# Manejo reprodutivo de búfalos com o uso de biotécnicas da reprodução



#### Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Amazônia Oriental Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

#### **DOCUMENTOS 443**

# Manejo reprodutivo de búfalos com o uso de biotécnicas da reprodução

Naiara Zoccal Saraiva José Ribamar Felipe Marques Marivaldo Rodrigues Figueiró

Embrapa Amazônia Oriental Belém, PA 2019 Disponível no endereço eletrônico: https://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes

#### Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n CEP 66095-903 Belém, PA Fone: (91) 3204-1000 www.embrapa.br www.embrapa.br/fale-conosco/sac Comitê Local de Publicação

Presidente Bruno Giovany de Maria

Secretária-Executiva

Ana Vânia Carvalho Luciana Gatto Brito

Membros

Alfredo Kingo Oyama Homma, Alysson Roberto Baizi e Silva, Andréa Liliane Pereira da Silva, Luciana Gatto Brito, Michelliny Pinheiro de Matos Bentes, Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana, Patrícia de Paula Ledoux Ruy de Souza

Supervisão editorial e revisão de texto Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana

Normalização bibliográfica Andréa Liliane Pereira da Silva

Projeto gráfico da coleção Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Tratamento de fotografia e editoração eletrônica Vitor Trindade Lôbo

Foto da capa Ronaldo Rosa

Colaboradores Relionan Pimentel Leal Rodrigo Lima Sales José Carlos Dias

#### 1ª edição

Publicação digitalizada (2019)

#### Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

# Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Amazônia Oriental

Saraiva, Naiara Zoccal,

Manejo reprodutivo de búfalos com o uso de biotécnicas da reprodução / Naiara Zoccal Saraiva, José Ribamar Felipe Marques, Marivaldo Rodrigues Figueiró. – Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2019.

 $29~\rm p.$  ; 16 cm x  $22~\rm cm.$  – (Documentos / Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1983-0513; 443).

1. Búfalo. 2. Produção animal – manejo. 3. Reprodução animal. 4. Eficiência reprodutiva. 5. Melhoramento genético animal. 6 Inseminação artificial. 7. Transferência de embriões. I. Marques, José Ribamar Felipe. II. Figueiró, Marivaldo Rodrigues. III. Embrapa Amazônia Oriental. IV. Título. V. Série.

CDD 21 ed. 633.84

### **Autores**

#### Naiara Zoccal Saraiva

Médica-veterinária, doutora em Reprodução Animal, pesquisadora da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

#### José Ribamar Felipe Marques

Zootecnista, doutor em Genética, pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA

### Marivaldo Rodrigues Figueiró

Médico-veterinário, doutor em Reprodução Animal, analista da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA

## Apresentação

O búfalo propicia grande contribuição para o atendimento da demanda alimentar e econômica no Brasil e no mundo, apresentando vantagens em relação a outros ruminantes domésticos, principalmente no que diz respeito à rusticidade e à adaptação às variadas condições climáticas e de manejo. No entanto, ainda existe um número reduzido de búfalos selecionados geneticamente para produção de leite e de carne em nosso país, ocorrendo expressiva variabilidade quanto à capacidade produtiva desses animais.

Assim, existe grande potencial de evolução dos rebanhos, por meio da intensificação de processos de seleção, melhoramento genético e manejo. Porém, animais de alto potencial genético devem ser multiplicados de maneira rápida e direcionada. Para isso, os programas de melhoramento genético preveem o uso de biotécnicas reprodutivas que apoiam e ajudam a alavancar o progresso genético, visando inserir esses processos no manejo reprodutivo dos búfalos, viabilizando os resultados em menor espaço de tempo e com maior confiabilidade e direcionamento.

Diversas técnicas de reprodução assistida têm sido empregadas e adaptadas, com a finalidade de maximizar a produção. Esse documento visa apresentar ao setor produtivo e à comunidade técnico-científica da área ações importantes relacionadas ao manejo reprodutivo da espécie bubalina, com o uso de biotécnicas reprodutivas que auxiliam nesse processo, como a inseminação artificial (IA), a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a transferência de embriões (TE) e a produção in vitro de embriões (Pive),

recomendadas de acordo com os objetivos e nível de tecnificação de cada propriedade, buscando-se maximizar os índices de eficiência reprodutiva obtidos por elas e oferecer à cadeia produtiva do búfalo produtos e processos tecnológicos de maior qualidade.

