



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**DINÂMICA FOLICULAR E PERFIL HORMONAL NO PÓS-PARTO DE BÚFALAS  
LEITEIRAS DA RAÇA MURRAH CRIADAS NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

**MARILIA VIVIANE SNEL DE OLIVEIRA**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**BRASILIA/DF**  
**DEZEMBRO DE 2011**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**DINÂMICA FOLICULAR E PERFIL HORMONAL NO PÓS-PARTO DE BÚFALAS  
LEITEIRAS DA RAÇA MURRAH CRIADAS NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

**MARILIA VIVIANE SNEL DE OLIVEIRA**

**ORIENTADOR: PROF. DR. JAIRO PEREIRA NEVES**

**CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ROBERTO SARTORI FILHO**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: / 2011**

**BRASILIA/DF  
DEZEMBRO DE 2011**

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

SNEL-OLIVEIRA, M. V. **Dinâmica folicular e perfil hormonal no pós-parto de búfalas leiteiras da raça Murrah criadas na Região Centro-Oeste**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2011, 108 p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília. Acervo 996025

O48d	Oliveira, Marília Viviane Snel de Dinâmica folicular e perfil hormonal no pós-parto de búfalas leiteiras da raça Murrah criadas na Região Centro-Oeste / Marília Viviane Snel-Oliveira, - - 2011. xx, 88 f.: Il.; 30 cm.  Tese (doutorado) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011. Inclui bibliografia. Orientação Jairo Pereira Neves  1. Búfalo – Reprodução. 2. Puerpério. I. Neves, Jairo Pereira II. Título.  CDU 636. 293. 2
------	---

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**DINÂMICA FOLICULAR E PERFIL HORMONAL NO PÓS-PARTO DE BÚFALAS  
LEITEIRAS DA RAÇA MURRAH CRIADAS NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

**MARILIA VIVIANE SNEL DE OLIVEIRA**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
ANIMAIS, COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE  
DOUTOR EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**APROVADA POR:**



---

**Prof. Dr. JAIRO PEREIRA NEVES, UnB – Brasília, DF  
(ORIENTADOR)**



---

**Prof.<sup>a</sup>. Dra. EUNICE OBA, Unesp – Botucatu, SP**



---

**Prof. Dr. PIETRO BARUSELLI, USP – São Paulo, SP**



---

**Dr. ALEXANDRE FLORIANI RAMOS, Embrapa, Cenargen – Brasília, DF**



---

**Dr. CARLOS FREDERICO MARTINS, Embrapa, Cerrados – Brasília, DF**

BRASÍLIA/ DF, 13 DE DEZEMBRO DE 2011

Aos meus filhos Filipe Augusto e Paulo  
Vítor por darem um sentido maior a minha vida.

Aos meus pais Dita Paula e Armando  
que me deram a vida e a preencheram com tanto amor,  
educação e carinho.

Aos meus irmãos Sara e Flávio, minha  
cunhada Irene e meus sobrinhos Luis Flavio e Camila  
que completam a minha maravilhosa família com sua  
amizade, companheirismo e amor.

Ao meu mestre Médico Veterinário Dr.  
Teodoro Vaske por todos os ensinamentos e exemplo.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus filhos Filipe Augusto e Paulo Vítor pela paciência e por tentarem compreender a minha falta de tempo durante a realização deste trabalho. E que mesmo com minha ausência em tantos momentos estão se tornando bons rapazes, responsáveis e ajuizados.

A minha mãe Dita Paula agradeço todo o amor e dedicação e seu exemplo de força e coragem. Sempre ao nosso lado paro o que der e vier.

Ao meu pai Armando que partiu muito cedo, mas deixou o seu exemplo de dedicação ao trabalho e à família, de integridade e lealdade.

A minha irmã Sara, ao meu irmão Flávio, minha cunhada Irene e aos meus sobrinhos Luis Flávio e Camila pelo apoio e incentivo nesta jornada.

A minha mãe e irmã por assumirem as minhas funções de mãe em tantos momentos para que eu pudesse realizar este trabalho. Mãe e Sara se eu não soubesse que poderia contar com vocês não teria assumido este desafio.

Ao Prof. Dr. Jairo Pereira Neves pela orientação neste trabalho, por todos os ensinamentos ao longo destes quatro anos e pelo exemplo de competência e de dedicação ao ensino e à ciência.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Roberto Sartori Filho pela ajuda na elaboração do projeto e interpretação de resultados.

A minha grande amiga Daniela Wetzel-Gastal pela análise e interpretação estatística, por todo apoio e auxílio na elaboração deste trabalho.

Às minhas grandes amigas Adriana Moraes da Silva, Andrea Lazzari e Fabiana Elias pelo apoio, força, encorajamento e auxílio nas minhas atividades, direta ou indiretamente, relacionadas a este trabalho.

Aos meus ex-alunos e ex-estagiários atuais Médicos Veterinários Emanuel Mourão Doroteu, Marcelo Lucas Valadares, Paulo Henrique Rodrigues Borges e Andrei Antonioni Fidelis pela fundamental ajuda na coleta de dados deste trabalho.

A UPIS – Faculdades Integradas por todo apoio para a realização deste trabalho, por ceder os animais, material e equipamento utilizados.

Ao Prof. Dr. Hélio Blume, Chefe do Departamento de Medicina Veterinária da UPIS, por todo apoio e incentivo para com o doutorado, pela confiança e flexibilidade no horário de trabalho para que eu pudesse executá-lo.

Aos pesquisadores Dr. Eduardo Mello e Regivaldo Vieira de Sousa da Embrapa-Cenargen, Brasília e ao Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira da UNESP, Araçatuba pela realização das análises hormonais por radioimunoensaio.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologias pelo apoio financeiro concedido através do projeto MP1-Reprodução animal.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais da Universidade de Brasília pela oportunidade de aprimoramento dos conhecimentos.

*Escolha um trabalho que tu ames e não  
terás que trabalhar um único dia em tua vida.*

(Confúcio)



## ÍNDICE

RESUMO .....	xii
ABSTRACT.....	xiv
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xvi
LISTA DE TABELAS .....	xviii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES .....	xix
<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>1</b>
1 INTRODUÇÃO .....	2
1.1 Problemática e Relevância .....	4
1.2 Objetivos .....	4
1.2.1 Geral .....	4
1.2.2 Específicos.....	5
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	6
2.1 Características Fisiológicas da Espécie.....	6
2.2 Involução Uterina.....	8
2.3 Foliculogenese .....	10
2.4 Dinâmica Folicular.....	11
2.5 Primeira Ovulação Pós-Parto .....	12
2.6 Primeiro Estro Pós-Parto.....	14
2.7 Hormônios da Reprodução.....	15
2.7.1 Hormônio folículo estimulante.....	15
2.7.2 Hormônio luteinizante .....	16
2.7.3 Progesterona .....	17
2.7.4 Estradiol.....	20
2.8 Hormônios Metabólicos .....	21

2.8.1 Cortisol.....	21
2.8.2 Insulina.....	23
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
<b>CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE OVARIANA E ENDÓCRINA NO PÓS-PARTO DE BÚFALAS MURRAH CRIADAS NO CENTRO- OESTE BRASILEIRO .....</b>	<b>34</b>
1 RESUMO .....	35
2 ABSTRACT .....	37
3 INTRODUÇÃO.....	39
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 Animais.....	41
4.2 Peso, Escore de Condição Corporal e Produção de Leite.....	42
4.3 Avaliação Uterina - Palpação Retal.....	42
4.4 Avaliação Ovariana - Exame Ultrassonográfico .....	42
4.5 Colheita de Sangue .....	43
4.6 Detecção de Estro, Cobertura e Diagnóstico de Gestação.....	43
4.7 Análise Hormonal.....	43
4.8 Análise Estatística.....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
5.1 Avaliação Uterina .....	45
5.2 Avaliação Ovariana .....	47
5.3 Primeiro Estro Pós-Parto .....	51
5.4 Intervalo Parto-Concepção, Número de Coberturas por Concepção e Taxa de Prenhez .....	54
5.5 Avaliação Hormonal.....	55
5.6 Peso, ECC e Produção de leite .....	65
6 CONCLUSÕES.....	68
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	69
<b>CAPÍTULO 3 - DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DE FÊMEAS BU- BALINAS DA RAÇA MURRAH SUBMETIDAS À MANIPULAÇÃO GINECOLÓGICA PARA PESQUISA .....</b>	<b>75</b>
1 RESUMO .....	76
2 ABSTRACT .....	77
3 INTRODUÇÃO.....	78

4 MATERIAL E MÉTODOS.....	80
4.1 Animais e Local do Experimento .....	80
4.2 Desenho Experimental.....	80
4.3 Ordenha.....	81
4.4 Detecção de Estro, Cobertura e Diagnóstico de Gestação.....	81
4.5 Análise Estatística.....	81
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	82
6 CONCLUSÕES.....	84
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	85
<b>CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>87</b>

## **DINÂMICA FOLICULAR E PERFIL HORMONAL NO PÓS-PARTO DE BÚFALAS LEITEIRAS DA RAÇA MURRAH CRIADAS NA REGIÃO CENTRO-OESTE**

MSc. Marilia Viviane Snel de Oliveira  
Prof. Dr Jairo Pereira Neves  
Brasília, DF

### **RESUMO**

A atividade ovariana, o perfil hormonal e suas interações no período pós-parto durante fotoperíodo decrescente, foram caracterizados em búfalas primíparas e pluríparas da raça Murrah, criadas no Centro-Oeste brasileiro (Experimento 1). Concomitantemente foi avaliada a interferência da manipulação diária dos animais submetidos a exame ginecológico diariamente em parâmetros reprodutivos e produtivos (Experimento 2). Foram utilizadas 26 búfalas com partições eutócicas durante o outono (abril e maio), com escore de condição corporal entre 3,5 e 4,0 (1 = muito magra, 5 = muito gorda), mantidas a pasto antes e após o parto, durante todo o período experimental. Os animais eram ordenhados mecanicamente, uma vez ao dia, sem bezerro ao pé. Experimento 1: 15 búfalas (grupo pesquisa-GP), 6 primíparas e 9 pluríparas, foram submetidas a exame ginecológico (palpação retal e ultrassonografia transretal) e coleta de sangue, desde o sétimo dia pós-parto até a manifestação do primeiro estro pós-parto (PEPP). Observou-se desenvolvimento folicular no padrão de ondas foliculares durante o período pós-parto. No 7º dia pós-parto e no dia do primeiro estro pós-parto (PEPP) a concentração P4 foi basal ( $P4 \leq 4$  ng/mL) sendo mais baixa ( $P < 0,05$ ) nas primíparas do que nas pluríparas. A primeira ovulação pós-parto (POPP) ocorreu ao final da primeira ou da segunda onda folicular sem sinais de estro e aconteceu mais tarde ( $P < 0,05$ ) nas primíparas do que nas pluríparas ( $20,2 \pm 7,5$  vs  $13,0 \pm 4,0$  dias, respectivamente). O período para a involução uterina (PIU) foi semelhante ( $P > 0,05$ )

nas primíparas e pluríparas ( $25,4 \pm 3,9$  e  $26,3 \pm 6,4$  dias, respectivamente). A primeira fase lútea teve duração variável (de 2 a 23 dias) e foi classificada em muito curta (2 a 5 dias), curta (6 a 10 dias); média (11 a 18 dias) e longa (19 ou mais dias). A fase lútea de duração média propiciou maiores concentrações de P4. O PEPP ocorreu aos  $38,0 \pm 10,8$  e  $41,9 \pm 8,0$  dias, nas primíparas e pluríparas, respectivamente ( $P > 0,05$ ). Todos os estros foram precedidos de uma ou de duas ovulações, sendo que 84,61% aconteceram após uma fase lútea média e os demais após uma muito curta. Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) na concentração de insulina e de cortisol entre as primíparas e pluríparas. No entanto, foi observada correlação positiva da concentração de cortisol na semana anterior ao estro com o PIU ( $P < 0,05$ ) e com o PEPP ( $P < 0,01$ ). Os perfis de FSH e LH só puderam ser caracterizados em seis animais e nestes foi possível observar a maior concentração precedendo as ovulações. Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) no intervalo parto-concepção (IPC) e no número de coberturas por concepção (NCC) entre primíparas e pluríparas ( $55,8 \pm 12,2$  dias e  $2,0 \pm 1,0$  coberturas nas primíparas vs  $65,7 \pm 27,1$  dias e  $2,1 \pm 0,8$  coberturas nas pluríparas). A taxa de prenhez (TP) ao final da estação foi de 100% nas primíparas e de 65% nas pluríparas. Experimento 2: no mesmo período da realização do experimento 1, 11 búfalas (grupo controle-GC) foram liberadas para o pasto após a ordenha, sem nenhum manejo adicional. Os resultados de parâmetros reprodutivos e produtivos desses animais (GC) foram comparados aos animais do experimento 1 (GP) para avaliar a influência da manipulação para pesquisa em parâmetros reprodutivos e produtivos. O GP apresentou PEPP mais cedo ( $P < 0,05$ ) que o GC ( $40,4 \pm 9,0$  dias vs  $59,2 \pm 24,4$  dias, respectivamente), mas não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) no IPC ( $61,2 \pm 21,3$  vs  $71,2 \pm 30,4$  dias GP e GC, respectivamente), bem como na produção média diária e total de leite ( $4,0 \pm 0,7$  vs  $4,3 \pm 0,6$  kg/dia e  $1263,4 \pm 290,0$  vs  $1284,9 \pm 342,4$  kg/lactação no GP e GC, respectivamente). Entretanto, o NCC foi maior ( $P < 0,05$ ) no GP ( $2,1 \pm 0,9$ ) do que no GC ( $1,5 \pm 0,5$ ;  $P < 0,05$ ). A TP ao final da estação foi de 86% no GP e de 91% no GC. O perfil hormonal na retomada da atividade ovariana apresentou acentuada variação entre os animais. Embora as primíparas apresentem a POPP mais tarde que as pluríparas, não há diferença ( $P > 0,05$ ) quanto ao PIU, o PEPP, o IPC e o NCC entre estas duas categorias. A manipulação diária dos animais para pesquisa empregada neste experimento, afeta alguns parâmetros reprodutivos, comprometendo o NCC, mas não afeta o IPC e a produção de leite considerando-se o sistema de manejo e níveis de produção do experimento. Búfalas Murrah criadas a pasto na região Centro-Oeste brasileira reiniciam a ciclicidade reprodutiva pós-parto em um período suficientemente curto que permite a produção de uma cria por ano.

## **FOLLICULAR DYNAMICS AND HORMONAL PROFILE IN POSTPARTUM OF DAIRY MURRAH BUFFALOES BREEDING AT CENTER WEST**

MSc. Marilia Viviane Snel de Oliveira  
Prof. Dr. Jairo Pereira Neves  
Brasília, DF

### **ABSTRACT**

Ovarian activity, hormonal profile and their interactions in the postpartum period during decreasing photoperiod, were characterized in this study in primiparous and pluriparous Murrah buffaloes, Brazilian Center West (Experiment 1). At the same time was evaluated the interference of daily handling of the animals submitted to gynecological examination in daily productive and reproductive parameters (Experiment 2). Twenty six buffaloes with eutocic calving during autumn (April and May), with body condition score between 3.5 and 4.0 (1 = emaciated, 5 = very fat), kept on pasture before and after calving throughout the experimental period were used. The animals were mechanically milked once a day, without calf. Experiment 1: 15 buffaloes (RG- research group), 6 primiparous and 9 pluriparous, were submitted to gynecological examination (rectal palpation and transrectal ultrasound) and blood samples from the seventh day after calving until the manifestation of first post-partum estrus (FPPE). Follicular development was observed in the pattern of follicular waves during the postpartum period. On the 7<sup>th</sup> day postpartum and on the day of first postpartum estrus (FPPE) progesterone (P4) concentration was basal ( $P4 \leq 4$  ng / mL) and it was lower ( $P < 0.05$ ) in primiparous than in pluriparous. The first ovulation postpartum (FOPP) occurred at the end of the first or second follicular wave with no signs of estrus and occurred later ( $P < 0.05$ ) in primiparous than in pluriparous ( $20.2 \pm 7.5$  vs  $13,0 \pm 4.0$  days, respectively). The uterine involution period (UIP) was similar ( $P > 0.05$ ) in primiparous and pluriparous ( $25.4 \pm 3.9$  and  $26.3 \pm 6.4$  days, respectively). The luteal phase was of variable duration (2 to 23 days) and was classified as very short (2 to 5 days), short (6 to 10 days), medium (11 to 18 days)

and long (19 days or more). The average duration of the luteal phase resulted in higher concentrations of P4. The FPPE occurred at  $38.0 \pm 10.8$  and  $41.9 \pm 8.0$  days in primiparous and pluriparous, respectively ( $P > 0.05$ ). All estrus were preceded by one or two ovulations, and 84.61% occurred after an average luteal phase and the other part after a very short time. There was no difference ( $P > 0.05$ ) in the concentration of insulin and cortisol, between primiparous and pluriparous. However, we observed a positive correlation of cortisol in the week before estrous with UIP ( $P < 0.05$ ) and the FPPE ( $P < 0.01$ ). The profiles of FSH and LH could only be characterized in six animals. And on them it was observed the highest concentration preceding ovulation. There was no difference ( $P > 0.05$ ) in calving-conception interval (CCI) and the number of matings per conception (NMC) between primiparous and pluriparous ( $55.8 \pm 12.2$  days and  $2.0 \pm 1.0$  matings in primiparous vs.  $65.7 \pm 27.1$  days and  $2.1 \pm 0.8$  matings in pluriparous). The pregnancy rate (PR) at the end of the season was 100% among primiparous and 65% among pluriparous. Experiment 2: at the same period of the experiment 1, 11 buffaloes (control group-CG) were released to pasture after milking, with no additional handling. The results of productive and reproductive parameters of these animals (CG) were compared to animals in experiment 1 (RG) to evaluate the influence of manipulation for research in reproductive and productive parameters. The RG presented FPPE earlier ( $P < 0.05$ ) than CG ( $40.4 \pm 9.0$  days vs  $59.2 \pm 24.4$  days, respectively), but there was no difference ( $P > 0.05$ ) in CCI ( $61.2 \pm 21.3$  vs  $71.2 \pm 30.4$  days RG and CG, respectively), as well as the average daily and total milk production ( $4.0 \pm 0.7$  vs  $4.3 \pm 0.6$  kg / day and  $1263.4 \pm 290.0$  vs.  $1284.9 \pm 342.4$  kg / lactation RG and CG, respectively). However, the NMC was higher ( $P < 0.05$ ) in the RG ( $2.1 \pm 0.9$ ) than in the CG ( $1.5 \pm 0.5$ ,  $P < 0.05$ ). PR at the end of the season was 86% in RG and 91% in CG. The hormonal profile in the resumption of ovarian activity showed marked differences among the animals. Although primiparous present the FOPP later than pluriparous there is no difference ( $P > 0.05$ ) in the UIP, the FPPE, the CCI and the NMC between these two categories. The daily handling of research animals used in this experiment, affects some reproductive parameters, involving the NMC, but does not affect the CCI and milk production considering the management system and production levels of the experiment. Murrah buffaloes raised on pasture in the Brazilian Center west restart reproductive cyclicity postpartum in a short enough period that allows the production of a calf per year

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 2

- Figura 1 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) do período de involução uterina (PIU) com PEEP, Período Lúteo antes do PEPP, Cortisol na primeira semana, PDEstro e PD7 observadas em búfalas da raça Murrah (P < 0,05). .....46
- Figura 2 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) da primeira ovulação pós-parto (POPP) com N° de ovulações até PEPP, PLD60, Diâmetro do FD no dia anterior à POPP, PD7 e N° da onda da POPP observadas em búfalas da raça Murrah. (P < 0,05)... 50
- Figura 3 - Média (DP) de folículos antrais  $\leq 3$  mm observados desde o 7º dia pós-parto até o dia médio (40 d) do primeiro estro pós-parto de búfalas Murrah primíparas e pluríparas. .... 51
- Figura 4 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) do primeiro estro pós-parto (PEPP) com N° de ovulações até PEPP, PIU, N° da onda folicular ao PEPP, P4 no D7, Diâmetro do FL no dia do PEPP (P < 0,05) e Cortisol na semana anterior PEPP (P < 0,01) observadas em búfalas a Murrah.....53
- Figura 5 – Coeficientes de Correlação de Pearson (r) do intervalo parto-concepção (IPC) com Duração da primeira fase lútea, Concentração máxima de P4 na 1ª fase lútea, Concentração média de P4 na 1ª fase lútea e NCC (P < 0,05) em búfalas da raça Murrah. .... 54
- Figura 6 – Coeficientes de Correlação de Pearson (r) da concentração de progesterona no 7º dia pós-parto (P4 no D7) com PLD60, Duração da 1ª fase lútea, Concentração máxima de P4 na 1ª fase lútea, Concentração média de P4 na 1ª fase lútea, PEPP, N° da onda ao PEPP, 1ª elevação de P4 pós POPP (P < 0,05) e Período lúteo total antes PEPP (P < 0,01) em búfalas da raça Murrah. .... 56
- Figura 7 – Perfil plasmático de progesterona, LH e FSH no puerpério de búfalas com uma fase lútea antes da manifestação do estro (A) Plurípara com uma fase lútea média pré-estro; (B) Primípara com uma fase lútea muito curta pré-estro.....62
- Figura 8 – Perfil plasmático de progesterona, LH e FSH no puerpério de búfalas com duas fases lúteas antes da manifestação do estro (A) Primípara com uma fase lútea



muito curta e uma média pré-estro; (B) Plurípara com uma fase lútea curta e uma média pré-estro; (C) Plurípara com uma fase lútea longa e uma média pré-estro. 63

Figura 9 – Perfil plasmático de progesterona, LH e FSH no puerpério de búfala com duas fases lúteas antes da manifestação do estro, uma fase lútea muito curta e uma fase lútea curta pré-estro.. ..... 64

Figura 10 – Coeficientes de Correlação de Pearson (r) da produção de leite até os 60 dias de lactação (PLD60) com PD7d, Pestro, P4 no D7, N° da onda do PEPP, Período lúteo total antes PEPP, P4 no PEPP, N° de ovulações até PEPP, POPP, 1ª elevação de P4 após POPP, FL no dia do PEPP ( $P < 0,05$ ) em búfalas da raça Murrah..... 66

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

- Tabela 1 – Média (desvio padrão) das variáveis reprodutivas avaliadas no pós-parto de búfalas da raça Murrah primíparas e pluríparas .....45
- Tabela 2 - Média (desvio padrão) de P4 basal ( $< 0,4$  ng/ mL) no D7 pós-parto e no dia do primeiro estro pós-parto de búfalas primíparas e pluríparas .....55
- Tabela 3 – Média (desvio padrão) de variáveis relacionadas à primeira fase lútea pós-parto de búfalas primíparas e pluríparas .....57
- Tabela 4 – Média (desvio padrão) de variáveis relacionadas a segunda fase lútea pós parto, antes da manifestação do primeiro estro pós-parto de búfalas primíparas e pluríparas .....59
- Tabela 5 – Média (desvio padrão) da duração da primeira fase lútea e concentração máxima e média de P4 (ng/mL) durante a primeira fase lútea pós-parto de acordo com a onda (primeira ou segunda) em que ocorreu a primeira ovulação pós-parto em búfalas da raça Murrah .....60
- Tabela 6 – Média (desvio padrão) do peso e do escore de condição corporal no 7º dia pós-parto e no dia do estro, e da produção de leite média nos primeiros 60 dias de lactação de búfalas da raça Murrah primíparas e pluríparas.....66

### CAPÍTULO 3

- Tabela 1 – Média (desvio padrão) das variáveis reprodutivas e produtivas avaliadas em búfalas da raça Murrah submetidas ou não a manipulação para pesquisa (Grupo Pesquisa e Grupo Controle) .....83

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

% - porcentagem

$\mu\text{g}$  – micrograma

CL – corpo lúteo

CV – coeficiente de variação

d - dias

D7 – sétimo dia pós-parto

dL - decilitro

DP – desvio padrão

E2 – estradiol 17  $\beta$

FD – folículo dominante

FSH – hormônio folículo estimulante

GC- grupo controle

GH – hormônio de crescimento

GnRH – hormônio liberador de gonadotrofinas

GP – grupo pesquisa

h – hora

IA – inseminação artificial

IGF - fator de crescimento semelhante à insulina

IPC – intervalo parto-concepção

kg - quilograma

LH – hormônio luteinizante

mL – mililitro

NCC – número de coberturas por concepção

NEFA – ácido graxo não esterificado

ng – nanograma

P – nível de significância

P4 – progesterona

PD7 – peso corporal no 7º dia pós-parto

PDEstro – peso corporal no dia do estro

PEPP – primeiro estro pós-parto

PIU – período de involução uterina

PGF2 $\alpha$  – prostaglandina F2 $\alpha$

PLD60 – produção de leite média diária nos primeiros 60 dias de lactação

POPP – primeira ovulação pós-parto

r - coeficiente de correlação linear

RIE - radioimunoensaio

TP – taxa de prenhez

vs - versus

## **CAPITULO 1**

### **INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1 INTRODUÇÃO

Os bubalinos são uma fonte viável de produção de proteína de origem animal, sendo cada vez mais procurada pelo consumidor. O búfalo é um animal que apresenta boas aptidões e fácil adaptação em diferentes regiões do mundo (Shalash, 1994).

A espécie bubalina apresenta duas subespécies, o “búfalo de rio” também conhecido por “búfalo da água” ( $2n = 50$  cromossomos, *Bubalus bubalis fluviatilis* ou *bubalis*) e o “búfalo de pântano” ( $2n = 48$  cromossomos, *Bubalus bubalis limneticus* ou *kerebau*; Peary, 1990). Apesar do número de pares de cromossomos diferentes é possível o cruzamento entre estas duas subespécies e os produtos são férteis (Xiao, 1988<sup>1</sup> apud Singh et al., 2000). Assim como existem diferenças fisiológicas entre as subespécies bovinas (taurinos e zebuínos), estas também existem entre os búfalos de rio e de pântano especialmente no aspecto reprodutivo, sendo os de rio mais precoces (Vale & Ribeiro, 2005).

Os búfalos de rio têm sido criados com o propósito principal de produção de leite e secundariamente, para produção de carne e trabalho e estão presentes em todos os continentes. Os de pântano, criados principalmente no Leste da Índia, Sudeste Asiático e China, são utilizados primariamente para o trabalho, e secundariamente para produção de carne e leite (Paul & Lal, 2010).

Nos últimos 40 anos, o crescimento populacional do búfalo no Brasil foi de mais de 1000 % (FAO, 2011), demonstrando a adaptabilidade da espécie às nossas condições e as possibilidades futuras da bubalinocultura como atividade emergente no País. Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos a população de búfalos no Brasil é de 3,5 milhões de animais (Bernardes, 2007). As raças de búfalos de rio criadas no Brasil são: Murrah, Mediterrânea e Jafarabadi difundidas por todo o país e os de pântano são representados pela raça Carabao, também chamada de Pântano, mais restrita a Região Norte.

---

<sup>1</sup> XIAO, Y. Z. Buffalo as dairy animal in China. *Asian Livest.* v. 13, p. 25–27, 1988.

Esta espécie tem despertado a atenção de criadores, consumidores e pesquisadores, não só nas regiões onde são tradicionalmente criados, mas também em outras áreas, aumentando o interesse pela criação e pelo aumento no desempenho produtivo e reprodutivo. A sua grande capacidade de transformar alimentos fibrosos de baixa qualidade, em proteína de alta qualidade (carne e leite) e em trabalho é o que primeiro chama a atenção para esta espécie, que ainda apresenta longevidade, prolificidade e rusticidade. Os consumidores tem interesse nos derivados do leite especialmente a “mozzarella” e na carne de sabor, textura e aspecto semelhante a de bovinos, com a vantagem de tanto os derivados de leite como a carne possuem menos colesterol e elevado valor nutritivo (Zicarelli, 2004). O leite e derivados de origem bubalina podem substituir o leite bovino em alguns casos de alergia a este último (Sheehan & Phipatanakul, 2009).

