARELLI, 1994; VALE; RIBEIRO, 2007).

2.2.1 Características reprodutivas

A perpetuação das espécies depende do seu sucesso reprodutivo, portanto, a reprodução é a atividade biológica mais importante para qualquer espécie animal (GARCIA, 2006).

A espécie bubalina já foi considerada uma espécie de baixo desempenho reprodutivo, fato atribuído à maturidade tardia, fraca expressão comportamental de estro, intervalo entre partos prolongado e sazonalidade reprodutiva (BORGUESE, 2005; DROST, 2007). Contudo, deve-se considerar que os sistemas de produção variam amplamente de acordo com a região do planeta (PERERA et al., 2005; BORGUESE, 2005) e tem importante efeito nos aspectos reprodutivos, como destaca Pereira (2008). Rolim Filho et al. (2009) atribuem a baixa eficiência reprodutiva às inadequações na interação entre genótipo e ambiente.

Os bubalinos apresentam características particulares em seu padrão reprodutivo, sejam elas anatômicas, fisiológicas ou comportamentais (OBA, 2003; VALE; RIBEIRO, 2005; DROST, 2007). Ademais, a população de folículos primordiais é menor e a taxa de atresia folicular é maior em relação às fêmeas bovinas (DANELL, 1987). A quantidade de folículos primordiais (dois a 20 mil folículos) (VALE; RIBEIRO, 2005) e antrais (ZICARELLI, 1998) é cinco vezes menor em bubalinos. Acredita-se ainda que algumas diferenças morfológicas possam ser responsáveis por diferenças funcionais observadas na produção *in vitro* de embriões e na dinâmica folicular em *Bubalus bubalis* quando comparadas com as subespécies *Bos taurus* ou *Bos indicus* (MONDADORI et al., 2007).

A sazonalidade reprodutiva é uma das características mais notáveis do comportamento reprodutivo nessa espécie. Outra diferença relacionada ao comportamento reprodutivo é que a sintomatologia do estro é menos evidente em bubalinos. O comportamento homossexual é raro (PERERA, 1987; VALE et al., 1990), a produção de muco é menor e este permanece retido no assoalho da vagina (PERERA et al., 1977). Somado a isso é relatada também a grande concentração de estros no período noturno (VALE, 1984) o que caracteriza, assim, a dificuldade na detecção deste e o relativo comprometimento no manejo reprodutivo (DROST, 2007).

2.2.2 Ciclo estral

O ciclo estral compreende os eventos reprodutivos que ocorrem entre dois períodos consecutivos de receptividade sexual (estro) ou ovulações (HAFEZ, 1995). A regulação desse ciclo é determinada por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos que envolvem, principalmente, o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), o hormônio luteinizante (LH), o hormônio folículo estimulante (FSH), o estradiol (E_2), a progesterona (P_4), a inibina e a prostaglandina ($PGF2\alpha$) (MARQUES-JÚNIOR, 1993). Estes fatores interagem e geram uma dinâmica folicular que permite o desenvolvimento de um folículo maduro capaz de ovular em momento propício e produzir uma célula capaz de ser fecundada (CALLEJAS, 2001).

O ciclo estral pode ser dividido em fases folicular e luteínica, assim classificados com base na estrutura morfológica que domina cada fase, isto é, folículos e corpo lúteo, respectivamente (MACMILLAN; BURKE, 1996; SENGER, 2003). Cada fase é composta por dois estágios: (i) a fase folicular apresenta duração curta, corresponde a aproximadamente 20% do ciclo estral e compreende o proestro e o estro; (ii) a fase luteínica equivale a 80% da duração do ciclo estral e compreende o metaestro e o diestro (SENGER, 2003).

Durante a fase folicular a secreção de GnRH pelo hipotálamo estimula a liberação dos hormônios FSH e LH pela hipófise. O FSH em níveis elevados induz o desenvolvimento folicular e, o LH, a maturação desses folículos. Em seguida, a liberação do estradiol pelos folículos aumenta significativamente, eleva suas concentrações a níveis capazes de desencadear o pico de liberação de LH, responsável pela ovulação (VALE, 1991).

As principais características de cada estágio das fases folicular e luteínica foram sumarizadas por Peter et al. (2009) da seguinte forma:

- Metaestro: este estágio delimita o início de um novo ciclo e inicia-se pelo processo de luteinização das células foliculares do folículo dominante do ciclo anterior que formarão a estrutura denominada corpo lúteo. Ocorre aumento gradual nos níveis de progesterona e diminuição nos níveis de estradiol. Geralmente nesse estágio ocorre, ainda, a emergência da primeira onda de crescimento folicular.
- Diestro: estágio caracterizado pela maturidade do corpo lúteo com o aumento das concentrações sistêmicas de progesterona, onde emerge a onda ovulatória.
- Proestro: este estágio inicia com a regressão estrutural e funcional do corpo lúteo e finaliza com o início do estro, transição marcada por redução nos níveis de progesterona e aumento nos níveis de estradiol - hormônio responsável

pelos sinais característicos deste estágio (aumento do tônus uterinos e descarga de muco vulvar). O crescimento do folículo dominante da onda ovulatória e a regressão dos demais marcam este estágio.

- Estro: nesse estágio ocorre a secreção máxima de estradiol e corresponde ao período de receptividade sexual, finalizado com a ocorrência da ovulação.

A sumarização acima foi estabelecida inicialmente para bovinos, mas, hoje sabe-se que são semelhantes em bubalinos (VALE; RIBEIRO, 2005). A duração do ciclo estral na búfala varia de 16 a 33 dias, com maior concentração entre 21 a 24 dias (BARUSELLI, et al., 1997; VALE; RIBEIRO, 2005; DROST, 2007).

Contudo, a expressividade dos sinais clínicos, em cada um dos diferentes estágios, difere em alguns aspectos daqueles expressos pela fêmea taurina e zebuína (VALE; RIBEIRO, 2005). Nesse contexto, o estro em fêmeas bubalinas dura cerca de 5 a 27 horas (média de 20 h), a ovulação ocorre entre 24 a 48 horas após o início do estro, em média 6 a 21 horas após o fim do estro (SIQUEIRA; OBA, 2009).

A duração do estro varia conforme a estação reprodutiva. Assim, na estação reprodutiva favorável o estro dura em média de 10 a 20 horas na maioria dos casos e, na estação reprodutiva desfavorável, há variabilidade muito maior podendo ocorrer por duas a 72 horas (GILL et al., 1973; RAO et al., 1981; VALE et al., 1984; ZICARELLI, et al., 1988; BARUSELLI, 2001).

Segundo Vale et al. (1984), a frequência de aparecimento de estro está diretamente relacionada ao horário do dia. Esses pesquisadores observaram que nas regiões tropicais úmidas ou mesmo em regiões de clima mais ameno, durante o verão, sob temperaturas elevadas, a fêmea bubalina, tem tendência a apresentar sinais de estro à noite, quando a temperatura está mais amena.

Porto Filho et al. (2005) realizaram pesquisa em região com clima tropical de altitude e registraram que em torno de 10% dos casos avaliados, as fêmeas não demonstraram qualquer comportamento de aceitação de monta; estes casos foram caracterizados como estros silenciosos. Segundo Oba (2003), a ocorrência de estros silenciosos e anovulatórios é alta, principalmente em animais submetidos à alimentação deficiente ou expostos a estresse térmico.

2.2.3 Foliculogênese e dinâmica folicular

A foliculogênese ovariana é caracterizada pelo processo de formação, crescimento e maturação folicular, inicia-se com a formação do folículo primordial e culmina com o estágio de folículo pré-ovulatório (MARTINS et al., 2008), subdivide-se em fase pré-antral, na qual os folículos primordiais são ativados e atingem o estágio de folículos secundários e fase antral, caracterizada pelo desenvolvimento dos folículos terciários (FIGUEIREDO et al., 2008).

A fase pré-antral ocorre independente da presença das gonadotrofinas (DRIANCOURT, 1991), entretanto, sabe-se que esta etapa é resultado da complexa interação entre fatores locais e endócrinos que atuam regulando a proliferação celular, diferenciação, e a atresia (SILVA et al., 2006).

O desenvolvimento dos folículos antrais é caracterizado pelas fases de recrutamento, crescimento, seleção e dominância (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005), dependentes das gonadotrofinas (DRIANCOURT, 1991). Após um aumento na expressão de receptores para o FSH na granulosa e para o LH na teca, os folículos se tornam responsivos a estes hormônios (STABENFELDT; EDQVIST, 1996), e desenvolvem um antro, constituindo o principal alvo do monitoramento ultrassonográfico realizado nos estudos da dinâmica folicular.

Segundo Ireland e Roche (1987), recrutamento e emergência são sinônimos e marcam o início da onda folicular, na qual um grupo de folículos de 4 - 5 mm pode ser visualizado macroscopicamente (BORGUESE, 2005) e inicia um período de crescimento comum. O crescimento folicular é estimulado pelo aumento nas concentrações de FSH, que atingem seu máximo quando o maior folículo apresenta aproximadamente 4 mm (GINTHER et al., 1998).

Os folículos selecionados passam a produzir estradiol a partir de substratos androgênicos provenientes das células da teca (DRIANCOURT, 1991). Durante o recrutamento, o FSH irá estimular a síntese de estradiol, inibina e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), dentre outras substâncias. Os folículos tornam-se mais dependentes de FSH e essa dependência também os torna mais susceptíveis à atresia (SCARAMUZZI et al., 1993).

O desvio ou divergência folicular foram termos utilizados por Ginther et al. (1997) com o objetivo de marcar o momento em que há pela primeira vez uma mudança no padrão de crescimento dos maiores folículos. Assim, ocorre aumento na taxa de crescimento

do folículo que se tornará dominante e a redução ou parada do crescimento do segundo maior folículo.

A fase de dominância é caracterizada pela supressão do crescimento dos folículos subordinados e inibição do recrutamento de um novo grupo de folículos (HODGEN, 1982), passivamente pela redução da concentração do hormônio FSH e ativamente por reduzir o número de receptores ao hormônio nos folículos subordinados. Dessa forma, os hormônios estradiol e inibina, produzidos pelas células da granulosa do folículo dominante, reduzem a liberação de FSH a concentrações muito baixas, insuficiente para manter o desenvolvimento dos folículos subordinados, porém suficientes para manter o crescimento do folículo dominante (ALVES et al., 2002).

Quantidades crescentes de estradiol são liberadas pelo folículo dominante, exercendo retroalimentação (*feedback*) positiva no hipotálamo que altera o padrão de secreção de GnRH. Este hormônio estimula a hipófise a liberar o pico pré-ovulatório de LH (SENGER, 2003).

A atresia do folículo dominante ocorre quando há presença de um corpo lúteo ativo no ovário, com ampla produção de progesterona. A progesterona exerce efeito de *feedback* negativo no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, reduzindo a amplitude e a frequência dos pulsos de LH, o que inviabiliza os processos de maturação final do folículo e da ovulação (LUCY et al., 1992; SAVIO et al., 1993; GINTHER et al., 1996).

Estudos relacionados à dinâmica folicular bubalina mostraram em animais com padrão de duas ondas foliculares, a emergência da primeira e segunda ondas ocorrendo respectivamente nos dias $1,8 \pm 0,6$ e $7,8 \pm 2,0$ (TANEJA et al., 1996); $1,16 \pm 0,5$ e $10,83 \pm 1,09$ (BARUSELLI et al., 1997) e $1,10 \pm 0,32$ e $11 \pm 0,4$ (BARKAWI et al., 2009) do ciclo. Animais com três ondas de crescimento folicular apresentaram o início da primeira, segunda e terceira ondas nos dias $1,10 \pm 0,32$; $9,30 \pm 1,25$ e $16,80 \pm 1,22$ (BARUSELLI et al., 1997) e $0,7 \pm 0,3$; $8,4 \pm 0,4$ e $16,3 \pm 0,5$ (BARKAWI et al., 2009), respectivamente.

Gimenes et al. (2011) relataram que a divergência folicular em novilhas bubalinas ocorreu 2,6 dias após a emergência quando o folículo dominante atinge 7,2 mm e o maior folículo subordinado atinge 6,4 mm. A capacidade ovulatória foi adquirida quando o folículo dominante atingiu cerca de 8,5 mm.

Em bubalinos, as pesquisas mostram que concentrações sanguíneas de gonadotrofinas são semelhantes às obtidas em bovinos, portanto, os padrões de secreção de LH e FSH são similares (AVENELL et al., 1985; KANAI et al., 1990). Seren et al. (1994), encontraram valores entre 1,6 - 6,0 ng/mL durante o pico de FSH que é simultâneo ao pico de

LH, que perdurou por 6 a 8 horas. Após este tempo as concentrações reduziram gradualmente até os níveis basais que oscilaram entre 0,2 e 1,5 ng/mL.

O padrão de secreção pulsátil de LH também ocorre em bubalinos. A concentração de LH em níveis basais é 0,72-3,0 ng/mL durante a maior parte do ciclo estral, com pico de 20-40 ng/mL no dia do estro (SHETH et al., 1978; HERANJA et al., 1979; KAKER et al., 1980; ARORA; PANDEY, 1982). Moiola et al. (1998), ao estudar o estro induzido em bubalinos, obtiveram maiores taxas de gestação quando o intervalo entre o estro e o pico pré-ovulatório de LH foi menor ($25,2 \pm 13,1$ h vs $46,1 \pm 18,8$ h).

Segundo Seren et al. (1995), a baixa concentração plasmática de estradiol na espécie bubalina, pode ser uma causa da reduzida intensidade da sintomatologia de estro e também dos menores diâmetros dos folículos pré-ovulatórios. Outros pesquisadores não consideraram as concentrações plasmáticas de estradiol em bubalinos significativamente diferentes das registradas em bovinos (PRAKASH et al., 1997; RONCHI et al., 2001)

O corpo lúteo é um órgão endócrino transitório formado após a ruptura do folículo ovulatório e sua função primária é produzir progesterona para manutenção da prenhez, caso esta não ocorra, o corpo lúteo regride iniciando um novo ciclo estral (MARTINS, 2005). O pico pré-ovulatório de LH resulta na luteinização das células da teca e da granulosa, alterando a esteroidogênese, cujo produto principal deixa de ser o estradiol e passa a ser a progesterona (SAKAMOTO et al., 1995; MILVAE et al., 1996).

Durante a ovulação, o ócito e o fluido folicular são liberados do folículo que resulta na formação de uma cavidade para o desenvolvimento do corpo lúteo, há o rompimento da membrana basal e tanto as células da teca como as da granulosa se desorganizam e invadem a cavidade folicular, crescendo (hipertrofia) e dividindo-se (hiperplasia). A neovascularização e aumento do fluxo sanguíneo também ocorrem conforme se desenvolve o corpo lúteo (DAMBER et al., 1987).

Na ausência de gestação, entre os dias 14 e 17 após a ovulação, ocorre a luteólise (MCGUIRE et al., 1994). A ação do estradiol é sinalizar para que ocorra a liberação de $PGF2\alpha$ em quantidades luteolíticas, estimular a formação de receptores para ocitocina e para si mesmo no endométrio, modificar o padrão de liberação de $PGF2\alpha$ e desencadear a luteólise (BEARD; LAMMING, 1994).

A regressão luteínica acontece em duas etapas: a diminuição da progesterona é considerada como luteólise funcional, enquanto, a involução do tecido luteínico é descrita como luteólise estrutural (MCCRACKEN et al., 1999; NISWENDER et al., 2000; DIAZ et al., 2002). O aumento e o decréscimo nos níveis de progesterona coincidem com o crescimento e regressão do corpo lúteo em búfalas cíclicas AHMED et al., 1977; SHETH et

al., 1978; HERANJA et al., 1979; ARORA et al., 1982). As concentrações periféricas de progesterona são mais baixas durante o estro (0,1 ng/mL), atinge picos de concentrações de 1,6 – 3,6 ng/mL dos dias 13 a 15 do ciclo, e apresentam novo declínio com a proximidade do estro subsequente (AHMED et al., 1977; BACHALAUS et al., 1979).

O acompanhamento contínuo do crescimento e regressão dos folículos antrais, que leva ao desenvolvimento do folículo ovulatório é denominado dinâmica folicular (BORGES, 2001). O estudo da dinâmica folicular durante o ciclo estral pode ajudar a elucidar os fenômenos que interferem na sincronização do ciclo estral e da ovulação e colaborar, assim, para o incremento da fertilidade (LUCY et al., 1992).

Os primeiros estudos sobre a dinâmica ovariana foram conduzidos por Rajakosky no ano de 1960 e seu trabalho compreendeu estudos histológicos em ovários de fêmeas bovinas oriundos de matadouro, o que culminou com a elaboração da teoria das ondas foliculares. Pierson e Ginther (1984) realizaram o primeiro trabalho ultrassonográfico para monitorar o ciclo estral de novilhas bovinas.

Singh et al. (1984) realizaram na Índia o primeiro trabalho relacionado ao crescimento folicular em bubalinos. Para isso, utilizaram novilhas da raça Surti e avaliaram a dinâmica folicular pela técnica de palpação transretal. Posteriormente, Danell (1987) observou a existência de duas ondas de crescimento folicular em novilhas bubalinas fundamentado na avaliação histológica ovariana, e estabeleceu que o padrão de crescimento folicular era similar ao dos bovinos.

Os primeiros estudos realizados por meio de monitoramento ultrassonográfico em bubalinos para acompanhamento da dinâmica folicular foram realizados por Manik et al. (1994), Taneja et al. (1996) e Baruselli et al. (1997). Pierson e Ginther et al. (1987) destacam que com o advento da ultrassonografia, como técnica de avaliação não invasiva e em tempo real, foi possível não somente detectar as estruturas ovarianas, mas acompanhar o seu desenvolvimento por meio de mensurações regulares. Com tais pesquisas, comprovou-se que o crescimento folicular ocorre em forma de ondas (MANIK et al., 1994) e que em bubalinos o número de ondas foliculares por ciclo estral pode chegar ao número de três, com padrão mais frequente de duas ondas (BARUSELLI et al., 1997).

2.3 Estacionalidade Reprodutiva

Principalmente em regiões de clima temperado, ocorrem variações sazonais marcantes de temperatura, luminosidade, clima e disponibilidade de alimento, o que pode

influenciar grandemente a atividade reprodutiva dos animais (SIQUEIRA; OBA, 2009). Uma das características comuns entre a maioria dos animais selvagens e alguns animais domesticados é a estacionalidade reprodutiva, o que favorece a ocorrência dos nascimentos em um momento específico do ano, geralmente na primavera, permitindo aos recém-nascidos crescer sob condições ótimas de clima e disponibilidade de alimento, antes do próximo inverno. Isto significa que os períodos de atividade sexual (estação reprodutiva) devem se alternar com períodos de inatividade sexual (anestro) (PTASZYNSKA, 2007).

O padrão poliéstrico sazonal dos bubalinos ainda não está totalmente elucidado, pois, não se sabe se é determinado por fatores ambientais, genéticos ou ambos (ZICARELLI, 1990; SINGH; NANDA; ADAMS, 2000; GARCIA, 2006).

Nas regiões mais distantes da linha do Equador, no sentido norte ou sul, o búfalo (*Bubalus bubalis*) se comporta como um animal poliestral sazonal de dias curtos, e apresenta interrupção da ciclicidade durante o verão, quando o tempo de luminosidade diária é maior. Contudo, nas regiões próximas ao Equador, como no Brasil, as fêmeas bubalinas aparentemente ciclam durante todo o ano (VALE; RIBEIRO, 2005).

Em vários países do mundo, a época em que os animais apresentam maior atividade reprodutiva é o outono (fotoperíodo negativo), concentrando maior número de partos de julho a dezembro, no hemisfério norte, e de janeiro a março, no hemisfério sul. Durante os meses quentes do ano, existe um aumento na incidência de estros silenciosos e ciclos estrais irregulares e diminuição *da libido* na fêmea e qualidade seminal nos machos. (ZICARELLI, 1994; ZICARELLI; VALE, 2002).

O fotoperiodismo consiste em um mecanismo de detecção das modificações no fotoperíodo para registrar as mudanças estacionais e regular o comportamento reprodutivo (ALEANDRI et al., 1996) por intermédio da secreção de um hormônio, denominado melatonina, sintetizado e secretado durante a noite (ciclo escuro) pela glândula pineal. Em bubalinos, o aumento na secreção de melatonina estimula a secreção do (GnRH) pelo hipotálamo (SRINIVASAN et al., 2009).

Além da atividade sistêmica da melatonina, estudos têm sugerido a atuação deste hormônio sobre a fisiologia ovariana, uma vez que foram detectadas altas concentrações de melatonina no fluido folicular (RÖNNBERG et al., 1990). Adicionalmente, a presença de receptores de melatonina nas células foliculares de ratas e camundongas (SOARES et al., 2003; LEE et al., 2001) sugere uma possível produção de melatonina no ovário (ITOH et al., 1999). Sua atuação está bem documentada como antioxidante e pode estar associada ao desenvolvimento folicular e à qualidade oocitária, interferindo em processos como a maturação oocitária e ovulação (TAMURA et al., 2008).