Adriano Venturieri
Chefe-Geral da Embrapa Amazônia Oriental

# Sumário

| Introdução  | 09 |
|---|----|
| Aspectos reprodutivos                                       | 10 |
| Uso de biotécnicas reprodutivas em bubalinos                | 10 |
| Inseminação artificial/Inseminação artificial em tempo fixo | 11 |
| Transferência de embriões                                   | 14 |
| Produção in vitro de embriões                               | 15 |
| Eficiência reprodutiva                                      | 17 |
| Manejo à desmama e à puberdade                              | 17 |
| Manejo no pré-parto e no período seco                       | 18 |
| Idade ao primeiro parto                                     | 19 |
| Período de serviço  | 19 |
| Intervalo de partos   | 20 |
| Reprodutores  | 20 |
| Matrizes  | 22 |

| Estação monta ou reprodutiva                           | 23 |
|--|----|
| Cálculo do Índice de eficiência reprodutiva            | 24 |
| Operacionalização do manejo reprodutivo na propriedade | 24 |
| Referências  | 26 |

## Introdução

O búfalo propicia grande contribuição para o atendimento da demanda alimentar e econômica no Brasil e no mundo, apresentando vantagens em relação a outros ruminantes domésticos, principalmente no que diz respeito à rusticidade e à adaptação às variadas condições climáticas e de manejo. A importância econômica da exploração desses animais reside também nas vantagens proporcionadas quanto à fertilidade, longevidade, eficiência de conversão alimentar e aptidão para produção de leite, carne e trabalho (Lourenço Junior, 2005). Atualmente, é fato que a bubalinocultura agrega valor à economia paraense e apresenta potencial de crescimento nacional, principalmente em virtude da demanda de mercado quanto à carne, ao leite e ao queijo do búfalo.

A carne bubalina possui propriedades nutritivas e organolépticas superiores às dos outros ruminantes domésticos, apresentando menos de 40% de colesterol, 12 vezes menos gordura, 55% menos calorias, 11% mais proteínas e 10% mais minerais, quando comparada à carne bovina (Carvalho, 2005). Além da carne, o leite e o queijo de búfalo também são produtos que chamam atenção no mercado nacional. O mercado para os derivados do leite de búfala está em franca expansão no Brasil. Esses produtos, em especial a muçarela e a ricota, são procurados não só por seu sabor característico, mas também por suas qualidades nutricionais (Teixeira et al., 2005).

De acordo com Silva et al. (2003) o leite de búfala é cerca de 40% a 50% mais produtivo na elaboração de derivados (queijos, iogurte, doce de leite, entre outros) que o leite bovino. Além disso, seus valores de lipídeos, proteínas, lactose, sólidos totais e resíduo mineral fixo são de grande importância nutricional. Assim, o búfalo propicia grande contribuição para o atendimento da demanda alimentar e econômica no Brasil e no mundo.

O manejo reprodutivo é essencial nos sistemas de produção desses animais e, por sua vez, consiste nos cuidados que se deve dispensar às fêmeas e machos para que sejam obtidos os maiores índices de eficiência reprodutiva dos rebanhos. Deve-se entender por eficiência reprodutiva a busca pelo melhor resultado na relação entre o manejo dispensado aos animais e o índice de produtos obtidos no decorrer do tempo. Assim, o manejo reprodutivo se

inicia desde a aquisição dos animais até a sua produção ou parto. Devese, então, dispensar grande atenção aos diversos aspectos que compõem o manejo reprodutivo, seguindo-se uma sequência lógica de ações que vão desde a escolha dos animais até a sua comercialização.

# Aspectos reprodutivos

Antes da programação de qualquer evento reprodutivo em bubalinos, é necessário o conhecimento prévio das características reprodutivas específicas dessa espécie. As búfalas atingem a puberdade e a maturidade sexual em idades mais tardias que os bovinos, com variação entre 24 e 30 meses para as raças Murrah, Mediterrânea, Jafarabadi e seus mestiços, enquanto a raça Carabao e seus cruzamentos podem alcançar até 36 meses.