A seleção genética para fertilidade em bubalinos, em termos globais, tem sido mínima, o que leva a baixos índices reprodutivos atribuídos especialmente a puberdade e maturidade tardia, fraca expressão de estros, intervalo de partos prolongados e à existência da estacionalidade reprodutiva (Drost, 2007). Todavia estudos realizados no Brasil por Baruselli (1994) e Vale & Ribeiro (2005) discordam, o que demonstra a adaptação desta espécie às condições ambientais brasileiras e que, como qualquer outra espécie animal, necessita de seleção e manejo adequado.

Para que os índices produtivos sejam satisfatórios, os animais devem apresentar boa eficiência reprodutiva. E esta é altamente influenciada pelas condições do período pós-parto, refletindo no intervalo parto-concepção. Na produção bubalina, procura-se obter um intervalo de partos de 12 a 14 meses, considerando que o período de gestação é de 10 meses, a involução uterina e o reinício da atividade ovariana deverá ocorrer o mais rápido possível. Entretanto, têm sido relatadas variações significativas tanto no período de involução uterina como no retorno da ciclicidade de fêmeas bubalinas e diversos fatores têm sido associados a esta variabilidade.

A dinâmica folicular em búfalos com atividade cíclica já é conhecida (Baruselli et al., 1997), contudo os dados relativos à atividade ovariana durante o anestro pós-parto são conhecidos somente através de avaliação ginecológica por palpação retal e dosagem de progesterona (Jainudeen et al., 1983; Usmani et al., 1985a; Baruselli, 1994) e recentemente por ultrassonografia e dosagem de progesterona (P4), mas em búfalas de rio em um período fora da estação reprodutiva, ou seja, quando o número de horas/ luz do dia aumenta (Presicce et al., 2005a) e em búfalas de pântano (Yindee, et al., 2011).

Assim, apesar de ser conhecido o momento do reinício da atividade ovariana em búfalas considerando-se a primeira ovulação ou o primeiro estro, pouco se sabe sobre a dinâmica folicular durante o período pós-parto, as concentrações, alterações e interações hormonais durante este período.

Para se maximizar a eficiência reprodutiva desta espécie é necessário conhecer a dinâmica folicular pós-parto e os mecanismos que a controlam e o conseqüente reinício da atividade cíclica.

## **1.1 Problemática e Relevância**

A obtenção de índices reprodutivos elevados é necessária para que haja rentabilidade na produção e para isso o conhecimento da fisiologia reprodutiva da espécie é de fundamental importância.

O período pós-parto tem um importante papel na reprodução. A duração do anestro pós-parto e o intervalo parto-concepção afetam o desempenho reprodutivo de bubalinos e os conhecimentos da fisiologia deste período são ainda bastante limitados.

Os resultados obtidos poderão ser utilizados como base para outros estudos no desenvolvimento de técnicas e biotecnologias que incrementem a produção. Por ser realizado na região do Centro-oeste brasileiro os resultados terão grande aplicabilidade nesta região, onde o mercado para produtos de origem bubalina é crescente e em regiões com bioma e clima semelhante,

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Geral**

Investigar a dinâmica folicular, o perfil hormonal e suas interações no período pós-parto, durante fotoperíodo decrescente, em búfalas primíparas e pluríparas da raça Murrah, no Centro-Oeste brasileiro, como subsídio para o incremento dos índices reprodutivos e produtivos.



### 1.2.2 Específicos

Avaliar a dinâmica folicular pós-parto até a manifestação do 1º estro por ultrassonografia;

Determinar por radioimunoensaio as concentrações plasmáticas de P4, LH e FSH em períodos pré-determinados da dinâmica ovariana para melhor entender suas inter-relações, controle e sistemas de *feedback* nesta espécie;

Estimar as concentrações plasmáticas de insulina e cortisol e relacioná-las com o retorno da atividade ovariana pós-parto;

Comparar a atividade ovariana, as concentrações hormonais e o perfil hormonal entre primíparas e pluríparas;

Associar os parâmetros encontrados à involução uterina, primeira ovulação pós-parto, primeiro estro pós-parto, intervalo parto-concepção e produção de leite;

Avaliar a interferência da manipulação ginecológica diária e da venopunção em parâmetros reprodutivos e produtivos.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Características Fisiológicas da Espécie**

A função reprodutiva dos búfalos é afetada por fatores ambientais. Esta espécie é considerada sazonal de dias curtos, embora haja exceções. É negativamente afetada pelo aumento do fotoperíodo, diminuindo sua atividade reprodutiva da metade do inverno até o verão em resposta ao aumento das horas de luz do dia. Na região equatorial onde a variação do fotoperíodo é mínima ao longo do ano, a variação sazonal é dependente da disponibilidade de alimentos (Presicce, 2007). Além disso, em dias curtos, o calor associado à alta umidade afeta negativamente a reprodução quando comparado ao calor com umidade moderada (Tailor et al., 1990), diminuindo especialmente as taxas de concepção por meio de inseminação artificial (IA), não afetando a monta natural na região amazônica (Dantas et al., 2008).

As concepções que ocorrem durante o período de transição entre a estação reprodutiva e a não reprodutiva, quando o fotoperíodo está aumentando (meio do inverno, início da primavera) apresentam taxa de mortalidade embrionária de 27,1% (Russo et al., 2010) a 45,8% (Campanile et al., 2005) até 40-45 dias de gestação e morte fetal até os 70 dias de gestação de 13,7% (Russo et al., 2010). Estas mortes ocorrem devido a uma redução da funcionalidade do corpo lúteo (CL) associada a uma redução no fluxo sanguíneo do CL em torno de 10 dias após cobertura (Russo et al., 2010) e consequente menor concentração de P4 após este período (Campanile et al., 2005; Russo et al., 2010). Fora da estação reprodutiva a incidência de estros é pequena, e quando ocorre a taxa de concepção é baixa.

O ciclo estral dura em média 21 dias (Barile, 2005), tendo sido relatadas variações de 16 a 33 dias (Singh et al., 2000; Vale & Ribeiro, 2005; Drost, 2007), com maior

concentração entre 21 e 24 dias (Vale & Ribeiro, 2005). A raça, o clima, a temperatura, o fotoperíodo e a nutrição podem afetar o intervalo entre estros e a sua intensidade (Barile, 2005). O período do ciclo estral está associado à duração da fase lútea e ao número de ondas foliculares (Baruselli et al., 1997).

O estro dura em média 20 h, com variações de 5 a 72 h (Barile, 2005; Vale & Ribeiro, 2005). Entretanto, no Brasil, búfalas de rio da raça Murrah apresentaram uma média de  $14,78 \pm 7,36$  h em estro (Baruselli, 1994). Os sinais de estro em búfalos são menos evidentes que em bovinos, tornando mais difícil a sua detecção (Barile, 2005). Poucas fêmeas apresentam comportamento homossexual, sendo de grande importância a presença de um rufião macho ou fêmea androgenizada, com buçal marcador para a efetiva detecção do estro, pois a aceitação da monta é o sinal mais seguro e confiável (Baruselli, 1994). Urinar frequentemente, berrar (mugir), vulva edemaciada e com secreção de muco são sinais de estro importantes também, mas de expressão extremamente fraca (Barile, 2005).

O pico pré ovulatório de LH ocorre entre 0 e 34 h após o início do estro e a ovulação acontece em média  $42,2 \pm 2,8$  h, com variação de 28 a 60 h, após o início do estro (Prakash et al., 2005).

O período de gestação médio de búfalas de rio da raça Murrah é de  $310,36 \pm 1,23$  dias (d), variação de 297 a 328 d (Batra et al., 1982) e de búfalos de pântano, da raça Carabao é de 325 a 335 d (Vale & Ribeiro, 2005). A placenta é expulsa em  $5,46 \pm 0,92$  h variando de 0,5 a 24 h, e é negativamente correlacionada com o estado da condição corporal. A descarga dos lóquios dura  $6,02 \pm 1,24$  d, variando de 0 a 34 d (Qureshi & Ahmad, 2008).

O anestro pós-parto é uma das principais causas de baixo desempenho reprodutivo em bubalinos, afetando diretamente o intervalo de partos. A involução uterina e o reinício da atividade ovariana são determinantes para garantir um novo ciclo reprodutivo após o parto (Presicce et al., 2005b).

É amplamente conhecida a importância da nutrição e conseqüentemente o escore corporal na eficiência reprodutiva. Baruselli (1999) demonstrou a influência da condição corporal ao parto no aparecimento do primeiro estro pós-parto, na percentagem de anestro durante a estação reprodutiva (outono e inverno), no período de serviço e no número de doses de sêmen por concepção.

## 2.2 Involução Uterina

Após o parto o útero deve retornar ao seu tamanho tipicamente não prenhe e restabelecer suas funções fisiológicas para que uma nova gestação possa acontecer. O processo da involução é regulado pelas contrações do miométrio e consiste na eliminação dos lóquios (fluido e debris teciduais) e na regeneração do endométrio (Noakes, 2001).

A avaliação da involução uterina é baseada no tamanho, posicionamento e contratilidade do útero, observados por palpação retal. É considerada completa quando o útero retorna para sua posição pélvica ou quase; os dois cornos estão com os diâmetros similares e não apresentam mais redução no tamanho; e com consistência e tônus fisiológico de um útero não prenhe (Casida & Wisnicky, 1950).

A involução uterina no pós-parto bubalino tem sido bastante estudada e é observada uma grande variação no período requerido para a completa involução, indicando a influência de diferentes fatores. No Brasil foi observado um período médio de  $25,23 \pm 5,41$  d, com variação de 19 a 31 d, em búfalas Murrah (Baruselli et al., 1996), de  $28,6 \pm 6,6$  d, variação de 19 a 43 d, em mestiças Mediterrâneo x Carabao (Vale et al., 1986) e mais recentemente, de  $27,5 \pm 7,77$  dias em búfalas Murrah, Mediterrânea e mestiça Murrah x Mediterrânea (Rolim Filho et al., 2011).

No Paquistão, um estudo com a raça Nili-Ravi relata um período médio de  $25,6 \pm 1,0$  d (Usmani et al., 1985a). Nesses animais também foi observada a influência da amamentação sobre a involução uterina, búfalas que amamentam por período limitado apresentaram menor tempo para a involução uterina do que búfalas ordenhadas sem bezerro ao pé,  $20,1 \pm 2,9$  vs  $27,7 \pm 7$  d, respectivamente (Usmani et al., 1985b). Em animais da raça Mediterrânea, na Itália, foi observado um período de  $31 \pm 1,0$  d em primíparas e  $33 \pm 1,3$  em pluríparas ( $P > 0,05$ ) ordenhadas sem bezerro ao pé (Presicce et al., 2005a). Bahga & Gangwar (1988) observaram diferentes ( $P < 0,05$ ) períodos para involução uterina no verão e no inverno em animais da raça Murrah, na Índia ( $32,50 \pm 3,0$  d vs  $39,5 \pm 2,7$  d, respectivamente).

Em um levantamento de dados, abrangendo 32 estudos e 42 médias do período entre o parto e a completa involução uterina em búfalas de leite foi observada uma variação individual de 15 a 74 dias e de médias de 19 a 52 dias, onde 66% das médias situam-se entre 29 e 42 dias (El-Wishy, 2007a).

Problemas no parto e no puerpério precoce retardam a involução uterina, em revisão El-Wishy (2007a) relata que distocia, retenção de placenta, abortamento e prolapso

uterino aumentam o período da involução uterina em 5 a 14 dias. Corroborando com esta afirmação, Qureshi & Ahmad (2008) relataram uma média de  $34,30 \pm 1,33$  dias, variação de 21 a 74 dias, onde os dois animais, dos 51 avaliados, que necessitaram de mais de 60 dias para completar a involução uterina, um teve parto distócico e o outro teve retenção de placenta seguida de metrite.

Infecções uterinas sub-clínicas também tem sido relacionadas com o aumento do período de involução uterina, Usmani et al. (2001) observaram a presença de infecção uterina sub-clínica em 24% de um total de 29 animais que tiveram parto e puerpério precoce normal. Nesses animais a involução uterina foi mais lenta ( $46 \pm 5$  dias) do que nas búfalas sem infecção uterina sub-clínica ( $36 \pm 7$  dias;  $P < 0,01$ ).

O sistema de ordenha apresenta resultados contraditórios sobre sua influencia na involução uterina. Em dois experimentos as búfalas Nili-Ravi que amamentaram seus bezerros durante 2 minutos antes de cada uma das duas ordenhas do dia (amamentação limitada) apresentaram involução uterina cerca de uma semana mais rápida do que as que desmamaram seus bezerros nas primeiras 72 horas após o nascimento e foram ordenhadas sem bezerro. Isto aconteceu tanto para animais que pariram no outono que apresentaram uma média ( $\pm$  erro padrão médio) de  $23,7 \pm 1,6$  e  $30,8 \pm 1,0$  dias (amamentação limitada e ordenha sem bezerro, respectivamente) como com os que pariram no verão  $19,0 \pm 0,7$  e  $24,9 \pm 1,0$  (amamentação limitada e ordenha sem bezerro, respectivamente), não tendo sido observada diferença quanto ao mês de parição (Usmani et al., 1990). Entretanto, o sistema de amamentação 24 horas/dia com o bezerro ao pé ou separado durante a noite, não afetou o período de involução uterina ( $28,4 \pm 6,9$  e  $28,8 \pm 6,3$  dias, respectivamente;  $P > 0,05$ ) (Vale et al., 1986).

A estação do ano afeta a involução uterina ( $P < 0,05$ ), sendo mais rápida no verão ( $32,5 \pm 3,01$  d) que no inverno ( $39,50 \pm 2,74$  d), por influencia do estresse térmico que aumenta a produção de prostaglandina  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) pelo endométrio (observado pelo aumento na concentração plasmática do metabólito da  $PGF2\alpha$ ) e diminui a concentração plasmática de  $P4$ . Como a  $PGF2\alpha$  aumenta a vaso constrição endometrial e as contrações uterinas, enquanto a  $P4$  faz o oposto, animais que sofrem estresse pelo calor no pós-parto requerem um menor período para a involução uterina, pois a necrose e a eliminação tecidual ocorrem mais rapidamente (Bahga & Gangwar, 1988). A redução do período de involução uterina devido à  $PGF2\alpha$  foi demonstrada através da aplicação de cloprostenol no 2º e 7º dia pós-parto (Ferraz, 2006).

Segundo Bahga et al. (1988) e Baruselli et al. (1996) o peso do bezerro ao nascer afeta a involução uterina, sendo essa retardada quando os bezerros são mais pesados, pois o útero está maior no início da involução, conseqüentemente, leva mais tempo para involuir, entretanto Ferraz (2006) não observou esta interferência.

A alta produção de leite (média acima de 2.300 kg/ lactação) também tem sido correlacionada com maior período para a involução uterina (Bahga et al., 1988).

A alimentação pré-parto (Usmani et al., 1990), mês de parição dentro da mesma estação (Usmani et al., 1990; Baruselli et al., 1996) e número de partições (Usmani et al., 1990) não afetam o período de involução uterina.

E ainda, deve-se considerar que a estimativa por palpação retal pode variar na dependência da metodologia utilizada para a avaliação, como exemplo, o intervalo entre exames, e devido à variação existente entre avaliadores.

### **2.3 Folliculogenese**

Os ovários de fetos bubalinos apresentam até os três meses de idade somente oogonias, demonstrando que a folliculogenese ainda não iniciou. Os folículos pré-antrais são observados pela primeira vez aos 4 meses e os antrais aos 6 meses. Há uma grande variação individual no número de folículos pré-antrais, foi observado de 0 a 7220 folículos em fetos de 4 meses e de 45 a 1630 folículos em fetos de 8 meses. Em todas as idades fetais há predomínio de folículos primários (Santos et al., 2006).

Ao nascimento os bubalinos possuem cinco vezes menos folículos primordiais (12 a 20 mil) do que bovinos taurinos (60 a 100 mil) (revisado por Vale & Ribeiro, 2005) e isto reflete no número de folículos antrais de búfalas e vacas taurinas púberes que mantém proporcionalmente a mesma diferença ( $47,5 \pm 23,8$  vs  $233,0 \pm 95,8$ ;  $P < 0,002$ ) (Ty et al., 1989).

O número de folículos pré-antrais estimado em cinco búfalas Murrah entre 7 e 10 anos, foi de 19.819 havendo uma grande variação entre os animais (de 2.997 a 37.417), sendo em média 3.519 folículos primordiais, 14.672 folículos primários e 1.628 folículos secundários (Mondadori et al., 2010). Em bovinos entre 0 e 24 meses, Erickson (1966) também observou uma grande variação individual no número de folículos, variando de zero a 700.000 folículos, entretanto em todas as idades foi observado um predomínio de folículos primordiais.

## 2.4 Dinâmica Folicular

O desenvolvimento folicular ovariano é um processo dinâmico caracterizado pela emergência de ondas sucessivas, sendo que cada onda de crescimento folicular consiste em folículos recrutados de um grupo de folículos antrais gonadotrofina dependentes. A dinâmica da onda folicular envolve três principais eventos: emergência, desvio e dominância, finalizando com atresia ou ovulação. Informações sobre a dinâmica folicular durante o ciclo estral em bubalinos (Taneja et al., 1996; Baruselli et al., 1997; Manik et al., 1998; Awasthi et al., 2006; Warriach & Ahmad, 2007) demonstram que é bastante similar a já descrita para bovinos (revisado por Adams et al., 2008).

Os bubalinos podem apresentar de uma a três ondas de crescimento folicular por ciclo estral, dependendo da duração da fase lútea, havendo um predomínio de ciclos com duas ondas foliculares (Taneja et al., 1996; Baruselli et al., 1997; Manik et al., 1998; Ali et al., 2003; Presicce et al., 2004; Awasthi et al., 2006, Warriach & Ahmad, 2007). Em cada onda folicular 5 a 13 folículos são recrutados (Baruselli et al., 1997, Manik et al., 2002, Gimenes et al., 2009).

O desvio folicular ocorre 2,6 dias após a ovulação quando o folículo dominante tem um diâmetro médio de 7,2 mm e o subordinado de 6,4 mm (Gimenes et al., 2011).

Em algumas búfalas ocorrem dois picos consecutivos de LH, provocando uma dupla ovulação. Nestes casos, quando ocorre a concepção, o ovócito fertilizado é o que provem da segunda ovulação (revisado em Presicce, 2007).

O diâmetro do folículo dominante ovulatório de búfalas cíclicas durante a estação reprodutiva varia de 13 a 18 mm dependendo do número de ondas foliculares (Taneja et al., 1996; Baruselli, et al., 1997; Awasthi, et al., 2006). Segundo Baruselli et al. (1997) o folículo ovulatório de um ciclo estral de uma ou de duas ondas foliculares é maior do que o de 3 ondas foliculares, já para Awasthi et al. (2006) o folículo ovulatório de um ciclo com uma onda é menor do que o de duas ondas foliculares; estes autores não relataram ciclos de 3 ondas.

Em búfalas cíclicas, fora da estação reprodutiva, Ghuman et al. (2010) observaram folículos ovulatórios menores, com diâmetro de 10,3 a 13,5 mm, média de  $11,5 \pm 0,6$  mm. Folículos de tamanho semelhante,  $11,63 \pm 0,2$  mm (variação de 10 a 13 mm) em animais cíclicos e  $11,58 \pm 0,6$  mm (variação de 10 a 12,5 mm) em animais não cíclicos exógeno foram reportados por Ali & Fahmi (2007) como capazes de ovular em resposta a GnRH exógeno.

Segundo Campanile et al. (2010) os folículos bubalinos adquirem a capacidade ovulatória quando atingem 5 a 8 mm, mas necessitam desenvolver mais para produzir estradiol suficiente para induzir o pico pré-ovulatório de LH através do *feedback* positivo sobre o hipotálamo. Entretanto Gimenes et al. (2011) somente obtiveram ovulação de folículos que apresentavam diâmetro  $\geq 8,5$ mm no momento da aplicação de LH.

Neglia et al. (2011) e Pandey et al. (2011) observaram diferença relacionada ao tamanho do folículo pré-ovulatório e prenhez, onde as búfalas diagnosticadas como prenhes tinham folículos pré-ovulatórios maiores comparados aos das não prenhes. Também foi observado que o fluxo sanguíneo dos folículos de animais não prenhes (menores) apresentaram maiores índices de resistência e de pulsatilidade calculado por dopplerfluxometria colorida (Neglia et al., 2011).

Pandey et al. (2011) observaram correlação positiva entre o tamanho do folículo pré-ovulatório e o CL no dia 5, mas não no dia 12 pós ovulação. Nos dias 10 e 20 pós inseminação artificial Neglia et al. (2011) não observaram diferença entre os tamanhos dos CL de animais prenhes e não prenhes, originados de folículos maiores e menores, respectivamente. Bem como não observaram diferença quanto ao índice de resistência e índice pulsátil calculado por dopplerfluxometria.

Os dados relativos à atividade ovariana no anestro pós-parto de búfalas de rio, durante a estação reprodutiva, são conhecidos através de palpação retal e dosagem de P4 (Jainudeen et al., 1983; Usmani et al., 1985a; Baruselli, 1994). O acompanhamento desta fase reprodutiva com o uso da ultrassonografia foi relatado somente em búfalas de rio fora da estação reprodutiva (Presicce et al., 2005a) e em búfalas de pântano (Yindee, 2011).

## **2.5 Primeira Ovulação Pós-Parto**

A primeira ovulação pós-parto foi observada em média aos  $36,6 \pm 16,8$  d com uma variação de 17 a 87 d em búfalas Murrah, no Brasil (Baruselli, 1992) e aos  $59,37 \pm 4,76$  d com variação de 24 a 150 d em búfalas de leite no Paquistão (Qureshi & Ahmad, 2008). Em uma revisão de literatura Vale & Ribeiro (2005) relatam variação de 38 a 96 dias para a primeira ovulação pós-parto, detectada por palpação retal ou dosagem de P4.

Com auxílio da ultrassonografia e dosagem de P4 plasmática a primeira ovulação foi observada em búfalas Mediterrânea fora da estação reprodutiva (Presicce et al., 2005a) e em búfalas de pântano da raça Thai (Yindee et al., 2011). Entre as búfalas



Mediterrânea estudadas por Presicce et al. (2005a) 4 das 10 primíparas e 8 das 10 pluríparas ovularam até 60 dias pós-parto, em um período médio de  $25,5 \pm 6,9$  d (variação de 16 a 46 d) e de  $15,5 \pm 1,3$  (variação de 8 a 20 d), respectivamente ( $p > 0,05$ ). Este período foi menor que o observado nas búfalas de pântano da raça Thai ( $39,81 \pm 3,38$  d) por Yindee et al. (2011).

A primeira ovulação pós parto ocorre sem a manifestação do estro e é seguida por uma fase luteínica curta (Usmani et al., 1990; Baruselli, 1992; Chohan et al., 1992; Abdalla 2003), caracterizando um ciclo curto, com concentração de P4 média de 0,78 ng/mL, variando de 0,36 a 1,58 ng/mL (Baruselli, 1992). A segunda ovulação geralmente é seguida de uma fase luteínica mais longa e com maior concentração de P4 plasmática que a primeira, e cerca de 60 (Baruselli, 1992) a 75% (Yindee et al., 2011) destas ovulações são precedidas de sinais de estro. Na terceira ovulação pós-parto é possível detectar o estro em mais de 90% dos casos (Baruselli, 1992). Esporadicamente após a primeira ovulação ocorre uma fase luteínica longa com intervalo interovulatório acima de 25 dias (Abdalla, 2003; Yindee et al., 2011).

Copelin et al. (1988) demonstraram que a menor produção de estrógeno nos primeiros ciclos está relacionada à deficiência de P4 prévia, isto foi demonstrado em bovinos quando obtiveram maiores concentrações de estradiol em animais pré-tratados com norgestomet (progestágeno) antes da primeira ovulação pós-parto.

A primeira fase luteínica curta em bovinos, deve-se, segundo Zollers et al. (1993), a falta de sensibilização prévia do endométrio pela P4 e pela menor produção de E2 durante o período pré-ovulatório. Isto leva a uma menor síntese de receptores para P4 no endométrio fazendo com que a dominância uterina da P4 seja perdida mais cedo permitindo a síntese de receptores de estrógeno no endométrio. A ligação do estrógeno, produzido pelos folículos em desenvolvimento, ao seu receptor, estimula a síntese de receptores de ocitocina. Deste modo o útero passa a ser responsivo para a ocitocina e há a liberação de prostaglandina F2 $\alpha$  pelo endométrio provocando a luteólise precoce.

Entretanto Mann e Lamming (2000) demonstraram que na ausência de P4 uma alta concentração de estradiol é capaz de inibir os receptores de ocitocina no endométrio, porém quando a concentração de estradiol está baixa, não ocorre esta inibição e os receptores de ocitocina podem levar a uma luteólise precoce. Como o primeiro folículo pré-ovulatório pós-parto secreta menor quantidade de estradiol, esta quantidade não é suficiente para inibir completamente os receptores de ocitocina e ocorre a luteólise precoce que origina os ciclos curtos. Desta forma, segundo Mann e Lamming (2000) a luteólise precoce não ocorre devido à falta ou insuficiente ação lútea prévia sobre o útero e sim devido a inadequada produção pré-ovulatória de estradiol.

Por outro lado, animais cíclicos com baixa concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular (bovinos de alta produção leiteira), têm LH basal maior o que permite maior desenvolvimento folicular, maior produção de estradiol e síntese mais precoce de receptores de estrógeno, levando a uma luteólise precoce no próximo ciclo (Cerri et al., 2011).

## 2.6 Primeiro Estro Pós-Parto

O primeiro estro após o parto tem sido observado dentro de um período bastante amplo, em uma revisão foi relatada variação de 22 a 135 d (Vale & Ribeiro, 2005) e em outra de 44 a 190 dias (El-Wishy, 2007b). No Brasil, foi observada uma média de  $42,0 \pm 8,8$  d, em búfalas mestiças Mediterrânea x Carabao (Vale et al., 1986); de  $47,06 \pm 25,66$  dias em búfalas Murrah, Mediterrânea e mestiças Murrah x Mediterrânea (Rolim Filho et al., 2011) e de  $57,13 \pm 19,28$  d, com variação de 24 a 100 d em búfalas Murrah (Baruselli, 1992). No Paquistão, em búfalas Nili-Ravi foi observada uma média de  $56,4 \pm 3,9$  dias (Usmani et al., 1985a) e em búfalas de leite (sem raça definida pelos autores) nos primeiros 150 dias pós-parto somente 68,63% das búfalas apresentaram estro e entre estas a média foi de  $69,03 \pm 6,03$  dias, variando de 21 a 147 dias (Qureshi & Ahmad, 2008).

Essas variações tem sido associadas à nutrição (Baruselli, 1994), escore de condição corporal (Ribeiro et al., 1997; Qureshi & Ahmad, 2008), sistema de amamentação e de ordenha (Usmani et al., 1990; Vale et al., 2002), sistema de alojamento dos animais (Abdalla, 2003), estação do ano (Perera et al., 1987; Bahga & Gangwar, 1988, Piapon et al., 2002), presença de infecções uterinas subclínicas (Usmani et al., 2001), presença de macho (Abdalla, 2003), sistema de detecção de estro (Barkawi et al., 1998) e à subespécie, búfalas de pântano ou de rio (Vale & Ribeiro, 2005).

Usmani et al. (1990) observaram que búfalas ordenhadas sem bezerro ao pé apresentam o primeiro estro mais cedo do que vacas que são ordenhadas com bezerro ao pé, tanto em búfalas paridas no outono ( $39,0 \pm 2,4$  vs  $60,7 \pm 3,3$  d), como no verão ( $41,8 \pm 3,9$ .vs  $75,9 \pm 4,9$  d).

## 2.7 Hormônios da Reprodução

### 2.7.1 Hormônio folículo estimulante

A emergência de uma onda folicular é dependente de prévio aumento nas concentrações de hormônio folículo estimulante (FSH), aumento que ocorre, em bovinos, 2 a 4 dias antes da emergência de uma nova onda (Crowe et al., 1998). A dinâmica do E2 e da inibina A secretados pelo folículo dominante (FD) desempenham um papel importante na seleção folicular, devido sua ação sobre a geração ou término do pico de FSH através de *feedback* negativo (Bleach et al., 2001). Durante o período pós-parto e no meio da fase lútea do ciclo estral de bovinos a Inibina A parece ter um papel mais importante que o E2 no controle da secreção do FSH em bovinos (Crowe et al., 1998). Em búfalos também foi observado que a inibina e E2 tem uma ação regulatória sobre a secreção de FSH (Singh et al., 2001; Mondal et al., 2008a).