Não há nutrientes específicos requeridos para a reprodução que não sejam necessários para atender a outras funções fisiológicas corporais e, por isso, é difícil determinar as funções específicas e os mecanismos pelos quais a nutrição, ou determinado nutriente, pode afetar a função ovariana (BORGES, 2006). Short e Adams (1988) descreveram a seguinte escala de prioridades do uso da energia disponível para espécies ruminantes: 1) metabolismo basal; 2) atividades físicas fisiológicas; 3) crescimento; 4) reservas intracelulares de energia; 5) gestação; 6) lactação; 7) reservas adicionais de energia; 8) ciclos estrais e início de gestação; e 9) reservas excedentes de energia. Estes pesquisadores destacam, ainda, que esta ordem de prioridades pode ser alterada dependendo do estado fisiológico, das condições do meio e do genótipo. Portanto, a atividade reprodutiva é afetada por condições nutricionais inadequadas.

Quando a ingestão de alimentos é maior que os requerimentos de manutenção e produção, o excedente de energia é estocado como gordura corporal, que pode ser estimado pela avaliação do escore da condição corporal (ECC), considerada ferramenta útil na predição do desempenho reprodutivo futuro (SHORT et al., 1990).

Diskin et al. (2003) destacam que possivelmente a ação da nutrição sobre a reprodução inclui efeitos sistêmicos, da seguinte forma: 1) no hipotálamo, via síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH); 2) na adeno-hipófise, pela síntese e liberação de FSH, LH e hormônio do crescimento (GH); e 3) nos ovários, por meio da regulação do crescimento folicular e da síntese de esteróides sexuais. Isso interfere nos eventos da dinâmica folicular ovariana, e a consequência principal é o prolongamento do intervalo parto-concepção em função do longo período de anestro (TANAKA et al., 2008).

Segundo Souza et al. (2009) os hormônios metabólicos, como o hormônio do crescimento (GH), a insulina, o IGF-I e II e a leptina têm importante papel no controle da função ovariana dos mamíferos, sinalizando os efeitos da ingestão de alimento e do balanço energético e atuando diretamente no controle dos estádios de desenvolvimento folicular, independente das gonadotrofinas ou em sinergismo com as mesmas, para modularem o recrutamento, o desenvolvimento e a maturação folicular.

A leptina, hormônio proteico secretado pelos adipócitos, está implicada na regulação da ingestão de alimentos, no balanço energético e no eixo neuroendócrino de bovinos e outras espécies animais (BARB; KRAELING, 2004). Seus receptores foram identificados em muitas áreas do cérebro e em vários outros tecidos, incluindo os ovários, associados ao controle do apetite, da reprodução e do crescimento (ZIEBA et al., 2005; ROBINSON et al., 2006).

A leptina é o sinal que informa ao cérebro que os estoques de metabólitos estão adequados para iniciar o processo reprodutivo. A administração de leptina além de estimular a liberação do GnRH produzido nos neurônios hipotalâmicos, atua diretamente sobre a hipófise estimulando liberação de FSH e LH. A leptina ovina recombinante estimula a secreção de LH em ruminantes (AMSTALDEN et al., 2002). As concentrações plasmáticas de leptina refletem o *status* nutricional diretamente relacionado ao desempenho reprodutivo (MCMILLEN et al, 2006).

2.4 Escore de Condição Corporal (ECC)

Bhalaru et al. (1987) observaram que o estado corporal das búfalas interferia nos índices de fertilidade obtidos em IA e no aparecimento do cio. Búfalas que estavam com escore de condição corporal (ECC) muito baixo na ocasião do parto demoravam em manifestar estro e conseqüentemente, tinham sua fertilidade reduzida, quando comparadas a outras em bom estado corpóreo.

Baruselli (1993) ao analisar o aspecto nutricional em um rebanho bubalino na Região Centro-Sul do País, comparou o peso médio de fêmeas bubalinas na idade adulta com a época de aparecimento do estro. O pesquisador verificou que as búfalas manifestaram estro na época de escassez de alimento, ou seja, quando estavam perdendo peso. Estudo realizado por Baruselli et al. (1995) com 476 búfalas visou correlacionar a condição corporal ao parto com os índices reprodutivos de búfalas inseminadas artificialmente. Os pesquisadores obtiveram os seguintes resultados: ao comparar a condição corporal ao parto com o primeiro cio pós-parto, observaram que fêmeas 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 40 e 60 dias pós-parto, respectivamente.

Baruselli et al. (1999) compararam o ECC e a taxa de concepção de 261 búfalas inseminadas artificialmente em tempo fixo (IATF) por meio da sincronização da ovulação pelo método *Ovsynch*/ P4/GnRH. Foi observada influência ($P < 0,05$) da condição corporal na taxa de concepção. As fêmeas avaliadas apresentaram taxa de concepção média de 50,20%, e de 39,70% quando a condição corporal era $\leq 3,0$, de 53,90% quando a condição corporal era de 3,5, e de 56,7% para aquelas com $ECC \geq 4,0$. Estes pesquisadores sugerem que as búfalas devem ter $ECC \geq 3,5$ para obtenção de uma boa eficiência ao tratamento.

Baruselli (2000) também verificou a interferência ($P < 0,05$) do ECC na taxa de concepção de búfalas inseminadas artificialmente. Estes resultados corroboram com Ribeiro

Filho et al. (2003), que verificaram a influência do escore corporal sobre a taxa de prenhez de búfalas inseminadas artificialmente em tempo fixo pelos protocolos *Ovsynch*/P4/GnRH 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%.

2.5 Indução do Estro, Sincronização da Ovulação e Taxa de Prenhez na IATF

A prostaglandina - PGF 2α é o principal hormônio utilizado para controlar o ciclo estral, mediando a luteólise (regressão funcional e estrutural do corpo lúteo) (TWAGIRAMUNGU et al.; 1995). Nessa perspectiva, Odde (1990) iniciou a elaboração de protocolos com uso de PGF 2α e demonstrou boa eficiência na regressão do corpo lúteo em bovinos quando a PGF 2α é aplicada entre os dias 6 e 17 do ciclo estral (diestro). Entretanto, Kastelic et al. (1990) descreveram que a PGF 2α atua apenas na regressão do corpo lúteo, uma vez que esta não altera o crescimento folicular. Com isso, observa-se grande variabilidade temporal na sintomatologia de estro e subsequente ovulação.

Ribeiro (1985) ao realizar os primeiros estudos na Amazônia, observou que a maior manifestação de estros ocorreu entre 48 e 72 hs após a aplicação de cloprostenol e concluindo que o uso da PGF 2α para a indução do estro, deve ser acompanhado de exames ginecológicos (presença de muco, tônus uterino e estruturas ovarianas). Na espécie bubalina, a utilização da PGF tem sido objeto de estudo tanto para melhorar a eficiência reprodutiva como para diminuir o intervalo entre os partos (CHAUHAN et al., 1985; EL-BELELY et al., 1995; PORTO-FILHO, 2000).

Baruselli (1994) observou variação no tempo de manifestação do estro entre 36 a 96 horas após a aplicação de PGF 2α em bubalinos. Em bovinos, Pursley et al. (1997) observaram que quando a PGF 2α foi aplicada no 10º dia do ciclo estral, as vacas foram detectadas em estro após ± 35 horas. Ainda em bubalinos, Porto-Filho (2000) observou que quando a aplicação da PGF 2α foi realizada antes do dia 10, as novilhas bubalinas apresentaram estro ($40,7 \pm 10,9$ hs vs $56,7 \pm 12,8$ hs) e ovulação ($70,0 \pm 11,3$ hs vs $85,6 \pm 12,5$ hs) antecipados em relação às novilhas tratadas após o dia 10.

Assim, a fim de diminuir a variabilidade da ovulação após a aplicação da PGF 2α , vários pesquisadores estudaram o uso de GnRH com o intuito de controle da dinâmica folicular em animais da espécie bovina (PURSLEY et al., 1995; TWAGIRAMUNGU et al., 1995; BARROS et al., 1998 a,b; BARROS et al., 2000) e em bubalinos (SOUSA et al., 1999; RIBEIRO et al., 2003; BARUSELI et al., 2009).

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

Vários trabalhos demonstraram que folículos com 9 a 10 mm de diâmetro, quando estimulados com GnRH, ovulam mesmo na presença de altas concentrações de progesterona (WILTBANK, 1997; DE RENSIS; PETERS, 1999).

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

Em trabalhos realizados na América do Norte, foi testada a ação luteolítica da PGF2 α , associada à ação do GnRH na indução da ovulação do folículo dominante e desenvolveram um novo protocolo de sincronização para gado leiteiro, denominando-o de Ovsynch (WILTBANK; HAUGHIAN, 2003). Segundo Pursley et al. (1995), a primeira dose de GnRH causa a ovulação e recrutamento de uma nova onda folicular. Sete dias após a primeira dose de GnRH, uma dose de PGF2 α foi necessária para regredir o corpo lúteo (CL). Nesta ocasião, este CL já seria maduro e sensível à ação da PGF2 α . Neste protocolo, uma segunda dose de GnRH foi administrada 48 horas após a PGF2 α , com intuito de induzir a ovulação do novo folículo dominante da onda sincronizada. Desde a introdução do Ovsynch no ano de 1995, esse protocolo vem largamente sendo utilizado na indústria leiteira. Foram ainda lançados vários outros protocolos que também utilizam o GnRH, como: *Co-synch*, *Pre-synch*, *Heat-synch* e *Select-synch* (WILTBANK; HAUGHIAN, 2003).

Corôa (1999), sincronizou fêmeas bubalinas com protocolo à base de progesterona de liberação lenta + desmame temporário (48 horas), aos 60 dias pós-parto e com ECC >2 ou <2, obtendo apenas 15% de indução do estro nas búfalas com ECC < 2 e de 100% nas búfalas com ECC > 2.

Bartolomeu et al. (2000) utilizaram em búfalas GnRH/PGF2 α /GnRH (*Ovsynch*) como grupo controle a ser comparado com outros quatro protocolos à base de progesterona/progestágeno, CIDR/BE (n = 35); CIDR/GnRH (n =18); CRESTAR/BE (n = 33); CRESTAR/GnRH (n = 19) e obtiveram taxas de concepção de 55,60% (10/18), 22,80%

(8/35), 16,70% (3/18), 27,30% (9/33) e 21,00% (4/19) respectivamente, evidenciando a eficiência do Ovsynch e a necessidade de adequação dos protocolos à base de progesterona/progestágeno.

Baruselli (2001a) testou o LH em substituição à segunda dose de GnRH no protocolo Ovsynch e observou 93,30% (14/15) de ovulação para ambos os tratamentos e concepção de 56,49% (n = 154) para o grupo tratado com GnRH e de 64,24% (n = 151) para o LH (P=0,08).

Baruselli et al. (2002b), avaliaram a eficiência de diferentes protocolos de sincronização da ovulação com IATF em búfalas em estação reprodutiva desfavorável. O grupo 1 recebeu como tratamento o seguinte protocolo: CIDR+eCG+hCG com I.A 14 hs depois da última aplicação. O grupo 2 recebeu como tratamento GnRH/PGF_{2α}/GnRH. A taxa de concepção dos grupos foi de 53,50% e 28,20%, respectivamente para os grupos G1 e G2 (P<0,01). Onde 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 estudo com o objetivo de verificar a eficiência da utilização do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR – B) associado ao protocolo *Ovsynch* para a IATF em estação reprodutiva desfavorável. Para isso, foram utilizadas 171 búfalas divididas em dois grupos. O grupo 1 (n= 65) recebeu o protocolo *Ovsynch* tradicional. O grupo 2 (n= 106) recebeu o protocolo *Ovsynch* + P4. Todas as búfalas foram inseminadas 16 hs após a última aplicação. A taxa de concepção G1 e G2 foram respectivamente de 55,40% e 57,50%.

Ribeiro et al. (2005), objetivaram aumentar a taxa de prenhez em búfalas criadas em dois diferentes regimes de produção e para isso realizaram dois experimentos, ambos com a utilização de esteróides nos protocolos de IATF. No primeiro experimento realizado em regime de criação semi-intensivo foram utilizados dois protocolos: (i) CIDR/BE+PGF_{2α}+BE; (ii) CIDR/BE+BE. No segundo experimento conduzido em regime de criação semi-extensivo, também foram empregados dois protocolos: (i) progesterona/GnRH +PGF_{2α} + GnRH; (ii) protocolo *Ovsynch*. A taxa de prenhez no primeiro experimento foi de 71,35% no protocolo 1 e de 59,75% no protocolo 2 (P>0,05). No segundo experimento, a taxa de prenhez foi de 65,50% para protocolo 1 e 60% para protocolo 2 (P>0,05). Os pesquisadores 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 búfalas na estação reprodutiva desfavorável. Pelos resultados, os pesquisadores 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, ainda, 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, receberam implante auricular para liberação de progesterona/ BE + PGF2 α , sendo que nos protocolos 1 e 3 também foram utilizados eCG + hCG. As taxas de ovulação nos três protocolos foram de 62,50%, 50,00% e 75% respectivamente. Os pesquisadores não verificaram diferença estatística na taxa de ovulação.

Pellerano et al. (2005a), na Argentina, estudaram a influência da estação favorável e desfavorável, o uso do protocolo *Ovsynch* tradicional associado ao dispositivo de progesterona e a taxa da prenhez na primeira IATF, assim como na resincronização. Os grupos 1 e 2 foram sincronizadas na época reprodutiva favorável e o grupo 3 na época reprodutiva desfavorável. O grupo 1 recebeu o protocolo *Ovsynch* modificado (GnRH + PGF2 α + GnRH), os grupos 2 e 3 receberam o protocolo CIDR/GnRH + PGF2 α + GnRH. Após as inseminações foi realizada 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. Na sequência foi realizado diagnóstico de prenhez por meio de exame ultrassonográfico. Nos animais não prenhes foi administrada dose de PGF2 α e continuou um protocolo similar ao da sincronização e posterior diagnóstico de prenhez. O resultado da taxa de prenhez: (i) 66,60%, 40,50%, 33,30% nos grupos 1, 2 e 3 – primeira sincronização; (ii) 33,30%, 40,90% e 0% – primeira sincronização; (iii) 77,7%, 64,9% e 33,3% – última sincronização. Os resultados demonstram que se pode utilizar a IATF tanto na época favorável como na época desfavorável.

Recentemente foi realizado estudo objetivando substituir o hCG pelo GnRH como indutor de ovulação em búfalas sincronizadas para IATF durante a estação reprodutiva desfavorável (CARVALHO et al., 2005). Pela avaliação ultra-sonográfica, não se verificou diferença na taxa e na sincronização da ovulação. Esse dado é indicativo de que o GnRH pode ser empregado como indutor de ovulação, possibilitando ainda mais a redução dos custos do protocolo. Futuros estudos devem ser realizados para averiguar a taxa de concepção com o emprego do GnRH.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar a eficácia de protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), durante as estações reprodutivas favorável e desfavorável em fêmeas bubalinas na Amazônia equatorial.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficiência de protocolos à base de progesterona/estradiol/prostaglanina na sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bubalinas durante a estação reprodutiva desfavorável, na Amazônia equatorial;
- Avaliar o efeito da administração de hCG e benzoato de estradiol na indução da ovulação e taxa de concepção em fêmeas bubalinas, na Amazônia equatorial;
- Propor e viabilizar novos protocolos de sincronização da ovulação na perspectiva de contornar os efeitos sazonais na reprodução de búfalos no Estado do Maranhão;
- Criar alternativas para aumentar as taxas de concepção em fêmeas bubalinas em programas reprodutivos no Estado do Maranhão;

4. JUSTIFICATIVA

Ao se pesquisar o cenário da bubalinocultura do Estado do Maranhão - Brasil, para fundamentar a revisão deste estudo, ficou evidente que esta é uma atividade em expansão na região. Contudo, apesar dos avanços tecnológicos disponíveis, ainda se observa baixo desempenho reprodutivo desses animais no Estado, principalmente devido a fatores como estresse calórico, déficit nutricional e manejo inadequado. Associado a isso, a diretriz principal deste estudo que é a sincronização da ovulação em diferentes estações reprodutivas na Amazônia equatorial, é relatada de forma escassa e superficial na literatura.

Neste contexto, e considerando a relevância do assunto, associado à importância sócio-econômica da bubalinocultura para o Maranhão, há a necessidade premente de desenvolver pesquisas sobre esta temática, com foco no incremento de índices produtivos.

O tema proposto para este estudo integra a área da Reprodução e sua subárea do conhecimento, a Biotecnologia da Reprodução. Será estudada neste trabalho a Sincronização da Ovulação para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em fêmeas bubalins (*Bubalus bubalis*), durante as estações reprodutivas favorável e desfavorável, na Amazônia equatorial.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local do Estudo e Animais Experimentais

O trabalho foi conduzido em duas propriedades rurais, uma localizada no Município de Arari e a outra no Município de Penalva, ambas na Baixada Maranhense. Esta região, com uma área de 1.775.035,6 hectares, situa-se na porção noroeste do Estado do Maranhão (1°00' - 4°00'S e 44°21' - 45°21'W). Especificamente localizada há 360 km ao Sul da linha do Equador, portanto situada na região equatorial, cujos limites são 10° de Latitude ao Sul ou Norte (WINSTON; RAO, 1969)

Foram selecionadas fêmeas bubalinas (*Buballus bubalis*) da raça Murrah e mestiças, com escore de condição corporal (ECC) média de 3,5 (variando em uma escala de 1 a 5), lactantes, submetidas a condições similares de pastagem, manejo e mineralização, com consumo de água e sal mineral *ad libitum*.

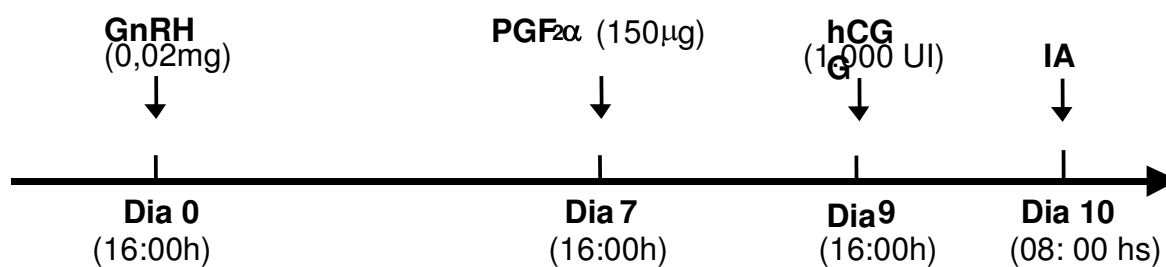
5.2. Delineamento Experimental

Com base na distribuição histórica retrospectiva dos nascimentos de bubalinos na Baixada Maranhense (SALDANHA, 2014), caracterizou-se a estacionalidade reprodutiva, sendo definidas duas estações reprodutivas (períodos Favorável e Desfavorável). Conforme ilustrado nas Figuras 2 a 5 e descrito abaixo, foram aplicados quatro tratamentos/protocolos para sincronização de ovulações.

- Tratamento “*GnRH/hCG*” – (n=10); protocolo controle para sincronização em estação reprodutiva favorável;
- Tratamento “*GnRH/BE*” – (n=10); protocolo proposto para sincronização em estação reprodutiva favorável;
- Tratamento “*P4/hCG*” – (n=10); protocolo controle para sincronização em estação reprodutiva desfavorável;
- Tratamento “*P4/BE*” – (n=10); protocolo proposto para sincronização em estação reprodutiva desfavorável;

Conforme detalhado na Figura 2, no tratamento “*GnRH/hCG*” (n=10) foram administrados 0,02mg de acetato de Buserelina (i.m.;GnRH; Sincroforte[®], Ourofino, Brasil) no dia zero (D0), seguido 150µg de Cloprostenol (i.m.; PGF2α; Sincrocio[®]; Ourofino, Brasil) no dia sete (D7) e 1.000 mg de gonadotrofina coriônica humana no dia nove (D9).

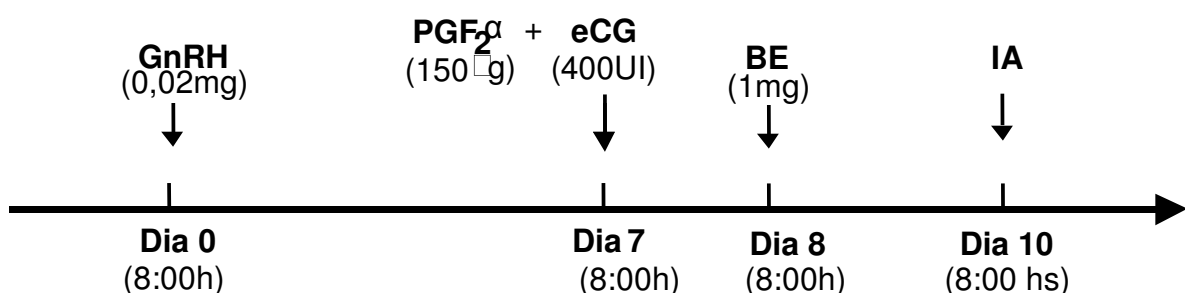
Figura 2. Protocolo “*GnRH/hCG*”.



Legenda: GnRH= Hormônio Liberador de Gonadotrofina (Acetato de buserelina); PGF2α= Prostaglandina F2α (D-Cloprostenol); hCG= gonadotrofina coriônica humana; (i.m.; hCG; Vetecor[®]; Hertape Calier, Brasil). US= exame ultra-sonográfico

Conforme ilustrado na Figura 3, no tratamento “*GnRH/BE*” (n=10), no dia zero (D0), foram administrados 0,02mg de acetato de Buserelina (i.m.;GnRH; Sincroforte[®], Ourofino, Brasil), seguido 150µg de Cloprostenol (i.m.; PGF2α; Sincrocio[®]; Ourofino, Brasil), no dia sete (D7). No Dia oito (D8),foi administrado 1mg de benzoato de estradiol (i.m.; BE, Sincrodiol[®], Ourofino, Brasil).