Os búfalos são animais poliéstricos estacionais de dias curtos, semelhante aos ovinos e caprinos. Em razão dessa característica, no centro-sul do País, onde existe variação anual na duração de horas de luz conforme a estação do ano, é observada uma concentração maior das manifestações de cio no período do outono. Já na zona equatorial, os bubalinos apresentam-se como poliestrais contínuos. O ciclo estral das fêmeas bubalinas tem uma duração variável entre 18 e 32 dias, com média de 21 dias. Já a duração do estro varia entre 5 e 27 horas, com média de 20 horas, ocorrendo ovulação entre 24 e 48 horas após o início do cio.

## Uso de biotécnicas reprodutivas em bubalinos

A produção brasileira de carne e leite está aumentando nos últimos anos, o que está diretamente relacionado aos avanços tecnológicos na criação de animais, como, por exemplo, o maior uso de inseminação artificial (IA) e transferência de embriões produzidos in vitro ou in vivo (Sartori et al., 2016). Para se ter uma ideia sobre a evolução dessas biotecnologias, em 2002, apenas 5% a 6% das novilhas e vacas foram inseminadas artificialmente no Brasil, cerca de 7 milhões de IA, com apenas 1% das inseminações por meio da inseminação artificial de tempo fixo (IATF). Em contraste, em 2015, cerca de 13 milhões de IAs foram realizadas, correspondentes a 10% a 12% das fêmeas em idade reprodutiva e 77% dessas inseminações foram realizadas pela IATF.

Levantamentos realizados pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 1999) mostraram o grande potencial de crescimento do rebanho bubalino brasileiro, verificando aumento de 1.340% entre os anos de 1970 e 1998. Como já mencionado, a importância econômica na exploração desses animais também reside nas vantagens proporcionadas quanto à fertilidade, longevidade, eficiência de conversão alimentar e aptidão para produção de leite, carne e trabalho. Assim, esse potencial genético deve ser multiplicado, de modo que as biotécnicas reprodutivas são de grande valia nesse processo. Com o emprego das biotécnicas, pode-se aumentar o rigor e a velocidade de seleção, utilizando-se animais de alto valor genético-produtivo, para reduzir o intervalo entre gerações.

A aplicação de biotecnologias da reprodução em bubalinos representa uma alternativa viável para multiplicação de material de alto mérito genético em reduzido intervalo de tempo. Essas biotécnicas possibilitam a melhoria dos índices reprodutivos e produtivos dos rebanhos bubalinos, visto que esses animais apresentam algumas limitações, como, por exemplo, manifestação discreta dos sinais de estro, puberdade tardia, longo anestro pós-parto, baixas taxas de concepção e influência da sazonalidade, afetando negativamente a produtividade destes (Khaki et al., 2014).

#### Inseminação artificial/Inseminação artificial em tempo fixo

O uso e o desenvolvimento da IA são indispensáveis para o melhoramento genético e aumento da eficiência produtiva dos rebanhos. Em relação à monta natural, a IA apresenta uma série de vantagens consideráveis, tanto de ordem sanitária quanto de ordem zootécnica e econômica, com consequente reflexo sobre o melhoramento e a produção animal. Dentre suas aplicações, a técnica permite o controle da não transmissão de doenças infectocontagiosas, incremento do melhoramento genético, aprimoramento do controle zootécnico e racionalização do manejo reprodutivo (Gonçalves et al., 2008).

O uso da técnica de IA possibilita melhoria quantitativa e qualitativa do rebanho bubalino, alcançando maior produção de bezerros/reprodutor/ano com o uso de linhagens de reprodutores diferentes, evitando-se a consanguinidade sem necessidade de manutenção de vários reprodutores na mesma propriedade.

Além disso, possibilita maior controle reprodutivo, acesso de pequenos e médios criadores a material genético superior a custos reduzidos, utilização de reprodutores de outras propriedades e preservação de sêmen mesmo após a morte do reprodutor (Jorge, 2003).