Em bubalinos cíclicos, o FSH circulante alcança a sua maior concentração no dia do estro (D0), decrescendo em seguida, permanecendo baixa durante a fase de crescimento do FD, voltando a aumentar e atingir novamente a concentração mais alta no D7, antes da emergência da segunda onda folicular. A concentração plasmática de FSH varia de  $0,81 \pm 0,17$  a  $3,89 \pm 1,20$  ng/mL durante o ciclo estral de búfalas Murrah. No D-4 é de  $1,45 \pm 0,60$  ng/mL, no D0 atinge o máximo de  $3,89 \pm 1,20$ , decrescendo até  $0,85 \pm 0,21$  ng/mL no D5 (Mondal et al., 2008a).

Segundo Mondal et al, (2008b) a concentração de FSH plasmático durante o periestro, fase lútea inicial, média e final é maior ( $P < 0,01$ ) em animais que expressam sinais de estro ( $2,61 \pm 0,64$ ;  $1,73 \pm 0,28$ ;  $1,17 \pm 0,16$  e  $1,16 \pm 0,22$  ng/mL, respectivamente), quando comparado aos animais que ovulam sem manifestar o estro (cio silencioso;  $2,42 \pm 0,69$ ;  $0,85 \pm 0,12$ ;  $0,99 \pm 0,18$  e  $1,62 \pm 0,47$  ng/mL).

Em búfalas Murrah prenhes a concentração plasmática basal de FSH reduz significativamente dos 60 até os 240 dias de gestação, neste período há também um declínio progressivo da liberação de FSH em resposta à aplicação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). O pico de FSH inicia  $2,95 \pm 0,04$  h após a aplicação do GnRH e dura  $5,79 \pm 0,07$  h (Palta & Madan, 1996).

No pós-parto a concentração plasmática basal de FSH é menor no D2 (D0 = dia do parto) ( $P < 0,01$ ) do que no D20 e D35. Neste período as búfalas são responsivas a

aplicação de GnRH e nos três diferentes dias (D2, 20 e 35) o pico de FSH plasmático ocorre  $2,46 \pm 0,01$ h após aplicação de GnRH e dura  $5,50 \pm 0,2$  h (Palta & Madan, 1995).

Arya & Madan (2001) não observaram diferença na concentração plasmática de FSH entre os dias 3 e 90 pós-parto e entre búfalas Murrah ordenhadas com bezerro ao pé ( $35,7 \pm 1,5$  ng/mL) ou sem bezerro ( $38,3 \pm 1,5$  ng/mL), também não foi observada diferença quando o FSH foi avaliado 30 minutos antes ou cinco minutos após a ordenha.

O estoque hipofisário de FSH para ser liberado sob a ação de GnRH parece não ser um limitante para o reinício da atividade ovariana após o parto, porém parece ser dependente da presença ou não de um FD no momento da aplicação do GnRH (Palta & Madan, 1995).

### **2.7.2 Hormônio luteinizante**

O comportamento do hormônio luteinizante (LH) durante o ciclo estral em bubalinos é semelhante ao de bovinos. Durante a fase lútea a concentração plasmática basal de LH é menor ( $P < 0,001$ ) do que nos cinco últimos e cinco primeiros dias do ciclo estral. Nos últimos cinco dias do ciclo, após a queda na concentração de P4, há um aumento progressivo da concentração de E2 e de LH. O aumento do LH chega a 3 vezes mais do que a concentração basal, e então ocorre um súbito e grande aumento no dia do estro (D0), o pico de LH que precede a ovulação. A concentração basal de LH entre o D1 e D6 é negativamente correlacionada com a concentração de P4 ( $r = 0,62$  a  $0,80$ ) (Kanai & Shimizi, 1984).

Em búfalas cíclicas a concentração basal de LH é de 5 ng/mL (variação de 1 a 8 ng/mL). Logo após o início do estro a concentração média de LH aumenta rapidamente dentro de um período de 4 horas até um pico de 35 ng/mL (variação de 20 a 52 ng/mL) e retorna a sua concentração basal 8 horas depois, ou seja, 12 horas após início do estro (Avenell et al., 1985).

O padrão pulsátil de LH, FSH, E2 e P4 na fase pré-ovulatória é semelhante ao bovino, em cinco de seis fêmeas estudadas o pulso de LH foi acompanhado de um de FSH, e todo pulso de LH foi precedido por um de estradiol (Singh et al., 1998).

A concentração plasmática basal de LH não varia entre 60 e 240 dias de gestação. Entretanto a quantidade de LH liberado em resposta a aplicação de GnRH diminui ao longo deste período, embora a duração do pico e o tempo para atingir o pico não são afetados pelo estágio da gestação ( $5,00 \pm 0,13$  h e  $1,91 \pm 0,08$  h, respectivamente). Esta diminuição na quantidade de LH liberado em resposta ao GnRH dos 60 aos 240 dias de

gestação pode refletir, ao menos em parte, redução no conteúdo hipofisário de LH (Palta & Madan, 1996).

Não foi observada diferença na concentração plasmática de LH entre 3 e 90 dias pós-parto, com resultados semelhantes para búfalas ordenhadas com ou sem bezerro ao pé (Arya & Madan, 2001). As búfalas são responsivas a administração de GnRH ocorrendo uma significativa elevação na concentração plasmática de LH no D2 (D0 = dia do parto) porém no D20 a liberação de LH em resposta ao GnRH é 408% maior ( $P < 0.01$ ), valor semelhante ao observado no D35 (Palta & Madan, 1995).

Singh et al. (2006) também não observaram diferença na concentração plasmática basal entre búfalas ordenhadas com ou sem bezerro ao pé, entretanto os animais com bezerro ao pé responderam com menor intensidade ao GnRH exógeno do que as sem bezerro e ainda, os animais com  $P4 > 1\text{ng/mL}$  responderam com menor intensidade do que os com  $P4 < 1\text{ng/mL}$ .

### 2.7.3 Progesterona

Durante o ciclo estral a P4 plasmática aumenta e diminui coincidindo com o crescimento e regressão do CL, isto permite que o funcionamento do corpo lúteo seja avaliado através da concentração de progesterona (Mondal et al., 2010).

Em novilhas Murrah, não prenhes, com ciclos estrais de 19 a 25 dias a concentração de P4 plasmática no dia do estro (D0) é mínima ( $0,16 \pm 0,02 \text{ ng/mL}$ ) aumentando ( $1,16 \pm 0,03$  e  $3,48 \pm 0,5 \text{ ng/mL}$  no D5 e D9, respectivamente) até alcançar um pico no D15 ( $5,21 \pm 0,5 \text{ ng/mL}$ ), em seguida declina até a concentração basal de  $0,13 \pm 0,22 \text{ ng/mL}$  no início do próximo estro. A concentração de P4 é variável e em alguns animais aumenta muito até o dia 10, antes de haver um segundo pico em torno do D13-D15 (Bachlaus et al., 1979).

Padrões semelhantes foram observados em búfalas de pântano por Kanai e Shimizu (1984), porém com concentração de P4 máxima mais baixa (pico variando de 2 a 3  $\text{ng/mL}$ ), mas com concentração mínima semelhante, de 0,1  $\text{ng/mL}$  (variação 0 a 0,2  $\text{ng/mL}$ ) desde 36-40 h antes até 36-40 h depois do estro (Avenell et al., 1985).

Baseados na concentração plasmática de P4, Paul & Prakash (2005) determinaram os diferentes estágios do ciclo estral; estro  $< 0,4 \text{ ng/mL}$ , fase lútea inicial de 0,4 a 2,0  $\text{ng/mL}$ , fase lútea média de 2,0 a 5,0  $\text{ng/mL}$  e fase lútea final de 2,0 a 0,4  $\text{ng/mL}$ .

Em uma meta-análise Mondal et al. (2010) sumarizaram os resultados de estudos que descreveram o comportamento da P4 no ciclo estral; durante o peri-estro apresenta a menor concentração ( $0,30 \pm 0,06$  ng/mL), no início da fase lútea aumenta para  $0,47 \pm 0,07$  ng/mL, chegando a concentração máxima de  $1,94 \pm 0,03$  ng/mL durante a fase lútea ( $1,94 \pm 0,03$  ng/mL) e caindo no final da fase lútea para  $1,24 \pm 0,02$  ng/mL.

Batra et al. (1979) observaram aumento crescente de P4 a partir do D3 até um pico de 3,6 ng/mL no D13 do ciclo estral. A partir de então, nos animais que não conceberam, inicia uma queda gradual da concentração, seguida por um declínio rápido, chegando a 0,60 ng/mL três dias antes do próximo estro e de  $0,1 \pm 0,07$  ng/mL no dia do estro (D0). Já nos animais que conceberam a P4 não diminui após o D13, mantém e aumenta sua concentração para valores de  $4,13 \pm 0,73$  ng/mL no D25 após a inseminação artificial.

Rao & Pandey (1982) observaram que quantidade de P4 produzida durante o ciclo estral varia em bubalinos de acordo com as estações do ano. Durante o outono e inverno (temperatura média de  $13,6$  °C e máxima de  $25$  °C) as concentrações de P4 são mais altas do que durante a primavera – calor seco e verão – calor úmido (temperatura média de  $28$  °C e máxima de  $32,6$  °C), havendo uma taxa de concepção maior no outono e inverno. Menores concentrações de P4 foram observadas na estação quente e úmida (verão) do que na quente e seca (primavera), indicando que a umidade reforça o efeito das altas temperaturas na supressão da secreção de P4.

No verão a progesterona está correlacionada negativamente com a prolactina e neste período, devido ao estresse calórico, a prolactina está 20 a 40 vezes aumentada. No inverno são observados valores médios de  $3,10 \pm 0,48$  a  $9,17 \pm 1,39$  ng/mL de prolactina, havendo variação individual de 1,24 ng/mL a 19,63 ng/mL, no verão a média é de  $248,50 \pm 16,03$  a  $369,63 \pm 25,13$  ng/mL com variação individual de 195,24 a 686,27 ng/mL. No inverno não existe correlação entre a progesterona e a prolactina, pois essa não está envolvida com a função luteal (Roy & Prakash, 2007).

Segundo os mesmos autores (2008) a baixa concentração de progesterona e a alta de prolactina no verão (Roy & Prakash, 2007) são os principais fatores endócrinos responsáveis pela baixa reprodução de búfalos nesta época do ano.

Pandey et al. (2011) observaram correlação positiva entre a concentração plasmática de P4 e o tamanho do CL no D5 (D0 = dia do estro), mas esta correlação não existiu no D12 e ainda, as búfalas que ficaram prenhes tinham maior concentração de P4 e maior CL no D5, porém no D12, D16 e D21 só havia diferença entre as prenhes e não prenhes

com relação a concentração de P4, não sendo mais observada diferença com relação ao tamanho do CL.

Neglia et al. (2011) não observaram diferença quanto ao tamanho do CL nos dias 10 e 20 após a IA entre animais prenhes, não prenhes ou que tiveram morte embrionária tardia. Entretanto os animais prenhes aos 25 dias apresentaram maior concentração de P4 nos dias 10, 20 e 25 após a IA do que os não prenhes. E ainda, entre os animais prenhes a concentração de P4 nesses mesmos dias era maior nos animais que continuavam prenhes aos 45 dias quando comparado aos que tiveram morte embrionária tardia.

Em animais prenhes Prakash & Madan (1986) observaram que a concentração de P4 decresceu gradualmente de 30 dias até 2 dias antes do parto ( $1,8 \pm 0,1$  e  $1,2 \pm 0,1$  ng/mL, respectivamente;  $P < 0,05$ ). Um dia antes do parto ocorreu uma queda brusca para  $0,8 \pm 0,2$  ng/mL ( $P < 0,01$ ), caindo para  $0,3 \pm 0,1$  ng/ml ( $P < 0,05$ ) no dia do parto. A concentração plasmática de P4 manteve-se estável nesta concentração até pelo menos três dias após o parto (período observado durante a pesquisa). Entretanto, El Beley et al. (1988) observaram concentração de P4 de  $1,2 \pm 0,3$  ng/mL e de  $2,1 \pm 0,1$  ng/mL no dia do parto em pluríparas e primíparas, respectivamente, 3 dias após o parto a concentração caiu para  $0,74 \pm 0,2$  em pluríparas e para  $0,78 \pm 0,1$  ng/mL em primíparas só alcançando concentração basal abaixo de 0,5 ng/mL 15 dias após o parto.

Em revisão El-Wishy (2007a) também relata que durante o parto a concentração de P4 é basal (0,1 a 0,6 ng/mL) demonstrando que ocorreu a luteólise completa do CL gravídico, não havendo mudanças significativas durante o período pós-parto. Entretanto Bahga & Gangwar (1988) relatam que a concentração de P4 continua decrescendo após o parto até alcançar um mínimo no dia 6, havendo variação na dependência da estação do ano em que ocorreu o parto. Estes autores observaram concentração plasmática de P4 no dia do parto de  $1,33 \pm 0,21$  e de  $2,06 \pm 0,13$  ng/mL (verão e inverno, respectivamente;  $P < 0,01$ ), atingindo a concentração mínima de  $0,38 \pm 0,11$  e  $0,57 \pm 0,07$  ng/mL (verão e inverno, respectivamente) no dia 6, indicando a completa regressão do CL da gestação.

A concentração de P4 se mantém basal (Presicce et al., 2005a), abaixo de 0,7 ng/mL (Yendee, et al., 2011), até a primeira ovulação pós parto quando inicia uma gradual elevação, observando-se um aumento significativo ( $>1,0$  ng/mL) 4 a 6 dias pós ovulação precedida ou não de estro (Usmani et al., 1990).

Alguns trabalhos analisam a concentração de P4 no leite, a correlação existente entre esta e a do plasma é alta durante um ciclo estral, quando grandes variações ocorrem na atividade do CL, entretanto esta correlação é muito baixa quando a atividade do CL

permanece mais ou menos a mesma, como durante a prenhez (Kamboj & Prakash, 1993). A concentração de P4 no leite é cerca de quatro vezes mais alta que a do plasma (Batra et al., 1979; Kamboj & Prakash, 1993) e sua variação está relacionada a percentagem de gordura no leite.

#### 2.7.4 Estradiol

A concentração plasmática média de estradiol 17 $\beta$  (E2) de novilhas da raça Murrah no dia do estro (D0) é de  $19,32 \pm 3,73$  pg/mL, declinando rapidamente para  $5,73 \pm 0,68$  pg/mL no D2, mantendo-se nesta concentração durante toda a fase lútea. O E2 aumenta gradualmente de  $9,81 \pm 1,18$  no D-3 para  $15,71 \pm 1,48$  pg/mL no D-2 e um pico de  $35,80 \pm 3,48$  pg/mL no D-1, este pico em alguns casos ocorre no dia D0. Na detecção do primeiro sinal de estro a média observada é de  $17,84 \pm 2,57$  pg/mL (Bachlaus et al., 1979). O mesmo padrão hormonal foi observado por Arora & Pandey (1982) com concentrações de E2 semelhantes, no D0 de  $20,31 \pm 1,14$  pg/mL e decresceu para  $8,41 \pm 0,85$  pg/mL no D2 após IA e foi praticamente mantido nesta concentração até o D17.

Kanai & Shimizu (1984), analisando amostras a cada 24 horas, observaram um pico de 9,5 pg/mL de E2 plasmático no dia do estro em búfalas de pântano. Nesta mesma subespécie com observações a cada 4 horas desde 36 a 40 h antes do início dos sinais do estro até 36 a 40 h depois, Avenell (1985) observou concentração média de E2 entre 9 e 13 pg/mL de 36 a 40 h antes até 12 a 16 h depois do início do estro e de 7 a 9 pg/mL de 12 a 16 h até 36 a 40 h depois do início do estro.

Foi observado por Pandey et al. (2011) que as búfalas que ficaram prenhes tinham uma maior concentração plasmática de E2 no dia do estro, do que as que não ficaram prenhes ( $35,1 \pm 3,2$  vs  $22,5 \pm 2,5$  pg/mL, respectivamente). Além disso, observaram que existe uma correlação positiva entre o tamanho do folículo pré-ovulatório e a concentração plasmática de E2.

Shafie et al. (1982) observaram que durante o verão a concentração de E2 é mais baixa no dia do estro do que no inverno o que pode levar a falhas na manifestação e detecção do estro. Foi demonstrado por Roy e Prakash (2009a e 2009b) que a menor quantidade de E2 e de estrógenos totais no estro durante o verão deve-se a prolactina que devido ao estresse calórico está aumentada em 20 a 40 vezes (Roy e Prakash, 2007).

O padrão de secreção do E2 no periparto de búfalas foi demonstrado por Prakash & Madan (1986) e El Beley (1988). Em ambos os estudos foi observado um padrão



semelhante, entretanto pode-se observar diferença com relação ao dia de maior concentração de E2. Para os primeiros autores a maior concentração de estradiol foi em um dia antes do parto ( $210 \pm 27,4$  pg/mL), já para o segundo foi no dia do parto ( $251,2 \pm 17,3$  pg/mL em búfalas e  $240,5 \pm 10,1$  pg/mL em novilhas) e ambos observaram uma queda abrupta do estradiol após o parto.

## **2.8 Hormônios Metabólicos**

A nutrição é determinante do potencial reprodutivo dos animais domésticos, assim sendo as respostas do sistema reprodutivo para mudanças na nutrição e condição metabólica influenciam a eficiência reprodutiva e econômica dos animais de produção. A condição nutricional é comunicada ao eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano através de hormônios metabólicos e/ ou metabólitos sanguíneos (Diskin et al., 2003).

A regulação do metabolismo é realizada pela ação de muitos hormônios e complexos mecanismos de controle. O eixo somatotrófico tem um papel chave no controle da regulação do metabolismo e de processos fisiológicos. Este eixo é formado essencialmente pelo hormônio do crescimento (GH) e fatores de crescimento semelhante a insulina I e II (IGF I e II), suas proteínas carreadoras e receptores. Neste complexo mecanismo estão envolvidos outros hormônios como a leptina, insulina, glicocorticóides e hormônios tireoidianos, que modulam a síntese e disponibilidade de GH e/ ou IGF-I (Renaville et al., 2002).

### **2.8.1 Cortisol**

A concentração de cortisol sérico ou plasmático tem sido utilizada para avaliar o grau de estresse dos animais domésticos e a capacidade de adaptação a um determinado estressor (Megahed et al., 2008). O estresse estimula o eixo hipotálamo-hipofise-adrenal havendo um aumento da concentração sérica de cortisol (Martin & Crump, 2003a).

O estresse é definido como a incapacidade de um animal lidar com seu ambiente, um fenômeno que é revelado por uma falha para alcançar seu potencial genético, por exemplo, para a taxa de crescimento, produção de leite, resistência a doenças ou a fertilidade (Dobson & Smith, 2000).

Como um mecanismo fisiológico, o estresse por si só não é sempre ruim. Por exemplo, os glicocorticóides são liberados em resposta a situações que não são normalmente consideradas estressantes, como a realização da corte, cópula e caça, além de ser essencial

para desencadear o parto. Durante o estresse de curto prazo glicorticóides aumentam a mobilização de energia (cortisol estimula secreção de glucagon). No entanto, o estresse crônico grave (longos períodos de alta concentração de cortisol) pode diminuir a resposta imune e causar a atrofia dos tecidos e diminuir a eficiência reprodutiva (Möstl & Palme, 2002).

O balanço energético negativo, frequente no final da gestação e início da lactação, é o principal responsável pelo desenvolvimento de estresse oxidativo em bovinos de leite, devido às altas concentrações de NEFA,  $\beta$  hidroxibutirato e triacilglicerol (Roche et al., 2000). Somado a isso, durante a gestação o sistema antioxidativo está modificado devido à diminuição da ação de enzimas antioxidativas como a enzima superóxido desmutase. A suplementação de búfalas prenhes com selênio e vitamina E, substâncias antioxidantes têm um efeito benéfico diminuindo o estresse oxidativo e a concentração de cortisol no final da gestação e início da lactação (Dimri et al., 2010).

A diminuição da fertilidade de animais domésticos provocada pelo estresse ocorre devido à interferência do estresse sobre o mecanismo que regula o tempo preciso dos eventos que acontecem durante a fase folicular. Há uma redução na frequência e na amplitude dos pulsos de GnRH e de LH, com essa redução, falta suporte gonadotrófico suficiente para o desenvolvimento do folículo o qual cresce mais lentamente, produz menos E2, há atraso no pico de LH pré-ovulatório (Dobson & Smith, 2000) e uma redução da concentração de E2 durante o estro (Megahed et al., 2008).

Prakash & Madan (1986) observaram que em búfalas prenhes a concentração plasmática de cortisol manteve-se relativamente constante desde 30 dias até 02 dias antes do parto (entre  $1,3 \pm 0,2$  e  $1,5 \pm 0,1$  ng/mL), um dia antes do parto aumentou para ( $2,4 \pm 0,3$  ng/mL) chegando à concentração máxima no dia do parto ( $3,8 \pm 0,4$  ng/mL;  $p < 0,01$ ). No dia seguinte ao parto a concentração diminuiu ( $P < 0,01$ ) mantendo-se baixa até 3 dias pós-parto (período avaliado no experimento).

Entretanto, Dimri et al. (2010) observaram que a concentração plasmática de cortisol aumenta gradualmente durante toda a gestação de búfalas ( $D0 = 66,2 \pm 0,13$ ) ocorrendo um aumento abrupto aos 280 dias de gestação ( $87,26 \pm 0,18$  ng/mL) que se mantém até 15 dias pós-parto ( $97,6 \pm 0,18$  ng/mL), havendo uma queda significativa aos 45 dias pós-parto ( $96,2 \pm 0,13$  ng/mL). A concentração de cortisol plasmático foi menor a partir dos 240 dias de gestação até 45 dias pós-parto quando os animais receberam aplicações de acetato de  $\alpha$ -tocoferol e selenito de sódio durante a gestação ( $71,10 \pm 0,17$ ;  $69,33 \pm 0,18$ ;  $67,4 \pm 0,11$  ng/mL aos 280 dias de gestação, 15 e 45 dias pós-parto, respectivamente).

### 2.8.2 Insulina

A secreção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas é afetada por diversos fatores, entretanto a concentração de substratos de energia são os principais reguladores da secreção tanto da insulina, como do glucagon. Quando há uma grande quantidade de substrato de energia na corrente sanguínea grande quantidade de insulina é secretada e o glucagon é inibido, ocorrendo o inverso na diminuição do substrato energético. O substrato de energia que mais afeta a secreção de insulina e de glucagon é a glicose, e em menor importância os aminoácidos (em humanos), entretanto os ruminantes obtêm cerca de 70% de sua energia dos ácidos graxos de cadeia curta, assim o butirato e em menor grau o propionato são potentes estimulantes da insulina. O aumento da insulina diminui a concentração de substrato energético no sangue por aumentar sua absorção e estoque em vários tecidos, a insulina aumenta a permeabilidade das membranas celulares para a glicose e também facilita a absorção celular de aminoácidos, potássio, fosfato e magnésio; estimula as enzimas anabólicas e inibe as catabólicas. Facilita a síntese de proteínas por aumentar a energia das células e a entrada de aminoácidos, sendo assim essencial para o crescimento dos animais, agindo sinergicamente com o GH (Martin & Crump, 2003b).

A administração de insulina (*biphasic insulin*, 0,25 UI/kg, SC) durante 3 dias antes da aplicação de GnRH aumentou ( $P < 0,05$ ) o diâmetro do maior folículo (de  $6,85 \pm 0,64$  para  $12,4 \pm 0,88$  mm). Além disso, a indução de estros nos primeiros 12 dias após o tratamento foi maior ( $P < 0,01$ ) nos animais que receberam insulina durante 3 dias antes da aplicação de GnRH quando comparado aos animais que receberam apenas GnRH ou apenas solução fisiológica (controle) (Ramoun et al., 2007).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, E. B. Improving the reproductive performance of Egyptian buffalo cows by changing the management system. **Animal Reproduction Science**, v. 75, n. 1-2, p.1-8, 2003.
- ADAMS, G. P.; JAISWAL, R.; SINGH, J.; MALHI, P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**. v. 69, n. 1, p. 72-80, 2008.
- ALI, A.; ABDEL-RAZEK, A. K.; ABDEL-GHAFFAR, S.; GLATZEL, P. S. Ovarian follicular dynamics in buffalo cows (*Bubalus bubalis*). **Reproduction in Domestic Animals**, v. 38, p. 214-218, 2003.
- ALI, A.; FAHMY, S. Ovarian dynamics and milk progesterone concentrations in cycling and non-cycling buffalo-cows (*Bubalus bubalis*) during Ovsynch program. **Theriogenology**, v. 68, p. 23-28, 2007.
- ARORA, R. C.; PANDEY, R. S. Pattern of plasma progesterone, oestradiol-17 $\beta$ , luteinizing hormone and androgen in non-pregnant buffalo (*Bubalus bubalis*). **Acta Endocrinologica**, v. 100, p. 279-284, 1982.
- ARYA, J. S.; MADAN, M. L. Postpartum gonadotrophins in suckled and weaned buffaloes. **Indian Veterinary Journal**, v. 78, p. 406-409. 2001.
- AVENELL, J. A.; SAEPUDIN, Y.; FLETCHER, I. C. Concentrations of LH, oestradiol-17 $\beta$  and progesterone in the peripheral plasma of swamp buffalo cows (*Bubalus bubalis*) around the time of oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 74, p. 419-424, 1985.
- AWASTHI, M. K.; KHARE, A. KAVANI, F. S.; SIDIQUEE, G. M.; PANCHAL, M. T.; SHAH, R. R. Is one-wave follicular growth during the estrous cycle a usual phenomenon in water buffaloes (*Bubalus bubalis*)? **Animal Reproduction Science**, v. 92, n. 3-4, p. 241-253, 2006.

- BACHLAUS, N. K.; ARORA, R. C.; PRASAD, A.; PANDEY, R. S. Plasma levels of gonadal hormones in cycling buffalo heifers. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 17, p. 823–825, 1979.
- BAHGA, C. S.; GANGWAR, P. C. Seasonal variations in plasma hormones and reproductive efficiency in early postpartum buffalo. **Theriogenology**, v. 30, n. 6, p. 1209-1223, 1988.
- BAHGA, C. S.; GANGWAR, P. C.; CAPITAN, S. S. Effect of season and some lactational parameters on the rate of uterine involution in normal parturient buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Indian Journal of Animal Research**, v. 22, n. 1, p. 30-34, 1988.
- BARILE, V. L. Improving reproductive efficiency in female buffaloes. **Livestock Production Science**, v. 92, p. 183–194, 2005.
- BARKAWI, A. H.; KHATTAB, R. M.; EL-WARDANI, M. A. Reproductive efficiency of Egyptian buffaloes in relation to oestrous detection systems. **Animal Reproduction Science**, v. 51, n. 3, p. 225-231, 1998.
- BARUSELLI, P. S. **Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalos (*Bubalus bubalis*)**. 1992. 101 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.
- BARUSELLI, P. S. Sexual behavior in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4, São Paulo:1994. **Proceedings...**São Paulo: [s. n.], v. 1, p. 158-73, 1994.
- BARUSELLI, P. S. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE BUBALINOCULTURA, 1., 1999, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 1999. p. 126-142, 1999.
- BARUSELLI, P. S.; MUCCILOLO, R. G.; VIANA, W. G.; CASTRO JUNIOR, F. G.; REICHERT, R. H.; ALVAREZ, R. H. Involução uterina no período pós-parto em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*). **Boletim de Indústria Animal**, v. 53, p. 51-55, 1996.
- 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, p. 1531-47, 1997.
- BATRA, S. K.; ARORA, R. C.; BACHLAUS, N. K.; PANDEY, R. S. Blood and milk progesterone in pregnant and nonpregnant buffalo. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1390-93, 1979.
- BATRA, S. K.; PAHWA, G.S.; PANDEY, R. S. Hormonal Milieu Around Parturition in Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Biology of Reproduction**, v. 27, p. 1055-1061, 1982.