Figura 3. Protocolo “*GnRH/BE*”.

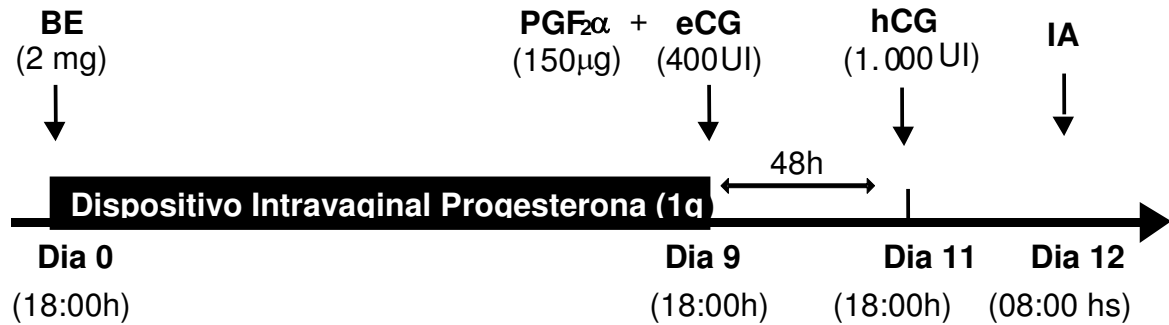


Legenda: BE= benzoato de estradiol; GnRH= Hormônio Liberador de Gonadotrofina (Acetato de buserelina); PGF2α= Prostaglandina F2α (D-Cloprostenol); US= exame ultra-sonográfico

Ao início do tratamento “*P4/hCG*” (n=10; Figura 4), no dia zero (D0), foi inserido um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; Sincrogest[®], Ourofino, Brasil), associado a 2mg de benzoato de estradiol (i.m.; BE, Sincrodiol[®], Ourofino, Brasil). No Dia

nove (D9), foram removidos os dispositivos e administrados 150µg de Cloprostenol (i.m.; PGF₂α; Sincrocio[®]; Ourofino, Brasil) concomitante a 400UI de gonadotrofina coriônica equina (i.m.; eCG; SincroeCG[®]; Ourofino, Brasil), sendo administradas, no dia 11 (D11), 1.000UI de gonadotrofina coriônica humana (i.m.; hCG; Vetecor[®]; Hertape Calier, Brasil).

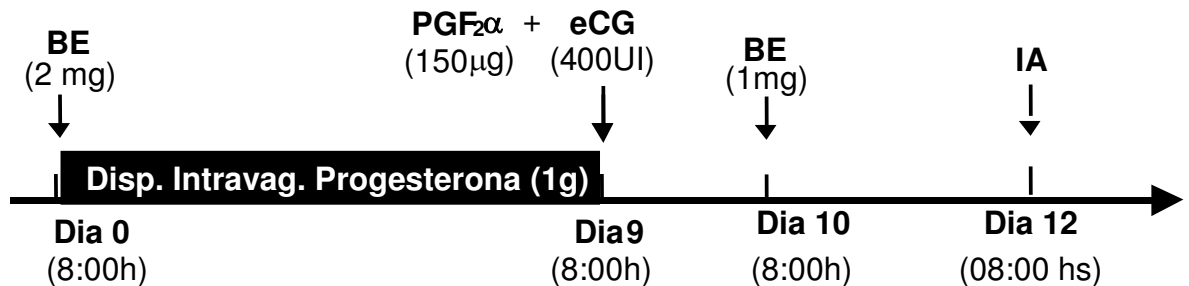
Figura 4. Protocolo “P4/hCG”.



Legenda: BE= benzoato de estradiol; PGF₂α= Prostaglandina F₂α (D-Cloprostenol); eCG=gonadotrofina coriônica equina; hCG= gonadotrofina coriônica humana; US= exame ultra-sonográfico

O tratamento “P4/BE” (n=10; Figura 5), consistiu na inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; Sincrogest[®], Ourofino, Brasil) no dia zero (D0), associado a 2mg de benzoato de estradiol (i.m.; BE, Sincrodiol[®], Ourofino, Brasil). No Dia oito (D8), foram removidos os dispositivos e administrados 150µg de Cloprostenol (i.m.; PGF₂α; Sincrocio[®]; Ourofino, Brasil) concomitante a 400UI de gonadotrofina coriônica equina (i.m.; eCG; SincroeCG[®]; Ourofino, Brasil), sendo administrado novamente, no dia 10 (D10), 1mg de benzoato de estradiol (i.m.; BE, Sincrodiol[®], Ourofino, Brasil).

Figura 5. Protocolo “P4/BE”.



Legenda: BE= benzoato de estradiol; PGF₂α= Prostaglandina F₂α (D-Cloprostenol); eCG=gonadotrofina coriônica equina; US= exame ultra-sonográfico

5.3 Dinâmica Folicular

Para determinação do momento das ovulações, as fêmeas de ambos os tratamentos foram submetidas a exames ultra-sonográficos com auxílio de um ultra-som (CHISON 600VET, USProducts Eletromedicina, Brasil) com transdutor linear transretal de 5,0 MHz. Foi aferida a população folicular por meio da quantificação e mensuração (diâmetro em milímetros) dos dois maiores folículos. A iniciar-se pela ocasião da administração da PGF2 α , a dinâmica folicular foi monitorada a cada 12 horas até a ovulação (Figuras 2 a 5). A ovulação foi definida como o desaparecimento do folículo dominante identificado na avaliação anterior.

5.4 Inseminação Artificial e Diagnóstico de Gestação

Após o estudo das dinâmicas foliculares, nas duas estações, um total de 200 fêmeas foram distribuídas ao acaso e inseminadas em tempo fixo, 16 horas após a administração do indutor de ovulação nos protocolos GnRH/hCG e P4/hCG (segundo BARUSELLI et al., 2009; CARVALHO et al., 2007), 48 horas após o indutor no protocolo GnRH/BE (MOHAN; PRAKASH, 2010) e 40 horas após o indutor no protocolo P4/BE (CARVALHO et al., 2012-2016). Aos 30 dias após a IATF, as fêmeas foram submetidas ao diagnóstico de gestação por ultra-sonografia (US; CHISON 600VET[®], USPBrasil Eletromedicina, Brasil). Com a realização dos referidos exames foi avaliada a taxa de concepção à inseminação.

5.5 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada com auxílio do *software* Statistical Analysis System for Windows SAS[®] (versão 9.3. SAS Inst. Inc., Cary, NY). A normalidade dos resíduos para cada variável foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk (aplicativo PROC UNIVARIATE do SAS). As variáveis dependentes contínuas foram expressas em média e erro-padrão da média (média \pm EPM) e analisadas por regressão logística por meio do aplicativo PROC GLIMMIX do SAS, sendo ajustadas para distribuição normal. A taxa de concepção foi analisada por regressão logística com modelo ajustado para distribuição

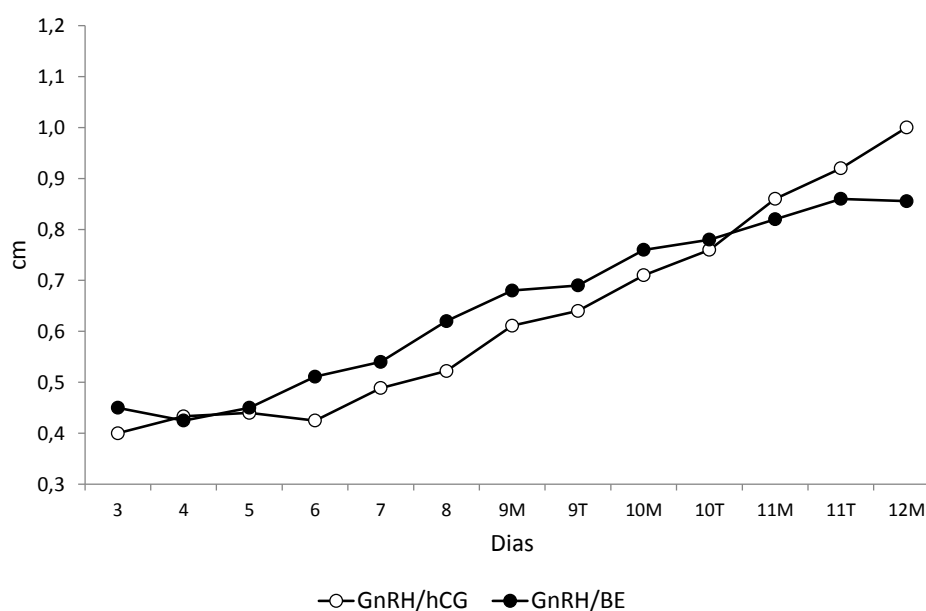
binomial (PROC GLIMMIX). A dispersão das ovulações foi analisada comparando-se a homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett (PROC SUMMARY NWAY do SAS).

As variáveis classificatórias consideradas no modelo estatístico para verificação dos efeitos e interações foram: tratamento, indutor de ovulação, estação reprodutiva e animal. O nível de significância adotado para rejeitar H_0 (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05, se considerou que houve efeito das variáveis classificatórias e das suas interações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

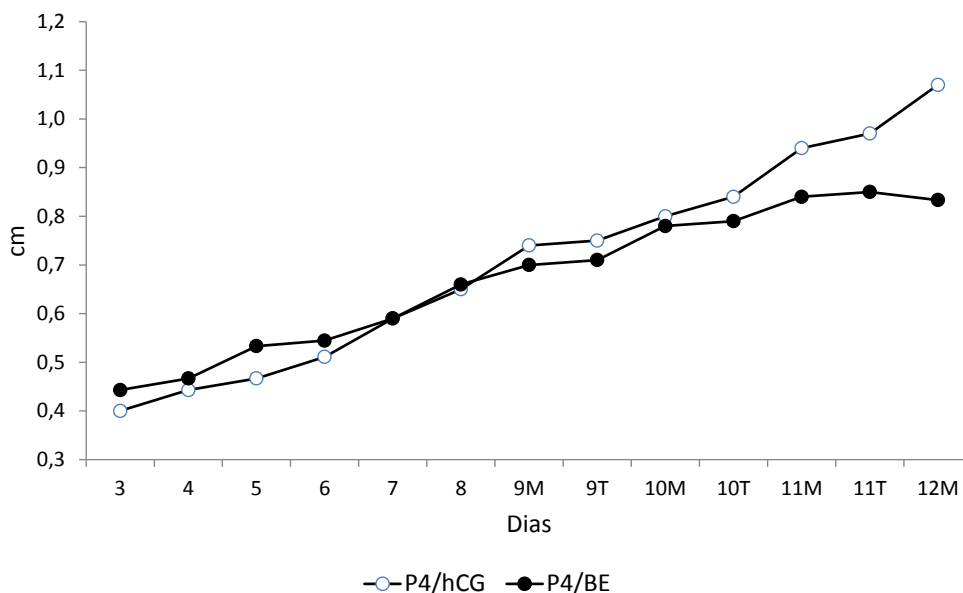
Não houve efeito do protocolo na sincronização da emergência e crescimento folicular inicial nas estações favorável e desfavorável (Figuras 6 e 7). Todas as fêmeas responderam aos protocolos e houve crescimento folicular similar desde a emergência até o desvio folicular.

Figura 6. Dinâmica folicular em fêmeas bubalinas (*Buballus bubalis*) lactantes tratadas com diferentes protocolos na estação reprodutiva favorável



($P > 0,05$)

Figura 7. Dinâmica folicular em fêmeas bubalinas (*Buballus bubalis*) lactantes tratadas com diferentes protocolos na estação reprodutiva desfavorável



(P>0,05)

Os diâmetros dos folículos dominantes no dia 8 (D8) dos protocolos foram similares entre tratamentos e estações reprodutivas (P>0,05), e próximos aos identificados por Gimenes et al. (2007) em fase de desvio folicular que foram de $7,2 \pm 0,3$ mm e aos relatados por Porto Filho (2004) no dia 9 do protocolo em fêmeas bubalinas sincronizadas na estação desfavorável com ou sem eCG ($8,5 \pm 2,2$ vs $7,8 \pm 2,9$ mm, respectivamente).

Durante o desenvolvimento folicular, os fatores de crescimento locais são importantes para o desenvolvimento inicial e as gonadotropinas são essenciais nos estágios finais de crescimento e ovulação (WEBB et al., 2004). A habilidade do folículo selecionado em crescer e ovular depende de mudanças nas concentrações de muitos outros fatores intrafoliculares (FORTUNE et al., 2004), bem como do *status* nutricional (BUTLER, 2000), fotoperíodo (ROV et al., 2016) e a consequente pulsatilidade do LH (CANFIEL; BUTLER, 1990).

Conforme apresentado na Tabela 2, em nosso estudo, os folículos dominantes apresentaram, em média, diâmetro máximo acima de 9 mm em ambos os tratamentos e estações (9,3 a 11,4mm). Estes resultados são semelhantes aos de Berber et al. (2002), que obtiveram, em média, diâmetro de 9 mm para o folículo dominante. Rastegarnia et al. (2004), em um experimento com sincronização da ovulação comparando diferentes doses de gonadorelina em búfalas durante a estação reprodutiva favorável (março a julho), obtiveram diâmetro médio dos folículos dominantes de 12,7 mm, valor aproximado do diâmetro ovulatório observado em nosso estudo, exceto para o protocolo P4/BE, cuja taxa de ovulação foi de apenas 20%, com diâmetro ovulatório de em torno de 10mm.

Tabela 2. Diâmetro do folículo dominante na remoção do dispositivo (D8), diâmetro máximo do folículo dominante (FD) e ovulatório (FO), intervalo entre a administração de PGF e a ovulação (h), taxa de ovulação e taxa de concepção em fêmeas bubalinas (*Buballus bubalis*) lactantes tratadas com diferentes protocolos nas estações Favorável e Desfavorável.

	FAVORÁVEL		DESFAVORÁVEL		Valor de P		
	Tratamentos				Est	Ind	Est x Ind
	GnRH/hCG	GnRH/BE	P4/hCG	P4/BE	4		
N	10	10	10	10			
Ø FD no D8 (mm)	6,50 ± 0,34	6,40 ± 0,34	7,40 ± 0,56	7,10 ± 0,57	0,09	0,67	0,83
Ø máximo do FD (mm)	10,50 ± 0,87 ^{ab}	9,0 ± 0,97 ^b	11,40 ± 0,84 ^a	9,30 ± 0,61 ^{ab}	0,48	0,04	0,72
Ø máximo do FO (mm)	12,14 ± 0,14 ^a	12,25 ± 0,25 ^a	12,83 ± 0,47 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,06	0,003	0,001
PGF/ ovulação (h)*	116,57 ± 2,21 ^a	114,00 ± 3,46 ^a	66,00 ± 2,68 ^b	54,00 ± 6,00 ^c	<0,001	0,04	0,18
Indutor/ ovulação (h)*	68,57 ± 2,21 ^b	90,00 ± 3,47 ^a	18,00 ± 2,69 ^d	42,00 ± 6,00 ^c	<0,001	<0,001	0,71
Tx. ovulação (%)	70,0 (7/10) ^a	40,0 (4/10) ^{ab}	60,0 (6/10) ^{ab}	20,0 (2/10) ^b	0,31	0,03	0,70

Legenda: Ø FD no D8 (mm) = diâmetro do folículo dominante no dia 8 do protocolo; Ø máximo do FD (mm) = diâmetro máximo do folículo dominante em todas as fêmeas sincronizadas; Ø máximo do FO (mm) = diâmetro máximo do folículo dominante apenas nas fêmeas que ovularam; PGF/ ovulação (h) = intervalo em horas entre a administração de prostaglandina e a ovulação; Indutor/ ovulação (h) = intervalo em horas entre a administração do indutor de ovulação e a ovulação; Tx. ovulação (%) = percentual de fêmeas que ovularam em relação ao total de fêmeas sincronizadas.

^{abc} P<0,05

* Não houve diferença na homogeneidade das variâncias para a variável intervalo PGF/ovulação (P>0,05).

Na espécie bubalina, Baruselli et al. (1999) e Beber et al. (2001) constataram que o diâmetro do folículo dominante foi maior para fêmeas que ovularam em comparação às que não ovularam, isso indica que folículos maiores apresentam maior capacidade ovulatória. Contudo, a presença de grandes folículos em búfalas acíclicas mostra que alcançar um tamanho pré-ovulatório, não é o único fator determinante da ovulação (SALDANHA, 2014). Além deste critério, o folículo deve ser funcionalmente ativo e produzir um nível ótimo de estradiol que possa estimular o pico pré-ovulatório de LH, o qual é um pré-requisito para a ovulação (HAFEZ et al, 2000; PERERA, 2011). Assim, como em outras espécies, em bubalinos, é necessária a aquisição de capacidade ovulatória e dominância morfológica e funcional para que ocorra a ovulação (KHAN; DAS, 2012).

Em um estudo recente realizado por nosso grupo de pesquisa, avaliou-se o diâmetro pré-ovulatório em ciclo estral natural, que alcançou média de 12,13 mm na estação desfavorável (SALDANHA, 2014), sendo ambos menores que os observados por Manik et al. (1998), Baruselli et al. (1997), Taneja et al. (1996) ($13,80 \pm 0,37$; $15,5 \pm 3,3$; $15,3 + 0,3$ mm respectivamente).

Diversos estudos evidenciam a influência do hCG na obtenção de elevados índices da ovulação (BÓ et al., 2001; MARQUES et al., 2002; BARTOLOMEU, 2003; CARVALHO et al., 2004; PORTO FILHO, 2004; BARUSELLI et al., 2007; KOVACS et al., 2008). Esse hormônio apresenta receptores em células da granulosa e células luteínicas do ovário e, portanto, o seu uso tem sido viável para induzir a ovulação e formação de corpos lúteos acessórios (LÓPEZ-GATIUS, 2000; SILVA-COTA, 2005; ZIECIK et al., 2007), além de aumentar a concentração de progesterona no diestro em diferentes espécies (NEPHEW et al, 1994-2006; GINTHER et al., 2009; DE RENSIS et al., 2008; KHAN et al., 2007), inclusive a bubalina (CAMPANILE et al., 2010).

Chowdhury et al. (2010) demonstraram que fatores angiogênicos (Fator de Crescimento Endotelial Vascular – VEGF, angiopoetinas 1 e 2, angiotensinas 1 e 2) são expressos em folículos antrais maiores que 2 mm de diâmetro e em todas as fases do ciclo estral (fase luteínica, pré e pós pico de LH). A expressão desses fatores angiogênicos é maior após o pico de LH. Para Koos (1995) a expressão de tais fatores em diferentes espécies é estimulada pelo LH ou hCG. Diante de tais evidências, Kovacs et al. (2008) citam que o hCG pode contribuir para a angiogênese de folículos maiores durante a fase folicular do ciclo estral e auxiliar no seu desenvolvimento e posterior luteinização.

Gimenes et al. (2011) destacam que folículos presentes em novilhas bubalinas, na estação reprodutiva favorável, demonstravam capacidade ovulatória quando o folículo

dominante atingiu 8,5 mm, fato diretamente relacionada ao aumento de receptores de LH nas células da granulosa e simultâneo ao crescimento folicular.

A taxa geral de ovulação variou entre os protocolos, sendo maior nos animais submetidos a indução de ovulação com hCG (65%) quando comparados àqueles tratados com BE (30%), independentemente de estação reprodutiva (Tabela 2).

As taxas de ovulação foram, em média, similares às registradas na literatura para os protocolos com hCG, sendo relatado 55,6% para o GnRH/hCG (YOTOV et al., 2012) e 51,5 a 70% para o P4/hCG (DI PALO et al.; 2005; CAMPANILLE et al.; 2008; PORTO FILHO, 2004). Já os protocolos com BE apresentaram taxas de ovulação em torno de 40% inferiores aos resultados relatados tanto para o GnRH/BE [80,0% (MOHAN et al., 2009); 100% (MIRMAHMOUDI et al., 2014) quanto para o P4/BE [66,7% (CARVALHO et al., 2013; PORTO FILHO, 2004).

Diversos estudos registram resultados positivos quanto à utilização do protocolo Ovsynch com uso de GnRH ou hCG em fêmeas bubalinas na estação reprodutiva favorável, com taxas de ovulação semelhantes ao encontrado no presente estudo (BARTOLOMEU et al., 2001; BARUSELLI et al., 2001; BARUSELLI; CARVALHO, 2003; STELLA et al., 2005; WEISS, 2012).

Baruselli et al. (1999) avaliaram a resposta ovariana de bubalinas ao protocolo *Ovsynch*, para isso, investigaram o efeito da dose na primeira aplicação de GnRH e constataram melhor taxa de ovulação nos animais que receberam 20 mg de acetato de buserelina (75%) quando comparados àqueles que receberam apenas 10 mg (50%).

Neglia et al. (2007) citam que a segunda aplicação de GnRH do protocolo *Ovsynch* tradicional pode ser substituída pelo uso de hCG ou de LH para indução da ovulação em fêmeas bubalinas com obtenção de taxas de prenhez satisfatórias. Campanile et al. (2005) indicam que ao utilizarem diferentes protocolos para IATF, não houve diferença estatística entre os tratamentos, porém observou-se uma tendência de melhores resultados naqueles que receberam o protocolo com hCG, em relação aos que receberam apenas GnRH.

Já em estudos realizados no Brasil, a utilização do LH e do hCG como indutores de ovulação no protocolo *Ovsynch* modificado não melhorou significativamente a taxa de concepção na estação favorável em búfalas (BERBER et al., 2002; CARVALHO et al., 2004) ou novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* (MARQUES et al., 2012).