A búfala apresenta grande variabilidade no período de duração do estro, fato que dificulta a determinação de um horário padronizado para realização da IA. Como existe grande variação na duração do cio em bubalinos, preconiza-se inseminar o mais próximo possível do final das manifestações de cio, quando as fêmeas não aceitam mais a monta.

Os resultados obtidos pela IA com detecção visual de cio demonstram média de 51,8% de taxa de concepção à primeira inseminação e de 57,9% à segunda, conferindo de 75% a 80% de taxa de prenhez à IA do rebanho no final da estação reprodutiva (Baruselli, 1994). Porém, observa-se que esses índices apresentam grande variação conforme o manejo geral da propriedade e a influência da estacionalidade presente em algumas regiões.

A técnica de IATF objetiva o controle da ovulação, permitindo que a IA seja programada para um determinado dia e hora (Gonçalves et al., 2008). Essa técnica foi desenvolvida em decorrência de que, em todo o mundo, os programas de IA apresentam baixa taxa de serviço, principalmente em razão da dificuldade na detecção do estro em rebanhos bubalinos. Assim, para contornar essas particularidades e para facilitar o manejo da propriedade, a IATF vem ganhando espaço nos últimos anos.

Essa técnica permite realizar a inseminação artificial em tempo fixo sem a necessidade de observação de cio, facilitando o manejo do rebanho e otimizando o emprego dessa biotecnologia em campo (Baruselli et al., 1999). Terapias hormonais para induzir estro e ovulação em fêmeas bubalinas são estratégias importantes para superar a sazonalidade (Carvalho et al., 2016). Esses tratamentos hormonais têm sido delineados para controlar a função folicular e lútea, sincronizar o estro e a ovulação e, mais importante ainda, eliminar a detecção de estro por IA em um cronograma pré-planejado.

Vários autores verificaram que o estro e/ou a ovulação podem ser induzidos em bubalinos com tratamento hormonal. No entanto, diferentes protocolos devem ser utilizados de acordo com a época de reprodução (estação reprodutiva favorável e desfavorável) e o estado de ciclicidade dos rebanhos.

Entre as terapias hormonais desenvolvidas para bovinos, os protocolos de IATF baseados em hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e prostaglandina F2 alfa (PGF2α) resultaram em redução na resposta ovulatória quando aplicados em búfalo em anestro (Souza et al., 2015). Protocolos baseados no Ovsynch (D0: GnRH; D7: PGF2α; D9: GnRH; IATF 16 horas após a segunda aplicação de GnRH) podem conferir uma taxa de gestação de 50% durante a estação de monta em búfalas cíclicas, multíparas, com escore corporal de 3,5 (Baruselli et al., 2010). Entretanto, o protocolo Ovsynch apresenta baixa eficiência durante a estação reprodutiva desfavorável (primavera e verão), pela alta incidência de anestro em fêmeas bubalinas neste período (Baruselli et al., 2003; De Rensis et al., 2005; Ali; Fahmy, 2007; Baruselli et al., 2007).

Por esse motivo, tratamentos com dispositivos intravaginais de progesterona (P4) associados à administração de gonadotrofina coriônica equina (eCG) têm sido utilizados para aumentar as taxas de ovulação e de prenhez após a IATF em búfalas em anestro durante a estação reprodutiva desfavorável (Carvalho et al., 2007). Pelo contrário, estudos recentes em búfalos mostraram taxas de prenhez similares por IATF nas estações reprodutiva e não reprodutiva após o uso de protocolos baseados em estradiol (E2), P4 e eCG (Carvalho et al., 2013; Baruselli et al., 2013).

Durante a época desfavorável, as búfalas falham em exibir o estro, como resultado de uma alteração nos perfis endócrinos, levando ao status anovulatório ou não cíclico (Zicarelli, 2010). Búfalas em anestro têm hormônio luteinizante (LH) pulsátil insuficiente para suportar os estágios finais do desenvolvimento folicular e subsequente comportamento de estro e ovulação (Das; Khan, 2010).

Em bovinos, estudos anteriores realizados no período pós-parto mostraram que o tratamento de vacas em anestro com P4 resulta em aumento da frequência de pulsos de LH durante e após o período de tratamento (Rhodes et al., 2002), levando a um maior volume de líquido folicular e concentrações circulantes de E2, e aumento do número de receptores LH em células da granulosa e da teca de folículos pré-ovulatórios (Rhodes et al., 2003).