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

BLEACH, E. C. L.; GLENCROSS, R. G.; FEIST, S. A.; GROOME, N. P.; KNIGHT, P. G. Plasma inhibin A in heifers: relationship with follicle dynamics, gonadotrophins, and steroids during the estrous cycle and after treatment with bovine follicular fluid. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 743-752, 2001.

CAMPANILE, G.; NEGLIA, G.; GASPARRINI, B.; GALIERO, G.; PRANDI, A.; DI PALO, R.; D'OCCHIO, M. J.; ZICARELLI, L. Embryonic mortality in buffaloes synchronized and mated by AI during the seasonal decline in reproductive function. **Theriogenology**, v. 63, p. 2334-2340, 2005.

CAMPANILE, G.; BARUSELLI, P. S.; NEGLIA, G.; VECCHIO, D.; GASPARRINI, B.; LINDSAY U. GIMENES, L. U.; ZICARELLI, L.; D'OCCHIO, M. J. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 121, p. 1-11, 2010.

CASIDA, L. E., WISNICKY, W. Effects of diethylstilbestrol dipropionate upon postpartum changes in the cow. **Journal of Animal Science**, v. 9, p. 238-242, 1950.

CERRI, R. L. A.; CHEBEL, R. C.; RIVERA, F.; NARCISO, C. D.; OLIVEIRA, R. A.; AMSTALDEN, M.; BAEZ-SANDOVAL, G. M.; OLIVEIRA, L. J.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3352-3365, 2011.

CHOHAN, K. R.; CHAUDHRY, R. A., AWAN, M. A.; NAZ, N. A. Incidence of short oestrus cycles in Nili-Ravi buffaloes. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v. 5, n. 3, p. 583-585, 1992.

COPELIN, J. P.; SMITH, M. F.; GARVEXICK, H. A.; YOUNGQUIST, R. S.; MCVEY JR., W. R.; INSKEEP, E. K. Responsiveness of bovine corpora lutea to prostaglandin F<sub>2α</sub>: comparison of corpora lutea anticipated to have short or normal life spans. **Journal of Animal Science**, v. 66, p.1236-1245, 1988.

CROWE, M. A; PADMANABHAN, V.; MIHM, M.; BEITINS, I. Z.; ROCHE, J. F. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. **Biology of Reproduction**, v. 58, n. 1, p. 1445-1450, 1998.

DANTAS, J. A. S.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; MONTEIRO, E. M. M.; SANTOS, N. F. A.; AVIZ, M. A. B.; COSTA, D. A. Variáveis climáticas vs. concepção de búfalas na Amazônia. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n.219, p. 349-351, 2008.

DIMRI, U.; RANJAN, R.; SHARMA, M. C.; VARSHNEY, V. P. Effect of vitamin E and selenium supplementation on oxidative stress indices and cortisol level in blood in water

buffaloes during pregnancy and early postpartum period. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 405-410, 2010.

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.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 743-752, 2000.

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

EL-BELELY, M. S.; ZAKI, K.; GRUNERT, E. Plasma profiles of progesterone and total oestrogens in buffaloes (*Bubalus bubalis*) around parturition **Journal of Agricultural Science**, v. 111, p. 519-524, 1988.

EL-WISHY, A. B. The postpartum buffalo: I. Endocrinological changes and uterine involution. **Animal Reproduction Science**, v. 97, n. 3-4, p. 201-215, 2007a.

EL-WISHY, A. B. The postpartum buffalo II. Acyclicity and anestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 97, n. 3-4, p. 216–236, 2007b.

ERICKSON, B. H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science**, v. 25, p. 800-805, 1966.

FERRAZ, P. C. **Efeito do cloprostenol (PGF<sub>2</sub>α) sobre o puerpério de búfalas (*Bubalus bubalis*) leiteiras da raça Murrah**. 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2006.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION.[2011]. **FAOSTAT – Agriculture data, 2011**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/573/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 05 nov. 2011.

GHUMAN, S .P. S.; SINGH, J.; HONPARKHE, M.; DADARWAL, D. DHALIWAL, G. S.; JAIN, A. K. Induction of ovulation of ovulatory size non-ovulatory follicles and initiation of ovarian cyclicity in summer anoestrous buffalo heifers (*Bubalus bubalis*) using melatonin implants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, p. 600–607, 2010.

GIMENES, L. U., FANTINATO NETO, P., ARANGO, J. S. P., AYRES, H., BARUSELLI, P. S. Follicular dynamics of *Bos indicus*, *Bos taurus* and *Bubalus bubalis* heifers treated with norgestomet ear implant associated or not to injectable progesterone. **Animal Reproduction Science**, v. 6, p. 256, 2009.

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.; NOGUEIRA, G. P.; MAPLETOFT, R. J.; 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.

JAINUDEEN, M. R.; BONGSO, T. A.; TAN, H. S. Postpartum ovarian activity and uterine involution in the suckled swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 5, p. 181-90, 1983.

KAMBOJ, M.; PRAKASH, B. S. Relationship of progesterone in plasma and whole milk of buffaloes during cyclicity and early pregnancy. **Tropical Animal Health and Production**, v. 25, n. 3, p. 185-192, 1993. (abstract).

KANAI, Y; SHIMIZU, H. Plasma concentrations of LH, progesterone and oestradiol during the oestrous cycle in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 70, p. 507-510, 1984.

MANIK, R. S.; SINGLA, S. K.; PALTA, P.; MADAN, M. L. Ovarian follicular dynamics monitored by real-time ultrasonography during oestrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v. 11, n. 5, p. 480-485, 1998.

MANIK, R. S.; PALTA, P.; SINGLA, S. K.; SHARMA, V. Folliculogenesis in buffalo (*Bubalus bubalis*): a review. **Reproduction Fertility and Development**. v. 14, n. 5-6, p. 315-325, 2002.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, v. 64, p. 171–180, 2000.

MARTIN, P. A.; CRUMP, M. H. The adrenal gland. In: PINEDA, M. H.; DOOLEY, M. P. (Ed.) **McDonald's veterinary endocrinology and reproduction**. 5. ed. Iowa: Iowa State, 2003a, p. 165-200.

MARTIN, P. A.; CRUMP, M. H. The endocrine pancreas. In: PINEDA, M. H.; DOOLEY, M. P. (Ed.). **McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction**. 5. ed. Iowa: Iowa State, 2003b, p. 145-164.

MEGAHED, G. A.; ANWAR, M. M, WASFY, S. I.; HAMMADEH, M. E. Influence of heat stress on the cortisol and oxidant-antioxidants balance during oestrous phase in buffalo-cows (*Bubalus bubalis*): thermo-protective role of antioxidant treatment. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 672–677, 2008.

MONDADORI, R. G.; SANTIN, T. R.; FIDELIS, A. A.; PORFÍRIO, E. P.; BÁO, S. N. Buffalo (*Bubalus bubalis*) pre-antral follicle population and ultra structural characterization of antral follicle oocyte. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 1, p. 33-7, 2010.

MONDAL, S.; PRAKASH, B. S.; PALTA, P. Relationship between peripheral plasma inhibin and FSH concentrations in Sahiwal cows (*Bos indicus*) and Murrah buffaloes (*Bubalus*



*bubalis*) during estrous cycle. **Tropical Animal Health and Production**, v. 40, p.403–406, 2008a.

MONDAL, S.; PRAKASH, B. S.; PALTA, P. Peripheral plasma FSH concentrations in relation to expression of oestrus in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Buffalo Bulletin**, v. 27, n. 4, p. 258-262, 2008b. (abstract).

MONDAL, S.; SURESH, K. P.; NANDI, S. Endocrine Profiles of Oestrous Cycle in Buffalo: A Meta-analysis. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v. 23, n. 2, p. 169–174, 2010.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress domestic animal. **Endocrinology**, v. 23, p. 67–74, 2002.

NEGLIA, G.; VECCHIO, D.; RUSSO, M.; DI PALO, R. PACELLI, C.; COMIN, A.; GASPARRINI, B.; CAMPANILE, G. Efficacy of PGF $2\alpha$  on pre-ovulatory follicle and corpus luteum blood flow. **Reproduction in Domestic Animal**, doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01794.x, 2011.

NOAKES, D. The puerperium and the care of the newborn. In: NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C. W. (Ed.). **Arthur's veterinary reproduction and obstetrics**. 8 ed. London: Saunders, 2001, p. 189-191.

PALTA, P.; MADAN, M. L. Alterations in hypophyseal responsiveness to synthetic GnRH at different postpartum intervals in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 44, p. 403–411, 1995.

PALTA, P.; MADAN, M. L. Effect of gestation on GnRH induced LH and FSH release of buffalo (*Bubalis bubalis*). **Theriogenology**, v. 46, p. 993–998, 1996.

PANDEY, A. K.; DHALIWAL, G. S.; GHUMAN, S. P. S.; AGARWAL S. K. Impact of pre-ovulatory follicle diameter on plasma estradiol, subsequent luteal profiles and conception rate in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 123, p. 169–174, 2011.

PAUL, S. S.; LAL, D. **Nutrient requirements of buffaloes**. Delhi: Satish Serial, 2010. p. 6-7.

PAUL, V.; PRAKASH, B. S. Efficacy of the Ovsynch protocol for synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 64, p. 1049–1060, 2005.

PEARY, J. Y. Revision of buffaloes position on the zoological scale. **Buffalo Bulletin**, v. 9, p. 9-17, 1990.

PERERA, B. M. A. O.; DE SILVA, L. N. A.; KURUWITA, V. Y.; KARUNARATNE, A. M. Postpartum ovarian activity, uterine involution and fertility in indigenous buffaloes at a

selected village location in Sri Lanka. **Animal Reproduction Science**, v.14, n. 2 p. 115-127, 1987.

PIAPON, E. C.; ALONSO, J. C.; HINCAPIE, J. J.; GARCIA, L.; FAURE, O.; FERNANDEZ, O. Seasonal influence on uterine involution and postpartum ovarian activity in river buffaloes. In: BUFFALO SYMPOSIUM OF AMERICAS, 1, 2002. Belém, 2002. **Anais...** Belém: ABCP, 2002, p. 456-459.

PRAKASH, B. S., MADAN, M. L. Peripheral plasma estradiol-17 $\beta$ , progesterone and cortisol in buffaloes induced to calve with dexamethasone and vetoestrol. **Animal Reproduction Science**, v. 11, p. 111–122, 1986.

PRAKASH, B. S.; SARKAR, M.; VIJAY, P.; MISHRA, D. P.; MISHRA, A.; MEYER, H. H. D. Postpartum endocrinology and prospects for fertility improvement in the lactating riverine buffalo (*Bubalus bubalis*) and yak (*Poephagus grunniens* L.). **Livestock Production Science**, v. 98, p. 13–23, 2005.

PRESICCE, G. A. Reproduction in the Water Buffalo. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42 (Suppl.2), p. 24–32, 2007.

PRESICCE, G. A.; SENATORE, E. M.; BELLA, A.; SANTIS, G.; BARILE, V. L.; MAURO, G. J.; TERZANO, G. M.; STECCO, R.; PARMEGGIANI, A. 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, 2004.

PRESICCE, G. A.; BELLA, A.; TERZANO, G. A.; DE SANTIS, G.; SENATORE, E. M. Postpartum ovarian follicular dynamics in primiparous and pluriparous Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 63, n. 5, p. 1430-1439, 2005a.

PRESICCE, G. A.; SENATORE, E. M.; DE SANTIS, G.; BELLA, A. Follicle turnover and pregnancy rates following oestrus synchronization protocols in Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Reproduction in Domestic Animals**, v. 40, p. 443–447, 2005b.

QURESHI, M. S.; AHMAD, N. Interaction of calf suckling, use of oxytocin and milk yield with reproductive performance of dairy buffaloes. **Animal Reproduction Science**, v. 106, p. 380–392, 2008.

RAMOUN, A. A.; OSMAN, K. T.; DARWISH, S. A.; KAREN, A. M.; GAMAL, M. H. Effect of pretreatment with insulin on the response of buffaloes with inactive ovaries to gonadotrophin-releasing hormone agonist treatment in summer. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 2, p. 351-355, 2007. (abstract).

RAO, L. V.; PANDEY, R. S. Seasonal changes in plasma progesterone concentrations in buffalo cows (*Bubalus bubalis*) **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 66, p. 57-61, 1982.

RENAVILLE, R.; HAMMADI, M.; PORTETELLE, D. Role of the somatotrophic axis in the mammalian metabolism. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 351-360, 2002.

RIBEIRO, H. F. L.; ANDRADE, V. J.; MARQUES JR, A. P.; VALE, W. G. Effect of body score condition at calving interval to first oestrus of buffalo cows. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 5, p. 213-218, 1997.

ROCHE, J.F.; MACKEY, D.; DISKIN, M.D. Reproductive management of postpartum cows. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 703–712, 2000.

ROLIM FILHO, S. T.; RIBEIRO, H. F. L.; VALE, W. G.; PICANÇO, N. S.; BARBOSA, E. M.; FERREIRA, R. N.; SIMÕES, A. R. Involução uterina, atividade ovariana, primeiro cio pós-parto e distúrbios reprodutivos em búfalas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 221-227, 2011.

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Seasonal variation and circadian rhythmicity of the prolactin profile during the summer months in repeat-breeding Murrah buffalo heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 4, p. 569–575, 2007.

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Correlation between plasma progesterone and prolactin profiles in buffaloes. **Indian Veterinary Journal** v. 85, n. 9, p. 936-938, 2008. (abstract).

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Changes in endocrine profiles during ovsynch and ovsynch plus norpralac treatment in Murrah buffalo heifers at hot summer season. **Tropical Animal Health Production**, v. 41, p. 677-687, 2009a.

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Plasma progesterone, oestradiol-17  $\beta$  and total oestrogen profiles in relation to oestrous behavior during induced ovulation in Murrah buffalo heifers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, p. 486-495, 2009b.

RUSSO, M.; VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; PACELLI, C.; PRANDI, A.; GASPARRINI, B.; ZICARELLI, L.; D'OCCHIO, M. J.; CAMPANILE, G. Corpus luteum function and pregnancy outcome in buffaloes during the transition period from breeding to non-breeding season. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 6, p. 988-991, 2010.

SANTOS, S. S. D.; BIONDI, F. C.; CORDEIRO, M. S.; MIRANDA, M. S.; DANTAS, J. K.; FIGUEIREDO, JR.; OHASHI, O. M. Isolation, follicular density, and culture of preantral follicles of buffalo fetuses of different ages. **Animal Reproduction Science**, v. 95, p.1–15., 2006.

SHALASH, M. R. The role of physiology on the adaptation of buffalo to various conditions under different environments. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings....** São Paulo: [s. n.], v. 1, p. 26-74, 1994.

SHAFIE, M. M.; MOURAD, H.; BARKAWI, A; ABOUL-ELA, M. B. MEKAWY, Y. Serum progesterone and oestradiol concentration in the cyclic buffalo. **Tropical Animal Production**, v. 7, p. 283-289, 1982.

SHEEHAN, W. S. PHIPATANAKUL, W. Tolerance to Water Buffalo Milk in a Child with Cow Milk Allergy. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 102, n. 4, p. 349, 2009.

SINGH, A. K.; BRAR, P. S.; NANDA, A. S.; PRAKASH, B. S. Effect of suckling on basal and GnRH-induced LH release in post-partum dairy buffaloes. **Animal Reproduction Science**. v. 95, p. 244-250, 2006.

SINGH, B.; DIXIT, V. D.; DIXIT, V. P.; LOHAN, I. S.; GEORGIE, G. C. Pulsatile secretory pattern of gonadotrophins and ovarian steroids during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the buffalo. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 33, p. 363-366, 1998.

SINGH, B.; DIXIT, V. D.; SINGH, P.; GEORGIE, G. C.; DIXIT, V. P. Plasma inhibin levels in relation to steroids and gonadotrophins during oestrous cycle in buffalo. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 36, n. 3-4, p. 163-167, 2001.

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.

TAILOR, S. P.; JAIN, L. S.; GUPTA, H. K.; BHATIA, J. S. Oestrus and conception rates in buffaloes under village conditions. **Indian Journal Animal Science**, v. 60, p. 1020-21, 1990.

TANEJA, M.; ALI, A.; SINGH, G. Ovarian follicular dynamics in water buffalo. **Theriogenology**, v. 46, p.121-30, 1996.

TY, L. V.; CHUPIN, D.; DRIANCOURT, M. A. Ovarian follicular populations in buffaloes and cows **Animal Reproduction Science**, v. 19, n. 3-4, p. 171-178, 1989. (abstract).

USMANI, R. H.; AHMAD, M.; INSKEEP, E. K.; DAYLE, R. A.; LEWIS, P. E.; LEWIS, G. S. Uterine involution and postpartum ovarian activity in Nilli-Ravi buffaloes. **Theriogenology**, v. 24, p. 435-48, 1985a.

USMANI, R. H.; ULLAH, N.; SHAH, S. K. A note on the effect of suckling stimulus on uterine involution, postpartum ovarian activity and fertility in Nili Ravi buffaloes. **Animal Production**, v.41, p. 119-122, 1985b.

USMANI, R. H.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K. Effects of limited suckling and varying prepartum nutrition on postpartum reproductive traits of milked buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 6, p. 1564-1570, 1990.

USMANI, R. H.; AHMAD, N.; SHAFIQ, P.; MIRZA, M. A. Effect of subclinical uterine infection on cervical and uterine involution, estrous activity and fertility in postpartum buffaloes. **Theriogenology**, v. 55, p. 563-571, 2001.

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, n. 2, p. 63-73, 2005.

VALE, W. G.; RIBEIRO, H. F. L.; SOUSA, J. S.; OHASHI, O. M. Involução uterina e atividade ovariana pós-parto em búfalas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 10, p. 187-192, 1986.

VALE, W. G.; RIBEIRO, H. F. L.; SOUSA, J. S.; OHASHI, O. M. Involución uterina y actividad ovarica post-parto en búfalas, *Bubalus bubalis* lin. **Memorias del Curso Internacional de Reproducción Bufalina**. Medellín: Impresos Caribe, p. 59-63, 2002.

WARRIACH, H. M.; AHMAD, N. Follicular waves during the oestrous cycle in Nili-Ravi buffaloes undergoing spontaneous and PGF $2\alpha$  - induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v. 3-4, p. 332-337, 2007.

YINDEE, M.; TECHAKUMPHU, M.; LOHACHIT, C.; SIRIVAIYAPONG, S.; NACHANGMAI, A.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; VAN DER WEYDEN, G. C.; COLENBRANDER, B. Follicular dynamics and oestrous detection in Thai postpartum Swamp Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Reproduction of Domestic Animals**, v. 46, p. e91–e96, 2011.

ZICARELLI, L. Buffalo Milk: Its Properties, Dairy Yield and Mozzarella Production. **Veterinary Research Communications**, v. 28, p. 127–135, 2004.

ZOLLERS, Jr, W. G.; GARVERICK, H. A.; SMITH, M. F.; MOFFATT, R. J.; SALFEN, B. E.; YOUNGQUIST, R. S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 329-337, 1993.

ZULU, V. C.; NAKAO, T.; SAWAMUKAI, Y. Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 8, p. 657-65, 2002.

## **CAPÍTULO 2**

**CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE OVARIANA E ENDÓCRINA  
NO PÓS-PARTO DE BÚFALAS MURRAH CRIADAS NO CENTRO-OESTE  
BRASILEIRO**

## 1 RESUMO

O reinício da atividade ovariana e a involução uterina após o parto são fundamentais para garantir o próximo ciclo reprodutivo. O objetivo deste estudo foi caracterizar a atividade ovariana, o perfil hormonal e suas interações no período pós-parto de búfalas da raça Murrah, criadas no Centro-Oeste brasileiro, com partições durante a estação reprodutiva (fotoperíodo decrescente), como subsídio para o incremento dos índices reprodutivos e produtivos. Foram utilizadas 15 búfalas (6 primíparas e 9 pluríparas) paridas durante o outono (abril e maio), com escore de condição corporal entre 3,5 e 4,0 (1 = muito magra, 5 = muito gorda), mantidas a pasto antes e após o parto durante todo o período experimental, ordenhadas mecanicamente, sem bezerro ao pé, uma vez ao dia. Diariamente, desde o sétimo dia pós-parto até a manifestação do primeiro estro, as búfalas foram submetidas a exame ginecológico (palpação retal e ultrassonografia transretal) para avaliação uterina e ovariana e a colheita de sangue para dosagem de progesterona (P4), FSH, LH, insulina e cortisol. No 7º dia pós-parto a concentração de P4 foi basal ( $P4 \leq 0,4$  ng/mL) assim como no dia do primeiro estro pós-parto (PEPP). Entretanto, as primíparas apresentaram menor concentração de P4 basal que as pluríparas ( $P < 0,05$ ). O desenvolvimento folicular ocorreu no padrão de ondas foliculares. A primeira ovulação pós-parto (POPP) não foi precedida por sinais de estro, aconteceu ao final da primeira ou da segunda onda folicular e foi mais tardia ( $P < 0,05$ ) nas primíparas ( $20,2 \pm 7,5$  dias) que nas pluríparas ( $13,0 \pm 4,0$  dias). O período para involução uterina (PIU) foi similar ( $P > 0,05$ ) nas primíparas ( $25,4 \pm 3,8$  dias) e nas pluríparas ( $26,3 \pm 6,4$  dias). A primeira fase lútea teve duração variável de 2 a 23 dias e foi classificada em muito curta (2 a 5 dias); curta (6 a 10 dias); média (11 a 18 dias) e longa (19 ou mais dias). A concentração de P4 foi maior em animais que apresentaram fase lútea de duração média. O PEPP ocorreu aos  $38,0 \pm 10,8$  dias nas primíparas e aos  $41,9 \pm 8,0$  dias nas pluríparas ( $P > 0,05$ ). Todos os estros foram precedidos de uma ou duas ovulações, sendo que 84,6% aconteceram após uma fase luteínica média e os demais após uma fase muito curta. Não foram observadas diferenças nas

concentrações de insulina e de cortisol entre primíparas e pluríparas. A concentração de cortisol na semana anterior ao parto foi correlacionada positivamente com o PIU ( $P < 0,05$ ) e com o PEPP ( $P < 0,01$ ). Os perfis de FSH e LH só puderam ser caracterizados em seis animais e nestes foi possível observar maior concentração precedendo as ovulações. Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) no intervalo parto-concepção (IPC) e no número de coberturas por concepção (NCC) entre primíparas ( $55,8 \pm 12,2$  dias e  $2,0 \pm 1,0$  coberturas, respectivamente) e pluríparas ( $65,7 \pm 27,1$  dias e  $2,1 \pm 0,8$  coberturas, respectivamente). A taxa de prenhez ao final da estação foi de 100% nas primíparas e de 65% nas pluríparas. O perfil hormonal na retomada da atividade ovariana apresentou muita variação entre os animais. Embora as primíparas apresentem a POPP mais tarde que as pluríparas, não há diferença quanto ao PIU, o PEPP, o IPC e o NCC entre estas duas categorias. Búfalas Murrah criadas a pasto na região Centro-Oeste brasileira reiniciam a ciclicidade reprodutiva pós-parto em um período suficientemente curto que permite a produção de uma cria por ano.

Palavras-chave: estro, involução uterina, ovulação, progesterona, puerpério.



## 2 ABSTRACT

The resumption of ovarian activity and the uterine postpartum involution are essential to ensure the next reproductive cycle. The objective of this study was to characterize ovarian activity, hormonal profile and their interactions in postpartum Murrah buffaloes, reared in Brazilian Center West with calving during the breeding season (decreasing photoperiod), as a subsidy to the productive and reproductive increase. Fifteen buffaloes (6 and 9 primiparous pluriparous) with eutocic calving during autumn (April and May), body condition score ranging 3.5 and 4.0 (1 = emaciated, 5 = very fat), kept on pasture before and after birth throughout all the experimental period were used. The animals were mechanically milked once a day, without calf. Daily, from the seventh day after delivery until the first manifestation of estrus, the buffaloes were submitted to gynecological examination (rectal palpation and transrectal ultrasound) to evaluate uterine and ovarian conditions and blood collection for measurement of progesterone (P4), FSH, LH, insulin and cortisol. On the 7th day postpartum as well as on the day of first postpartum estrus (FEPP) the concentration of P4 was basal ( $P4 \leq 0.4$  ng / mL). However, primiparous cows had lower baseline concentrations of P4 than pluriparous ( $P < 0.05$ ). The follicular development occurred in the pattern of follicular waves. The first postpartum ovulation (FOPP) was not preceded by signs of estrus, occurred at the end of the first or second follicular wave, was later ( $P < 0.05$ ) in primiparous ( $20.2 \pm 7.5$  days) than in pluriparous ( $13.0 \pm 4.0$  days). The uterine involution period (UIP) was similar ( $P > 0.05$ ) in primiparous ( $25.4 \pm 3.8$  days) and in pluriparous ( $26.3 \pm 6.4$  days). The first variable luteal phase lasted from 2 to 23 days and was classified as very short (2 to 5 days), short (6 to 10 days), medium (11 to 18 days) and long (19 or more days). The P4 concentration was higher in animals with luteal phase of medium duration. The FEPP occurred at  $38.0 \pm 10.8$  days in primiparous and  $41.9 \pm 8.0$  days in pluriparous ( $P > 0.05$ ). All heats were preceded by one or two ovulations, and 84.6% occurred after an average luteal phase and the other after a period very short. No differences were observed in concentrations of insulin and cortisol, among primiparous and pluriparous. The concentration of cortisol in the weeks before delivery was positively correlated with UIP ( $P < 0.05$ ) and the FEPP ( $P < 0.01$ ). The profiles of FSH and LH could only be characterized in six animals and in these was observed a higher concentration preceding ovulation. There was no difference ( $P > 0.05$ ) in calving-conception interval (CCI) and the number of matings per conception (NMC) between primiparous ( $55.8 \pm 12.2$  days and  $2.0 \pm 1.0$  matings, respectively) and pluriparous ( $65.7 \pm 27.1$  days and  $2.1 \pm 0.8$  matings, respectively). The pregnancy rate at the end of the season

was 100% in primiparous and 65% in pluriparous. The hormonal profile in the resumption of ovarian activity showed variation among animals. Although the primiparous FOPP presentation was later than in pluriparous there is no difference in the UIP, the FEPP, the CPI and the NMC between these two categories. Murrah buffaloes raised on pasture in the Brazilian Center west restart reproductive postpartum cyclicity in a short period, enough to allow the production of a calf per year.

**Key-words:** estrus, ovulation, postpartum, progesterone, uterine involution.

### 3 INTRODUÇÃO

Na produção bubalina, como em qualquer produção pecuária, a reprodução deve ser eficiente para garantir a lucratividade. Um intervalo entre partos prolongado reduz a produtividade, levando a perdas econômicas que desestimulam a produção. Para que os índices produtivos sejam maximizados, o intervalo entre partos deve ser de 12 a 14 meses. Considerando-se que o período de gestação é de 10 meses e que esta espécie apresenta sazonalidade reprodutiva, é necessário um rápido retorno da atividade dos órgãos reprodutores pós-parto.

A involução uterina e o reinício da atividade ovariana após o parto são fundamentais para garantir o próximo ciclo reprodutivo. Entretanto, têm sido relatadas variações significativas tanto no período de involução uterina quanto no retorno da ciclicidade de fêmeas bubalinas. Diversos fatores têm sido associados a esta variabilidade, sendo a nutrição e a sazonalidade reprodutiva os mais apontados.

Para maximização da eficiência reprodutiva é necessário conhecer a dinâmica folicular pós-parto, os mecanismos que a controlam e o conseqüente reinício da atividade cíclica. O conhecimento destas características fisiológicas permite a identificação imediata de processos patológicos e aplicação adequada de biotecnologias reprodutivas.