Tanto o LH, quanto o hCG têm atividade biológica similar, se ligando diretamente aos receptores de LH foliculares (BARUSELLI et al., 2009) e luteínicos (SANTOS et al., 2001), ativando segundo mensageiro (cAMP), com aumento do estímulo ovulatório e da síntese de progesterona. Células da granulosa humanas respondem de modo equipotente e

constante ao estímulo com LH ou hCG, apesar de o hCG ter sido mais eficiente na produção de cAMP (CASARINI et al., 2012).

Exatamente devido a estas características, a hipótese de Berber et al. (2002) e de Carvalho et al. (2004) era que o GnRH seria menos eficiente por depender de resposta endógena mediada pela indução da liberação de LH hipofisário. Segundo estes autores, em casos de escassez de estoque ou comprometimento na liberação de LH pela hipófise, o GnRH não induziria corretamente o pico de LH e, conseqüentemente, não ocorreria a ovulação. Porém, como na estação favorável não têm sido relatado déficit de LH hipofisário em fêmeas bubalinas, não houve evidências para aceitar esta hipótese inicial (PALTA; MADAN, 1996).

Na estação reprodutiva desfavorável, contudo, a resposta hipofisária à administração de GnRH foi drasticamente diminuída, com produção de LH endógeno 39% menor do que na estação favorável, podendo ser este o fator-chave da baixa performance reprodutiva nos meses quentes de verão (PALTA; MADAN, 1996).

Markandeya e Bharkad (2002) citam que durante o período reprodutivo desfavorável da espécie bubalina é possível obter taxa de indução do estro que varia de 80% a 100% com a utilização de dispositivos de liberação de P4 sozinhos ou associados ao estradiol.

O protocolo *Heatsynch* (GnRH/BE) representa uma alternativa ao protocolo *Ovsynch*, além de apresentar alta eficiência (MIRMAHMOUDI et al., 2014; MOHANET al., 2009). Entretanto, a utilização desse protocolo resultou em menor taxa de ovulação (40%) em fêmeas bubalinas no presente estudo.

A baixa taxa de ovulação identificada no tratamento P4/BE da estação reprodutiva desfavorável assemelha-se a resultados obtidos em pesquisas anteriores realizadas na mesma estação e espécie animal, entre eles, o estudo conduzido por Bartolomeu (2003) que identificou taxa de ovulação de 20% e 40% ao empregar o protocolo P4/BE com uso de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®]) e implante auricular de Norgestomet (CRESTAR[®]), respectivamente. Moura (2003) também encontrou taxa de ovulação em torno de 20% ao utilizar três diferentes concentrações de BE (1,0 mg, 2,5 mg e 5,0 mg) associado ao CIDR no D0. Esses pesquisadores atribuem tal achado a não utilização do eCG associado ao protocolo de sincronização da ovulação para IATF. Contudo, em nosso estudo foram utilizadas 300UI de eCG na remoção dos dispositivos, não tendo sido suficiente para obter taxas de ovulações satisfatórias (Tabela 2).

Já no tratamento P4/hCG, a taxa de ovulação foi de 60%, resultado semelhante ao identificado por Porto Filho (2004) também na estação desfavorável. Dessa forma, e fundamentado em estudos anteriores (SCHIMITT et al., 1996; SIANANGAMA;

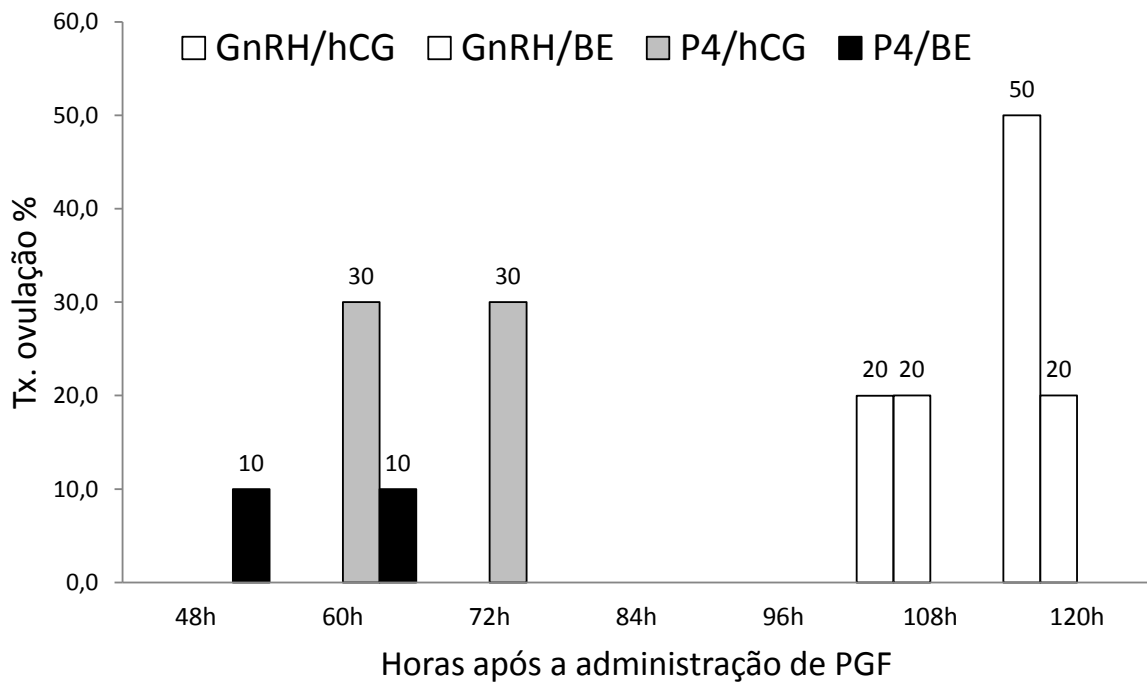
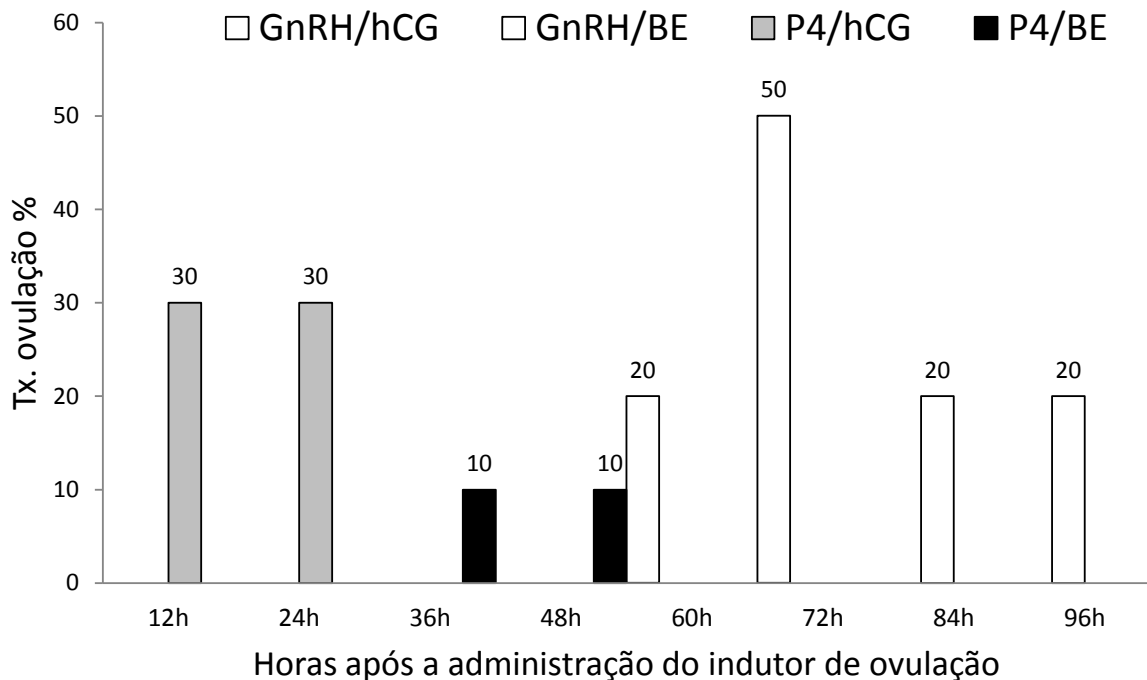
RAJAMAHENDRAN ; 1996; LÓPEZ-GATIUS, 2000; BARUSELLI; CARVALHO, 2003b) pode-se inferir que a utilização do hCG promoveu melhores taxas de ovulação.

Não houve diferença significativa entre as taxas de ovulação na mesma estação, independente de protocolo utilizado. Quando se compara como efeito principal somente a estação reprodutiva, as ovulações ocorreram em 55% das fêmeas sincronizadas na estação favorável e em apenas 40% na desfavorável ($P=0,31$), apesar do uso de dispositivos de progesterona. Ainda, segundo Baruselli et al. (2002), a utilização de 400 UI de eCG no momento da remoção do dispositivo de progesterona, poderia resultar em aumento nas taxas de ovulação e concepção em vacas anéstricas. Contudo, em nosso experimento, o efeito sazonal foi determinante nas respostas aos protocolos.

Gimenes et al. (2007) relataram que búfalas nulíparas das raças Murrah e Mediterrâneo adquirem a capacidade ovulatória, em resposta ao LH exógeno, quando o diâmetro folicular atinge 8,5 a 10,0 milímetros após tratamento com hCG ou agonista de GnRH. Esta resposta está diretamente relacionada ao aumento de receptores de LH nas células da granulosa simultâneo ao crescimento folicular final (XU et al., 1995; EVANS et al., 1997).

Das et al. (2013) em estudo recente sobre as desordens reprodutivas que afetam o ciclo estral em bubalinos, compilaram achados de vários trabalhos a respeito do padrão reprodutivo durante o anestro de verão, uns com indicativo de que há atividade ovariana, caracterizada pelo crescimento e atresia de folículos (ROY et al., 1968; PANDEY; RAIZADA, 1979, TAKKAR et al. 1983; ROHILLA et al., 2005; GHUMAN et al., 2010) e um outro estudo que reportou não haver folículos antrais neste período (DAS; KHAN, 2010). Saldanha (2014) observou que fêmeas bubalinas criadas extensivamente no Estado do Maranhão, Brasil, apresentaram anestro sazonal, porém com diâmetro folicular anovulatório podendo alcançar 11,8 mm e uma fase estática de $17,46 \pm 1,08$ dias.

Houve efeito tanto de protocolo, quanto de estação e de indutor no momento da ovulação (Tabela 1; Figuras 8 e 9). Os protocolos nos quais se utilizou o hCG, este induziu a ovulação em média 21,4 horas mais cedo que o BE na estação favorável e 24 horas mais cedo na desfavorável. Estes resultados se justificam devido ao hCG atuar se ligando rápida e diretamente a receptores nas células foliculares, sem a necessidade de resposta endógena hipofisária (CASARINI et al. 2012).

FIGURA 8. Distribuição das ovulações em horas após a administração de PGF.**Figura 9.** Distribuição das ovulações em horas após a administração do indutor de ovulação.

Os momentos das ovulações em relação à aplicação da PGF nos diferentes protocolos foram próximos aos encontrados na literatura, sendo de 72,5 a 74 horas no GnRH/BE (HEATSYNCH; MIRMAHOUDI; SOURI, 2014; MOHAN et al., 2009), de 69,8 horas no P4/BE (CARVALHO et al., 2012) e de 71,3 a 81,9 horas no protocolo *Ovsynch*

tradicional (GnRH/GnRH; Baruselli et al., 2003; Paul e Prakash, 2005). Já, Porto Filho (2004) obtiveram intervalo de 20 horas entre a administração do indutor e a ovulação no protocolo P4/hCG.

Segundo Pinheiro et al. (2013) o BE foi mais tardio em induzir o pico de LH e a ovulação em fêmeas bovinas, quando comparado ao GnRH, possivelmente devido à sensibilidade hipotalâmica ao feedback negativo dos estrógenos no pós-parto ou em outras condições que possam inibir o aumento de LH (WILTBANK et al., 2002). O BE assim como o cipionato de estradiol (CE) são ésteres de estradiol com baixa solubilidade em água e lenta liberação a partir do local da inoculação, o que prolonga o seu tempo de depuração plasmática (BURTON et al., 1990; VYNCKIERET al., 1990), sendo menos efetivos em sincronizar o pico pré ovulatório de LH e a ovulação do que o GnRH em vacas (SOUZA et al., 2009). Porém, independentemente das taxas de sincronização e ovulação, estudos já realizados mostram que os ésteres de estradiol induziram satisfatórias taxas de concepção em fêmeas bovinas (SÁ FILHO et al., 2009b; SÁ FILHO et al., 2011; SALES et al., 2012, TORRES-JÚNIOR et al., 2014).

Nos protocolos da estação desfavorável, nos quais se utilizou implantes de progesterona para sincronização da onda de crescimento folicular, as ovulações ocorreram em média 49,3 horas mais cedo em relação aos protocolos da estação favorável, cuja sincronização de nova onda folicular foi induzida pela administração de GnRH.

Em protocolos aplicados na estação favorável, Baruselli et al. (1999) relataram tempo médio de ovulação em torno de $33,0 \pm 8,3$ horas após a primeira aplicação de GnRH e de $32,0 \pm 5,7$ horas após a segunda aplicação do mesmo hormônio no protocolo *Ovsynch*.

Estudos realizados por Ribeiro et al. (2003) e De Rensis et al. (2005) sugerem que incrementos na eficiência reprodutiva de búfalas cíclicas podem ser esperados se estas forem submetidas ao *Ovsynch* e também suplementadas com progesterona durante os primeiros sete dias de tratamento hormonal. Para estes pesquisadores, a associação de progesterona ao protocolo *Ovsynch* para a sincronização do estro é capaz de elevar a taxa de concepção.

Segundo Borghese (2005), a aplicação de diferentes protocolos que utilizam prostaglandina, isoladamente ou associada ao GnRH, resultaram em taxas de prenhez que varia de 7% a 56%, enquanto que o uso de implantes de progesterona, com ou sem a injeção de eCG, ou ainda combinado com hCG ou GnRH resultam em uma variação de 8% a 64% na taxa de prenhez.

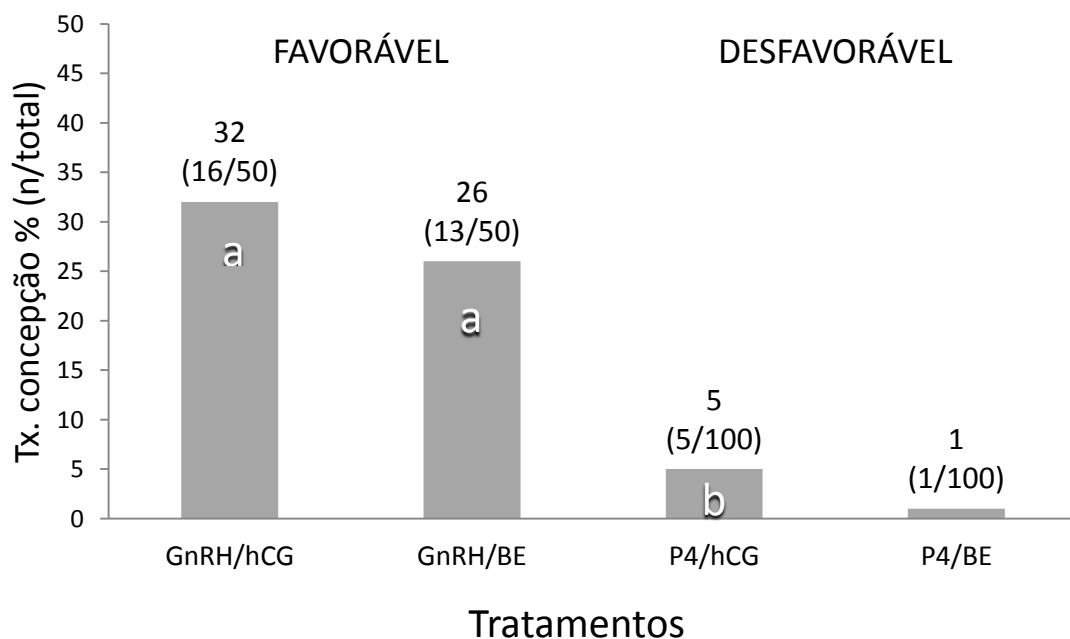
O uso de dispositivos de liberação lenta de progesterona em combinação com estradióis tem sido o protocolo hormonal mais largamente utilizado para sincronizar a

ovulação em bovinos na América do Sul (BÓ et al., 2002; BÓ et al., 2012; CARVALHO et al., 2008; SÁ FILHO et al., 2011).

Garcia et al. (2008) avaliaram os efeitos da associação da medroxiprogesterona (análogo sintético da progesterona) ao protocolo *Ovsynch* sobre o crescimento folicular, a ovulação e a taxa de concepção de fêmeas bubalinas. Foi observado que a utilização deste progestágeno aumentou o recrutamento folicular e incrementou em 1,7 vezes o crescimento folicular final, sem, contudo, elevar as taxas de ovulação e concepção em fêmeas cíclicas.

Conforme ilustrado na Figura 10, a taxa de concepção não diferiu entre protocolos na mesma estação, contudo, foi significativamente maior na estação favorável ($P < 0,01$). A concepção média foi de 29% (29/100) no período favorável e de apenas 3% (6/200) no período desfavorável.

Figura 10. Taxa de concepção em fêmeas bubalinas (*Buballus bubalis*) lactantes tratadas com diferentes protocolos nas estações Favorável e Desfavorável.



^{ab} $P < 0,05$

A taxa de concepção obtida na estação favorável encontra-se no quartil inferior em relação aos resultados obtidos em outras pesquisas, as quais reportaram taxas de prenhez que variam de 30 a 75%, usando o protocolo *Ovsynch*, com ou sem o uso de esteróides (BARUSELLI et al., 1999; BARUSELLI et al., 2002a; 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).

Diversos estudos têm mostrado que o protocolo *Ovsynch* pode incrementar índices reprodutivos em búfalas durante a estação reprodutiva favorável (BARTOLOMEU et al., 2000; BARUSELLI et al., 2001; BARUSELLI; MADUREIRA; MARQUES, 2002; BARUSELLI; CARVALHO, 2003; RIBEIRO FILHO et al., 2003), desde que os animais se encontrem em boa condição corporal.

Na estação reprodutiva desfavorável, os resultados de nosso estudo diferem dos obtidos por Sing (2000), que obtiveram taxa de concepção de 83% em búfalas inseminadas após uso de implante de progesterona em associação com aplicação de PGF2 α . Já Presicce et al. (2005) afirmam que búfalas com desenvolvimento folicular em ondas, quando tratadas com P4+eCG durante os meses da estação desfavorável, podem gerar taxas de concepção de até 70%. Nossa hipótese de que seria possível obter taxas de prenhez satisfatórias na estação reprodutiva desfavorável, por meio de protocolos à base de progesterona/estradiol/prstaglandina, não pôde ser comprovada nas condições experimentais aqui apresentadas, as quais envolvem animais criados extensivamente em região de campos nativos, pobres e periodicamente alagados da Amazônia Equatorial.

Apesar de inúmeros trabalhos apontarem a eficiência de fármacos exógenos para desestacionalizar o ciclo reprodutivo de fêmeas bubalinas (BARUSELLI et al., 1997; BERBER et al., 2002; CARVALHO et al., 2004; PORTO FILHO, 2004), nossos resultados elicitam a necessidade de considerar outros fatores ambientais e genéticos, os quais não sejam somente o fotoperíodo ou mesmo *status* nutricional, uma vez que não está totalmente claro até que ponto o padrão de reprodução sazonal bubalino é uma característica genética ou resultado de um somatório de fatores ambientais (SINGH et al., 2000). Há evidências que sugerem haver forte influência de fatores biometeorológicos no sistema endócrino de búfalos, ou seja, a duração do dia, temperatura ambiente, umidade relativa, o regime de chuvas, entre outros (SHAH, 1988 citado por SINGH et al., 2000). O mesmo já foi também descrito em bovinos, particularmente em zonas tropicais e subtropicais do mundo (PREDOJEVIC et al., 1988 citados por SING et al., 2000; TORRES-JÚNIOR et al., 2009).

Segundo Baruselli et al. (1999), Baruselli (2001a), Baruselli (2001b) Baruselli et al. (2003), Berber et al. (2001), Silva et al. (2006), Ronci e De Rensis (2005) e Pellerano et al. (2005a), resultados alcançados por meio da utilização dos protocolos de sincronização da ovulação têm enfatizado que a IATF pode ser viável em búfalas e uma ferramenta importante para a melhoria genética e eficiência reprodutiva dos rebanhos bubalinos. Estes efeitos benéficos são particularmente importantes na região amazônica, sobretudo em condições naturais, em campos nativos periodicamente alagados (CAMELO 2002; QUEIROZ 2003).

Baruselli et al. (1999) destacam a estreita relação entre condição corporal e taxa de concepção e, indicam taxas de fertilidade de 50,20% quando o escore de condição corporal (ECC) é $\leq 3,0$; de 53,90% em fêmeas com ECC=3,5 e de 56,70% para ECC $\geq 4,0$, sugerindo que as búfalas devem ter ECC $\geq 3,5$ para obtenção de uma boa eficiência aos tratamentos.