Além disso, um curto período de elevação das concentrações de P4 durante o período anestro mostrou-se importante para a expressão do estro e subsequente função luteal normal. Assim, foi hipotetizado que a exposição da

búfala em anestro à P4 estimula o crescimento e a maturação de um folículo dominante ao aumentar a liberação de LH e a indução de receptores de LH, o que resulta em aumento da secreção de E2 e taxas de ovulação (Carvalho et al., 2016).

Durante a época reprodutiva desfavorável, a taxa de ovulação pode ser comprometida em búfalas em anestro profundo (pouco ou nenhum desenvolvimento folicular) após o uso de um protocolo baseado em P4. Portanto, estimular o crescimento do folículo dominante com gonadotrofinas pode ser uma estratégia para aumentar as taxas de ovulação e de gestação.

Os protocolos desenvolvidos para búfalas com progesterona consistem na inserção de um dispositivo intravaginal de P4 associado à administração intramuscular de benzoato de estradiol (BE) em dia aleatório do ciclo estral (dia 0 = D0). Posteriormente (D9), o dispositivo é removido e são administradas doses intramusculares de PGF2 $\alpha$  e de eCG. Após 48 horas, a ovulação é induzida pela administração de GnRH. A IATF é realizada 16 horas após a indução da ovulação.

O tratamento com dispositivo intravaginal de P4 seguido por eCG na remoção do dispositivo tem sido usado para aumentar o diâmetro do folículo ovulatório, a taxa de ovulação, a taxa de crescimento do corpo lúteo (CL) e as concentrações de P4 durante o diestro inicial, após a sincronização da ovulação, e as taxas de prenhez após a IATF em fêmeas bubalinas durante a estação desfavorável (Carvalho et al., 2013; Baruselli et al., 2013).

Outros estudos avaliaram o uso de BE para induzir a ovulação (em vez de GnRH) em protocolos de IATF baseados em P4/E2 e eCG em búfalos (Carvalho et al., 2012). A indução da ovulação com EB ou GnRH resultou em respostas foliculares e resultados de ovulação e prenhez semelhantes em búfalas sincronizadas durante a estação reprodutiva desfavorável. O baixo custo e a resposta similar com BE para induzir a ovulação sugerem que esse tratamento é uma alternativa aceitável ao GnRH (Carvalho et al., 2016, 2017).

#### Transferência de embriões

A técnica pioneira na multiplicação de material genético materno em bovinos foi a transferência de embriões (TE). Porém, em bubalinos, a eficiência da

técnica é inferior em comparação aos bovinos, visto que poucas estruturas, geralmente de baixa qualidade, são recuperadas, mesmo quando a resposta superovulatória é satisfatória (Baruselli et al., 2007; Campanile et al., 2010).

A técnica de TE consiste em se obter embriões de uma fêmea doadora e transferi-los para fêmeas receptoras com a finalidade de que estas completem o período de gestação. Dessa maneira, uma fêmea pode produzir um número de descendentes muito superior ao que seria possível em condições fisiológicas durante sua vida reprodutiva. Além disso, equaciona problemas relativos a questões de ordem genética e sanitária (Gonçalves et al., 2008).

Porém, os resultados envolvendo a técnica de TE em bubalinos demonstraram baixa eficiência dessa biotecnologia na espécie. Apesar de resposta folicular satisfatória à superovulação (Baruselli et al., 1997), observou-se baixa taxa de recuperação de estruturas embrionárias. Essa baixa taxa de recuperação de embriões vem inviabilizando economicamente o emprego da biotécnica na espécie bubalina.

Em estudo realizado por Baruselli et al. (2000), as búfalas foram examinadas durante o tratamento superovulatório por ultrassonografia e por observação visual dos ovários após o abate. Os resultados confirmaram estudos anteriores, mostrando que o número de estruturas embrionárias encontradas no trato genital de fêmeas bubalinas superovuladas após a lavagem dos ovidutos e dos cornos uterinos corresponde a apenas 35% do número de ovulações. Porém, ainda permanece desconhecida a causa desse fato.