A dinâmica folicular em búfalos com atividade cíclica já é conhecida (Taneja et al., 1996; Baruselli et al., 1997; Manik et al., 1998, Awasthi et al., 2006; Warriach & Ahmed, 2007). Contudo, os dados relativos à atividade ovariana durante o anestro pós-parto em búfalas de rio durante a estação reprodutiva (outono-inverno) são conhecidos somente através de avaliação ginecológica por palpação retal e dosagem de progesterona (Jainudeen et al., 1983; Usmani et al., 1985a; Baruselli, 1994). Recentemente a ultrassonografia foi utilizada para avaliar a dinâmica folicular em búfalas de rio, mas fora da estação reprodutiva (Presicce et al., 2005) e em búfalas de pântano (Yindee et al., 2011). Assim, apesar de ser conhecido o momento do reinício da atividade ovariana em búfalas considerando-se a

primeira ovulação ou o primeiro estro, pouco se sabe sobre a dinâmica folicular durante o anestro pós-parto, sobre as concentrações, alterações e interações hormonais durante este período. Formulamos a hipótese de que as primíparas necessitam de um maior período para retomar a atividade ovariana após o parto e de um menor período para a involução uterina em relação as pluríparas.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a dinâmica ovariana, o perfil hormonal e suas interações no período pós-parto, durante a estação reprodutiva, de búfalas de rio, primíparas e pluríparas, da raça Murrah, no Centro-oeste do Brasil, como subsídio para o incremento dos índices reprodutivos e produtivos.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado em parceria entre a Universidade de Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Faculdades Integradas da UPIS. O experimento foi realizado no Setor de Bubalinocultura da Fazenda Lagoa Bonita – Faculdades Integradas da UPIS, em Planaltina, DF (15°34' S de latitude e 47°43' W de longitude e altitude de 1005 m), região Centro-oeste brasileira, bioma Cerrado, clima tropical de altitude, com verão úmido e chuvoso, e inverno seco (umidade relativo de 20% ou menos) e frio; estação seca de maio a setembro (10 a 15% da precipitação anual) e chuvosa de outubro a abril, com temperatura média anual de 21 °C.

### **4.1 Animais**

Quinze búfalas leiteiras da raça Murrah, seis primíparas (3 anos) e nove pluríparas (cinco de 4 anos, 2º parto e quatro de 5 anos, 3º parto) paridas no outono (partos eutócicos), clinicamente saudáveis; com bom escore de condição corporal. Essas búfalas, nascidas e criadas no mesmo local onde este estudo foi realizado, foram mantidas a pasto e suplementadas com sal mineral durante todo o período experimental.

Do 7º dia pós-parto (D7 sendo D0 o dia do parto) até a manifestação do primeiro estro e cobertura, as fêmeas foram conduzidas diariamente, após a ordenha, até o curral de manejo, onde foram submetidas a exame ginecológico (palpação retal, ultrassonografia transretal) e coleta de sangue. Para minimizar alguma influência negativa motivada pelo estresse da manipulação dos animais, foi oferecido 200 g de concentrado comercial com 20% de proteína em um cocho no chão, à frente do animal, após a colheita do sangue, durante a palpação retal e exame ultrassonográfico.

## **4.2 Peso, Escore de Condição Corporal e Produção de Leite**

As avaliações do peso vivo e do escore de condição corporal (ECC) foram realizadas aos 7, 15, 30 dias após o parto e no dia do primeiro estro pós-parto (PEPP). O peso vivo foi aferido em uma balança eletrônica (TRU-Test EC2000, Fujihira Industry, Co. Ltd., Tokyo, Japan) e o ECC (em uma escala de 1 a 5, onde 1 é muito magra e 5 muito gorda) de acordo com o descrito por Edmonson et al. (1989).

Os animais eram ordenhados uma vez ao dia, com ordenhadeira mecânica e sem bezerro ao pé, junto com os demais animais do rebanho. O leite produzido foi mensurado uma vez por semana (Mark 5 Milk Meter, Waikato Milking Systems NZ Ltd, Hamilton, New Zealand). Foi considerada a produção dos primeiros 60 dias de lactação.

## **4.3 Avaliação Uterina - Palpação Retal**

O útero foi examinado antes da introdução do transdutor para o exame ultrassonográfico e foi avaliado quanto à espessura, simetria, contratilidade e tônus dos cornos uterinos. A involução uterina foi considerada completa quando o útero atingiu seu menor tamanho, os cornos uterinos apresentaram-se simétricos, com consistência e tônus compatível com o de uma fêmea não prenhe.

## **4.4 Avaliação Ovariana - Exame Ultrassonográfico**

A dinâmica folicular foi avaliada por ultrassonografia retal (transdutor de 7,5 MHz; SSD-500, Aloka Co., Tokyo). No momento do exame, o transdutor foi direcionado sobre a superfície dos ovários os quais foram escaneados várias vezes e, quando oportuno, a imagem do monitor foi congelada para a mensuração dos ovários, dos folículos e dos corpos lúteos, se presentes. Os folículos menores de 3 mm não foram medidos, apenas contados. Durante cada exame foram desenhados diagramas com o posicionamento relativo dos folículos de diâmetro  $\geq 3$  mm. Quando a imagem do folículo acompanhado não pareceu esférica, o diâmetro foi estimado pela média do maior e menor diâmetro. A ovulação foi definida quando um folículo  $\geq 10$  mm desapareceu de um exame para outro, seguido do aumento de progesterona plasmática, dentro de 5 dias, para uma concentração  $\geq 0,7$  ng/mL (Jainudeen et al., 1983).

#### **4.5 Colheita de Sangue**

As amostras de sangue foram obtidas através de venopunção da jugular, em tubos sem e com anticoagulante (EDTA), em dias alternados desde o 7º dia pós-parto até a detecção da 1ª ovulação e a partir de então, diariamente até a apresentação do 1º estro. A partir do 1º estro (D0) foram colhidas amostras no D7, D14, D21 e D28. Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm durante 15 minutos para a extração do soro e plasma, os quais foram acondicionados em tubos modelo Eppendorf de 1,5 ml, identificados quanto ao animal, à data da coleta e tipo de amostra (soro/plasma) e estocados a -20°C até a realização das análises.

#### **4.6 Detecção de Estro, Cobertura e Diagnóstico de Gestação**

A detecção do estro foi realizada com auxílio de um rufião com desvio lateral do pênis utilizando buçal marcador, mantido durante todo o período experimental com as fêmeas. As observações foram realizadas duas vezes ao dia, no início da manhã e no final da tarde. Foram consideradas em estro somente as fêmeas que aceitaram a monta do rufião.

Os acasalamentos foram realizados através de monta controlada a partir da manifestação do primeiro estro e foi repetida, quando necessário, até no máximo o terceiro estro. Um touro de fertilidade comprovada foi utilizado para todas as fêmeas. O diagnóstico de gestação foi realizado por palpação retal 40 – 50 dias após a monta.

#### **4.7 Análise Hormonal**

As análises hormonais foram realizadas no Laboratório de Radioimunoensaio da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF e no Laboratório de Endocrinologia da UNESP, Araçatuba, SP.

As concentrações plasmáticas de FSH e LH foram mensuradas por radioimunoensaio (RIE) validado para uso em bovinos (Bolt & Rollins, 1983; Bolt et al., 1990). Um teste paralelo foi realizado para validação na espécie bubalina. A sensibilidade foi de 0,03 ng/mL para o FSH e de 0,06 ng/mL para o LH. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio foi de 4,22; 9,03; 4,66 e 5,5% para o FSH e de 21,20; 21,05; 1,48 e 1,87% para o LH, e o CV inter-ensaio foi de 12,23 e 37,36 % para o FSH e LH respectivamente.

A concentração plasmática de progesterona (P4), cortisol e insulina foram mensuradas por kits comerciais de RIE conforme indicação do fabricante. As análises de cortisol (Cortisol Coat-A-Count® kit, Siemens, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA) e insulina (Insuline Coat-A-Count® kit, Siemens, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA) foram realizadas em um único ensaio. A sensibilidade e o CV para o ensaio de cortisol foi de 0,06 µg/dL e 0,9 %, respectivamente. O ensaio de insulina teve sensibilidade de 0,5 µUI/mL e CV intra-ensaio de 0,34%. O ensaio de Progesterona (Progesterone Coat-A-Count® kit, Diagnostic Products Corp., Los Angeles, CA) teve sensibilidade de 0,02 ng/mL; o CV intra-ensaio de 3,11; 2,90 e 8,36%. e inter ensaio de 1,5%

A fase lútea foi considerada a partir do primeiro dia em que a concentração de P4 foi igual ou superior a 0,7 ng/mL (Jainudeen, 1983), até o dia anterior a queda da concentração para valores abaixo de 0,7 ng/mL. Foi classificada quanto a duração em muito curta (2 a 5 dias), curta (6 a 10 dias); média (11 a 18 dias) e longa (19 ou mais dias).

#### **4. 8 Análise Estatística**

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com dois grupos experimentais (primíparas e pluríparas). Foi realizada Análise de Variância e Teste Exato de Fisher para analisar as diferenças entre os grupos (primíparas e pluríparas) para as variáveis reprodutivas mensuradas quantitativamente, peso no D7 e no estro, escore de condição corporal, produção de leite e concentrações hormonais plasmáticas. Para determinar as correlações entre os diferentes parâmetros foram realizadas análise de Correlação de Pearson. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o *software STATISTICA* versão 7 (Statsoft, 2004).



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as 15 búfalas observadas, uma primípara permaneceu em anestro durante todo o período experimental e uma plurípara apresentou cisto folicular na primeira onda folicular pós-parto. Estes dois animais foram desconsiderados das análises.

### 5.1 Avaliação Uterina

O período para a involução uterina (PIU) foi similar ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas com variação de 20 a 36 dias (Tabela 1). Somente em uma primípara a involução uterina ocorreu antes da primeira ovulação pós-parto (24 e 28 d, respectivamente) e em uma primípara aconteceu no mesmo dia do primeiro estro pós-parto (22 d). Nenhum dos animais deste estudo apresentou infecção uterina clínica após o parto durante todo o período experimental.

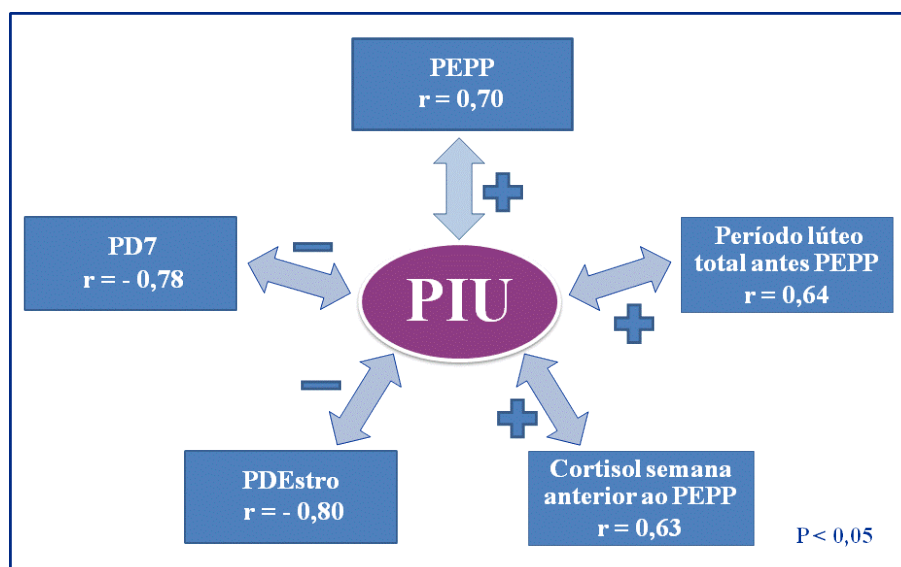
**Tabela 1** – Média (desvio padrão) das variáveis reprodutivas avaliadas no pós-parto de búfalas da raça Murrah primíparas e pluríparas

Variáveis	Primíparas n = 5	Pluríparas n = 8
Involução uterina (dias)	25,4 (3,85)	26,2 (6,39)
Número da onda folicular em que ocorreu a primeira ovulação	1,60 (0,55)	1,25 (0,46)
Diâmetro do folículo dominante no dia anterior à primeira ovulação (mm)	11,1 (1,11)	11,7 (0,45)
Primeira ovulação pós-parto (dias)	20,2 <sup>a</sup> (7,53)	13,0 <sup>b</sup> (4,04)
Número de ovulações até o 1º estro	1,20 <sup>b</sup> (0,45)	1,75 <sup>a</sup> (0,46)
Número da onda folicular em que ocorreu o primeiro estro	3,60 (1,14)	4,25 (0,46)
Diâmetro do folículo dominante no dia do estro (mm)	11,8 (1,61)	11,2 (1,16)
Primeiro estro pós-parto (dias)	38,0 (10,84)	41,9 (8,03)
Intervalo parto-concepção (dias)	55,8 (12,2)	65,7 (27,1)
Nº de coberturas/ concepção	2,00 (1,00)	2,13 (0,83)

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,05$ ).

Os resultados para a involução uterina encontrados no presente trabalho estão de acordo com o observado por Presicce et al. (2005) que também não observaram diferença entre primíparas ( $31 \pm 1,0$  d) e pluríparas ( $33 \pm 1,3$  d) e Usmani et al. (1990) que não observaram influencia do número de partições. PIU semelhantes com médias variando de  $25,2 \pm 5,4$  a  $28,6 \pm 6,6$  dias tem sido relatados (Usmani et al., 1985a; Vale et al., 1986; Baruselli et al., 1996; Rolin Filho, 2011). Porém, o PIU observado neste trabalho foi mais curto do que o observado por Presicce et al. (2005). Uma grande variação no PIU médio (19 a 52 dias) e individual (15 a 74 dias) foi observada por El-Wishy (2007a) ao analisar diversos trabalhos publicados. Esta variação deve-se aos muitos fatores que podem afetar este período, entre eles a estação do ano (Bahga & Gangwar, 1988; Usmani et al., 1990); alterações no parto e puerpério (El-Wishy, 2007a; Usmani et al., 2001); produção de leite (Bahga et al., 1988); tamanho do bezerro ao nascer (Bahga et al., 1988, Baruselli et al., 1996) e sistema de ordenha (Usmani et al. 1985b e 1990). Além disso, deve-se considerar que a estimativa por palpação retal pode variar na dependência da metodologia utilizada para a avaliação uterina (p.ex. o intervalo entre exames) e a variação natural entre os indivíduos avaliadores.

Embora Bahga et al. (1988) observaram correlação positiva da PIU com a produção de leite (2.300 kg/lactação), isto não foi observado nesse trabalho. É possível que esta correlação só seja observada em animais com produção de leite maior do que a dos animais desse estudo (produção máxima 1.660 kg/lactação). As correlações observadas com o PIU no presente trabalho são apresentadas na Figura 1.



**Figura 1** – Coeficientes de correlação de Pearson (r) do período de involução uterina (PIU) com PEPP, Período Lúteo antes do PEPP, Cortisol na primeira semana, PDEstro e PD7 observadas em búfalas da raça Murrah ( $P < 0,05$ ).

A correlação positiva do PIU com o período lúteo total ( $P4 \geq 0,7$  ng/mL) antes do primeiro estro pós-parto (primeira fase lútea somada à segunda fase lútea pré-estro, quando esta existiu) é explicada pela necessidade de reação inflamatória com regeneração celular e de contratilidade do miométrio para a efetivação da involução uterina (Noakes, 2001). Como a progesterona diminui a contratilidade e a imunidade uterina, sua presença tende a aumentar o PIU. Entretanto, não foi observada correlação entre a primeira ovulação pós-parto e o período para involução uterina. É possível que a ausência da correlação entre estas duas variáveis se deva à presença de primeiras fases luteínicas muito curtas.

## 5.2 Avaliação Ovariana

A maioria dos ovários (69,2%) não pôde ser alcançada para exame no D7, podendo ser examinados somente a partir do 8º ou 9º dia após o parto. Entre os ovários que puderam ser examinados no D7, 75% eram de primíparas.

Foi observado crescimento folicular no padrão de ondas em todas as búfalas após o parto e cada ciclo ovulatório foi composto por uma (42,4%), duas (48,5%) ou três (9,0%) ondas foliculares.

Desde o D7 pode-se observar que o puerpério de búfalas Murrah durante a estação reprodutiva é caracterizado por ondas de crescimento folicular, assim como ocorre durante os ciclos estrais (Baruselli et al., 1997; Manik, et al., 1998), no puerpério de búfalas de rio da raça Mediterrânea fora da estação reprodutiva (Presicce et al., 2005) e no puerpério de búfalas de pântano durante a estação reprodutiva (Yindee et al., 2011). Durante o puerpério, até a manifestação do primeiro estro, os ciclos ovulatórios foram compostos por uma a três ondas foliculares havendo predomínio de uma e de duas ondas, bastante similar ao observado durante o ciclo estral, contudo em animais cíclicos tem sido observado predomínio de duas ondas foliculares por ciclo estral (Taneja et al., 1996; Baruselli et al., 1997; Manik et al., 1998, Awasthi et al., 2006; Warriach & Ahmed, 2007).

Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas quanto ao número da onda folicular em que ocorreu a primeira ovulação pós-parto (Tabela 1). Esta ovulação ocorreu na primeira (61,5%) ou na segunda (38,5%) onda folicular; 40,0% das primíparas e 75,0% das pluríparas tiveram a primeira ovulação na primeira e as demais na segunda onda folicular. Presicce et al. (2005) também observaram a primeira ovulação na primeira ou na segunda onda folicular, embora em búfalas de pântano Yindee et al. (2011) verificaram a

primeira ovulação acontecendo desde a primeira até a quarta onda folicular. A precocidade do reinício da atividade ovariana pós-parto desta espécie indica o seu potencial reprodutivo.

O diâmetro do folículo dominante (FD) no dia anterior à POPP (primeiro folículo ovulatório pós-parto) foi semelhante entre primíparas e pluríparas ( $P > 0,05$ ; Tabela 1), o que está de acordo com o relatado por Presicce et al. (2005). Entretanto estes folículos foram menores do que os observados por Yindee et al. (2011) em búfalas de pântano da raça Thai ( $13,5 \pm 0,5$  mm) e por Presicce et al. (2005) em búfalas de rio da raça Mediterrânea ( $13,5 \pm 0,8$  e  $14,1 \pm 0,4$  primíparas e pluríparas, respectivamente;  $P > 0,05$ ) que pariram fora da estação reprodutiva. Esta diferença pode estar relacionada com a subespécie e com a época do ano devido às diferenças de desenvolvimento folicular existente durante os períodos estacional reprodutivo e não reprodutivo em consequência do fotoperíodo (Taneja et al., 1995; Singh et al., 2000; Zicarelli e Vale, 2002; Manjunatha et al., 2009). É possível que folículos que se desenvolvam em um período com fotoperíodo maior necessitem obter maior desenvolvimento e consequente maior produção de estradiol para realizar o *feedback* positivo para liberação de LH e/ou para adquirirem suficientes receptores de LH. Corroborando esta observação tem-se o período parto-primeira ovulação que foi menor no presente trabalho quando comparado às búfalas estudadas fora da estação reprodutiva por Presicce et al. (2005). Também deve ser considerada a possibilidade da produção de leite e o metabolismo afetarem o diâmetro do folículo ovulatório, como já demonstrado em bovinos de leite (Sartori et al., 2004).

O diâmetro do primeiro folículo ovulatório pós-parto observado neste trabalho também foi menor do que os observados em búfalas de rio cíclicas das raças Murrah (Taneja et al., 1996; Baruselli, et al., 1997) e Mehsana (Awasthi et al., 2006). Entretanto são semelhantes aos observados por Ghuman et al. (2010) em novilhas búfalas cíclicas fora da estação reprodutiva ( $11,5 \pm 0,6$  mm, variação: 10,3 – 13,5 mm) e aos reportados por Ali & Fahmy (2007) como folículos capazes de responder ao GnRH exógeno. Segundo Campanile et al. (2010) os folículos bubalinos adquirem a capacidade de ovular quando atingem 5 a 8 mm, mas necessitam desenvolver mais para produzir estradiol suficiente para induzir o pico pré-ovulatório de LH através do *feedback* positivo sobre o hipotálamo. Entretanto Gimenes et al. (2011) somente obtiveram ovulação de folículos que apresentavam diâmetro  $\geq 8,5$  mm no momento em que receberam LH exógeno.

O diâmetro do FD no dia anterior à POPP foi correlacionado negativamente ( $P < 0,05$ ) com o número da onda folicular em que ocorreu a POPP ( $r = - 0,91$ ) e com o dia em que ocorreu a POPP ( $r = - 0,93$ ). Porém, o diâmetro do primeiro folículo ovulatório não foi

correlacionado com o período para a primeira elevação de P4 após a ovulação, a duração da primeira fase lútea, nem com a concentração plasmática máxima e média de P4 durante esta primeira fase lútea.

Nenhuma das búfalas avaliadas neste trabalho apresentou estro precedendo a primeira ovulação pós-parto (POPP) e 53,84% também não apresentaram na segunda ovulação o que está de acordo com o relatado por vários autores (Usmani et al., 1990; Baruselli, 1992; Yindee, et al., 2011).

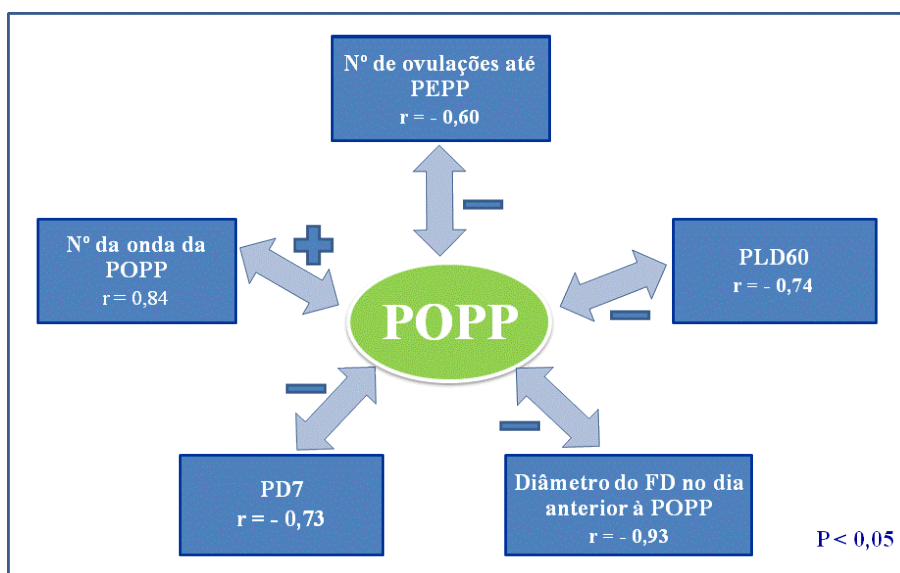
A POPP ocorreu mais tarde ( $P < 0,05$ ; Tabela 1) nas primíparas (variação de 13 a 28 dias) do que nas pluríparas (variação de 08 a 19 dias). Entretanto esta diferença não foi observada por Presicce et al. (2005) em búfalas de rio da raça Mediterrânea fora da estação reprodutiva. Além disso, a POPP observada pelos citados autores foi um pouco mais tardia ( $25,5 \pm 6,9$  d, variação: 16 - 46 d vs  $15,5 \pm 1,3$  d, variação: 8 a 20 d, primíparas e pluríparas, respectivamente;  $P > 0,05$ ), sendo a diferença mais marcante nas primíparas.

A POPP no presente estudo também ocorreu mais cedo do que a observada em búfalas Murrah ( $36,6 \pm 16,8$  d, variação de 17 a 87 d) por Baruselli (1992), em Nili Ravi ( $33,8 \pm 9,7$  d) por Usmani et al. (2001) e em búfalas de pântano da raça Thai ( $39,81 \pm 3,38$  d) por Yindee et al. (2011). Esta diferença pode estar relacionada à variação na metodologia entre os estudos e a subespécie. Assim como neste trabalho, Presicce et al. (2005) e Yindee et al. (2011) realizaram observações diárias através de ultrassonografia, já nos demais trabalhos o exame foi realizado por palpação retal e com menor frequência (duas vezes por semana). Como os corpos lúteos (CL) muitas vezes encontram-se inclusos no estroma ovariano é mais difícil a percepção pela palpação retal, para confirmar a ovulação (Drost, 2007). Usmani et al. (1990) observaram uma eficiência de 10 a 34% para observar CL no início da atividade luteal, e ainda, o período durante o qual os CL palpáveis eram observados foi 2 a 3 dias mais curto que o período de alta concentração de P4. Além disso, como foi verificado neste estudo, a elevação de P4 pode durar tão pouco tempo quanto 2 a 3 dias e a elevação pode ser de apenas 0,79 ng/mL e não 1 ng/mL como considerado por Usmani et al. (1990) para determinar um CL funcional.

El Wishy (2007b), em revisão, relata variação de 28 a 71 dias para POPP observada por palpação retal e de 24 a 55 dias por dosagem de progesterona em búfalas de rio, já em búfalos de pântano a ovulação mais precoce relatada é de 67 dias observada por dosagem de P4.

O intervalo de tempo existente entre os estudos que relatam a primeira ovulação em búfalas de rio durante a estação de monta e este trabalho é bastante grande, deste

modo, além da variação de ambiente, a seleção e melhoramento genético animal podem também ter afetado esses resultados. Em bovinos da raça holandesa, Darwash et al. (1997a) observaram que o intervalo parto-primeira ovulação é correlacionado positivamente com intervalo parto primeiro estro, intervalo parto concepção, número de serviços por concepção e concepção ao primeiro serviço, medidas tradicionalmente utilizadas para avaliar a fertilidade. Entretanto no presente trabalho não foram observadas correlações da POPP com os parâmetros citados, as correlações observadas são apresentada na Figura 2. Além disso, Darwash et al. (1997b) demonstraram que POPP em bovinos da raça holandesa apresenta herdabilidade de 0,21 ( $P < 0,01$ ) e repetibilidade de 0,26 ( $P < 0,001$ ).



**Figura 2** – Coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) da primeira ovulação pós-parto (POPP) com N° de ovulações até PEPP, PLD60, Diâmetro do FD no dia anterior à POPP, PD7 e N° da onda da POPP observadas em búfalas da raça Murrah. ( $P < 0,05$ ).

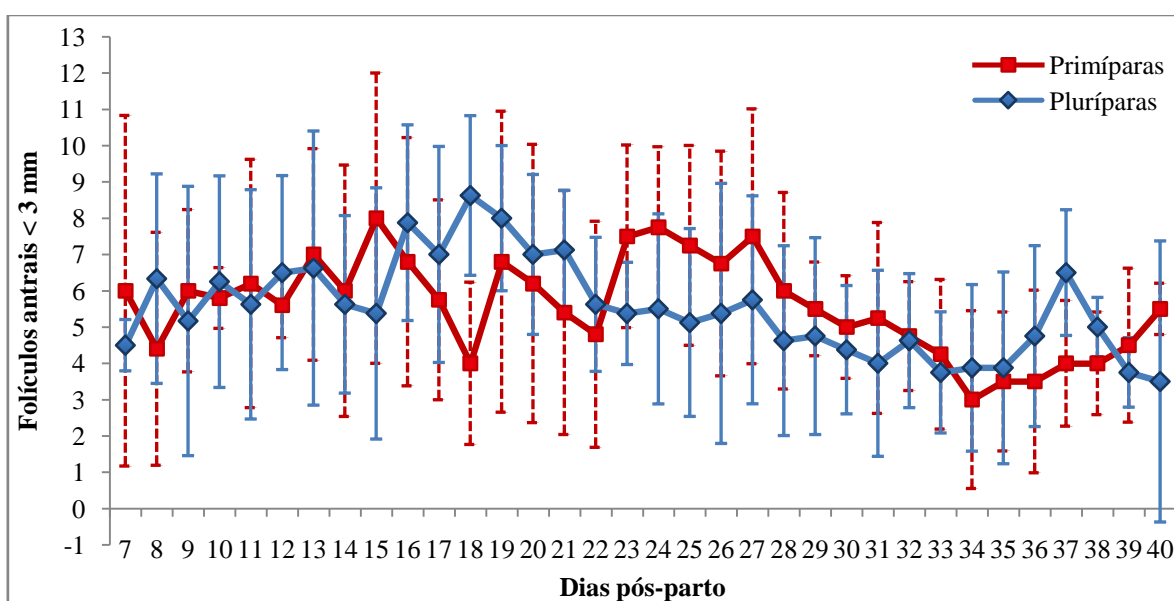
Todas as búfalas tiveram uma ou duas ovulações e consequente fase lútea antes da manifestação do primeiro estro pós-parto, sendo que as primíparas tiveram menor ( $P < 0,05$ ) número de ovulações antes da manifestação do primeiro estro (Tabela 1). Entre os animais que tiveram a POPP na primeira onda folicular, 87,5% apresentaram uma segunda ovulação antes do primeiro estro pós-parto. Todas as búfalas que tiveram a primeira ovulação na segunda onda folicular e uma que ovulou na primeira onda folicular manifestaram estro precedendo a segunda ovulação.