Os protocolos utilizados no presente estudo foram idealizados e fundamentados mediante os estudos anteriores já realizados em búfalas durante as estações reprodutivas, tanto favoráveis quanto desfavoráveis (BARUSELLI; CARVALHO, 2005; COUTINHO et al., 2007; 2013, BERBER et al., 2002; SINGH, 2003).

Esta baixa resposta dos protocolos ao teste de fertilidade, sobretudo, na estação desfavorável, não era esperada. Contudo, as condições climáticas, nutricionais e sanitárias sob as quais se encontram os bubalinos na região da Baixada Maranhense, e seus eventuais efeitos, ainda não são totalmente conhecidos e podem, eventualmente, estar envolvidos nos resultados obtidos.

Pfeifer et al. (2013) inferiram que a grande variabilidade do sucesso da implantação de programas de IATF em búfalas se deve tanto a fatores ambientais quanto ao protocolo hormonal utilizado. Assim, para a obtenção de melhores resultados é recomendado que a IATF seja feita durante a estação mais propícia (BARUSELLI et al., 1999).

Complementando as interpretações de pesquisas anteriormente citadas, acreditamos que sob as condições atuais de manejo bubalino no Estado do Maranhão, Brasil, ainda há a necessidade de elucidar inúmeras questões acerca da biologia desta espécie no campo de estudo da presente pesquisa, antes de se proceder com maiores conclusões acerca dos fatores causadores de baixas taxas de sucesso em protocolos de IATF.

7. CONCLUSÕES

Diante das condições experimentais aqui apresentadas, conclui-se que:

- Os animais submetidos à sincronização e IATF na estação favorável apresentaram maior taxa de ovulação e maior taxa de concepção do que aqueles sincronizados na estação desfavorável;
- O hCG foi mais eficiente na indução de ovulação sincronizada do que o benzoato de estradiol;
- Não foi possível obter taxas de prenhez satisfatórias na estação reprodutiva desfavorável, por meio de protocolos à base de progesterona/estradiol/prostaglandina em animais criados extensivamente em campos nativos, pobres e periodicamente alagados da Amazônia Equatorial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEANDRI, V.; SPINA, V.; MORINI, A. The pineal gland and reproduction. **Human Reproduction**, v.2, n.3, p.225–235, 1996.

ALVES, N. G; COSTA, E. P; GUIMARÃES, J. D. et al. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça holandesa e mestiças Holandês x Zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.627-634, 2002.

AMSTALDEN, M; GARCIA, M.R.; STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, G.L. Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1555-61, 2002.

ANDRIGHETTO, C.; JORGE, A. M.; PICCININ, A. Efeitos da Monensina Sódica sobre a Produção e Composição do Leite, a Produção de Mozzarella e o Escore de Condição Corporal de Búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n. 2, p. 641-649, 2005.

AHMED, J.M.; ABHISHEK KHARE, F.S; KAVANI, G.M.; SIDDIQUEE, M.T.; PANCHAL, R.R. Is one-wave follicular growth during the estrous cycle a usual phenomenon in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v.92, p.241–253, 2006.

ARORA, R.C.; PANDEY, R.S. Plasma concentration of progesterone, oestradiol-17 β and luteinizing hormone in relation to repeat breeding in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Journal of Animal Production**, v.34, p.139-144, 1982.

AVENELL, J.A.; SAEPUDIN, Y.; FLETCHER, I.C. Concentrations of LH and progesterone in the peripheral plasma of Swamp buffalo cow (*Bubalus bubalis*) around the time of estrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.74, p.419-424, 1985.

BACHALOUS, N.K.; ARORA, R.C.; PRASAD, A.R.; PANDEY, S. Plasma levels of gonadal hormones in cycling buffalo heifers. **Indian journal of experimental biology**, v.17, p.823-825, 1979.

BARB, C. R.; KRAELING, R. R. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.155-167, 2004.

BARKAWI, A.H.; HAFEZ, Y.M.; IBRAHIM, S.A.; ASHOUR, G.; EL-ASHEERI, A.K.; GHANEM, N. Characteristics of ovarian follicular dynamics throughout the estrous cycle of Egyptian buffaloes. **Animal Reproduction Science**, v.110, p.326–334, 2009.

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

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

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

BARTOLOMEU, J.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 2003.

BARTOLOMEU, J. A.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Continued periodic emergence of follicular waves in non-bred progesterone-treated heifers. **Animal Reproduction Science**, v.24, p.193-204, 2001.

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

BARTOLOMEU, J.A. **Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalos (*Bubalus bubalis*)**. 1994. 99f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Curso de Pós-Graduação em Reprodução Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1994.

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**, Supplement 2. p. 53-60, 1994.

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

BARUSELLI, P. S. Sexual behavior in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994a, São Paulo. **Proceedings...**São Paulo, 1994a, p. 158-173.

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

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, 9., Belo Horizonte. 1995. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 1995, v.1, p.380.

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

BARUSELLI, P. S.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C.; VISINTIN, J. A.; SOUZA, A. C.; IKEDA, J. A. Climate fails to affect conception rate of buffalo cows artificially inseminated. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 5., 1997, Caserta. **Proceedings...**1997, p. 745.

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

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

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

BARUSELLI, P.S. 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.

BARUSELLI, P.S. Control of follicular development applied to reproduction biotechnologies in buffalo. In: Proceedings of the I CONGRESSO NAZIONALE SULL'ALLEVAMENTO DEL BUFALO; 2001. **Anais..** p. 128-46.

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 Symposion 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 Symposion of Americas**. p 414, Belém, Pará, 2002b.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, N. A. T. Reproduction Management and artificial insemination in buffalo. In: BUFFALO SYMPOSIUM OF AMERICAS, 1, 2002, Belém, PA. **Proceedings** ... Belém, PA: BSA, p.119-143, 2002.

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

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T. Artificial insemination in developing countries. In: CONGRESSO NAZIONALI SULL'ALLEVAMENTO DEL BUFALO, 2., 2003b, Monterotondo. **Proceedings...**2003b, p. 177-192.

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T.; HENRIQUEZ, C. E. P.; AMARAL, R.; NICHI, M.; REICHERT, R. H. Use of progesterone associated to Ovsynch protocol for timed artificial insemination in buffalo. In: CONGRESSO NAZIONALI SULL'ALLEVAMENTO DEL BUFALO, 2., 2003, Monterotondo. **Proceedings...**2003b, 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.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebrinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 205- 211, 2007.

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

BEARD, A.P.; LAMMING, G.E. O estradiol concentration and the development of the uterine oxytocin receptor and oxytocin-induced PGF release in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.100, p.469-475, 1994.

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

BERBER, R.C.A., MADUREIRA, E.H., BARUSELLI, P.S. Comparison of two ovsynch protocols (GnRH vs. LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.57, p.1421-1430, 2002.

BERNARDES, W. **Bubalinocultura leiteira no Brasil: tendências e parcerias e fomento. 1997.** Palestra no evento sobre as perspectivas da bubalinocultura leiteira no país e sobre o programa de "fomento" desenvolvido pela Fazenda Paineiras da Ingaí. Disponível em: <<http://www.ingai.agr.br/x/parceria.htm>>. Acesso em: 10 jul. de 2014.

BERNARDES, O. Integração, associativismo e arranjos na cadeia produtiva da bubalinocultura: situação atual e perspectivas. In: II SIMPÓSIO DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA, 2011. Botucatu, SP. 2011. **Resumos**. Botucatu: 201, p. 1-13.

BERNARDI, C.C. **Conflitos sócio-ambientais decorrentes da bubalinocultura em territórios pesqueiros artesanais: o caso Olinda Nova do Maranhão.** 2005. 216p. Dissertação (Mestrado em Planejamento e Gestão Ambiental) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2005.

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

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

BÓ, J.A.; DELAMATA, J.J.; BARUSELLI, P.S.; Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle Review Article **Theriogenology**, In Press, Accepted Manuscript, Available online v.21, p.13-26, 2016.

BÓ, J.A.; D. VECCHIO, R. DI PALO, G. NEGLIA, B. GASPARRINI, A. PRANDI, L. ZICARELLI, M.J. D'OCCHIO Delayed treatment with GnRH agonist, hCG and progesterone and reduced embryonic mortality in buffaloes **Theriogenology**, v. 70, n. 9, p. 1544-1549, 2012.

BÓ, J. M. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 225-232, 2002.

- BÓ, G.A., BARUSELLI, P.S., MAPLETOFT, R.J. Increasing pregnancies following synchronization of bovine recipients. **Animal Reproduction**, v.9, n.3, p.312-317, Jul./Sept. 2001.
- BORGES, A. M. **Influência de diferentes manejos e tratamentos hormonais na dinâmica ovariana durante o ciclo estral e no anestro pós-parto de vacas Gir e Nelore**. 2001. 134p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2001.
- BORGES, A. M. Inter-relações entre nutrição e reprodução em fêmeas bovinas de corte. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 5, 2006, Viçosa, MG. **Anais...**, Viçosa, MG: UFV, p.555-597, 2006.
- BORGHESE, A. (Ed.). **Buffalo production and research**. In: Technical Series 67. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 2005.
- BURTON, A.R; BARILE, V.L.; TERZANO, G.M.; PILLA, A.M.; PARMEGGIANI, A. Melatonin trend during season in heifers and buffalo cows. **Bubalus bubalis**, v.1, p.61-64, 1990.
- BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeia produtiva de carne bovina**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 85p, 2007. (Documento Técnico 001). Disponível em: <<http://www.iica.org.br/>>. Acesso em: 13 set. 2013.
- BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.9, p.60–67, 2000.
- CALLEJAS, S. S. Fisiología del ciclo estral bovino. In: Palma, G. A. **Biología de la reproducción**. Mar del Plata: Reprobiootec, p.37-49, 2001.
- CAMELO, J.A., BARNABE, V.H., BARNABE, R.C. Evaluation of synchronization of ovulation for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). Brazilian journal of **Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p.431-442, 2003.
- CARVALHO, N.A.T.; BOHARA, T.P.; YAMAGISHI, N. Seasonal variation of anestrus conditions in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Southern Nepal. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.7, n.9, p.910-914, 2013.
- CARVALHO, N.A.T.; SALES, J.N.S. GASPARRINI, B.; D’OCCHIO, M.J. Growth, metabolic status and ovarian function in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers fed a low energy or high energy diet. **Animal Reproduction Science**, v.117, p.64–71, 2012.
- CARVALHO, N.A. T.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2008, Goiânia. **Anais...** Goiânia: 2008.
- CARVALHO, N.A.T.; SATRAPA, R.; MARSON, E.P.; KASTELIC, J.P. Efficacy of PGF₂alpha to synchronize estrus in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. **Animal Reproduction Science**, v.73, p.23-35, 2007.

CARVALHO, N.A.T., REICHERT, R.H., NICHI, M., HENRIQUEZ, C.E.P., OLIVEIRA, C.A., BARUSELI, P.S., Use of hCG to timed artificial insemination in buffalo. **In: International Congress on Animal Reproduction**, 15, 2005, Porto Seguro. *Abstracts ...* Porto Seguro: ICAR, v. 15, p.384, 2005.

CAMPANILE, G.; BARUSELLI, P.S.; VECCHIO, D.; SANTOS, R.; NELES, G.; CARVALHO, N.A.T.; SALES, J.N.S. GASPARRINI, B.; D'OCCHIO, M.J. Growth, metabolic status and ovarian function in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers fed a low energy or high energy diet. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.74–81, 2005.

CAMPANILE, G, BARUSELLI, P.S, NEGLIA, G. VECCHIO, D., GASPARRINI, B., GIMENES, L.U. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. **Anim Reprod Sci** v.121, p. 1-11, 2010.

CAMELO, E.; JAIRO, J. Oestrus synchronization and artificial insemination and their economic assessment in water buffalo. **Anais:** In: VI World Buffalo Congress, VII, Maracaibo, Venezuela, p 106, 2002.

CANFIELD, R.W., BUTLER, W.R. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.7, p.323–30, 1990

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

CAMPANILE, G.; IQBAL, J.; CHOUDHARY, R.A.; KHAN, A.H. Oestrous response and fertility in true anestrus buffaloes following hormonal treatment during summer. **Pakistan Veterinary Journal**, v.15, p.68–72, 2008.

CASARINI, L.; LISPI, M.; LONGOBARDI, S.; MILOSA, F.; LA MARCA, A.; TAGLIASACCHI, D.; PIGNATTI, E.; SIMONI, M. LH and hCG Action on the Same Receptor Results in Quantitatively and Qualitatively Different Intracellular Signalling. **PLOS ONE**, v. 17.p. 75-86, 2008.

COCKRILL, W.R. **The Husbandry and Health of the Domestic Buffalo**. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. 1974.

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

COUTINHO, G.T.R.M.; VIANA, J.H.M. SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.; FERREIRA, A.M; PALHÃO, P.M. NOGUEIRA, L.A.G. Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzerá. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1089-1096, 2007.

DAMBER, J. E.; CAJANDER, S.; GAFVELS, M.; SELSTAM, G. Blood flow changes and vascular appearance in preovulatory follicles and corpora lutea in immature pregnant mare's serum gonadotropin-treated rats. **Biology of Reproduction**, v. 37, p. 651-658, 1987.

DANELL, B. **Oestrous behaviour, ovarian morphology and cyclical variation in follicular system and endocrine pattern in water buffalo heifers.** 124f. Thesis (Doctorat) - Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, p. 124, 1987.

DAS, G.K.; KHAN, F.A. Summer anoestrus in buffalo – a review. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.483–494, 2013.

DE RENSIS, F.; VALENTINI, R.; GORRIERI, F.; BOTTARELLI, E.; OPEZ-GATIUS, F. Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v. 69, p. 1077-1082, 2008.

DE RENSIS, F.; BOCQUIER, F.; CHILLIARD, Y.; KEISLER, D.H.; GERTLER, A.; KANN, G. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. **Journal of Endocrinology**, v.165,p.519–526, 2005.

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

DI PALO, R.; VECCHIO, D.; ZICARELLI, G.; ATTANASIO, L.; BONOMI, G.; CAMPANILE, G. Effect of GnRH hCG and progesterone treatment on embryo mortality in Buffalo. In: Proc. **1st Buffalo Symposium of Europe and the Americas**, v.12–15, p.228.abstract, 2005.

DHALIWAL, G.S.; SHARMA, R.D.; BISWAS, R.K. Comparative fertility in buffaloes with observed estrus and timed insemination using two routes of PGF2alpha administration. **Veterinary Record**, v.121, p.475-476, 1987.

DHALIWAL, G.S.; SHARMA, R.D.; SINGH, G. Efficacy of prostaglandin F2 alpha administration for inducing estrus in buffalo. **Theriogenology**, v.28, p.1401–1406, 1988.

DIAZ, F.J.; ANDERSON, L.E.; WU, Y.L.; RABOT, A.; TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. Regulation of progesterone and prostaglandin F2alpha production in the CL. **Molecular Cellular Endocrinology**, v.191, p.65-80, 2002.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; SREENAN, J. M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.345-370, 2003.

DRIANCOURT, M. A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**, v. 35, p.55-68, 1991.

DROST, M. Bubaline versus bovine reproduction. **Theriogenology**, v.68, p. 447-449, 2007.

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

EVANS, A. C. O, FORTUNE, J. E. Selection of the dominant follicle in cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v. 138, p. 2963–2971, 1997.

FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Dados da evolução do rebanho brasileiro**. 2006. Disponível em: <<http://www.faostat.org>>. Acesso em: 10 jul. de 2014.

FIGUEREDO, J.R.; TORRES, C. A. A.; SILVA, J. F. C. Peso para recuperação da atividade ovariana luteal cíclica em vacas leiteiras mestiças em anestro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. [online], vol.34, n.11, p. 481-485, 2008.

GARCIA, A.R.; NAHÚM, B.S.; LOURENÇO JUNIOR, J.B.; COSTA, N.A.; GONÇALVES, K.S.; MIYASAKI, M.Y.A.; ANDRADE, A.F.C.; ARRUDA, R.P. Associação da medroxiprogesterona ao protocolo Ovsynch para inseminação artificial em tempo fixo de búfalas cíclicas (*Bubalus bubalis*) criadas na Amazônia Oriental. **Acta Amazônica**, v.38, n. 3, p.369-378, 2008

GARCIA, A. R. Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE ATUALIZAÇÃO EM NUTRIÇÃO, MELHORAMENTO E REPRODUÇÃO EM BUBALINOS. Belém, PA, Brasil, 2007. **Revista de Ciências Agrárias**, n. 45, jan./jun. 2006. Suplemento.

GATIUS, L., DE RENSIS, F., Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): A review **Theriogenology**, v. 67, p.209–216, 2000.

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

GHUMAN, S.P.S., SINGH, J., HONPARKE, M., DADARWAL, D., DHALIWAL, G.S. AND SINGH, S.T., Fate of Dominant follicle in Summer anestrus buffaloes. **Indian Journal of Animal Reproduction**, v.31, p.7-10, 2010.

GILL, R.S.; GANGWAR, P.C.; KOONER, D.S. Studies on the oestrous behaviour in buffaloes. **Indian Journal of Animal Sciences**, v43, p472–475, 1973.

GIMENES, L.U.; CARVALHO, N.A.T.; SÁ FILHO, M.F.; VANNUCCI, F.S. TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.; BELTRAN, M.P.; BISINOTTO, E.S. BELTRAN, M.P.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Ultrasonographic and endocrine aspects of follicle deviation, and acquisition of ovulatory capacity in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.123, p.175–179, 2011.

GIMENES, L. U.; BELTRAN, M. P.; FERREIRA, R. M.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 2007.

GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; GASTAL, M. O.; COOPER, D. A. Treatment with human chorionic gonadotropin (hCG) for ovulation inductions is associated with an immediate 17-

estradiol decrease and a more rapid LH increase in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 114, p. 311-317, 2009.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M. et al. Selection of dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.

GINTHER, O. J.; KOT, K.; KULLICK, L. J.; WILTBANK, M. C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v.48, p.75-87,1997.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular - wave development in cattle. **Theriogenology**, v. 50, p. 507-519, 1998.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: p.582, Manole, 1995.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R.; ROSNINA, Y. Hormones, growth factors and reproduction. In: HAFEZ, E. S. E., HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7th Ed. Philadelphia: Lippincott, p. 33-54, 2000.

HEATSYNCH,P.F.,MIRMAHOUDI,R.,SOURI,E.G.Temporal Changes in Endogenous Estrogens and Expression of Behaviors Associated with Estrus during the Perioovulatory Period in Doublesynch Treated Murrah Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 4, P. 499-504, 2014.

HERANJA, D.D.; SHETH, A.R.; DESAI. R.; RAO, S.S. Serum gonadotropins and prolactin levels during oestrous cycle in Murrah buffaloes. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 32, p. 247-249, 1979.

HODGEN, G. D. The dominant ovarian follicle. **Fertility and Sterility**, v.38, p.281-300, 1982.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: Roche J.F., O' Callaghan, D. (Eds) **Follicular growth and ovulation rate in farm animals**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, MA, p.1-18, 1987.

ITOH, M. T.; ISHIZUKA, B.; KURIBAYASHI, Y.; AMEMIYA, A.; SUMI, Y. Melatonin, its precursors, and synthesizing enzyme activities in the human ovary. **Molecular Human Reproduction**, n. 5, v. 5, p.402-408, 1999.

JANK, M. S.; FARINA, E. M. Q.; GALAN, V. B. *O agribusiness do leite*. São Paulo, **Milkbizz**, 108p, 1999. Disponível em: < <http://www.sober.org.br/palestra> >. Acesso em 10 set. 2013.

KAKER, M.L.; RAZDAN, M.N.; GALHOTRA, M.M. Serum LH concentrations in cyclic buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 60, p. 419-424, 1980.

KHAN, F.A.; DAS, G.K. Follicular characteristics and intrafollicular concentrations of nitric oxide and ascorbic acid during ovarian acyclicity in water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 125-131, 2012.

KHAN, T.; BECK, N. F. G.; KHALID, M. the effects of GnRH analogue (buserelin) or hCG (Chorulon) on Day 12 of pregnancy on ovarion function, plasma hormone concentrations, conceptus growth and placentation in ewes and ewe lambs. **Animal Reproduction Science**, v. 103, n. 3-4, p. 247-257, 2007.

KANAI, Y.; ABDUL-LATIEF, T.; ISHIKAWA, N.; SHIMIZU, H. Behavioural and hormonal aspects of the oestrous cycle in swamp buffaloes reared under temperate conditions. In: **Domestic Buffalo Production in Asia**. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, p.113–120, 1990.

KASPRZYKOWSKI, J.W.A. **A criação de búfalos no Nordeste**. Fortaleza: Etene, 48p, 1978.

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

KOOS, R. Increased expression of vascular endotelial growth/permeability fator in the ovary following na ovulatory gonadotropin stimulus: pottetial roes in follicle ruptura. **Biology of Rproductions**, v. 52, p. 1426-1435, 1995.

KOVACS, P.; KOVATS, T.; BERNARD, A.; ZADORI, J.; SZMATONA, G.; KAALI, S. Comparison of serum and follicular fluid harmone levels with recombinant and urinary human chorionic gondadotropin during in vitro fertilization. **Fertility and Sterility**, v. 90, n. 6, p. 2133-2137, 2008.

LEE, C.; DO, B. R.; LEE, Y.; PARK, J.; KIM, S.; KIM, J.; ROH, S.; YOON, Y.; YOON, H. Ovarian expression of melatonin Mella receptor mRNA during mouse development. **Molecular Reproduction and Development**. v.59, n.2, p.126–132, 2001.