Acredita-se que a ineficiência da TE em bubalinos, quando comparada a bovinos, esteja ligada a falhas nos protocolos de superovulação à base de hormônio folículo-estimulante (FSH), em razão da baixa população de folículos recrutáveis (Drost, 2007), e falhas na captação dos oócitos pelas fímbrias do infundíbulo na superfície ovariana (Misra et al., 1998; Carvalho et al., 2011).

#### Produção in vitro de embriões

Diante dos baixos índices proporcionados pela técnica de TE em bubalinos, outra biotécnica que também permite multiplicação de material genético feminino e é muito usada em bovinos vem sendo aplicada na espécie bubalina, que é a chamada produção in vitro de embriões (Pive), considerada a terceira geração de biotécnicas reprodutivas.

A Pive já é utilizada com sucesso como instrumento para a melhoria da produtividade no rebanho bovino. De acordo com dados da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, no ano 2000, a TE convencional foi responsável por 75,9% dos embriões transferidos (38.595) e a Pive, por 24,6% (12.597 embriões). A partir de 2005, houve inversão na preferência pelas técnicas, com a transferência de 54,3% de embriões produzidos in vitro e 45,6% dos embriões produzidos in vivo. Em 2007, a Pive foi responsável por 75% do total (estimativa de 200 mil embriões transferidos) e, atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de embriões bovinos produzidos in vitro.

De acordo com dados fornecidos pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS), no ano de 2011 foram realizadas 373.836 transferências de embriões bovinos produzidos in vitro, das quais 85% foram realizadas no Brasil (International Embryo Transfer Society, 2012). Entretanto, em bubalinos, a Pive ainda tem apresentado algumas limitações, sendo relatadas taxas de blastocistos entre 9,5% e 30% (Gasparrini, 2002; Ferraz et al., 2005; Sá Filho et al., 2009), resultados inferiores à média normalmente observada em bovinos (30% a 45%).

Acredita-se que a qualidade dos oócitos e, consequentemente, dos embriões produzidos, esteja diretamente ligada aos baixos índices mencionados. Um dos aspectos fundamentais neste contexto é a composição dos meios de cultivo empregados nas três etapas que compõem a Pive. Algumas linhas de pesquisa em Pive de bubalinos buscam o enriquecimento do meio de cultivo com antioxidantes para melhorar a produção de blastocistos (Gasparrini et al., 2006; Anand et al., 2008; Singhal et al., 2009). Em bubalinos, esse aspecto é particularmente importante, em razão da elevada concentração de lipídeos presentes no citoplasma dos oócitos e embriões (Gasparrini, 2002).

Apesar do progresso nos processos que envolvem a Pive, os embriões bubalinos ainda são de qualidade inferior em comparação aos de origem bovina, o que indica a necessidade de aprimoramentos nas diferentes etapas que compõem essa biotécnica. Entretanto, a Pive tem se mostrado viável para a espécie e possui grande potencial para incremento da bubalinocultura, justificando a intensificação de estudos na área.

Por meio da meta-análise de mais de mais de cem trabalhos científicos, Surresh et al. (2009) encontraram taxas médias de maturação in vitro (MIV) para

bubalinos em torno de  $78,36 \pm 2,16\%$ , taxas de clivagens de aproximadamente  $52,14 \pm 1,15\%$  e taxas finais de produção de embriões bubalinos de  $22,14 \pm 2,17\%$ . Esses dados demonstram que aproximadamente 80% dos oócitos obtidos das búfalas falham em alguma etapa do desenvolvimento in vitro até o estágio de blastocisto (Nandi et al., 2002). Assim, apesar de apresentarem taxas de MIV e clivagem satisfatórias, as taxas de Pive em bubalinos ainda necessitam ser melhoradas.

## Eficiência reprodutiva

Para a obtenção de maiores índices na eficiência reprodutiva, o manejo das fêmeas jovens, compreendendo desde a desmama até a puberdade, e os cuidados com o estado nutricional aos partos, diminuindo-se ao máximo o período de serviço, são fundamentais para a operacionalização do manejo reprodutivo. Assim, eventos como a desmama, a puberdade, a idade à primeira cria, o período de serviço e o intervalo de partos são fundamentais para o alcance de bons índices reprodutivos. A implantação de um manejo seguindo as boas práticas de manejo animal (BPMA) é importante para a propriedade, pois torna a gestão desta mais efetiva.