Entre os animais que tiveram duas ovulações antes do primeiro estro pós-parto, 85,71% apresentaram a segunda ovulação na segunda onda folicular e no restante na terceira onda. Apenas uma primípara teve uma segunda fase lútea antes do primeiro estro pós-parto.

O número da onda folicular em que ocorreu o primeiro estro pós-parto foi semelhante ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas. Sendo que o primeiro estro pós-parto nas primíparas ocorreu na segunda, terceira, quarta ou na quinta onda folicular. Enquanto que nas pluríparas ocorreu somente na quarta ou na quinta onda folicular.

O diâmetro do folículo dominante no dia do estro foi semelhante ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas (Tabela 1). Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os diâmetros dos folículos dominantes da primeira ovulação, da segunda ovulação e do primeiro estro pós-parto, tendo em média  $11,72 \pm 1,38$  mm.

O número de folículos antrais  $< 3$  mm observados diariamente durante o exame ultrassonográfico desde o 7º dia pós-parto até 40 dias pós-parto (média do primeiro estro pós-parto das primíparas e pluríparas) está representado na Figura 3. A média total (DP) de folículos  $< 3$  mm ao longo deste período foi  $5,60 \pm 1,32$  nas primíparas e  $5,52 \pm 1,31$  folículos nas pluríparas ( $P > 0,05$ ).



**Figura 3** - Média (DP) de folículos antrais  $\leq 3$  mm observados desde o 7º dia pós-parto até o dia médio (40 d) do primeiro estro pós-parto de búfalas Murrah primíparas e pluríparas.

### 5.3 Primeiro Estro Pós-Parto

O período médio para a manifestação do primeiro estro pós-parto (PEPP) foi semelhante ( $P > 0,05$ ) entre as primíparas (variação de 22 a 52 dias) e pluríparas (variação de 36 a 59 dias) (Tabela 1). O PEPP precedeu a segunda ovulação em 80% das primíparas e em 25% das pluríparas e, nos demais animais precedeu a terceira ovulação pós-parto. A

confirmação da ovulação pós-estro foi realizada por dosagem de progesterona e foi confirmada em 92,31% das búfalas.

O PEPP tem sido observado dentro de um período bastante variável, o período observado nas búfalas primíparas e pluríparas deste trabalho foi um dos mais curtos entre os publicados. Em revisões de literatura foi relatada variação de 44 a 190 dias (Vale & Ribeiro, 2005; El-Wishy, 2007b). No Brasil, foi observada média de  $42,0 \pm 8,8$  d, em búfalas mestiças (Vale et al., 1986) e  $57,13 \pm 19,28$  d, com variação de 24 a 100 d em búfalas Murrah (Baruselli, 1992) e no Paquistão, em búfalas Nili-Ravi foi observada uma média de  $56,4 \pm 3,9$  d (Usmani et al., 1985a).

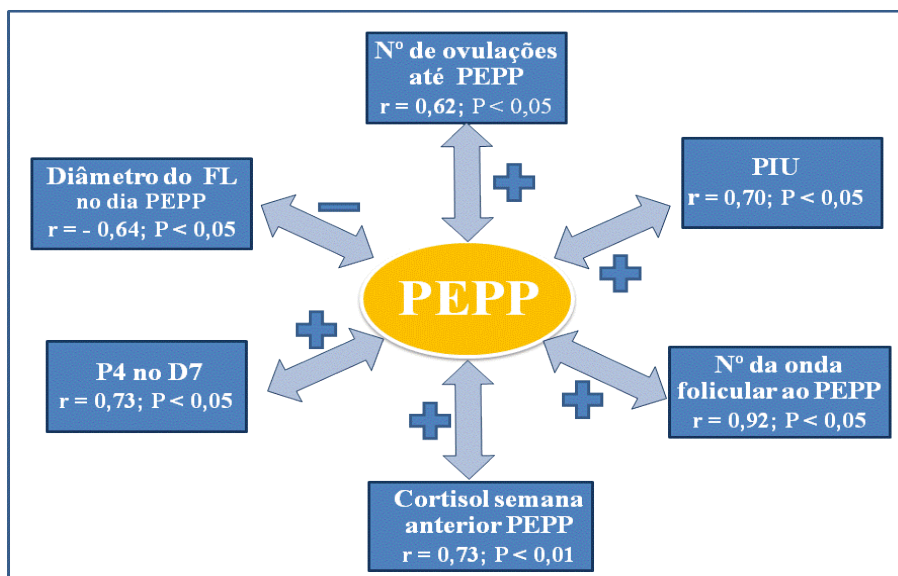
Estas variações tem sido associadas à nutrição (Baruselli, 1994), escore de condição corporal ao parto (Ribeiro et al., 1997; Qureshi & Ahmad, 2008), sistema de amamentação e de ordenha (Usmani et al., 1990), sistema de alojamento dos animais (Abdalla, 2003), estação do ano (Perera et al., 1987; Bahga & Gangwar, 1988, Piapon et al., 2002), presença de infecções uterinas subclínicas (Usmani et al., 2001), presença de macho (Abdalla, 2003; Gokuldas et al., 2010), sistema de detecção de estro (Barkawi et al., 1998) e entre búfalos de pântano e de rio (Vale & Ribeiro, 2005). Usmani et al. (1990) observaram que búfalas ordenhadas sem bezerro ao pé apresentam o primeiro estro mais cedo do que as que são ordenhadas com bezerro ao pé, tanto em búfalas paridas no outono ( $39,0 \pm 2,4$  vs  $60,7 \pm 3,3$  d), como no verão ( $41,8 \pm 3,9$ .vs  $75,9 \pm 4,9$  d).

Dentre os fatores acima relatados somente o benefício da ausência de infecção subclínica não pode ser considerado para as búfalas deste trabalho, pois este não foi avaliado. Quanto aos demais fatores (parto no outono, com bom ECC, ordenha sem bezerro ao pé, mantido a pasto, presença de macho, o qual também permitia uma boa detecção do estro por tratar-se de rufião macho com desvio de pênis, com buçal marcador) todos foram favoráveis para que o período parto-primeiro estro fosse curto.

Os parâmetros correlacionados observadas com PEPP são apresentadas na Figura 4. A correlação do PEPP com o PIU também foi observado por Perera et al. (1987).

O PEPP foi precedido por uma (53,85%) ou duas ovulações (46,15%) e as primíparas tiveram um menor número ( $P < 0,05$ ).de ovulações antes do PEPP. Na maioria das búfalas (61,54%) o PEPP ocorreu ao final da 4ª onda folicular e ao final da 5ª onda (23,08%), nos demais, somente primíparas, ocorreu ao final da 2ª e 3ª onda folicular.





**Figura 4** – Coeficientes de correlação de Pearson (r) do primeiro estro pós-parto (PEPP) com N° de ovulações até PEPP, PIU, N° da onda folicular ao PEPP, P4 no D7, Diâmetro do FL no dia do PEPP ( $P < 0,05$ ) e Cortisol na semana anterior PEPP ( $P < 0,01$ ) observadas em búfalas a Murrah.

A manifestação do estro, neste trabalho, foi precedida em 84,62% dos animais por uma fase lútea de pelo menos 10 dias, independente se esta fase foi após a primeira ou segunda ovulação pós-parto. Isto está de acordo com o observado no pós-parto de bovinos por Copelin et al. (1988), estes autores forneceram progestágeno por 9 dias até dois dias antes da indução da ovulação e verificaram uma maior produção de estradiol e a manifestação do estro nestes animais. Com isto demonstraram que a menor produção de estrógeno nas primeiras ovulações pós-parto está relacionada à deficiência de P4 prévia (à ausência da pré-sensibilização pela P4).

Entretanto, 15,38% das búfalas (todas primíparas) manifestaram o primeiro estro (22 e 37 dias pós-parto) após uma fase luteínica muito curta e com as mais baixas concentrações de P4 observadas neste trabalho. E ainda, estes estros foram seguidos por um ciclo estral de duração fisiológica (20 e 22 dias). A causa e relevância fisiológica disto não estão claras. No animal em que o primeiro estro aconteceu 22 dias pós-parto pode-se pensar que a ação de pré-sensibilização por P4 tenha sido exercida pela P4 gestacional, entretanto o PEPP da outra primípara aconteceu 37 dias pós-parto, muito tarde para ter influencia da P4 gestacional.

Recentemente Roy e Prakash (2009) demonstraram que o comportamento durante o estro em búfalas é positivamente correlacionado com a concentração de estradiol e de estrógenos totais, e estas concentrações foram maiores e os sinais de estro mais intensos quando foi fornecido um inibidor da prolactina (Norprolac) durante 10 dias antes da indução

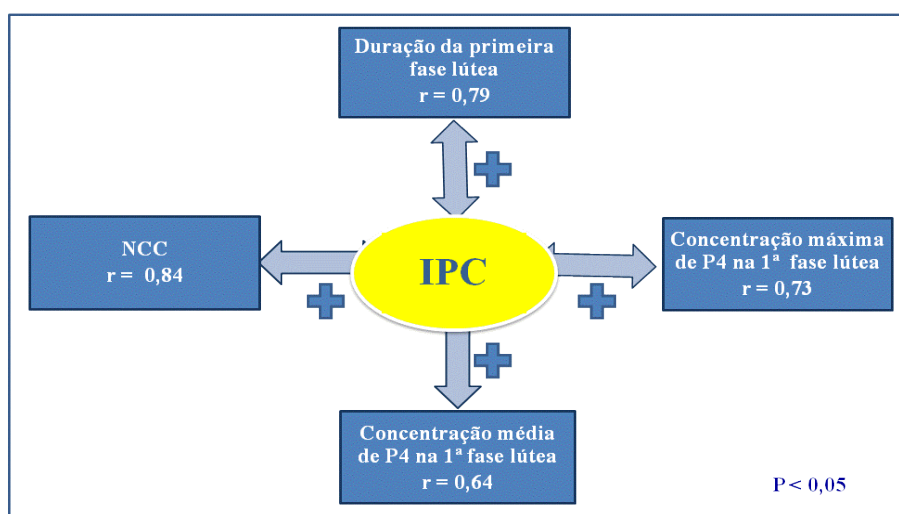
do estro no verão. Além disso, em trabalho anterior (2007) estes mesmos autores observaram uma correlação negativa da prolactina com a P4 durante o verão, quando, devido ao estresse calórico, a prolactina está aumentada em até 40 vezes. Deste modo, é possível que a falta de manifestação de estro na primeira ovulação esteja, em bubalinos, também relacionada com a concentração de prolactina nas proximidades do parto. A manifestação do estro das duas primíparas, citadas acima, com mínima pré-sensibilização por progesterona, também pode estar relacionada com diferença de concentração de prolactina entre primíparas e pluríparas ou diferenças individuais. A influência deste hormônio na manifestação do PEPP merece ser investigada em futuros trabalhos.

É fato que a manifestação dos sinais de estro é dependente do estradiol, Pandey et al. (2011) observaram uma correlação positiva entre o tamanho do folículo ovulatório e a concentração plasmática de estradiol. Entretanto neste estudo não foi observada diferença no diâmetro dos folículos ovulatórios em que a ovulação foi ou não precedida de sinais de estro.

#### 5.4 Intervalo Parto-Concepção, Número de Coberturas por Concepção e Taxa de Prenhez

Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) no intervalo parto-concepção (IPC) e no número de coberturas por concepção (NCC) entre as primíparas e pluríparas (Tabela 1).

As correlações observadas com o IPC são apresentadas na Figura 5. A correlação positiva entre o IPC e a duração da primeira fase lútea, continua mesmo quando são excluídas da análise animais com fase lútea muito longa.



**Figura 5** – Coeficientes de Correlação de Pearson (r) do intervalo parto-concepção (IPC) com Duração da primeira fase lútea, Concentração máxima de P4 na 1ª fase lútea, Concentração média de P4 na 1ª fase lútea e NCC ( $P < 0,05$ ) em búfalas da raça Murrah.

A taxa de prenhez ao primeiro estro foi de 40% nas primíparas e de 25% nas pluríparas. As primíparas que conceberam no primeiro estro tiveram uma ovulação anterior ao estro, esta primeira ovulação ocorreu na segunda onda folicular e foi seguida de uma fase lútea de duração média. Já as pluríparas tiveram duas ovulações antes do estro, a primeira ovulação ocorreu na primeira onda folicular e foi seguida de uma fase luteínica curta; a segunda ovulação foi na segunda onda folicular e foi seguida de uma fase luteínica média.

A taxa de prenhez ao final da estação foi de 100% nas primíparas e de 65% nas pluríparas.

### 5.5 Avaliação Hormonal

No 7º dia pós-parto (D7), quando foram realizadas as primeiras observações, todos os animais apresentavam concentração plasmática de progesterona abaixo de 0,4 ng/mL, o que segundo Paul e Prakash (2005) caracteriza uma fase não luteínica, demonstrando que o CL gestacional não estava mais funcional. A concentração de P4 diminuiu para concentração basal no dia do parto (Prakash & Madan, 1986), mantendo-se basal até a primeira ovulação pós parto (Presicce et al., 2005; Yindee et al., 2011) quando inicia uma gradual elevação para valores médios de 0,78 ng/mL (Baruselli, 1992) ou acima de 0,7 ng/mL (Jainudeen et al., 1983, Yindee et al., 2011).

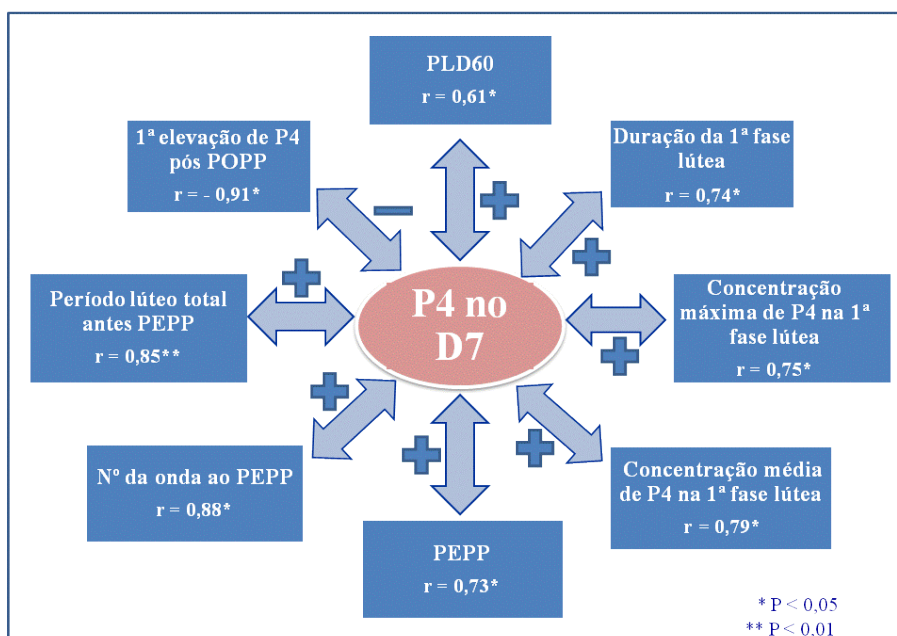
No D7 a concentração de P4 basal (Tabela 2) foi menor ( $P < 0,01$ ) nas primíparas (variação 0,04 a 0,08 ng/mL) do que nas pluríparas (variação de 0,03 a 0,39 ng/mL). Entretanto, Presicce et al. (2005) não observaram diferença entre primíparas e pluríparas na concentração basal de P4 24 h após o parto.

**Tabela 2** - Média (desvio padrão) de P4 basal ( $< 0,4$  ng/ mL) no D7 pós-parto e no dia do primeiro estro pós-parto de búfalas primíparas e pluríparas

Variáveis	Primíparas n = 5	Pluríparas n = 8
Concentração de P4 no D7 pós-parto (ng/mL)	0,06 <sup>A</sup> (0,02)	0,19 <sup>B</sup> (0,11)
Concentração de P4 no dia do primeiro estro pós-parto (ng/mL)	0,09 <sup>B</sup> (0,02)	0,22 <sup>A</sup> (0,08)

Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,01$ ).

A concentração de P4 no D7, considerando-se as correlações observadas com vários parâmetros (Figura 6), afeta o desempenho reprodutivo de búfalas.



**Figura 6** – Coeficientes de Correlação de Pearson (r) da concentração de progesterona no 7º dia pós-parto (P4 no D7) com PLD60, Duração da 1ª fase lútea, Concentração máxima de P4 na 1ª fase lútea, Concentração média de P4 na 1ª fase lútea, PEPP, N° da onda ao PEPP, 1ª elevação de P4 pós POPP ( $P < 0,05$ ) e Período lúteo total antes PEPP ( $P < 0,01$ ) em búfalas da raça Murrah.

O período entre o dia da POPP e o dia em que a concentração de P4 plasmática foi pela primeira vez  $\geq 0,7$  ng/mL foi semelhante ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas (Tabela 3). Este período foi de 1 a 4 dias após a primeira ovulação e de 1 a 3 dias após a segunda ovulação. Estes dados discordam dos relatados por Usmani et al. (1990) que observaram aumento de P4 plasmática 4 a 6 dias após ovulação, precedida ou não de estro. Porém, esses autores consideraram que houve aumento de P4 somente quando a concentração atingiu valores iguais ou superiores a 1,0 ng/mL.

O período para que haja a elevação de P4 pós-ovulação é muito importante para o desenvolvimento embrionário. Em bovinos foi estabelecido que folículos que ovulam menores iniciam a produção de P4 mais tarde e foi demonstrado que isto não se deve ao suporte de LH, ao grau de vascularização e à capacidade estereoidogênica das células luteais (Robinson et al., 2006). Entretanto, no presente trabalho não foi observada correlação entre o período para a elevação de P4 após a primeira ovulação e o diâmetro do folículo ovulatório, bem como com a duração da primeira fase lútea. Mas, este período foi correlacionado

negativamente ( $P < 0,05$ ) com a concentração de P4 no D7 ( $r = - 0,91$ ), com a PL60D ( $r = - 0,67$ ), com o período para o PEPP ( $r = - 0,78$ ); com o número da onda folicular do PEPP ( $r = - 0,90$ ), com o número de ovulações para PEPP ( $r = - 0,75$ ) e com o período lúteo total antes do PEPP ( $r = - 0,64$ ).

A duração da primeira fase luteínica foi similar ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas (Tabela 3) e apresentou variação de 2 a 23 dias. Foi muito curta, curta, média e longa em 53,85%, 7,69%, 30,77% e 7,69% das búfalas, respectivamente. As fases luteínicas curtas têm sido amplamente relatadas (Usmani et al., 1985a; 1990; Baruselli, 1992, Chohan et al., 1992; Abdalla, 2003) e esporadicamente tem sido observados animais com primeira fase longa (Abdalla, 2003; Yindee et al., 2011). Entretanto, relatos de fases muito curtas não foram encontrados, possivelmente devido à metodologia utilizada nos demais estudos. Concentrações de P4 médias tão baixas (0,79 ng/mL) quanto às observadas em duas primíparas foram relatados por Baruselli (1992) em animais de ciclos curtos.

**Tabela 3** – Média (desvio padrão) de variáveis relacionadas à primeira fase lútea pós-parto de búfalas primíparas e pluríparas

Variáveis	Primíparas n = 5	Pluríparas n = 8
Primeira elevação de P4 ( $\geq 0,7$ ng/mL) após a primeira ovulação (dias)	3,40 (0,89)	2,88 (0,99)
Primeira elevação da P4 ( $\geq 0,7$ ng/mL) depois do parto (dias)	23,6 <sup>a</sup> (7,40)	15,9 <sup>b</sup> (3,87)
Duração da primeira fase lútea (dias)	7,00 (6,93)	8,63 (7,07)
Concentração máxima de P4 durante primeira fase lútea (ng/ mL)	1,97 (1,66)	2,15 (0,99)
Concentração média de P4 durante primeira fase lútea (ng/ mL)	1,48 (0,91)	1,69 (0,60)
Nº de ondas foliculares com atresia durante 1ª e 2ª fase lútea	0,80 (0,84)	1,38 (0,74)
Período lúteo total <sup>1</sup> (P4 $\geq 0,7$ ng/mL) antes do primeiro estro pós-parto (dias)	10,0 (7,45)	19,6 (9,52)

Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Primeira fase lútea somada à segunda fase lútea pré-estro (quando esta existiu).

Exceto as duas primíparas que como relatado anteriormente manifestaram estro após fase lútea muito curta, as búfalas com primeira fase lútea muito curta e curta apresentaram segunda fase lútea com maior duração e maior concentração máxima e média do

que a primeira, antes da manifestação do estro, concordando com o descrito por Baruselli (1992) e Yindee et al. (2011) com relação às fases luteínicas curtas. Animais com a primeira fase lútea longa também apresentaram uma segunda fase lútea com maior concentração máxima e média de P4 do que a primeira e de duração média antes da manifestação do estro.

Estas fases luteínicas curtas, com conseqüente ciclo estral curto, tem sido objeto de muitos estudos. Copelin et al. (1988) determinaram, em bovinos, que a menor vida de um CL e conseqüente menor duração da fase lútea não está associada a sua maior sensibilidade a prostaglandina F2 $\alpha$ , nem a um menor suporte luteotrófico pelo LH.

Zollers et al. (1993) demonstraram que a menor produção de estradiol por um folículo ovulatório em conseqüência da ausência de P4 anterior, diminui a síntese de receptores para P4 no endométrio, fazendo com que a dominância uterina da P4 seja perdida mais cedo propiciando o aumento dos receptores de ocitocina e conseqüente luteólise precoce.

Entretanto Mann e Lamming (2000) demonstraram que na ausência de P4 uma alta concentração de estradiol é capaz de inibir os receptores de ocitocina no endométrio, porém quando a concentração de estradiol está baixa, não ocorre esta inibição e os receptores de ocitocina podem levar a uma luteólise precoce. Como o primeiro folículo pré-ovulatório pós-parto secreta menor quantidade de estradiol, esta quantidade não é suficiente para inibir completamente os receptores de ocitocina e ocorre a luteólise precoce que origina os ciclos curtos. Desta forma, segundo Mann e Lamming (2000) a luteólise precoce não ocorre devido à falta ou insuficiente ação lútea sobre o útero e sim devido ao inadequado estímulo de desenvolvimento deste hormônio sobre o folículo.

Neste trabalho foi observada correlação positiva entre a duração da primeira fase lútea com a concentração máxima e média de P4 produzida durante esta fase. Estes achados permitem deduzir que se o folículo desenvolveu o suficiente para originar um corpo lúteo com maior capacidade funcional também produziu estradiol suficiente para induzir a síntese de receptores de P4 no endométrio (Zollers et al., 1993) e/ ou inibir os receptores de ocitocina (Mann e Lamming, 2000) evitando a luteólise.

A importância de uma concentração basal mínima de P4 pós-parto para o reinício da atividade ovariana com ciclos de duração fisiológica fica evidente observando-se as correlações positivas da concentração basal de P4 no D7 com a duração da primeira fase lútea, com a concentração máxima e com a concentração média de P4 na primeira fase lútea e a correlação negativa com a primeira elevação de P4 ( $\geq 0,7$  ng/mL) após a primeira ovulação.

A presença de um animal com primeira fase lútea longa está de acordo com os relatos de Abdalla (2003) e Yindee et al. (2011) que observaram a ocorrência esporádica

destes casos. Apesar deste longo período sob ação luteínica este animal antes de apresentar o primeiro estro teve uma segunda fase lútea, esta com duração média. Este animal foi o que teve a POPP mais precoce (D8) manteve o CL secretor por mais tempo (23 dias), entretanto a concentração de P4 média foi de 1,28 (0,42) ng/mL, com variação ao longo do período entre 0,88 e 2,20 ng/mL (Figura 8C).

A concentração basal de P4 no dia do PEPP foi mais baixa ( $P < 0,01$ ) nas primíparas (variação de 0,07 a 0,12 ng/mL) do que nas pluríparas (variação de 0,14 a 0,34 ng/mL), assim como foi no D7 pós-parto (Tabela 2).

Todavia, no presente trabalho não foi observada diferença entre as primíparas e pluríparas para a concentração máxima e média de P4 durante a primeira fase lútea. Quanto à segunda fase lútea, não foi possível verificar se houve diferença, pois somente uma primípara apresentou segunda ovulação antes do primeiro estro, mas os valores encontrados para este animal foram similares aos das pluríparas (Tabela 4).

**Tabela 4** – Média (desvio padrão) de variáveis relacionadas a segunda fase lútea pós parto, antes da manifestação do primeiro estro pós-parto de búfalas primíparas e pluríparas

Variáveis	Primíparas n=1	Pluríparas n=4
Segunda ovulação pós-parto (dias)	23,0	23,7 (2,63)
Número da onda folicular em que ocorreu a segunda ovulação	2,00	2,17 (0,41)
Diâmetro do folículo dominante no dia anterior à segunda ovulação (mm)	11,5	12,8 (1,97)
Primeira elevação de P4 ( $\geq 0,7$ ng/mL) após a segunda ovulação (dias)	3,00	2,17 (0,75)
Duração da segunda fase lútea (dias)	15	14,7 (2,80)
Concentração máxima de P4 durante segunda fase lútea (ng/mL)	4,12	4,77 (1,74)
Concentração média de P4 durante segunda fase lútea (ng/mL)	2,92	3,08 (1,11)

Embora seja citada uma relação entre o tamanho do folículo pré ovulatório e a capacidade do CL em produzir P4 (Pandey et al., 2011), isto não foi observado neste trabalho.

É possível que esta diferença não tenha sido observada em razão da diferença de tamanho entre os folículos pré-ovulatórios. Pandey et al. (2011) observaram em búfalas cíclicas que os FL que originaram CL com maior capacidade de produzir P4 e consequentemente de manter gestação mediam  $14,1 \pm 0,3$  mm enquanto que os com menor capacidade foram originados de folículos de  $12,2 \pm 0,3$  mm, ambos maiores que os primeiros folículos ovulatórios pós-parto deste trabalho.

Além disso, devido aos quatro diferentes padrões de fase lútea observados neste trabalho o número de observações para cada padrão ficou reduzido dificultando a observação de qualquer diferença significativa neste contexto.

Quando a POPP ocorreu na primeira onda folicular a duração da primeira fase lútea ( $P < 0,01$ ) e a produção de P4 ( $P < 0,05$ ) foram menores do que quando a POPP ocorreu na segunda onda folicular (Tabela 5). Em 10 animais a terceira onda folicular sofreu atresia sob ação luteínica, e em 3 destes animais a quarta onda também sofreu atresia.

**Tabela 5** – Média (desvio padrão) da duração da primeira fase lútea e concentração máxima e média de P4 (ng/mL) durante a primeira fase lútea pós-parto de acordo com a onda (primeira ou segunda) em que ocorreu a primeira ovulação pós-parto em búfalas da raça Murrah

Primeira fase lútea	Onda folicular da primeira ovulação pós-parto	
	Primeira n = 8	Segunda n = 5
Duração (dias)	3,57 <sup>B</sup> (1,72)	11,2 <sup>A</sup> (5,45)
Concentração máxima de P4 (ng/mL)	1,49 <sup>b</sup> (0,55)	3,03 <sup>a</sup> (1,45)
Concentração média de P4 (ng/mL)	1,29 <sup>b</sup> (0,39)	2,14 <sup>a</sup> (0,82)

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,05$ ). Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,01$ ).