LOURENÇO JÚNIOR, J. de B.; GARCIA, A.R. **Panorama da bubalinocultura na Amazônia**.2008.Disponívelem:<<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/409969/1/LOURENCO2008AmazonpecPanorama.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2015.

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal Animal Science**, v.70, p.3615-3626, 1992.

MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of estrus cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.307–320, 1996

MADAM, D.F., PATA, A. T., Seasonal variations in the hypophysial responsiveness to GnRH bubalus. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.107–220, 1996.

MOHAN, K., PRAKASH, B.S.Changes in endogenous estrogens and expression of behaviors associated with estrus during the periovulatory period in Heatsynch treated Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, n. 5, p. 947-952, 2010

MANIK, R. S.; MADAN, M. L.; SINGLA, S. K. Ovarian follicular dynamics in water buffaloes (*Bubalus bubalis*): ultrasonically monitoring individual follicles for wave hypothesis. **Theriogenology**, v. 41, p.246, 1994.

MANIK, R.S.; SINGLA, S.K.; PALTA, P.; MADAN, M.L. Ovarian follicular dynamics monitored by real-time ultrasonography during estrous cycle in buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal Animal Science**, v.11, p.480–485, 1998.

MARKANDEYA, N. M.; BHARKAD, G. P. Induction and synchronization of oestrus in buffaloes with norgestomet ear implants. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 72, n. 2, p. 143-144, 2002.

MARANHÃO. Setor de Epidemiologia e Estatística, Coordenadoria de Defesa Animal, Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão. **Efetivo Bubalino**. São Luís. 2012.

MARQUES. A.B.; CASSIMIRO, R.; HOFFMAN, E.D. Comparison of two ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 57, p. 1421-1430, 2000.

MARQUES JUNIOR, A P. Fisiologia do Puerpério na vaca. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Belo Horizonte, MG, **Anais...** p. 58-69, 1993.

MARQUES, J. R. F.; CARDOSO, L. S. A bubalinocultura no Brasil e no Mundo. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BUBALINOCULTURA**, 1., 1997, Cruz das Almas. Anais. Cruz das Almas: Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, p.10-221, 2012.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular em novilhas e vacas nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou não a progesterona injetável. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 33, p. 227, Suplemento 1, 2005.

MARTINS, F.S.; SILVA, J.R.V.; RODRIGUES, A.P.R.R.; FIGUEIREDO, J.R. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.1, p.36-49, 2008.

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v.79, p.263-323, 1999.

MCGUIRE, W.J.; JUENGEL, J.T.; NISWENDER, G.D. Protein kinase C second messenger system mediates the antisteroidogenic effects of PGF₂ alfa in the ovine corpus luteum in vivo. **Biology of Reproduction**, v.51, p.800-806, 1994.

MCMILLEN, I. C.; EDWARDS, L. J.; DUFFIELD, J. Regulation of leptin synthesis and secretion before birth: implications for the early programming of adult obesity. **Reproduction**, v. 131, p.415-427, 2006.

MOHAN, K., SARKAR, M., PRAKASH, B.S. Efficiency of Heatsynch Protocol in Estrous Synchronization, Ovulation and Conception of Dairy Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Asian-Australian Journal Animal Science**, v. 22, p.774-780, 2009.

MIRMAHMOUDI, R.; PRAKASH, B.S. Temporal Changes in Endogenous Estrogens and Expression of Behaviors Associated with Estrus during the Periovarian Period in Doublesynch

- Treated Murrah Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 4, n. 3, p. 499-504, 2014.
- MILVAE, S.D.; SKIDMORE, V.; TARRIDA, D.E.L.; ET AL. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue deslorelin. **Equine Veterinary Journal**, v.25, p.321-323, 1996.
- MOHANET, K., SARKAR, M., PRAKASH, B.S. Efficiency of Heatsynch protocol in estrus synchronization, ovulation and conception of dairy buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Asian-Australas Journal Animal**, v.22, p.774-780, 2009.
- MOIOLI, B.M.; NAPOLITANO, F.; PUPPO, S. Patterns of oestrus, time of LH release and ovulation and effects of time of artificial insemination in Mediterranean buffalo cows. **Animal Science Journal**, v.66, p.87-91, 1998.
- MONDADORI, R. G.; LUQUE, M. C. A.; SANTIN, T. R.; BÁO, S. N. Ultrastructural and morphometric characterization of buffalo (*Bubalus bubalis*) ovarian preantral follicles. **Animal Reproduction Science**, v.97, p.323-333, 2007.
- MOURA, A. J. D. R. **Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesteroa (CIDR®) associado ao estrógeno e prostaglandina F2 α em búfalas (*Bubalus bubalis*) tratadas em estações reprodutivas distintas**. 2003. 127 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- NANTES, J. F. D.; SCARPELLI, M. Gestão da Produção Rural no Agronegócio. In: BATALHA, Mário O. Gestão Agroindustrial. 3ª ed. São Paulo: **Atlas**, p. 556-583, 2008.
- NEGLIA, G, NATALE, A, ESPOSITO, G, SALZILLO, F, ADINOLFI, L, ZICARELLI, L. Follicular dynamics in synchronized Italian Mediterranean buffalo cows. **Italian Journal of Animal Science**, (Suppl 2:6-Part1), p. 611– 614, 2007.
- NEPHEW, K. P.; CARDENAS, H.; MCCLURE, K. E.; OTT, T. L.; BAZER, F. W.; POPE, W. F.; Effects of administration of human chorionic gonadotrophin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 453-456, 1994.
- NEPHEW, K. P.; CARDENAS, H.; MCCLURE, K. E.; OTT, T. L.; BAZER, F. W.; POPE, W. F.; Effects of administration of human chorionic gonadotrophin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 453-456, 2006.
- NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; MCINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v.80, p.1-29, 2000.
- OBA, E. Tópicos atualizados ligados à reprodução na espécie bubalina. In: **CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS BUBALINOS: PERÍODO DE 1972-2001: palestras**. Botucatu, SP: FMVZ/UNESP, p. 179-198, 2003.
- ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **J. Anim. Sci.**, Savoy, v. 68, p. 817, 1990.

OHASHI, O. M. Estrus detection. In: INTERNATIONAL TRAINING COURSE ON BIOTECHNOLOGY OF REPRODUCTION IN BUFFALOES, 2., 1994, São Paulo, **Proceedings**... p. 7-13, 1994.

SEASONAL VARIATIONS IN THE HYPOPHYSAL RESPONSIVENESS TO GnRH IN CYCLING BUFFALO (*Bubalus bubalis*) P. Palta and M.L. Madan. **AJAS** vol. 9 (N° 6) p.711 – 714, 1996.

PANDEY, M.D.; RAIZADA, B.C. Overcoming summer sterility in buffalo bulls and cows. In: Buffalo Reproduction and Artificial Insemination. FAO, Rome, **FAO Animal Production and Health Paper**, n.13, p.235–246, 1979.

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, 2005.

PERERA, B.M.A.O. Reproductive cycles of buffalo. **Animal Reproduction Science**,v. 124, p.194–199, 2011.

PERERA, B. M. A. O., VALE, W.G.,PICANÇO, N.S. A review of experiences with oestrous synchronization in buffaloes in Sri Lanka. **Buffalo Journal**, v. 1 (Suppl.), p.105-114, 1977.

PERERA, B.M.A.O. A review of experiences with oestrous synchronization in buffaloes in Sri Lanka. **Buffalo Journal**, v.1 (Suppl.), p.105–114,1987.

PERERA, B.M.A.O.; ABEYGUNAWARDENA, H.; VALE, W.G.; CHANTALAKHANA, C. **Buffalo**. In: Livestock and Wealth Creation – Improving the Husbandry of Animals Kept by Poor People in Developing Countries. Livestock Production Programme. Natural Resources International Limited, UK, p. 451–471, 2005.

PERERA, B.M.A.O. Reproduction in domestic buffalo. **Reproduction of Domestic Animals**. v. 43 (Suppl.), p. 200–206, 2008.

PETER, A.T.; LEVINE, H.; DROST, M.; BERGFELT, D.R. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle.**Theriogenology**, v.71, p.1343–1357, 2009.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonograph of the bovine ovary. **Theriogenology**, v.21. p.495-504, 1984.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. **Journal of the American Veterinary Medical Association** p.995 -1001, 1987.

VINÍCIUS, G. PINHEIRO, JOSÉ RENATO, L.M. CURY, RAFAEL, A. SATRAPA, LUZIA, A. TRINCA, BÁRBARA LOUREIRO, CIRO, M. BARROS. Evaluation of the hypothalamuspituitary axis response to exogenous GnRH, estradiol benzoate, and LH during the postpartum period in Nellore cows. **Theriogenology**, v. 79, n. 5, p. 797-802, 2013

PORTO-FILHO, R. **Emprego da radiotelemetria na detecção do estro em fêmeas bubalinas: luteólise durante duas fases do ciclo estral, ultra-sonografia da ovulação e perfis hormonais.** Curso de Pós-Graduação em Reprodução Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000. 112p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal), 2000.

PORTO-FILHO, R. M. **Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) durante a estação reprodutivo desfavorável em fêmeas bubalinas,** 2004. 99 p. Tese (Doutorado) – São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

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

PFEIFER, C.S, WALLENHORST, S.; METTEN, M.; HOLTZ, W.; WUTTKE, W. Development of a sensitive enzymeimmunoassay (EIA) for FSH determination in bovine plasma. **Animal Reproduction Science**, v. 55, p.183-192, 2013.

PTASZYNSKA, L.S., Seasonal Variation of Anestrus Conditions in Buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Southern Nepal. **Asian Journal of Animal and Veterinary**, 2007.

PRAKASH, B.S.; PALTA, P.; BANSAL, N.; MANIK, R.S.; MADAN, M.L. Development of a sensitive direct enzymeimmunoassay for progesterone determination in follicular fluid from individual buffalo follicles. **Indian Journal of Animal Science**, v.67, p. 36-38, 1997.

PREDOJEVIC, Y.T, TOKUGAWAM, T.Z., SHIMIZU, H. Hormonal events underlying the prostaglandin induced oestrus in Swamp buffaloes. **Buffalo Journal**, 1(Suppl.), p.23-38, 1988.

PRESICCE, G. Ovarian follicular dynamics and hormonal profiles in heifer and mixed-parity Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*) following an estrus synchronization protocol. **Theriogenology**, v.61, p.1343–1355, 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.

PURSLEY, J. R., M. R. KOSOROK, AND M. C. WILTBANK. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal Dairy Science**, v. 80, p. 30-306, 1997.

QUEIROZ, M. A. Puberdade em fêmeas Murrah (*Bubalus Bubalis*) do Vale do Ribeira-Sp. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**.v. 25, n.6, p.173- 174. 2003.

RAJAKOSKI, E. Ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal cyclical and left-right variations. **Acta Endocrinology**, v.34, p.379-92, 1960. Supplement 52.

RASTEGARNIA, A.; NIASARI-NASLAJI, A.; HOVARESHTI, P.; SARHADDI, F.; SAFAEI, M. The effect of different doses of Gonadorelin on ovarian follicle dynamics in river buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, n.62, p.1283–1291, 2004.

SALDANHA, A. A. **Estudo da dinâmica reprodutiva anual do ciclo estral em fêmeas bubalinas (*Buballus bubalis*)** 2014. 89 p. Dissertação (Mestrado) – São Luis, Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 2014.

RAJAMAHENDRAN, S.C.. Repeat breeding: Incidence, risk factors and diagnosis in buffaloes. **Asian Pacific Journal of Reproduction**. 1996.

RAO, C.H., RAO, C.V., NAIDU, K.N., 1981. Heat detection during off-season in buffaloes. **Indian Veterinary Journal**, v.58, p.588–589,1981.

RAO, A. V. N.; RAO, H. R. M.; VENKATARAMAIAH, P. Heat detection index in murrh buffaloes. **Indian Veterinary Journal**, v. 72, n. 6, p. 658-659, 1995.

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N.A.T.; JACOMINI, J.O. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos Artificial Insemination efficiency in buffalo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 6, p. 104-110, 2009

RIBEIRO, H. F. L. **Reprodução de bubalinos na Região Amazônia**. 2008. Disponível em:www.cienciaanimal.ufpa.br/CA_selecao/M/2010/biblio/Prod/.../RIBEIRO_2008.pdf>. Acesso em: 12 jan. de 2016.

RIBEIRO, H. F. L.; SOUSA, J. S.; SILVA, A. O. A. da; VALE, W. G. Inseminação artificial em bubalinos. IN: IX CONG. BRAS. REP. ANIMAL, 1991, **Anais...** Belo Horizonte -.MG. CONG. BRAS. REP. ANIMAL (CBRA). 2006.

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

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

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

ROBINSON, J. J.; ASHWORTH, C. J.; ROOKE, J. A.; MITCHELL, L. M.; MCEVO, T. G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science Technology**, v.126, p.259-276, 2006.

ROHILLA, N.; SINGH, U.; SHARMA, R.K.; SINGH, I. Ultrasonic ovarian status in summer anestrus postpartum Murrah buffaloes. **Indian Journal of Animal Reproduction**, **26**: 95–98, 2005.

ROLIM FILHO, S.T.; RIBEIRO, H. F. L.; VALE, W. G.; PICANÇO, N. S.; BARBOSA, E. M.; FERREIRA, R. N. Desempenho reprodutivo de fêmeas bubalinas criadas em sistema misto (várzea e pastagem artificial) no estado do Pará. I. Idade a primeira cria, intervalo entre partos, época de parição, eficiência reprodutiva e taxa de prenhez. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 754-763, 2009.

RONCI, E.F., DE RENSIS, L.A., Efficacy of the Ovsynch protocol for synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**. V. 85, p.02-04, 2005.

RONCHI, B.; STRADAIOLI, G.; VERINI SUPPLIZI, A.; BERNABUCCI, U.; LACETERA, N.; ACCORSI, P. Influence of heat stress or feed restriction on plasma P4, oestradiol 17 β , LH, FSH, prolactina and cortisol in Holstein heifers. **Livestock Production Science**, v.68, p.231-241, 2001.

RÖNNBERG, L.; KAUPPILA, A.; LEPPÄLUOTO, J.; MARTIKAINEN, H.; VAKKURI, O. Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.71, n.2, p.492-6, 1990.

ROY, A.; RAIZADA, B.C.; TIWARI, R.B.; PANDEY, M.D.; YADAV, P.C.; SENGUPTA, B.P. Effect of management on fertility of buffalo cows bred during summer. **Indian Journal of Veterinary Science**, v. 38, p. 554-560, 1968.

ROV, A.D., MAPLETOFT, R.P., BARUSELLI, P.S. Increasing pregnancies following synchronization of bovine recipients. **Anim Reprod**, v.9, n.3, p.312-317, 2016.

SÁ FILHO, M.F., AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; SILVA, R.C.P.; RODRIGUES, C.A.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*). **Theriogenology**, v. 73, n. 5, p. 651-658, 2010

SÁ FILHO, M.F, SANTOS, J.E, FERREIRA, R.M, SALES, J.N, BARUSELLI, P.S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suck- led *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone- based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v.76, p.427-35, 2011.

SAKAMOTO, K.; MIWA, K.; EZASHI, T.; OKUDA-ASHITAKA, E.; OKUDA, K.; HOUTANI, T.; SUGIMOTO, T.; ITO, S.; HAYAISHI, O. Expression of mRNA encoding the prostaglandin F_{2 α} receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrous cycle and pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.103, p.99-105, 1995.

SALES, J.N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; CIPRIANO, R.S.; JACOMINI, J.O.; MAIO, J.R.G.; SOUZA, J.C.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**. v. 51, p.915-923, 2012.

SANTOS, C. L. R. dos; SANTOS JÚNIOR, J. R. dos; CUNHA, M. C. da; NUNES, S. R. F.; BEZERRA, D. C.; TORRES JÚNIOR, J. R. de S.; CHAVES, N. P. Nível tecnológico e

organizacional da cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no estado do Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-8, e 0022014, 2016. DOI: 10.1590/1808-1657000022014.

SANTOS, O. M. **Avaliação dos usos e ocupação das terras da Bacia Hidrográfica do Rio Pericumã - MA, utilizando como parâmetros os padrões recomendáveis para uma área de proteção ambiental**. 2004. 96 p. **Dissertação** (Mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2004.

SANTOS, A. S.; FIRMINO NETO, J. E.; ANDRADE, J. C. O. Uso de gonadorelina no dia da inseminação artificial de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 107-108, 2001.

SATBENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. E. Processos reprodutivos da fêmea. In: SWENSON, M.J.; REECE, W. **Duckes Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.615-644, 1996.

SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 197-203, 1993.

SCARAMUZZI, R. J.; ADAMS, N. R.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J. A.; FINDLAY, J. K.; HERDERSON, K. M.; MARTIN, G. B.; MCNATTY, K. P.; MCNEILLY, A. S.; TSONIS, C. G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in ewe. **Reproduction, Fertility and Development**, v.5, p.459-478, 1993.

SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. Moscow: Current, 368p, 2003.

SEREN, E.; PARMEGGIANI, A.; CAMPANILE, G. The control of ovulation in Italian buffalo. *Reproduction and Animal Breeding advances and strategy*. **Elsevier Amsterdam**, p. 265-275, 1995.

SEREN, E.; PARMEGGIANI, A.; MONGIORGI, S.; ZICARELLI, L.; MONTEMURRO, N.; PACELLI, C.; CAMPANILE, G.; ESPOSITO, L.; DI PALO, R.; BORGHESE, A.; BARILE, V.L.; TERZANO, M.G.; ANNICCHIARICO, G. E.; ALLEGRINI, S. Modificazioni endocrine durante il ciclo estrale nella bufala. [Periestrous endocrine changes in Italian buffaloes]. **Agricoltura Ricerca**, v. 153, p. 17-24. 1994.

TAPONEN, W.R., MATOS, R., MOREIRA, F., AMBROSE, I.D., Experimental manipulation of follicular growth. *Reproduction in Domestic Animals*. p. 27-33, 1999. Supplement .

SHAH, S.N.H. Comparative studies of sazonal influence on breeding behaviour and conception rate of dairy buffalo and zebu cattle. In: Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Dublin. **Proceddings...** v.3, p.538, 1988.

SHETH, A.; WADADEKAR, R.K.B.; MOOBBIDRI, S.B.; JANAKIRAMAN, J.; PARAMESHWARDAN, M. Seasonal alteration in serum prolactina and LH levels in water buffalo. **Current Science**, v. 47, p. 75-77, 1978.

SCHIMITT, E., COSTA, O.M., CASTRO, N.A., COSTA, C.M. Estação reprodutiva de curta duração com utilização de IATF em búfalas lactantes. **Circular técnica**, n.134, Embrapa Rondonia, 1ª impressão (2013): 100 exemplares.

SCHIMITT, E. J.; BARROS, C. M.; FIELDS, A.; FIELDS, M. J.; DIAZ, J.; KLUG, M.; THATCHER, W. W. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotrophin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1915-1929, 1996.

SHORT, R. E.; ADAMS, D. C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, p. 29-39, 1988.

SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAGMILLER, R.B.; BERARDINELLI, J.G.; CUSTER, E.E. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in post-partum beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 799-816, 1990.

SIANANGAMA, R, A., RAJAMAHENDRAN, J., SILVESTRE, F.T. Response and induction of Pancarci SM, Thatcher WW. Reproductive responses following postpartum suppression of ovarian follicular development with a deslorelin implant. during summer heat stress in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 111, p. 320-337, 1996.

SILVA, C. J.; COSTA, L. L. Luteotropic influence of early embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. **Theriogenology**, v. 64, p. 49-60, 2005.

SILVA, J.M., PRICE, C.A. Insulin and IGF-I are necessary for FSH-induced cytochrome P450 aromatase but not cytochrome P450 side-chain cleavage gene expression in oestrogenic bovine granulosa cells *in vitro*. **Journal Endocrinology**, v. 174, p. 499-507, 2003.

SILVA, J.R.V.; THARASANIT, T.; TAVERNE, M.A.M.; VAN DER WEIJDEN, G.C.; SANTOS, R.R.; FIGUEIREDO, J.R.; VAN DEN HURK, R. The activin-follistatin system and *in vitro* early follicle development in goats. **Journal of Endocrinology**, v.189, p.113-125, 2006.

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

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

SIQUEIRA, J. B.; LEAL, L. S.; OBA, E. Dinâmica folicular ovariana na espécie bubalina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, n.3, p.139-148, 2009.

SOARES, J. M.; MASANA, M. I.; ERSAHIN, C.; DUBOCOVICH, M. L. Functional melatonin receptors in rat ovaries at various stages of the estrous cycle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.306, n.2, p.694-702, 2003

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

SOUZA, F. A.; CANISSO, A. M.; BORGES, V. R.; VALE, F.; LIMA, A. L.; SILVA, E. C. Restrição alimentar e os mecanismos endócrinos associados ao desenvolvimento folicular ovariano em vacas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, n.2, p.61-65, abr./jun. 2009.

SRINIVASAN, V.; SPENCE, W. D.; PANDI-PERUMAL, S. R.; ZAKHARIA, R.; BHATNAGAR K. P.; BRZEZINSKI A. Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone. **Gynecological Endocrinology**, v.25, n.12, p.779–785, 2009.

STAGG, K. **Anoestrous in the post-partum suckled beef cow and in the nutritionally restricted beef heifer**. Ph.D. Dissertation. 2000. The National University of Ireland, Dublin.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **System for Microsoft Windows**: release 8.2. Cary: 2001. 1 CD-ROM.

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.