Foi observada acentuada variação na primeira fase lútea, tanto na duração (de 2 a 23 dias), como na concentração plasmática máxima e média de P4. Os animais com fase lútea de duração média (11 a 18 dias), apresentaram concentração plasmática de P4 máxima e média acima de 3 ng/mL e 2 ng/mL, respectivamente. Os animais que tiveram a primeira fase luteínica muito curta (2 a 5 dias), curta (6 a 10 dias) e longa (19 ou mais dias) tiveram concentração de P4 máxima e média mais baixas do que os com fase lútea média.



Entre as búfalas que apresentaram a primeira fase luteínica muito curta, curta ou longa, 88,89% teve a POPP na primeira onda folicular o restante foi na segunda onda folicular. Todos os animais que apresentaram a primeira fase luteínica de duração média tiveram a POPP na segunda onda folicular.

A manifestação do estro ocorreu precedendo a segunda ovulação em todos os animais que tiveram a primeira fase luteínica de duração média (Figura 7 A) e em 22,28 % das com primeira fase lútea muito curta (Figura 7 B), curta ou longa. Os demais animais com primeira fase lútea muito curta, curta ou longa ovularam uma segunda vez antes da manifestação do PEPP (Figura 8 A, B e C). Entre estes animais que apresentaram duas fases luteínicas pré-estro somente em 14,29% a segunda fase luteínica foi curta (10 dias; Figura 9), com concentração máxima e média de P4 pouco abaixo de 3 ng/mL e 2 ng/mL, respectivamente, nos demais foi de duração média. Foi observada correlação positiva ( $p < 0,01$ ) entre a duração da primeira fase luteínica com a concentração máxima ( $r = 0,97$ ) e média ( $r = 0,99$ ) de P4 na primeira fase lútea.

Todas as búfalas que ficaram prenhes (30,77% do total) no primeiro estro apresentaram uma fase luteínica de média duração antes do PEPP, demonstrando a importância da pré-sensibilização pela progesterona, para a manutenção do corpo lúteo por tempo suficiente até que o embrião possa sinalizar e impedir a luteólise.

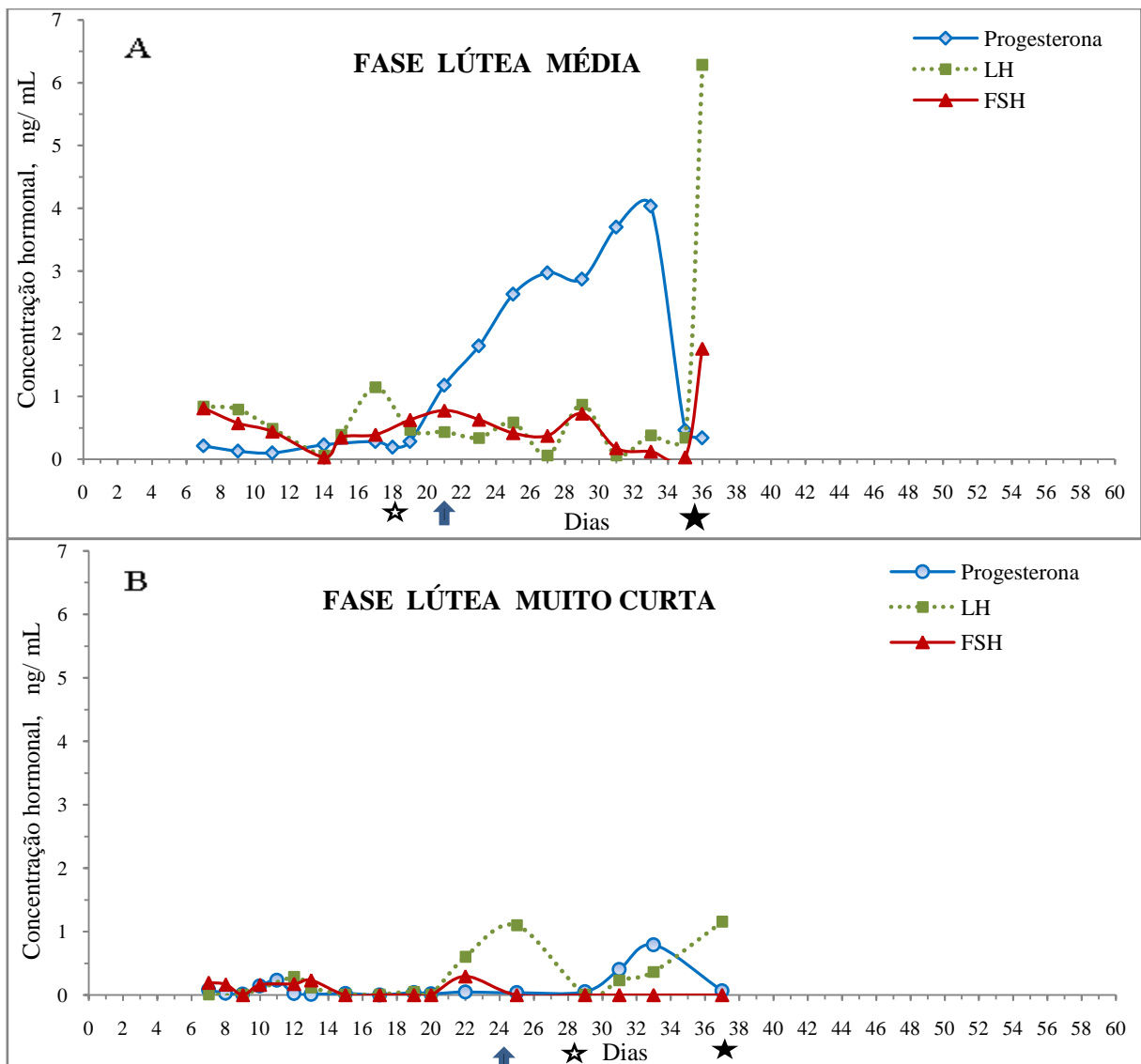
Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas para a duração da primeira fase lútea, a concentração plasmática de P4 máxima e média da primeira fase lútea, bem como ( $P > 0,05$ ) para o número de ondas foliculares com atresia folicular durante as fases luteínicas (Tabela 3). O número total de dias sob ação de P4 (primeira mais a segunda fase luteínica, quando presente; Tabela 3) foi correlacionado positivamente ( $P < 0,05$ ) com o dia do PEPP ( $r = 0,76$ ) e com a PLD60 ( $r = 0,90$ ).

Foi observada concentração plasmática de P4 basal no PEPP nos dois grupos (Tabela 2), contudo os valores encontrados nas primíparas foram menores do que nas pluríparas ( $P < 0,01$ ).

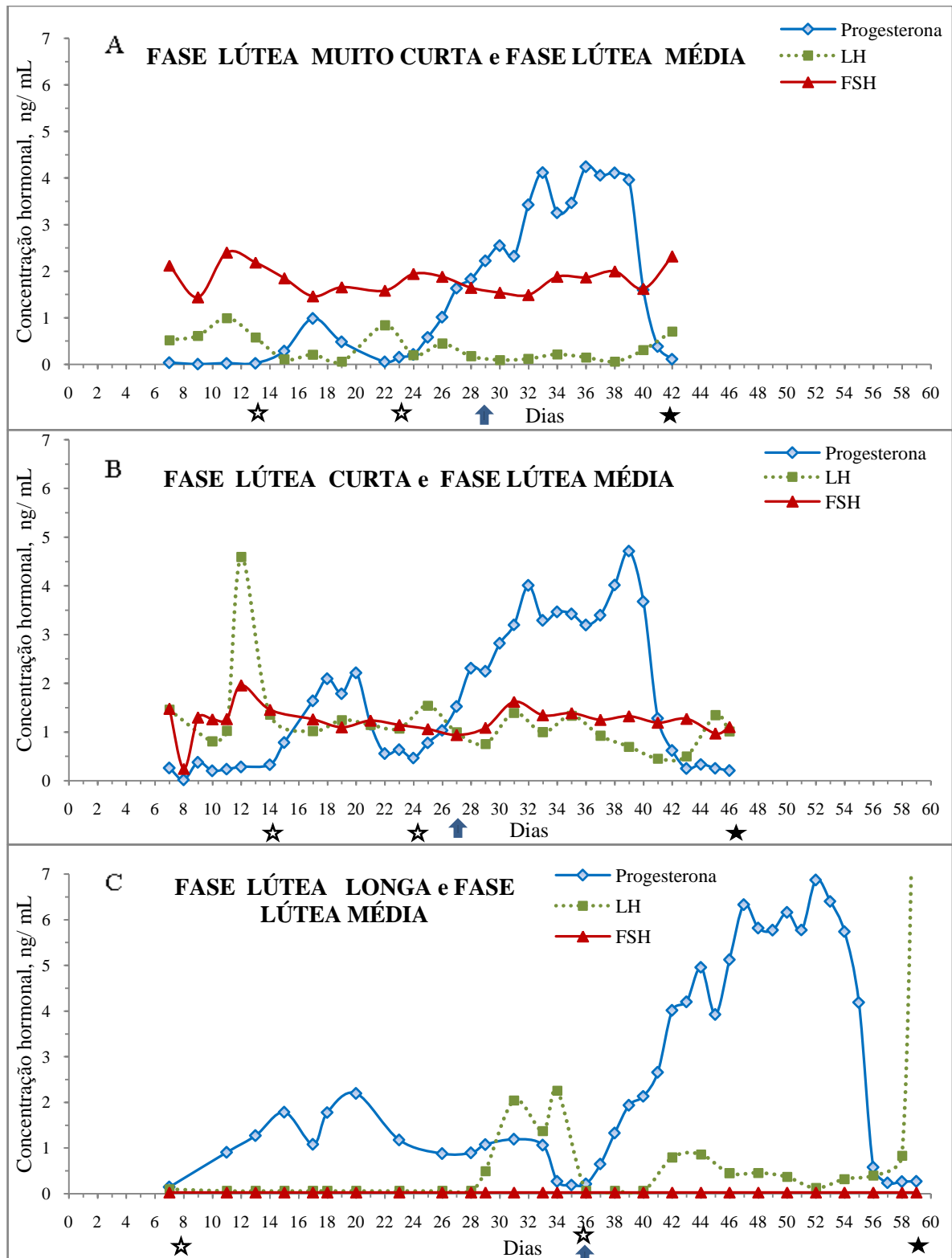
As concentrações plasmáticas basais de FSH e de LH foram avaliadas a cada 48 horas a partir do D7 até o dia do PEPP. Somente em seis animais foi possível observar o perfil destes dois hormônios, os quais estão representados nas Figuras 7A, 8A, 8B e 9. Nos demais animais a maioria das medições encontravam-se abaixo da curva do RIE, como observado nas Figuras 7B e 8C.

A realização de um perfil hormonal basal de LH e FSH pós-parto foi prejudicada pelo grande número de medições abaixo da curva do RIE. Não se pode afirmar se

houve problema no protocolo de avaliação ou se realmente os perfis hormonais de LH e FSH podem ser tão baixos no pós-parto de alguns animais. Como o objetivo foi determinar a concentração basal, os pulsos de secreção destes hormônios não foram determinados, para tal as avaliações teriam que ser realizadas com maior frequência. É possível que a liberação destes hormônios ocorra em momentos determinados e específicos para cada animal. Deste modo o momento da coleta de sangue pode ter ocorrido pouco antes de um novo pulso, isto justificaria a concentração basal muito baixa observada em alguns animais, e também poderia justificar a variação na concentração basal entre os animais, onde em alguns a concentração de FSH foi maior do que a de LH (Figura 8 A) e em outros o contrário (Figura 9).

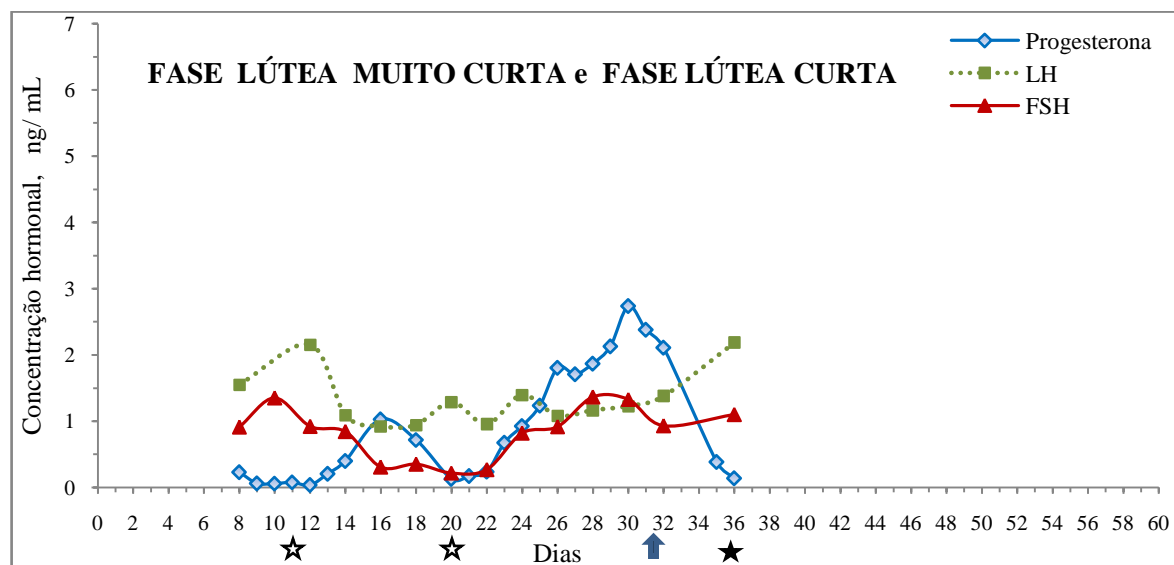


**Figura 7** – Perfil plasmático de progesterona, LH e FSH no puerpério de búfalos com uma fase lútea antes da manifestação do estro (A) Plurípara com uma fase lútea média pré-estro; (B) Primípara com uma fase lútea muito curta pré-estro. D0 = dia do parto; fase lútea: muito curta = 2 a 5 dias; curta = 6 a 10 dias; média = 11 a 18 dias e longa = 19 ou mais dias. ☆ ovulação, ↑ involução uterina, ★ estro.



**Figura 8** – Perfil plasmático de progesterona, LH e FSH no puerpério de búfalas com duas fases lúteas antes da manifestação do estro (A) Primípara com uma fase lútea muito curta e uma média pré-estro; (B) Plurípara com uma fase lútea curta e uma média pré-estro; (C) Plurípara com uma fase lútea longa e uma média pré-estro. D0 = dia do parto; fase lútea: muito curta = 2 a 5 dias; curta = 6 a 10 dias; média = 11 a 18 dias e longa = 19 ou mais dias. ☆ ovulação, ↑ involução uterina, ★ estro.

Nos animais em que se pode realizar os perfis de FSH e LH foi possível visualizar a elevação na concentração basal destes hormônios precedendo as ovulações.



**Figura 9** – Perfil plasmático de progesterona, LH e FSH no puerpério de búfala com duas fases lúteas antes da manifestação do estro, uma fase lútea muito curta e uma fase lútea curta pré-estro. D0 = dia do parto; fase lútea: muito curta = 2 a 5 dias; curta = 6 a 10 dias; média = 11 a 18 dias e longa = 19 ou mais dias. ☆ ovulação, ↑ involução uterina, ★ estro.

A concentração plasmática de cortisol e de insulina foram avaliadas na segunda semana pós-parto (D7, D9, D11, onde D0 = dia do parto) e na semana anterior ao PEPP (D-5, D-3 e D-1, onde D0 = dia do PEPP).

Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas para as concentrações plasmáticas médias de cortisol na segunda semana pós-parto ( $0,57 \pm 0,27$  vs  $0,90 \pm 0,45$   $\mu\text{g/dL}$ , respectivamente) e na semana anterior ao PEPP ( $0,54 \pm 0,39$  vs  $0,69 \pm 0,42$   $\mu\text{g/dL}$ , respectivamente).

A concentração plasmática de cortisol na semana anterior ao PEPP foi correlacionada positivamente com o PIU ( $r = 0,63$ ;  $P < 0,05$ ) o que pode estar relacionado ao processo inflamatório existente durante a involução uterina.

A concentração de cortisol sérico ou plasmático tem sido utilizada para avaliar o grau de estresse dos animais domésticos e a capacidade de adaptação a um determinado estressor (Megahed et al., 2008), pois o estresse estimula o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal aumentando a concentração de cortisol (Martin & Crump, 2003). Considerando as concentrações de cortisol relatadas por Megahed et al. (2008) e Dimri et al. (2010) em búfalas

durante o estresse calórico e as concentrações observadas neste trabalho, pode-se inferir que os animais deste trabalho não estavam estressados.

Mesmo assim foi observada uma correlação positiva entre a concentração de cortisol durante a semana anterior ao estro e a manifestação do PEPP ( $r = 0,73$ ;  $P < 0,01$ ). Durante o estresse há uma redução na frequência e na amplitude dos pulsos de GnRH e de LH, com essa redução, falta suporte gonadotrófico suficiente para o desenvolvimento do folículo o qual cresce mais lentamente, produz menos E2, há atraso no pico de LH pré-ovulatório (Dobson & Smith, 2000) e uma redução da concentração de E2 durante o estro (Megahed et al., 2008).

A concentração plasmática de insulina foi similar ( $P > 0,05$ ) entre as primíparas e pluríparas na segunda semana pós-parto ( $9,42 \pm 1,98$  vs  $10,18 \pm 0,94$   $\mu\text{UI/mL}$ , respectivamente) e na semana anterior ao PEPP ( $9,48 \pm 1,44$  vs  $9,42 \pm 1,07$   $\mu\text{UI/mL}$ , respectivamente). Não foram observadas correlações ( $P > 0,05$ ) com PIU, POPP, PEPP, Peso D7, Peso estro e PL60D.

A concentração plasmática de insulina foi semelhante ( $P > 0,05$ ) para as primíparas e pluríparas. Deve-se ressaltar que apesar das necessidades nutricionais destas duas categorias serem diversas, os animais apresentaram durante todo o período experimental ECC entre 3 e 4, o que é adequado para animais em reprodução (Baruselli, 1999), o que pode justificar a concentração de insulina semelhante nas duas categorias.

## 5.6 Peso, ECC e Produção de leite

No 7º dia pós-parto contatou-se peso corporal (PD7) menor ( $P < 0,05$ ) nas primíparas do que nas pluríparas (Tabela 6). Houve perda ( $P < 0,01$ ) gradual de peso corporal em todos os animais do D7 até o dia do primeiro estro pós-parto (PDEstro), contudo o percentual de perda de peso foi igual ( $P > 0,05$ ) para os dois grupos.

O ECC foi similar ( $P > 0,05$ ) para as primíparas e pluríparas durante todo o experimento (Tabela 6), mas houve diminuição ( $P < 0,01$ ) da condição corporal do D7 até o dia do primeiro estro pós-parto.

A produção de leite foi avaliada exclusivamente nos primeiros 60 dias de lactação, período em que esta produção poderia afetar os resultados reprodutivos até o primeiro estro. A produção de leite média diária nos primeiros 60 dias de lactação (PLD60) foi menor ( $P < 0,01$ ) nas primíparas do que nas pluríparas (Tabela 6).

**Tabela 6** – Média (desvio padrão) do peso e do escore de condição corporal no 7º dia pós-parto e no dia do estro, e da produção de leite média nos primeiros 60 dias de lactação de búfalas da raça Murrah primíparas e pluríparas

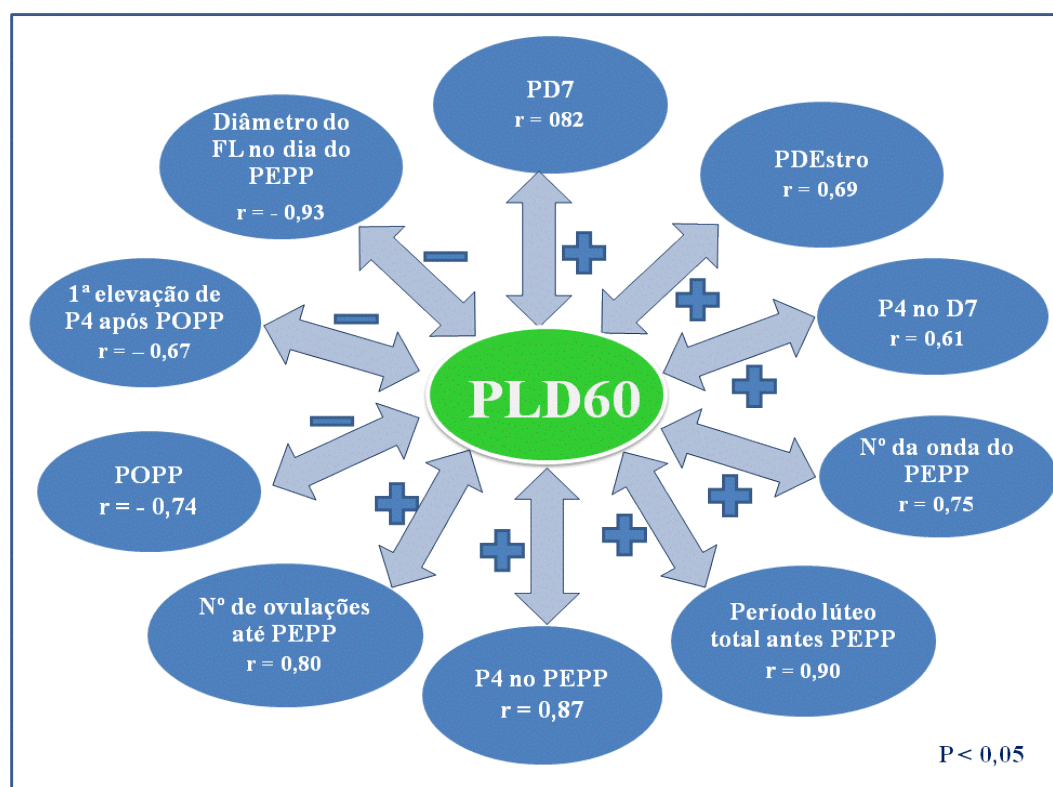
Variáveis	Primíparas n = 5	Pluríparas n = 8
Peso no D7 <sup>1</sup> (kg)	486,8 <sup>b</sup> (37,63)	577,7 <sup>a</sup> (68,7)
Peso no estro (kg)	450,60 <sup>b</sup> (35,2)	533,6 <sup>a</sup> (68,7)
Perda de peso do D7 até o estro (%)	7,44	7,64
Escore de condição corporal no D7 <sup>1</sup>	3,80 (0,27)	3,94 (0,18)
Escore de condição corporal no estro	3,20 (0,27)	3,25 (0,27)
PLD60 <sup>2</sup> (kg/dia)	4,56 <sup>B</sup> (0,44)	6,02 <sup>A</sup> (0,96)

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,05$ ). Médias seguidas de letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo Teste Exato de Fischer ( $P < 0,01$ ).

<sup>1</sup>D7 – sétimo dia pós-parto (D0 = dia do parto).

<sup>2</sup>PLD60 – Produção média diária de leite nos primeiros 60 dias de lactação.

As correlações observadas com a produção de leite nos primeiros 60 dias de lactação (Figura 10) demonstram a influencia do metabolismo e estado nutricional na reprodução de búfalas.



**Figura 10** – Coeficientes de Correlação de Pearson (r) da produção de leite até os 60 dias de lactação (PLD60) com PD7, PDEstro, P4 no D7, N° da onda do PEPP, Período lúteo total antes PEPP, P4 no PEPP, N° de ovulações até PEPP, POPP, 1ª elevação de P4 após POPP, FL no dia do PEPP ( $P < 0,05$ ) em búfalas da raça Murrah.

O rápido retorno à atividade cíclica reprodutiva, o intervalo parto concepção, número de coberturas por concepção e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva dos animais deste experimento demonstram a adaptação desta espécie às condições ambientais permitindo uma boa produtividade.

## 6 CONCLUSÕES

A avaliação do puerpério de búfalas Murrah criadas a pasto, na região Centro-Oeste Brasileira, demonstrou que estes animais apresentam um rápido retorno da atividade dos órgãos reprodutores (útero e ovários).

O desenvolvimento folicular no pós-parto é caracterizado por ondas foliculares e a primeira ovulação pós-parto acontece na primeira ou segunda onda folicular. Quando a ovulação ocorre na segunda onda folicular, a duração e a produção de P4 da primeira fase lútea pós parto é maior do que quando ocorre na primeira onda folicular.

A concentração basal de P4 no D7 é importante para o retorno da atividade ovariana com ciclos de duração regular. A concentração de P4 basal é menor nas primíparas do que nas pluríparas.

A primeira ovulação após o parto não é precedida de sinais de estro e ocorre mais cedo nas pluríparas do que nas primíparas. É seguida por uma fase luteínica de duração muito variável entre os animais, podendo durar desde 2 até 23 dias.

A primeira fase lútea pode ter a duração de apenas 2 dias e ser o suficiente para que a próxima ovulação seja precedida de estro.

O perfil hormonal de LH e FSH é bastante variável entre os animais, entretanto é possível observar a maior concentração destes hormônios precedendo as ovulações.

A concentração de cortisol e de insulina na segunda semana pós-parto e na semana anterior ao estro é semelhante nas primíparas e pluríparas.

A produção de leite e o peso corporal no pós-parto estão correlacionados com diversos parâmetros reprodutivos indicando a sua influência sobre a reprodução.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, E. B. Improving the reproductive performance of Egyptian buffalo cows by changing the management system. **Animal Reproduction Science**, v. 75, n. 1-2, p.1-8, 2003.

ALI, A.; FAHMY, S. Ovarian dynamics and milk progesterone concentrations in cycling and non-cycling buffalo-cows (*Bubalus bubalis*) during Ovsynch program. **Theriogenology**, v. 68, p. 23-28, 2007.

AWASTHI, M. K.; KHARE, A. KAVANI, F. S.; SIDIQUEE, G. M.; PANCHAL, M. T.; SHAH, R. R. Is one-wave follicular growth during the estrous cycle a usual phenomenon in water buffaloes (*Bubalus bubalis*)? **Animal Reproduction Science**, v. 92, n. 3-4, p. 241-253, 2006.

BAHGA, C. S.; GANGWAR, P. C. Seasonal variations in plasma hormones and reproductive efficiency in early postpartum buffalo. **Theriogenology**, v. 30, n. 6, p. 1209-1223, 1988.

BAHGA, C. S.; GANGWAR, P. C.; CAPITAN, S. S. Effect of season and some lactational parameters on the rate of uterine involution in normal parturient buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Indian Journal of Animal Research**, v. 22, n. 1, p. 30-34, 1988.

BARKAWI, A. H.; KHATTAB, R. M.; EL-WARDANI, M. A. Reproductive efficiency of Egyptian buffaloes in relation to oestrous detection systems. **Animal Reproduction Science**, v. 51, n. 3, p. 225-231, 1998.

BARUSELLI, P. S. **Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalos (*Bubalus bubalis*)**. 1992. 101 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

BARUSELLI, P. S. Sexual behavior in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. Proceedings... São Paulo: Finep, 1994. v. 1, p. 158-73.

BARUSELLI, P. S. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE BUBALINOCULTURA, 1., 1999, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 1999. p. 126-142, 1999.

BARUSELLI, P. S.; MUCCIOLO, R. G.; VIANA, W. G.; CASTRO JUNIOR, F. G.; REICHERT, R. H.; ALVAREZ, R. H. Invólucção uterina no período pós-parto em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*). **Boletim de Indústria Animal**, v. 53, p. 51-55, 1996.

BARUSELLI, P. S.; MUCCIOLO, 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, p. 1531-47, 1997.

BOLT, D. J.; ROLLINS, R. Development and application of a radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, v. 56, p. 146-154, 1983.

BOLT, D. J.; SCOTT, V.; KIRACOFÉ, G. H. Plasma LH and FSH after estradiol, norgestomet and GnRH treatment in ovariectomized beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 23, p. 263-271, 1990.

CAMPANILE, G.; BARUSELLI, P. S.; NEGLIA, G.; VECCHIO, D.; GASPARRINI, B.; LINDSAY U. GIMENES, L. U.; ZICARELLI, L.; D'OCCHIO, M. J. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 121, p. 1-11, 2010.

CERRI, R. L. A.; CHEBEL, R. C.; RIVERA, F.; NARCISO, C. D.; OLIVEIRA, R. A.; AMSTALDEN, M.; BAEZ-SANDOVAL, G. M.; OLIVEIRA, L. J.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3352-3365, 2011.