TAKKAR, O. P.; SINGH, M.; VARMAN, P.N. Progesterone levels anoestrus in buffaloes concurrent with profiles during stages of estrous cycle. **Indian Journal Dairy Science**, v. 36, p. 125–128, 1983.

TAMURA, H.; TAKASAKI, A.; MIWA, I.; TANIGUCHI, K.; MAEKAWA, R.; ASADA, H.; TAKETANI, T.; MATSUOKA, A.; YAMAGATA, Y.; SHIMAMURA, K.; MORIOKA, H.; ISHIKAWA, H.; REITER, R. J. & SUGINO, N. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate. **Journal of Pineal Research**, v. 44, p.280–287, 2008.

TANAKA, T.; ARAI, M.; OHTANI, S.; UEMURA, S.; KUROIWA, T.; KIM, S.; KAMOMAE, H. Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 108, p. 134-143, 2008.

TANEJA, M.; ALI, A.; SINGH, G. Ovarium follicular dynamic in water buffalo. **Theriogenology**, v.46, p.121-130, 1996.

TORRES-JÚNIOR, J. R. DE S.; MELO, W. DE O.; ELIAS, A. K. DA S.; RODRIGUES, L. S.; PENTEADO, L.; BARUSELLI, P. S. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, n.1, p.53-58, 2009.

TORRES, J.R.; PENTEADO, L.; SALES, J.N.; SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; BARUSELLI, P.S. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 15, p. 9-14, 2014

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

VALE, W.G. Effects of environment on buffalo reproduction. In: VIII WORLD BUFFALO CONGRESS. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, (Suppl. 2), p. 130-142, 2007.

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**, v.29, p.63-73, 2005.

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

VALE, E. R. **Ciclo estral de bovinos e métodos de controle**. Campo grande, MS, 1991. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicações/doc/doc4>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

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

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

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717-1751, 2005.

VYNCKIERET, E., WAGNER, H.G, HARTL, P., TENHUMBERG, H. Endocrinological evaluation of the induction of superovulation with PMSG in water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.34, p.379-392, 1990.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P. C.; GONG, J. G.; ARMSTRONG, D. G. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal Animal Science**, v. 82, p. 63-74, 2004

WEISS, R. R.; RASTA, W. P. D.; FRARES, L. F.; KOZICK, L. E.; MURADÁS, P. R.; ABREU, R. A. Avaliação do emprego do protocolo ovsynch modificado na taxa de prenhez e mortalidade fetal em *Bubalus bubalis*. **Vet. e Zootec.** v. 19, p.531-538, 2012.

WINSTON, R.P.; RAO, M.A. Management of nutritional factors affecting the prepartum and post partum cow, In: **Boca Raton**, v. 65, p. 155-165, 1969.

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

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

WILTBANK, M. C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.21-52, 2002.

XU, Z.Z.; BRUTON, I.J.; MACMILLAN, K.L. Reproductive Performance of Lactating dairy cowy following estrus Synchronization regimes with pgf2 α . **Theriogenology**, v. 47, p.687-701, 1995.

YOTOV, S.; ATANASOV, A.; YORDANKA, I., Therapy of ovarian inactivity in postpartum Bulgarian Murrah buffaloes by PRID and Ovsynch estrus synchronization protocols. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v. 1, n. 4, p. 293-299, 2012.

ZICARELLI, L.; CAMPANILE, G.; ESPOSITO, L.; INFASCELLI, F. Durata del calore (intertempo tra il suo inizio e la sua fine) ed ovulazione nella bufala in funzione del momento stagionale: confronto tra estri spontanei e indotti con alfaprostol. **Rivista di Zootecnia e Veterinaria**, v.16, p.33-55, 1988.

ZICARELLI, L. de F. C.; FRANCILO, M.; PACELLI, C.; VILLA, E. E. Influence of insemination technique and ovulation time on fertility percentage in synchronized buffaloes. In: **World Buffalo Congress**, 5, p.732-737, 1990.

ZICARELLI, L. Management in different environmental conditions. In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: USP; WBC, p.15-39, 1994.

ZICARELLI, L. Esperienze di superovulazione ed Ovum pick-up nella bufala allevata in Italia. Convegno ARSIAL su "**Biotechnologia e Zootecnia Regionale**", p.11-28,1998.

ZICARELLI, L.; VALE, W. G. Patrones reproductivos estacionales y no estacionales en el búfalo doméstico. In: Berdugo JA, Vale WG. (Ed.). **Memorias del Curso Internacional de Reproducción Bufalina**. 2002, Medellín, Colombia. Medellín: CATI, p.33-58, 2002.

ZIEBA, D. A.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G. L. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, p. 166-185, 2005.

ZIECIK, A. J.; KACZMAREK, M. M.; BLITEK, A.; KOWALCZYK, A.E.; LI, X.; RAHMAN, N. A. Novel biological and possible applicable roles of LH/hCG receptor. Review. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 269, p. 51-60, 2007.

ZYLBERSZTAJN, D.; FARINA, E. M. M. Q.; SANTOS, R.C.O. O sistema agroindustrial do café: um estudo da organização e do agrobusiness do café visto como a chave da competitividade. **Embrapa Meio Ambiente (CNPMA)**, Porto Alegre: Ortiz, 277p, 1993.

ANEXO

NÍVEL TECNOLÓGICO E ORGANIZACIONAL DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA DE CORTE NO ESTADO DO MARANHÃO

RESUMO

Cleide Lis Ribeiro dos Santos³, João Batista dos Santos Júnior¹, Maylson Coutinho da Cunha¹, Sérgio Roberto Ferreira Nunes¹, Danilo Cutrim Bezerra⁴, José Ribamar de Souza Torres Júnior², Nancyleni Pinto Chaves^{1*}

O objetivo deste trabalho foi traçar o nível tecnológico e organizacional da cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no Estado do Maranhão, pesquisando o perfil dos produtores, industriais, distribuidores e consumidores, em relação aos aspectos de produção, tecnologia, gestão e, aceitação da carne bubalina. Foi utilizado o método quantitativo para levantamento e análise de dados secundários, método de natureza qualitativa e aplicação de questionários. As análises realizadas com base nos dados coletados permitiram determinar algumas características desse segmento, tais como: quantitativo de búfalos para corte, nível de escolaridade dos produtores, tamanho da área de criação, divisão por categoria animal, tipo de exploração, atividades complementares de exploração, raças, identificação animal, sistema de criação, mercado da carne, organização dos custos de produção, usufrutos dos sindicatos e cooperativas, principais problemas na criação, expansão do mercado, diferenças comparativas com os bovinos, consumo e aceitação da carne para consumo. Conclui-se que a cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no Estado do Maranhão está em fase de organização, fato que pode ser reestruturado por meio da contribuição e comprometimento de todos os elos que a constituem.

PALAVRAS-CHAVE: Búfalos, produção de carne, gestão, Maranhão.

³Curso de Zootecnia; Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) – São Luís (MA), Brasil.

⁴ Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal; Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – São Luís (MA), Brasil.

*Autor correspondente: nancylenichaves@hotmail.com

Recebido em: 07/01/2014. Aceito em: 29/10/2015

ABSTRACT

TECHNOLOGICAL AND ORGANIZATIONAL LEVEL OF THE PRODUCTION CHAIN
OF CUTTING IN BUFFALOES MARANHÃO STATE

The objective of this study was to establish the technological and organizational level of the production chain cutting buffaloes in the State of Maranhão, researching the backgrounds of the producers, manufacturers and distributors and consumers in relation to aspects of production, technology, management, and acceptance of this buffaloes meat. We used the quantitative method for collection and analysis of secondary data, the method of qualitative and survey questionnaires. Analyses conducted on the basis of collected data allowed to determine some characteristics of this segment, such as quantitative buffaloes to cut education level of farmers, size of the breeding area, division by animal category, type of operation, complementary activities of exploration, races, animal identification, breeding system, meat market, organization of production costs, usufruct of unions and cooperatives, the major problems in the creation, market expansion, comparative differences with cattle, meat consumption, acceptance of meat consumption. We conclude that the productive chain cutting buffaloes in the State of Maranhão is in flux, which can be restructured through the contribution and commitment of all the links that make it up.

KEY WORDS: Buffaloes, meat production, management, Maranhão.

INTRODUÇÃO

Os búfalos são animais de origem asiática, da família Bovidae, subfamília Bovinae, espécie *Bubalus bubalis*. Animal extremamente rústico e de alta capacidade de adaptação, podendo sobreviver em diversos ambientes, com grandes variações de clima, relevo e vegetação. São animais explorados para a produção de carne, tração animal, produção de esterco e de leite. Encontrados, praticamente, em todos os continentes, particularmente na Ásia (Índia, Paquistão, Tailândia, China, Vietnã), África (Egito), Europa

(Itália) e América do Sul (Brasil, Argentina, Venezuela, Peru e Colômbia) (FAO, 2006; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008; BERNARDES, 2011).

A bubalinocultura é uma atividade recente no Brasil, mas este já é o maior detentor do rebanho da América do Sul, seguido pela Venezuela, Argentina e Colômbia (ANDRIGHETTO et al., 2005). Os búfalos chegaram ao país no final do século XIX, oriundos da Europa, Caribe e Ásia, e foram instalados inicialmente na Região Norte, na Ilha de Marajó (Estado do Pará), e depois se expandiram por toda a região e outras regiões do país. Inicialmente esses animais foram trazidos apenas por curiosidade, sem nenhum interesse econômico e comercial (BERNARDES, 1997; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008).

O rebanho bubalino brasileiro concentra-se principalmente na Região Norte do país (65% do efetivo total), distribuído entre as raças Carabao, Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo (MARQUES; CARDOSO, 1997; LOURENÇO JÚNIOR; GARCIA, 2008). O Estado do Maranhão ocupa a segunda posição, possuindo um efetivo bubalino de 86.648 cabeças (MARANHÃO, 2012).

Os produtores brasileiros notaram o potencial de mercado destes animais para a produção de carne e passaram a investir na bubalinocultura. De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - FAO, de 1961 a 1980 o rebanho brasileiro evoluiu 686%, e de 1980 a 2005 o crescimento foi de 143%; enquanto a evolução da produção de frangos nos mesmos períodos foi, respectivamente, 234% e 149%; a de bovinos, 112% e 61%; a de suínos, 34% e -3%; e de ovinos 31% e -23% (FAO, 2006).

A cadeia de carne bovina apresenta posição de destaque na economia brasileira, ocupando vasta área do território nacional e responde pela geração de emprego e renda de milhões de brasileiros. O conjunto de agentes que a compõe apresenta grande heterogeneidade: de pecuaristas altamente capitalizados a pequenos produtores empobrecidos, de frigoríficos com alto padrão tecnológico, capazes de atender a uma exigente demanda

externa, a abatedouros que dificilmente preenchem requisitos mínimos da legislação sanitária (BUAINAIN; BATALHA, 2007).

Para ZYLBERSZTAJN et al. (1993) e JANK et al. (1999), a cadeia produtiva é constituída por uma sequência de operações interdependentes que têm por objetivo produzir, modificar e distribuir um produto. Em se tratando de cadeias produtivas agroindustriais, engloba as atividades de apoio à produção agropecuária (fornecimento de insumos, assistência técnica, pesquisa etc.), a produção agropecuária dentro da fazenda, o seu armazenamento, beneficiamento, a transformação industrial e a distribuição (atacado e varejo) de um produto, “*in natura*” ou transformado, até o consumidor final. Os atores da cadeia produtiva são os produtores, industriais, distribuidores e consumidores, que são os tomadores de decisão e podem influenciar e interferir em sua coordenação.

A pecuária de corte participa significativamente na formação do produto interno bruto, sendo um dos setores mais importantes do agronegócio na economia brasileira. Porém, diversos setores da indústria e do comércio de carnes operam ainda por meio de sistemas desatualizados e com métodos arcaicos (JORGE, 2005) e, para a bubalinocultura de corte não é diferente.

Neste contexto e, em face à escassez de informações disponíveis sobre a bubalinocultura de corte realizou-se esta pesquisa, com o objetivo de traçar o nível tecnológico e organizacional da cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no Estado do Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

Tipologia e local de Estudo

O estudo possui um desenho exploratório com uma abordagem quantitativa e qualitativa. O estudo foi realizado no Estado do Maranhão que apresenta uma área territorial de 331.983,293 km², localizado a Noroeste da Região Nordeste do Brasil. Limita-se ao Norte com o Oceano Atlântico, Sul e Sudoeste ao Estado do Tocantins, Leste e Sudeste com o

Estado do Piauí e a Oeste com o Estado do Pará, possui 217 municípios com uma população estimada em 6.103.327 habitantes (IBGE, 2011).

Levantamento de Dados

a) Quantitativo

A presente pesquisa abordou inicialmente o método quantitativo, através do levantamento de dados secundários em documentos, sites e material de institutos de pesquisa, organizações produtivas públicas e privadas para obter o quantitativo de bubalinos existentes no Estado do Maranhão e a relação dos Municípios que detém esta criação.

Para o levantamento desses dados, foram utilizadas informações do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED - MA), Instituto de Agronegócios do Maranhão (INAGRO), Secretária Municipal de Agricultura, Pesca e Abastecimento (SEMAPA), Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e associações de produtores de carne bubalina do Estado do Maranhão.

b) Qualitativo

Esta pesquisa também abordou o método qualitativo para firmar conceitos e objetivos a serem alcançados e dar sugestões sobre variáveis a serem estudadas com maior profundidade. Os métodos qualitativos apresentam uma mistura de procedimentos de cunho racional e intuitivo, capazes de contribuir para melhor compreensão dos fenômenos (GIOVINAZZO, 2001).

c) Pesquisa de campo

Foram realizadas entrevistas com questionário semi-estruturado junto aos produtores, industriais do setor frigorífico, distribuidores (marchantes) e consumidores de carne bubalina, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, no período de março a julho de 2013. Neste momento, foi procedida a observação de fatos, para confirmar os dados coletados previamente e, compreender aspectos produtivos, tecnológicos e

de gestão da atividade de produção de bubalinos de corte. Para as análises descritivas das informações, o método qualitativo serviu de suporte.

Coleta de Dados

Para coletar dados junto aos produtores, industriais do setor frigorífico, distribuidores (marchantes) e consumidores de carne bubalina a amostragem foi não probabilística, pois as unidades amostrais foram selecionadas de acordo com o acesso aos entrevistados, restrição de tempo e orçamento, visando otimizar os resultados da pesquisa. Portanto, a amostra não foi sorteada, mas restrita aos elementos que estavam prontamente acessíveis.

Georreferenciamento dos Dados

Para o georreferenciamento dos dados, utilizou-se aparelho de navegação GPS (Posicionamento Global por Satélite) da marca Garmin® com acurácia de aproximadamente 2 (dois) metros, para tomada de coordenadas geográficas dos Municípios do Estado do Maranhão com presença de bubalinos. Desta forma, cada endereço foi localizado em um ponto no espaço. Para a confecção dos mapas temáticos utilizou-se o *software* Terra View.

Análise de Dados

As informações dos questionários, assim como as coordenadas, foram armazenadas em um banco de dados utilizando o programa Microsoft Access®. Utilizou-se a análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa para expressar os dados obtidos nesta pesquisa.

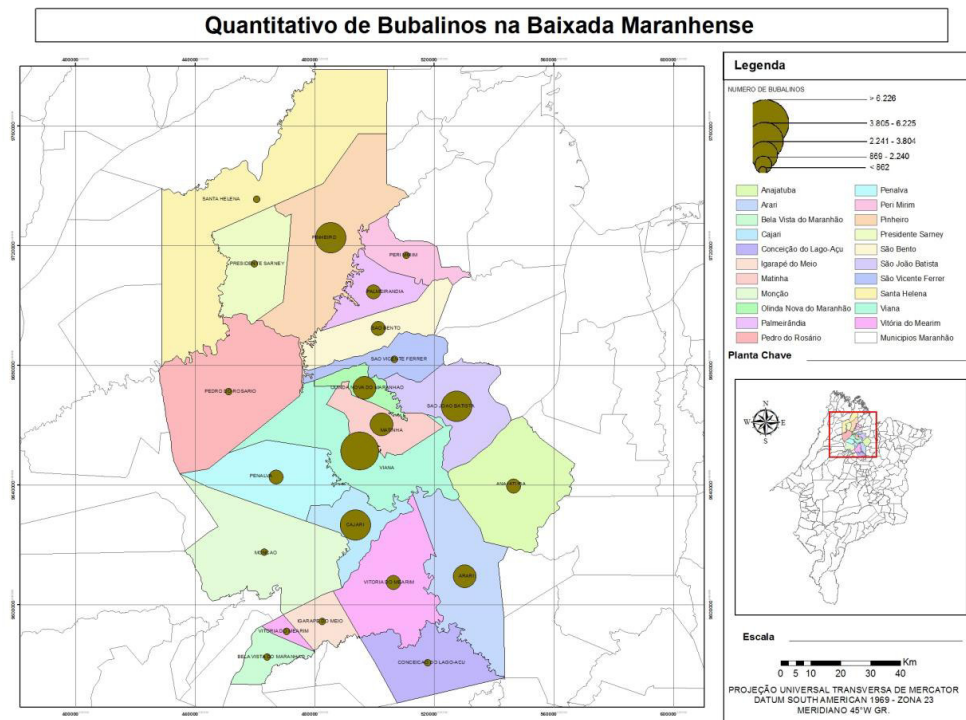
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rebanho bubalino do Estado do Maranhão é composto por 86.648 animais, distribuído em 146 municípios, dos 218 que compõem o Estado.

De acordo com a pesquisa realizada, o rebanho bubalino do Estado está em sua maioria concentrado na Baixada maranhense (n=56.321; 65% do total) (Fig. 1). Os 35%

restantes (n= 30.327) estão distribuídos de forma bastante pulverizada em pequenos criatórios localizados em 125 Municípios maranhenses.

Figura 1. Quantitativo de bubalinos (*Bubalus bubalis*) para corte na Baixada Maranhense, 2013.



A Baixada maranhense, formada por 21 Municípios, detém uma área de 1.775.035,6 hectares, situa-se no noroeste do Estado (1°00' - 4°00'S e 44°21' - 45°21'W). Corresponde a uma área de transição entre a Amazônia e o Nordeste e constitui um eco-complexo que inclui rios, lagos, estuários, agroecossistemas e áreas urbanas, além de campos naturais e um grande sistema de áreas inundáveis peculiares a esta região, muito rico em fauna e flora. Seus ecossistemas mais representativos são: babaçual, campos inundáveis, manguezais, mata ciliar e floresta ombrófila (SANTOS, 2004; BERNARDI, 2005).

A partir das décadas de 1950 a 1970, a Baixada maranhense começou a apresentar expansão na criação de búfalos, seja pela elevação no efetivo do rebanho bubalino, seja pelo aumento no número de propriedades envolvidas nessa atividade ou ainda, pelo incentivo do governo ao programa de introdução de bubalinos no Estado, financiando criadores.

Entretanto, isso ocorreu, com uma visão simplista na época, em função da experiência obtida com a criação de búfalos na Ilha de Marajó, cujas características acreditavam serem as mesmas da Baixada maranhense (SANTOS, 2004).

Atualmente, o Estado do Maranhão apresenta 1.551 produtores de bubalinos. Deste total, foram entrevistados 30 criadores, que se dispuseram a participar do estudo, todos das Baixada maranhense, mais especificamente do Município de Viana (maior detentor de rebanho bubalino no estado) e Cajari. De acordo com as entrevistas realizadas pôde-se constatar que a produção de búfalos com a finalidade para corte é realizada na sua maioria (n= 21; 70%) por unidades familiares, sendo a administração da propriedade rural realizada somente pelo proprietário, ou pelo proprietário e membros da família. Observou-se também que o nível de escolaridade dos produtores oscila do ensino fundamental ao ensino superior, sendo o fundamental completo o predominante (n= 18; 60%).

A concentração fundiária, na Baixada maranhense, é elevada e representa padrões de uso da terra de baixo nível tecnológico, com baixa produtividade e gradativo processo de degradação dos recursos naturais. Estabelecimentos agropecuários maiores que 500 ha representam aproximadamente menos de 1% do total na maioria dos municípios desta região, mas ocupam entre 30-70% de suas áreas (BERNARDI, 2005).

Dos entrevistados, apenas 30% são proprietários da área onde os búfalos são criados e, estas apresentam proporções bastante diferenciadas (variando de 10-49 hectares, para mais de 500 hectares na minoria dos casos). E a maioria (n= 21; 70%), não apresenta propriedade rural, criando os animais totalmente soltos nos campos da Baixada maranhense. Em 96,67% (n= 29) dos casos, predominando a criação de baixo padrão tecnológico.

Os produtores foram divididos em quatro grupos quanto ao quantitativo de animais, ou seja, aqueles produtores com rebanhos de até 18 animais, formados por 15 produtores, (ii) 79 animais formados por 06 produtores, (iii) 261 formados por 07 produtores e, (iv) até 749 animais, formados por 02 produtores. Os rebanhos apresentavam a seguinte

categorização animal: fêmeas adultas (50,30%), bezerras (13,96%), novilhas (13,55%), bezerros (11,68%), novilhos (5,35%), machos adultos (5,16%).

Foi relatado pelos produtores, que o manejo dos animais é realizado pelo proprietário, com auxílio da família, e todos possuem funcionários (vaqueiros), variando em número de 01 a 04. Além da produção de carne, existem outras atividades complementares que podem gerar renda, como a venda de bezerros (100%) e a produção de leite (60%). Foi possível observar a predominância de animais mestiços das raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo (89%), e alguns animais puros com destaque para a raça Murrah.