CHOHAN, K. R.; CHAUDHRY, R. A.; AWAN, M. A.; NAZ, N. A. Incidence of short oestrus cycles in Nili-Ravi buffaloes. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v. 5, n. 3, p. 583-585, 1992.

COPELIN, J. P.; SMITH, M. F.; GARVEXICK, H. A.; YOUNGQUIST, R. S.; MCVEY JR., W. R.; INSKEEP, E. K. Responsiveness of bovine corpora lutea to prostaglandin F<sub>2α</sub>: comparison of corpora lutea anticipated to have short or normal life spans. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 1236-1245, 1988.

DARWASH, A. O.; LAMMING, G. E.; WOOLLIAMS, J. A. The phenotypic association between the interval to post-partum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. **Animal Science**, v. 65, p. 9-16, 1997a.

DARWASH, A. O.; LAMMING, G. E.; WOOLLIAMS, J. A. Estimation of genetic variation in the interval from calving to postpartum ovulation of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1227–1234, 1997b.

DIMRI, U.; RANJAN, R.; SHARMA, M. C.; VARSHNEY, V. P. Effect of vitamin E and selenium supplementation on oxidative stress indices and cortisol level in blood in water buffaloes during pregnancy and early postpartum period. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 405-410, 2010.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 743-752, 2000.

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

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T. WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

EL-WISHY, A. B. The postpartum buffalo: I. Endocrinological changes and uterine involution. **Animal Reproduction Science**, v. 97, p. 201–215, 2007a.

EL-WISHY, A. B. The postpartum buffalo II. Acyclicity and anestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 97, n. 3-4, p. 216–236, 2007b.

GHUMAN, S. P. S.; SINGH, J.; HONPARKHE, M.; DADARWAL, D. DHALIWAL, G. S.; JAIN, A. K. Induction of ovulation of ovulatory size non-ovulatory follicles and initiation of ovarian cyclicity in summer anoestrous buffalo heifers (*Bubalus bubalis*) using melatonin implants. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p. 600–607, 2010.

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.; NOGUEIRA, G. P.; MAPLETOFT, R. J.; 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.

GOKULDAS, P. P.; YADAV, M. C.; KUMAR, H. SINGH, G. MAHMOOD, S.; TOMAR, A. K. S. Resumption of ovarian cyclicity and fertility response in bull-exposed postpartum buffaloes. **Animal Reproduction Science**, v. 121, p. 236-241, 2010.

JAINUDEEN, M. R.; BONGSO, T. A.; TAN, H. S. Post partum ovarian activity and uterine involution in the suckled swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 5, n. 3, p. 181-190, 1983.

MANIK, R. S.; SINGLA, S. K.; PALTA, P.; MADAN, M. L. Ovarian follicular dynamics monitored by real-time ultrasonography during oestrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v. 11, n. 5, p. 480-4485, 1998.

MANJUNATHA, B. M.; RAVINDRA, J. P.; GUPTA, P. S. P.; DEVARAJ, M.; NANDI, S. Effect of breeding season on in vivo oocyte recovery and embryo production in non-descriptive Indian river buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 111, n. 2-4, p. 376-383, 2009.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, v. 64, p. 171-180, 2000.

MARTIN, P. A.; CRUMP, M. H. The adrenal gland. In: PINEDA, M. H.; DOOLEY, M. P. (Ed.) **McDonald's veterinary endocrinology and reproduction**. 5. ed. Iowa: Iowa State, 2003, p. 165-200.

MEGAHED, G. A.; ANWAR, M. M, WASFY, S. I.; HAMMADEH, M. E. Influence of heat stress on the cortisol and oxidant-antioxidants balance during oestrous phase in buffalo-cows (*Bubalus bubalis*): thermo-protective role of antioxidant treatment. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 672-677, 2008.

PANDEY, A. K.; DHALIWAL, G. S.; GHUMAN, S. P. S.; AGARWAL S. K. Impact of pre-ovulatory follicle diameter on plasma estradiol, subsequent luteal profiles and conception rate in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 123, p. 169-174, 2011.

PAUL, V.; PRAKASH, B. S. Efficacy of the Ovsynch protocol for synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 64, p. 1049-1060, 2005.

PERERA, B. M. A. O.; DE SILVA, L. N. A.; KURUWITA, V. Y.; KARUNARATNE, A. M. Postpartum ovarian activity, uterine involution and fertility in indigenous buffaloes at a selected village location in Sri Lanka. **Animal Reproduction Science**, v.14, n. 2 p. 115-127, 1987.

PIAPON, E. C; ALONSO, J. C., HINCAPIE, J. J.; GARCIA, L.; FAURE, O.; FERNANDEZ, O. Seasonal influence on uterine involution and postpartum ovarian activity in river buffaloes. In: BUFFALO SYMPOSIUM OF AMERICAS, 1, 2002. Belém, 2002. **Anais...** Belém: ABCP, 2002, p. 456-459.

PRAKASH, B. S., MADAN, M. L. Peripheral plasma estradiol-17 $\beta$ , progesterone and cortisol in buffaloes induced to calve with dexamethasone and vetoestrol. **Animal Reproduction Science**, v. 11, p. 111-122, 1986.

PRESICCE, G. A.; BELLA, A.; TERZANO, G. M.; DE SANTIS, G.; SENATORE, M. E. Postpartum ovarian follicular dynamics in primiparous and pluriparous Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 63, p. 1430-1439, 2005.

QURESHI, M. S.; AHMAD, N. Interaction of calf suckling, use of oxytocin and milk yield with reproductive performance of dairy buffaloes. **Animal Reproduction Science**, v. 106, p. 380-392, 2008.

RIBEIRO, H. F. L.; ANDRADE, V. J.; MARQUES JR, A. P.; VALE, W. G. Effect of body score condition at calving interval to first oestrus of buffalo cows. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 5, p. 213-218, 1997.

ROBINSON, R. S.; HAMMOND, A. J.; NICKLIN, L. T.; SCHAMS, D.; MANN, G. E.; HUNTER, M. G. Endocrine and cellular characteristics of corpora lutea from cows with a delayed post-ovulatory progesterone rise. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 31, p. 154-172, 2006.

ROLIM FILHO, S. T.; RIBEIRO, H. F. L.; VALE, W. G.; PICANÇO, N. S.; BARBOSA, E. M.; FERREIRA, R. N.; SIMÕES, A. R. Involução uterina, atividade ovariana, primeiro cio pós-parto e distúrbios reprodutivos em búfalas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 221-227, 2011.

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Seasonal variation and circadian rhythmicity of the prolactin profile during the summer months in repeat-breeding Murrah buffalo heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 4, p. 569-575, 2007.

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Plasma progesterone, oestradiol-17  $\beta$  and total oestrogen profiles in relation to oestrous behavior during induced ovulation in Murrah buffalo heifers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, p. 486-495, 2009.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R. D.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Comparison of Ovarian Function and Circulating Steroids in Estrous Cycles of Holstein Heifers and Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 905-920, 2004.

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.

STATSOFT, INC. **STATISTICA** (data analysis software system), version 7. 2004. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

TANEJA, M.; TOTTEY, S. M.; ALI, A. Seasonal variation in follicular dynamics of superovulated indian water buffalo. **Theriogenology**, v. 43, p. 451-464, 1995.

TANEJA, M.; ALI, A.; SINGH, G. Ovarian follicular dynamics in water buffalo. **Theriogenology**, v. 46, p.121-30, 1996.

USMANI, R. H.; AHMAD, M.; INSKEEP, E. K.; DAYLE, R. A.; LEWIS, P. E.; LEWIS, G. S. Uterine involution and postpartum ovarian activity in Nilli-Ravi buffaloes. **Theriogenology**, v. 24, p. 435-48, 1985a.

USMANI, R. H.; ULLAH, N.; SHAH, S. K. A note on the effect of suckling stimulus on uterine involution, postpartum ovarian activity and fertility in Nili Ravi buffaloes. **Animal Production**, v.41, p. 119-122, 1985b.

USMANI, R. H.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K. Effects of limited suckling and varying prepartum nutrition on postpartum reproductive traits of milked buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 6, p. 1564-1570, 1990.

USMANI, R. H.; AHMAD, N.; SHAFIQ, P.; MIRZA, M. A. Effect of subclinical uterine infection on cervical and uterine involution, estrous activity and fertility in postpartum buffaloes. **Theriogenology**, v. 55, p. 563-571, 2001.

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, n. 2, p. 63-73, 2005.

VALE, W. G.; RIBEIRO, H. F. L.; SOUSA, J. S.; OHASHI, O. M. Involução uterina e atividade ovariana pós-parto em búfalas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 10, p. 187-192, 1986.

WARRIACH, H. M.; AHMAD, N. Follicular waves during the oestrous cycle in Nili-Ravi buffaloes undergoing spontaneous and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  - induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v. 3-4, p. 332-337, 2007.

YINDEE, M.; TECHAKUMPHU, M.; LOHACHIT, C.; SIRIVAIIDYAPONG, S.; NACHIANGMAI, A.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; VAN DER WEYDEN, G.C.; COLENBRANDER, B. Follicular dynamics and oestrous detection in Thai postpartum Swamp Buffaloes (*Bubalus bubalis*) **Reproduction of Domestic Animals**, v. 46, p. e91–e96, 2011.

ZICARELLI, L.; VALE, W. G. Patrones reproductivos estacionales y no estacionales em El búfalo doméstico. In: BERDUGO, J. A.; VALE, W. G. (Edit) Curso Internacional de reproducción bufalina, Medellin, 2002. **Memorias...** Medellin: Caribe. p. 33-58, 2002.

ZOLLERS, Jr, W. G.; GARVERICK, H. A.; SMITH, M. F.; MOFFATT, R. J.; SALFEN, B. E.; YOUNGQUIST, R. S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 329-337, 1993.

## **CAPÍTULO 3**

**DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DE FÊMEAS BUBALINAS DA  
RAÇA MURRAH SUBMETIDAS À MANIPULAÇÃO GINECOLÓGICA PARA  
PESQUISA**

## 1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em búfalas Murrah, a interferência da manipulação diária dos animais para exame ginecológico em parâmetros reprodutivos e produtivos. Vinte e quatro búfalas, paridas no outono, ordenhadas uma vez ao dia, mantidas a pasto foram distribuídas em dois grupos: Pesquisa (GP; n = 13); e Controle (GC; n = 11). As fêmeas do GP, após a ordenha, foram diariamente, desde o 7º dia pós-parto até o primeiro estro e cobertura, conduzidas até o curral e submetidas a exame ginecológico e coleta de sangue. Os animais do GC eram liberados para o pasto após a ordenha. O estro foi observado com auxílio de um rufião e o acasalamento foi por monta controlada. A produção de leite foi mensurada semanalmente e o diagnóstico de prenhez foi realizado por palpação retal, 40 a 50 dias após a cobertura. O GP apresentou intervalo parto-primeiro estro menor ( $40,4 \pm 9,0$  dias) que o GC ( $59,2 \pm 24,4$  dias;  $P < 0,05$ ). Não foi observada diferença no intervalo parto-concepção e na taxa de prenhez ao final da estação ( $61,2 \pm 21,3$  dias e 86,0% GP;  $71,2 \pm 30,4$  dias e 91,0% GC, respectivamente;  $P > 0,05$ ), bem como na produção de leite. O número de coberturas por concepção foi maior no GP ( $2,1 \pm 0,9$ ) do que no GC ( $1,5 \pm 0,5$ ;  $P < 0,05$ ). Conclui-se que a manipulação diária dos animais para pesquisa empregada neste experimento afeta alguns parâmetros reprodutivos, comprometendo o número de coberturas por concepção, mas não compromete o intervalo parto-concepção, a taxa de prenhez ao final da estação e a produção leiteira considerando-se o sistema de manejo e níveis de produção do experimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** búfalo, exame ginecológico, leite, pesquisa, reprodução.



## 2 ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate in Murrah buffaloes the interference of daily handling for gynecological exam on reproductive and productive parameters. Twenty-four buffaloes, which have calved in the fall, milked once a day, kept on pasture were divided into two groups: Research (RG; n = 13) and Control (CG; n = 11). The RG female, after milking, were daily from the 7th day postpartum to first estrus and breeding day, led to the corral and submitted to gynecological examination and blood collection. The CG animals were released to pasture after milking. Estrus was observed with the aid of a bull teaser with chin-ball marker and breeding was natural mating. Milk production was measured weekly and pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation, 40-50 days after mating. The RG had calving-first estrus interval smaller ( $40.4 \pm 9.0$  days) than the CG ( $59.2 \pm 24.4$  days;  $P < 0.05$ ). There was no difference in calving-conception interval and pregnancy rate at the end of the season ( $61.2 \pm 21.3$  days and 86.0% RG;  $71.2 \pm 30.4$  days and 91.0% CG, respectively;  $P > 0.05$ ), as well as in milk production. The number of mating per conception was higher in the RG ( $2.1 \pm 0.9$ ) than in the CG ( $1.5 \pm 0.5$ ;  $P < 0.05$ ). It is concluded that the daily handling of animals used for research in this experiment affects some reproductive parameters, affecting the number of matings per conception, but does not compromise the calving-conception interval nor the pregnancy rate at the end of the season and milk production considering the system of management and production levels of the experiment.

**KEY-WORDS:** buffalo, gynecological exam, milk, research, reproduction.

### 3 INTRODUÇÃO

Os búfalos de rio (*Bubalus bubalis fluviatilis* ou *bubalis*;  $2n = 50$  cromossomos) são uma fonte viável de produção de proteína de origem animal, cada vez mais procurada pelo consumidor. Na atualidade, o búfalo (*Bubalus bubalis*) é considerado um animal que apresenta boas aptidões e fácil adaptação em diferentes regiões do mundo (Shalash, 1994). Estes animais têm sido criados com o propósito principal de produção de leite como também, para produção de carne e trabalho e estão presentes em todos os continentes (Paul & Lal, 2010).

Esta espécie tem despertado a atenção de criadores, consumidores e pesquisadores, não só nas regiões onde são tradicionalmente criados, mas também em outras áreas, aumentando o interesse pela criação e pela melhoria no desempenho produtivo e reprodutivo. Alguns estudos realizados no Brasil (Baruselli, 1994 e Vale & Ribeiro, 2005) demonstram a adaptação desta espécie às condições ambientais brasileiras e que como qualquer espécie animal necessita de seleção e manejo adequado.

A obtenção de índices reprodutivos elevados é necessária para que haja uma boa rentabilidade na produção e para isso o conhecimento da fisiologia reprodutiva da espécie é de fundamental importância, este conhecimento também é fundamental para o emprego das biotecnologias da reprodução. Em muitos casos, para a realização de pesquisas no âmbito reprodutivo faz-se necessário manipular os animais com frequência diária, o que pode afetar os índices reprodutivos e/ou produtivos.

No Brasil, muitas vezes as pesquisas são realizadas em propriedades comerciais em parceria com os produtores rurais. Nestes casos os índices do grupo experimental e do grupo controle são passíveis de serem influenciados pelo estresse provocado pela manipulação dos animais. Isto porque normalmente os animais do experimento que fazem parte do grupo controle recebem o mesmo tipo de manejo experimental que recebe o grupo testado (efeito placebo). Deste modo fica difícil avaliar o

grau de interferência da manipulação nos resultados reprodutivos e produtivos. Assim atividades de pesquisa em parceria com criadores podem ser limitadas por falta de informações mais acuradas sobre a interferência do experimento na produção de seus animais. Há, então, a necessidade de saber o quanto a manipulação por si só pode afetar o desempenho animal.

O objetivo deste trabalho foi avaliar em fêmeas bubalinas da raça Murrah a interferência da manipulação ginecológica diária e da venopunção em parâmetros reprodutivos e produtivos.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Animais e Local do Experimento**

Foram utilizadas 24 búfalas Murrah que tiveram partos eutócicos durante o outono, com escores de condição corporal entre 3,5 e 4,0 (1 = muito magra, 5 = muito gorda) e separadas dos bezerros 24 h após o parto. As búfalas foram mantidas em um mesmo pasto e suplementadas com sal mineral antes e após o parto, durante toda a lactação. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Lagoa Bonita da UPIS Faculdades Integradas, em Planaltina, DF (15°34' S de latitude e 47°43' W de longitude e altitude de 1005 m), no Centro-oeste brasileiro. A região apresenta bioma Cerrado, clima tropical de altitude, com verão úmido e chuvoso, e inverno seco (umidade relativo de 20% ou menos) e frio; estação seca de maio a setembro (10 a 15% da precipitação anual) e chuvosa de outubro a abril, com temperatura média anual de 21 °C.

Este trabalho foi realizado em parceria entre a Universidade de Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Faculdades Integradas da UPIS. O experimento foi realizado no Setor de Bubalinocultura da Fazenda Lagoa Bonita – Faculdades Integradas da UPIS, em Planaltina.

### **4.2 Desenho Experimental**

As búfalas foram distribuídas em dois grupos: Grupo Pesquisa (GP; n = 13); e Grupo Controle (GC; n = 11). As búfalas do GP foram conduzidas diariamente, após a ordenha, desde o 7º dia pós-parto até a manifestação do primeiro estro e acasalamento, até o curral de manejo, onde permaneceram em média por 3 horas e foram submetidas a exame ginecológico (palpação retal e ultrassonografia transretal) no tronco de contenção. Para diminuir o estresse, foram oferecidas 200 g de concentrado comercial com 20% de proteína

em um cocho no chão, à frente do animal, durante a palpação retal e exame ultrassonográfico. A cada 24 ou 48 horas, antes do exame ginecológico, foram coletadas amostras de sangue por venopunção da jugular. As búfalas do GC foram liberadas para o pasto após a ordenha sem sofrer nenhum tipo de manipulação.

### **4.3 Ordenha**

Os animais foram ordenhados uma vez ao dia, com ordenhadeira mecânica (Sistema Espinha de Peixe, *GEA Westfalia Surge do Brasil, Gea Farm Technologies* do Brasil, Indústria e Comércio de Equipamentos Agrícolas e Pecuários Ltda, Jaguariuna,SP), sem bezerro ao pé, junto com os demais animais do rebanho. O leite produzido foi mensurado uma vez por semana (*Mark 5 Milk Meter, Waikato Milking Systems NZ Ltd, Hamilton, New Zealand*).

### **4.4 Detecção de Estro, Cobertura e Diagnóstico de Gestação**

A detecção do estro foi realizada com auxílio de rufião com desvio lateral do pênis utilizando buçal marcador, mantido durante todo o período experimental com as búfalas. As observações foram realizadas duas vezes por dia, com intervalos de 12 h.

A partir da manifestação do primeiro estro as fêmeas foram acasaladas por um mesmo touro, de fertilidade comprovada, por até 3 estros, utilizando-se o sistema de monta natural controlada. O diagnóstico de gestação foi realizado por palpação retal 40-50 dias após a monta.

### **4.5 Análise Estatística**

Foi realizada Análise de Variância e Teste Exato de Fisher para analisar as diferenças entre os grupos para intervalo entre o parto e o primeiro estro pós-parto, o intervalo entre o parto e a concepção, o número de coberturas por concepção e a produção média de leite diária e total da lactação. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o *software STATISTICA* versão 7 (Statsoft, 2004).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro estro após o parto foi mais precoce ( $P < 0,05$ ) nos animais do GP do que no GC (Tabela 1), no entanto o intervalo parto primeiro estro dos dois grupos está dentro das médias relatadas em outros estudos com búfalos de rio (Usmani et al., 1990; Baruselli, 1992; Abdalla, 2003). Honparkhe et al. (2008) testaram a massagem ovariana em dias alternados, durante 25 dias para estimular a atividade ovariana em búfalas há mais de 60 dias em anestro, e não tiveram sucesso. No presente trabalho a manipulação do trato reprodutivo, iniciou bem mais cedo, quando ainda não havia se estabelecido um quadro de anestro e não se restringiu aos ovários, pois a manipulação não tinha como objetivo massagear os ovários e sim examinar útero e ovários. Em bovinos, é citado o efeito benéfico de uma massagem uterina e ovariana por 2 a 3 minutos em vacas que estão em anestro por mais de 60 dias, entretanto o mecanismo pelo qual a massagem estimula o reinício da atividade ovariana não está claramente entendido (Mwaanga et al., 2004).

O fornecimento de 200 g de concentrado (40 g de PB) com o objetivo de diminuir o estresse dos animais do GP pode ter afetado o reinício da atividade ovariana, muito embora em termos nutricionais esta quantidade é mínima quando se compara as necessidades destes animais. Segundo Paul & Lal (2010) uma búfala no início da lactação necessita para manutenção de 3,20 g de proteína digestível por kg metabólico ( $P^{0,75}$ ) e mais 53 g/kg de leite produzido. E ainda, apesar do concentrado ter sido ofertado diariamente durante o exame ginecológico, o consumo não foi regular, havendo uma grande variação entre os animais, não sendo possível estabelecer nenhum padrão de comportamento e conseqüente influencia sobre os parâmetros avaliados.

O intervalo parto concepção do GP e do GC (Tabela 1) não diferiram ( $P > 0,05$ ), embora que para isto acontecer o GP necessitou de um número maior de coberturas ( $P < 0,05$ ), o que deve ser considerado ao realizar este tipo de trabalho de pesquisa evitando-se a

cobertura ou utilizando-se sêmen de menor valor comercial, no estro em que o animal e o aparelho reprodutor for muito manipulado e/ou muito precoce.

**Tabela 1** – Média (desvio padrão) das variáveis reprodutivas e produtivas avaliadas em búfalas da raça Murrah submetidas ou não a manipulação para pesquisa (Grupo Pesquisa e Grupo Controle)

Variáveis	Grupo Pesquisa n = 13	Grupo Controle n = 11
Intervalo parto-1º estro (dias)*	40,4 <sup>a</sup> (9,0)	59,2 <sup>b</sup> (24,4)
Intervalo parto-concepção (dias)*	61,2 (21,3)	71,2 (30,4)
Nº coberturas/concepção*	2,1 <sup>a</sup> (0,9)	1,5 <sup>b</sup> (0,5)
Produção média de leite (kg/dia)*	4,0 (0,7)	4,3 (0,6)
Produção total de leite (kg/an/lactação)*	1263,4 (290,0)	1284,9 (342,4)
Produção total de leite ajustada para 270d (kg/an/lactação)*	1040,4 (190,2)	1144,5 (186,9)

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste t de Student (P < 0,05).

A taxa de prenhez ao final da estação foi de 86% para o GP e de 91% para o GC e foi acima de 85%, com intervalos entre partos de 12 a 14 meses, reportada para esta espécie em rebanhos bem manejados com suplementação alimentar por Vale (2002).

A produção de leite dos dois grupos não foi alta, no Brasil existe relato de produção individual de até 5.142 kg de leite por lactação (Bernardes, 2007) e médias de rebanho de  $2.130,8 \pm 535,6$  kg/lactação (Sampaio Neto et al., 2001) e de média ajustada para 270 dias de 1.635,1 kg/lactação (Silva et al., 2010).

O estresse provocado pela manipulação e contenção dos animais, assim como a diminuição do tempo de pastejo diário, devido à permanência no curral por aproximadamente 3 horas diárias, por um período médio de 40 dias, não interferiram na produção de leite (Tabela 1). Isto indica que os animais tiveram tempo de pastejo suficiente para a ingestão de alimentos, o que é justificável por ter sido utilizada uma única ordenha diária e a produção de leite não ser alta e que a pequena quantidade de concentrado fornecida durante o exame ginecológico pode ter sido suficiente para compensar o estresse provocado e/ ou compensar o menor tempo de pastejo.

## **6 CONCLUSÕES**

A manipulação diária dos animais para pesquisa empregada neste experimento afeta alguns parâmetros reprodutivos de búfalas Murrah diminuindo o intervalo parto-primeiro estro e aumentando o número de serviços por concepção, mas não afeta o intervalo parto-concepção e a produção leiteira destes animais considerando-se o sistema e níveis de produção do experimento.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, E. B. Improving the reproductive performance of Egyptian buffalo cows by changing the management system. **Animal Reproduction Science**, v. 75, p. 1-8, 2003.

BARUSELLI, P. S. **Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalos (*Bubalus bubalis*)**. 1992. 71 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

BARUSELLI, P. S. Sexual behaviour in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: [s. n.], 1994. v. 1, p. 158-73.

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

HONPARKHE, M.; GHUMAN, S. P. S.; DADARWAL, D.; SINGH, J.; DHALIWAL, G. S.; SINGH, N. Influence of rectal massage of ovaries in anestrus buffaloes. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 78, n. 12, p. 1376-1377, 2008.

MWAANGA, E. S.; ZDUŃCZYK, S.; JANOWSKI, T. Comparative study on the efficacy of hormonal and non hormonal treatment methods in ovarian dysfunction affected dairy cows. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 48, p. 265-267, 2004. Disponível em: [http://www.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn\\_48-3/16\\_mwaanga.pdf](http://www.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_48-3/16_mwaanga.pdf) Acesso em: 22 jul. 2011.

PAUL, S. S.; LAL, D. Nutrient requirements of buffaloes. Delhi: Satish Serial, 2010. p. 6-7. ISBN 81-89304-76-3. SAMPAIO NETO, J. C.; MARTINS FILHO, R.; LÔBO, R. N. B.; TONHATI, H. Avaliação dos desempenhos produtivo e reprodutivo de um rebanho bubalino no Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 368-373, 2001.

SHALASH, M. R. The role of physiology on the adaptation of buffalo to various conditions under different environments. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: [s. n.], 1994. v. 1, p. 26-74.

SILVA, M. M. A.; BARROS, N. A. M. T.; RANGEL, A. H. N.; FONSECA, F. C. E.; VELOSO JR, F.; LIMA JR, D. M. Persistência da lactação em búfalas da raça Murrah (*Bubalus bubalis*) exploradas no agreste do Rio Grande do Norte. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 4, n. 4, p. 286-293, 2010.

STATSOFT, INC. **STATISTICA** (data analysis software system), version 7, 2004.  
www.statsoft.com.

USMANI, R. H.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K. Effects of limited suckling and varying prepartum nutrition on postpartum reproductive traits of milked buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 6, p. 1564-1570, 1990.

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, n. 2, p. 63-73, 2005.

VALE, W. G. **Producción del búfalo em el Valle del Amazonas**. Memorias del Curso Internacional de Reproducción Bufalina. Medellín: Impresos Caribe, p. 07-20, 2002.

## **CAPITULO 4**

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve o propósito de caracterizar o período pós-parto de búfalas de rio, durante a estação reprodutiva com o uso de ultrassonografia. Já era conhecido que o desenvolvimento folicular pós-parto ocorre em ondas foliculares, que a primeira e algumas vezes a segunda ovulação acontecem sem sinais de estro e que a maioria das primeiras fases luteínicas são curtas e com menor concentração de P4. Entretanto, nesse trabalho, verificou-se que a primeira ovulação ocorre mais cedo e observa-se que a fase lútea pode ser ainda mais curta (2 a 3 dias), com concentração máxima e média de P4 não chegando a 1 ng/mL, mas é o suficiente para permitir que a próxima ovulação seja precedida de sinais de estro, talvez devido a pré-sensibilização fornecida pela P4 durante a gestação. Também se pode observar que a concentração basal de P4 das primíparas, tendo-se como base o D7 e o dia do PEPP, é menor do que a das pluríparas e que está correlacionada com diversas variáveis reprodutivas.

O rápido retorno à atividade cíclica reprodutiva dos animais deste experimento demonstra a adaptação desta espécie às condições ambientais da região Centro-oeste brasileira o que pode levar a uma boa produtividade.

O período pós-parto de búfalas é bastante semelhante entre as primíparas e pluríparas, permitindo o mesmo intervalo parto-concepção. Entretanto, existe variação individual do perfil hormonal de búfalas Murrah.

A manipulação diária dos animais para pesquisa empregada neste experimento afeta alguns parâmetros reprodutivos, mas sem comprometer o desempenho reprodutivo final e a produção de leite considerando-se o sistema e níveis de produção do experimento. Este resultado favorece a possibilidade de parcerias futuras com produtores rurais e instituições de pesquisa, com a finalidade de desenvolver projetos de pesquisa em propriedade rurais.