Por meio das entrevistas observou-se que a reposição dos animais é realizada pelo próprio rebanho, onde são retidas as fêmeas com melhores características genéticas, e para a reprodução são adquiridos touros mestiços (principalmente 5/16 da raça murrah) ou de raças puras de origem, de produtores locais (54,28%) e de criadores de municípios vizinhos (8,57%).

Todos os produtores realizam a reprodução por meio de monta a campo, pois, para a utilização da inseminação artificial ainda existem muitas barreiras, com destaque para infraestrutura deficiente, a falta de mão-de-obra especializada, dificuldade na aquisição do sêmen e também falta de informações por parte do produtor. Pequena parcela dos entrevistados (n= 1; 3,33%) realiza o registro genealógico dos animais. A maioria dos produtores (n= 29; 96,67%) realiza a identificação dos animais pela marcação a ferro candente e picotes/assinalamento na orelha.

A modalidade de criação de búfalos predominantemente é o sistema extensivo (n= 26; 86,70%) em pastagens nativas e de baixa qualidade. Isso se deve em grande parte ao preconceito inicial de que a criação de búfalos somente seria viável em locais onde não se podem criar outros animais domésticos, tais como regiões pantanosas, sujeitas a enchentes, de solos pobres; e terrenos montanhosos. Apesar disso, o búfalo é bastante resistente à seca, não

tolerando muito bem áreas sem sombreamento, na ausência de água. Aos três anos já pode ser abatido e as fêmeas podem ser cruzadas entre 17 a 24 meses, segundo relato dos produtores.

De acordo com informações obtidas junto aos produtores há uma nítida superioridade produtiva dos bubalinos quando comparados aos bovinos, mesmo nas condições de criação utilizadas. Na Tab. 1 são discriminados os índices zootécnicos dos bubalinos criados na Baixada maranhense. Estes índices assemelham-se a alguns dados de desempenho encontrados por KASPRZYKOWSKI (1978) em pesquisa realizada no Município de Pinheiro, pertencente à Baixada maranhense.

Tabela 1. Índices zootécnicos dos bubalinos criados na Baixada maranhense, 2013

Índices zootécnicos	Espécie bubalina
Índice de natalidade	20 a 58%
Vida útil do reprodutor	12 a 14 anos
Número de crias por matriz	8 a 10
Idade do primeiro parto	3 anos
Período de gestação	10 meses
Intervalo entre partos	18 meses
Período de lactação	8 a 10 meses
Produção de leite/dia	3 a 3,5 litros
Peso ao nascer	28 Kg
Idade da desmama	8 a 10 meses
Peso vivo adulto	600 Kg
Idade de abate	3 a 4 anos
Peso vivo á idade de abate	430 a 600 Kg
Mortalidade de bezerros	4 a 10%

Entretanto, a baixa rentabilidade da bubalinocultura nos sistemas tradicionais de criação, como o praticado com expressividade na Baixada maranhense, tornou essa atividade pouco atrativa economicamente. Esse fato tem induzido alguns pecuaristas a transferirem parte dos búfalos para áreas já formadas com pastagens cultivadas em terra firme e a realizar investimentos na recuperação de áreas alteradas, como forma de elevar a produtividade e tornar a criação mais competitiva. Essa mudança foi relatada por 3,33% (n= 1) dos entrevistados.

Durante muito tempo, a bubalinocultura realizada no Estado do Maranhão, concentrou-se na produção de carne. Mas, ultimamente, a exploração leiteira começa a ocupar espaços. Os produtores acreditam que, em futuro muito próximo, a produção intensiva de carne e leite de búfalo em sistemas agrossilvipastoris, em pastejo rotacionado intensivo em terra firme, torne-se plenamente sustentável do ponto de vista biológico, econômico, ambiental e social, com produtividade três a cinco vezes superior à dos sistemas de criação tradicionais. A adoção de tecnologia permitirá a recuperação de áreas degradadas, diminuindo a pressão pelo desmatamento de novas áreas de floresta. A sociedade será beneficiada na medida em que a pecuária bubalina contribui efetivamente para manter o homem no campo, evitando o êxodo rural. Gera empregos no beneficiamento, transporte, distribuição e comercialização dos produtos e subprodutos do búfalo, em toda a cadeia produtiva.

Para a CONCREMAT ENGENHARIA (2002), o búfalo criado em áreas sem nenhum sistema de manejo produtivo implementado provoca um violento impacto ambiental na região, por danificar a vegetação quando comparado ao bovino; compactar os solos; comprometer a qualidade das águas; além de comer plantas terrestres e aquáticas reguladoras de ecossistemas e destruir ninhos de espécies da fauna local, comprometendo a biodiversidade.

Apesar da criação de búfalos ser majoritariamente realizada sem nenhum sistema de manejo produtivo implementado, sem preocupação com o comprometimento da fauna, flora, água e solo de um território, há várias experiências exitosas de criação de búfalos com finalidade de produzir de carne ou leite, que realizam um manejo adequado e têm resultado em benefícios para o ambiente, o criador e outros atores sociais de uma determinada região (BERBARDI, 2005).

De acordo com NANTES e SCARPELLI (2008), em decorrência da globalização, no mercado de alimento as margens de lucros estão cada vez menores, levando as propriedades rurais a desenvolver um novo posicionamento, praticando uma agropecuária

moderna e ligada às agroindústrias ou canais de distribuição, para que possam ser competitivas. Para ser competitiva é preciso que as unidades produtivas busquem novos modelos de gestão e operação, visando ter um produto com os padrões de qualidade definidos pelo consumidor final.

Na pesquisa em questão, observou-se que em 100% (n= 30) das propriedades a produção de búfalo para abate é o principal fator para geração de receita, ficando a comercialização de leite e bezerros em segundo plano. Entretanto, nenhum dos entrevistados comercializa os búfalos diretamente com as indústrias frigoríficas, realizando o comércio de animais com marchantes da Baixada maranhense e de outros Municípios, inclusive da região metropolitana do Estado. E, estes com os entrepostos de carne (lojas varejistas) e, finalmente para o consumidor final. Portanto, fica claro que o mercado para a venda de búfalo na Baixada maranhense é bastante limitado, pela inexistência de frigoríficos e reduzido número de compradores próximos, ficando os produtores dependentes de compradores de outras regiões do Estado.

Desta forma, o produtor não escolhe a empresa com a qual irá comercializar seu produto. Mas, o critério mais mencionado de comercialização foi o preço, em seguida vem a seriedade na negociação, fidelização do cliente, proximidade e facilidade de entrega. Apesar de ser a variável mais mencionada (preço), 100% (n= 30) dos entrevistados não estão satisfeitos com o preço pago, variando entre R\$ 5,00 a R\$ 6,00/Kg de carne. O argumento para a não satisfação é que por este preço e pela média produzida por búfalo, apenas é possível cobrir os custos de produção, não gerando renda suficiente para a manutenção da família. Esta renda é complementada com a comercialização de leite e bezerros. Porém, apenas 3,33% (n= 1) dos entrevistados realizam o controle de custos da produção.

Apesar de serem poucas as organizações sindicais do setor, foi possível observar que 10% (n= 3) dos entrevistados pertencem a alguma associação sindical, mesmo que seja de outro setor, e também, alguns são sócios de cooperativas. Para eles, o sindicato oferece

algumas vantagens, como assistência jurídica, contábil e trabalhista, troca de informações, palestras e as cooperativas disponibilizam informações sobre mercado. Para o suporte financeiro na produção, apenas 46,67% (n= 14) dos proprietários utilizam financiamentos bancários, os demais trabalham com ativos próprios para implementação e desenvolvimento das atividades.

Os principais problemas enfrentados para a criação de bubalinos, segundo os entrevistados são: 1º- infra-estrutura (n= 30; 100%); 2º - mão-de-obra (n= 25; 83,34%); 3º mercado restrito (n= 12; 40%); 4º - preconceito com a criação (11; 36,67%); 5º – custo de produção (n= 11; 36,67%).

Em relação à infraestrutura, o fato da maioria dos produtores não terem áreas para a criação de bubalinos corresponde a um dos maiores entraves na criação desses animais. Segundo os entrevistados, a bubalinocultura também exige grandes áreas para acomodação de machos na pastagem, uma vez que há disputa desta categoria em uma mesma área, demandando maiores áreas e cercamento das mesmas. Como é um animal mais pesado, é preciso haver um processo de rotação nas pastagens, para que essas se recuperem do pisoteio.

Na questão da mão-de-obra, o problema refere-se principalmente à falta de especialização para a atividade. Em relação aos gastos na atividade, segundo os produtores entrevistados, o custo de produção torna-se muito alto se acrescentado à alimentação dos animais, produtos concentrados e energéticos (suplementação para aumentar produção), pois mesmo com o aumento da produtividade, financeiramente não é vantajoso (na relação custo-benefício).

O mercado restrito para a carne bubalina, também foi relatado pelos industriais do setor frigorífico e distribuidores (marchantes) entrevistados (no total foram entrevistadas 30 pessoas deste setor da cadeia produtiva da carne bubalina). Muitos encontram dificuldades (n= 12; 40%) para comercializar estes animais. Associado a isso, o preço pago por quilo desta

carne poderia ser mais atrativo, dado o diferencial que o produto oferece comparativamente à carne bovina, para que o produtor pudesse ter uma rentabilidade maior.

Quanto ao mercado restrito, como mencionado anteriormente, estes animais comercializados com marchantes da Baixada maranhense e de outros municípios são abatidos em sua grande maioria em abatedouros municipais, que não preenchem requisitos mínimos da legislação sanitária.

Outro ponto destacado por produtores, industriais e distribuidores é o preconceito com os búfalos e seus subprodutos. Para os entrevistados, esta fonte protéica é pouco difundida e permeada de *tabus* quanto às características do animal, como: sistema de criação, degradação ambiental, cor da pelagem, cor da carne e mitos sobre a transmissão de doenças. Desta forma, 93,33% (n= 28) dos industriais e distribuidores utilizam artifícios, para mascarar este produto e vendê-lo como carne bovina. Sendo os mais citados: pendurar a orelha e a ponta da cauda de bovinos na carcaça bubalina, utilizarem a carne de sangria de bovinos para passar em toda a extensão da carcaça bubalina e, transformar cortes cárneos em carne moída.

Segundo a SEMAPA (2012) e, os três proprietários de frigoríficos da Região metropolitana do Estado do MA, nos anos de 2010 a 2011 foram abatidos 7.531 bubalinos, sendo, 5.156 machos (68,5%) e 2.375 (31,5%) fêmeas, com idade entre 24 a 48 meses. Mas, em função do preconceito estes animais foram comercializados como bovinos, pois em entrevista com os proprietários de entrepostos de carne, neste mesmo período, não foram adquiridas carcaças de bubalinos para comercialização. Outro ponto importante é que na comprovação sanitária emitida pelo Serviço de Inspeção não existe nenhum item que comprove a espécie correspondente ao animal abatido nos frigoríficos.

É unanimidade entre estes elos da cadeia pecuária bubalina, a necessidade premente de políticas de incentivo, a divulgação das vantagens produtivas, de manejo e rusticidade e de qualidade da carne bubalina. Para eles, este produto deveria estar no mesmo patamar da carne bovina e em um futuro próximo, associado logicamente aos investimentos,

os búfalos responderão por 50% do fornecimento de proteína de alto valor biológico no estado do Maranhão.

Segundo a EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL (2001), resultados de pesquisas comparando a carne do búfalo com a bovina, revela que a primeira apresenta 40% menos colesterol, 12 vezes menos gordura, 55% menos calorias, 11% mais proteína e 10% mais minerais, sendo, portanto, mais indicada para a saúde humana.

Mas, a carne bubalina é tratada e comercializada, em boa parte do país, sem uma forma definida de identificação das suas características, principalmente de qualidade ou do valor justo. Como a carne bovina, ela, também, é uma *commodity*, ou seja, vale quanto pesa. Sem uma diferenciação baseada na identificação da carne, do rendimento e na qualidade, deixa de existir o estímulo para que o setor produtivo se modernize e invista na obtenção de um produto mais adequado, orientado para o atendimento dos desejos e anseios do consumidor (JORGE; ANDRIGHETTO, 2005; BERNARDES, 2011).

A mudança de orientação do sistema produtivo da carne bubalina necessita urgentemente começar a se voltar para o consumidor. É o consumidor que diz o que quer comprar, quando, como e, mais importante ainda, quanto pode pagar pelo produto. Neste sentido, é importante conhecer o valor relativo da carne bubalina quanto aos outros produtos similares, lembrando que o consumidor não paga pelo aspecto nutricional, segurança ou qualidade, pois estes estão embutidos no preço (JORGE; ANDRIGHETTO 2005).

De modo errôneo, a carne bubalina tem estado presente nas mesas dos consumidores maranhenses, por conta dos estabelecimentos que empreendem a comercialização desta como carne bovina. Em confirmação, TONHATI (2001) estima que na década de 80, aproximadamente 30 mil toneladas de carne bubalina foram comercializadas no mercado brasileiro sendo consumidos como carne bovina. Na atualidade pode ser que este percentual tenha se elevado em vista ao aumento no rebanho bubalino (BERNARDES, 2007). Entretanto, em meio a tantos adjetivos organolépticos e nutricionais (GIORDANO et al.,

2010), a ausência de organização da cadeia produtiva e de iniciativa para o fortalecimento, tem impossibilitado que tais atributos se revertam em aumento da lucratividade para a cadeia da carne bubalina, influenciando negativamente para a estagnação da atividade.

Foram entrevistados 200 consumidores de diferentes bairros da capital do Estado do Maranhão, por ser o local com maior volume de abate dessa espécie e, portando a maior comercialização deste produto.

Os consumidores em linhas gerais mostraram-se pouco receptivos ao consumo da carne bubalina. Dos entrevistados, 89% (n= 178) nunca consumiram carne bubalina e 11% (n= 22) afirmaram já ter consumido ao menos uma vez. Devendo-se este fato principalmente a indisponibilidade do produto no mercado. As características e vantagens da carne bubalina sobre bovina eram desconhecidas por 93% (n= 186) das pessoas entrevistadas. Mas, 82% (n= 164) destes afirmaram não substituir a carne bovina pela bubalina. Entre os motivos enumerados estão: o desconhecimento (72,56%), o hábito (17,68%) e o preconceito com o animal (10%), razões que podem ser revertidas através do acesso á informação e divulgação das características e vantagens deste produto. Já, os 18% (n= 36) que substituiriam o consumo pela carne bubalina, motivam-se por ser saudável (8,33%), magra (19,44%), atrativa (30,56%) e exótica (41,67).

Após esclarecimento de que a carne de búfalo preenche as exigências do mercado consumidor atual, que procura uma alimentação saudável mais indicada para a saúde humana e ao mesmo tempo saborosa, de boa aparência e muito suculenta, 85% (n= 170) dos entrevistados substituiria a carne bovina com esta informação e somente 15% (n= 30) não a fariam.

Informando que carne bubalina é mais magra, com menos colesterol, calorias e, mais proteínas em relação à carne bovina, 98% (n= 196) dos entrevistados afirmaram que passariam a consumir a carne bubalina, contudo, ainda 2% (n= 4) permaneceriam fidelizados à carne bovina.

Por fim, 43% (n= 86) dos entrevistados não consideram justo agregar um valor superior á carne de búfalo em relação a bovina. Porém, 57% (n= 114) afirmaram aceitável a agregação de valor. Portanto, o consumidor se disponibiliza a pagar mais pelo produto que lhe confira vantagens nutricionais adicionais.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados desta pesquisa pode-se concluir que:

- A cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no Estado do Maranhão ainda está em baixo nível tecnológico e em fase de organização, necessitando também grande investimento em *marketing* para esclarecimento e divulgação do produto;
- Existem diversos desafios a serem superados por este setor, entre eles, competir com outras fontes de proteína, especialmente bovinos;
- Para competir neste mercado, a pecuária bubalina terá que melhorar ainda mais seus índices de produtividade, criando identidade aos seus produtos e atender as exigências dos consumidores, em relação à segurança alimentar, qualidade do produto e respeito ao meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pelo suporte para a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

ANDRIGHETTO, C.; JORGE, A. M.; PICCININ, A. Efeitos da monensina sódica sobre a produção e composição do leite, a produção de mozzarella e o escore de condição corporal de búfalas murreh. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 641-649, 2005.

BERNARDES, W. *Bubalinocultura leiteira no Brasil: tendências, parcerias e fomento*. 1997. Palestra no evento sobre as perspectivas da bubalinocultura leiteira no país e sobre o programa de "fomento" desenvolvido pela Fazenda Paineiras da Ingaí. Disponível em: <<http://www.ingai.agr.br/x/parceria.htm>>. Acesso em: 13 set. 2013.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. Belo Horizonte, v.31, n.3, p.293-298, jul./set, 2007.

Disponível em: <www.cbra.org.br>. Acesso em: 9 set. 2013.

BERNARDES, O. Integração, associativismo e arranjos na cadeia produtiva da bubalinocultura: situação atual e perspectivas. In: II SIMPÓSIO DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA, 2011. Botucatu, SP. 2011. *Resumos*. Botucatu: 2011. p. 1-13.

BERNARDI, C.C. *Conflitos sócio-ambientais decorrentes da bubalinocultura em territórios pesqueiros artesanais: o caso Olinda Nova do Maranhão*. 2005. 216p. Dissertação (Mestrado em Planejamento e Gestão Ambiental) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2005.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. *Cadeia produtiva de carne bovina*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007. 85p. (Documento Técnico 001).

Disponível em: <<http://www.iica.org.br/>>. Acesso em: 13 set. 2013.

CONCREMAT ENGENHARIA. *Execução do plano de gerenciamento participativo dos recursos hídricos da APA da Baixada Maranhense*. São Luís: SEMA/IICA, 2002. 160p.

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. *Linguiça defumada com corte secundário de baby búfalo*. Belém: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2001. (Documento Técnico). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/607613/1/LinguiçaDefumadaCPATU.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2013.

FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. FAO. *Dados da evolução do rebanho brasileiro*. 2006. Disponível em: <<http://www.faostat.org>>. Acesso em: 13 set. 2013.

GIORDANO, G.; GUARINI, P.; FERRARI, P.; [BIONDI-ZOCCAI, G.](#); [SCHIAVONE, B.](#); [GIORDANO, A.](#) Beneficial impact on cardiovascular risk profile of water buffalo meat consumption. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 64, n. 9, p. 1000– 1006, 2010.

Disponível em: <<http://www.nature.com/ejcn/journal/v64/n9/full/ejcn2010108a.html>>.

Acesso em: 28 out. 2015.

GIOVINAZZO, R. A. Focus Group em pesquisa qualitativa: fundamentos e reflexão.

Administração On Line, São Paulo: FEA USP, v.2, n.4, 2001. Disponível em: <
http://www.fecap.br/adm_online/art24/renata2.htm>. Acesso em: 13 set. 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. *Estados*. Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.com.br>>. Acesso em: 13 set. 2013.

JANK, M. S.; FARINA, E. M. Q.; GALAN, V. B. *O agribusiness do leite*. São Paulo, Milkbizz, 108p, 1999. Disponível em: < <http://www.sober.org.br/palestra> >. Acesso em 10 set. 2013.

JORGE, A.M.; Produção de carne bubalina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 84-95, abril/jun. 2005.

JORGE, A.M.; ANDRIGHETTO, C. Características de Carcaça de Bubalinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA DA ABCZ, 2005. Campo Grande, MS. 2005. *Resumos*. Campo Grande: 2005. p. 1-29.

KASPRZYKOWSKI, J. W.A. *A criação de búfalos no Nordeste*. Fortaleza: Etene, 1978. 48p. MARANHÃO. Setor de Epidemiologia e Estatística, Coordenadoria de Defesa Animal, Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão. *Efetivo Bubalino*. São Luís. 2012.

LOURENÇO JÚNIOR, J. de B.; GARCIA, A. R. *Panorama da bubalinocultura na Amazônia*. 2008. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/409969/1/LOURENCO2008AmazonpecPanorama.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2015.

MARQUES, J. R. F.; CARDOSO, L. S. A bubalinocultura no Brasil e no Mundo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BUBALINOCULTURA, 1., 1997, Cruz das Almas. *Anais*. Cruz das Almas: Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, 1997. p.10-221.

NANTES, J. F. D.; SCARPELLI, M. *Gestão da Produção Rural no Agronegócio*. In: BATALHA, Mário O. *Gestão Agroindustrial*. 3ª ed. São Paulo: Atlas, 2008. p. 556-583.

SANTOS, O. M. *Avaliação dos usos e ocupação das terras da Bacia Hidrográfica do Rio Pericumã - MA, utilizando como parâmetros os padrões recomendáveis para uma área de proteção ambiental*. 2004. 96 p. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2004.

SEMAPA. Secretaria Municipal de Agricultura, Pesca e Abastecimento. *Volume de abate de bubalinos na Cidade de São Luís – MA*. 2012.

TONHATI, H. Sistemas de produção de carne bubalina no Brasil: tecnologias e informações para o desenvolvimento sustentável. In: CONGRESSO NAZIONALE SULL'ALLEVAMENTO DEL BUFALO, 2001. Itália. 2001. *Resumos*. Itália: 2001. p. 269-272.

ZYLBERSZTAJN, D.; FARINA, E. M. M. Q.; SANTOS, R.C.O. O sistema agroindustrial do café: um estudo da organização e do agrobusiness do café visto como a chave da competitividade. *Embrapa Meio Ambiente (CNPMA)*, Porto Alegre: Ortiz, 277p, 1993.