#### Manejo à desmama e à puberdade

A desmama é uma fase importante para as futuras matrizes, pois fornecerá os primeiros dados para a seleção de fêmeas com maior habilidade materna. Animais desmamados com peso adequado e saudáveis expressam a boa capacidade da mãe em criá-los. Habilidade de transmissão prevista (PTA) e diferença esperada na progênie (DEP) altas para peso à desmama representam um dos indicadores mais importantes da pecuária, ou seja, a habilidade materna. Esse parâmetro é tão importante que, se fosse possível, os produtores só deveriam adquirir matrizes após avaliação desse índice. Na falta dele, o animal que está sendo desmamado é o melhor indicador para isso.

Essa é uma fase de desenvolvimento do sistema reprodutor e seus anexos, além da produção de hormônios e do fortalecimento das estruturas corporais para que a fêmea esteja preparada para o acasalamento. O desenvolvimento fisiológico normal do animal depende do manejo adequado, principalmente

quanto à alimentação. Dessa maneira, a desmama assume grande importância, pois animais bem desmamados passam por essa fase sem problemas, completando-a em torno dos 18 meses, com a média por volta dos 15 a 16 meses

Isto significa que as fêmeas com essa idade já estariam aptas a receber o macho ou serem inseminadas, caso apresentem peso adequado (mínimo de 350 kg). De acordo com Oba e Camargos (2011), a puberdade ocorrerá em torno dos 15 aos 18 meses, com peso equivalente a 280 kg a 300 kg. Durante essa fase, as novilhas são selecionadas em função de sua caracterização racial e da morfologia apresentada. Uma vez coberta, a parição deverá ocorrer entre 500 kg e 600 kg, dependendo da raça (Oba, 2003).

#### Manejo no pré-parto e no período seco

O parto constitui-se no grande momento da vida produtiva de um animal, de modo que a fêmea deve receber toda a assistência quando necessário. Um problema durante o parto pode inutilizar a fêmea quanto à vida reprodutiva. Logo após o parto, deve ser efetivada uma das mais significativas práticas de manejo, da qual dependerá a saúde do bezerro: a ingestão do colostro. As imunoglobulinas, associadas a diversas substâncias, sais minerais e vitaminas, conferem imunidade aos bezerros, tornando-os resistentes a várias doenças até que seu sistema imune se desenvolva completamente e resulte em um animal mais saudável e produtivo.

O período neonatal representa um momento crítico na produção de bubalinos, em que todos os órgãos devem se adaptar à vida extrauterina. Nesse período, ocorrem altas taxas de mortalidade, que variam de 17% a 36% em animais da raça Murrah (Shivahre et al., 2014). Nos ruminantes a placentação é do tipo sindesmocorial, em que o epitélio coriônico tem contato direto com os tecidos uterinos.

Dessa maneira, ocorre o impedimento da passagem transplacentária das moléculas de imunoglobulinas, fazendo com que os recém-nascidos dessas espécies sejam completamente dependentes dos anticorpos recebidos via colostro (Tizard, 2009). A absorção de imunoglobulinas pelos bezerros bubalinos também está diretamente relacionada com o ganho de peso

diário e o peso aos 30 dias de bezerros bubalinos criados junto com a mãe (Mastellone et al., 2011).

Já o chamado período seco é aquele no qual as fêmeas começam a se preparar para o parto seguinte, coincidindo com outro importante momento, o pré-parto. Nesse período, as fêmeas devem ser "secas", o que significa que se deve parar de ordenhá-las. A primeira prática de manejo nesta fase, a secagem das glândulas mamárias das fêmeas, deve ocorrer no momento correto. Deve durar o suficiente para preparar a fêmea para o parto e, na maioria dos casos, o ideal é por volta de 60 dias antes do parto, pois permite à fêmea se recuperar da lactação e se preparar para o estresse do parto e da amamentação.

Assim, condições adequadas de manejo devem ser oferecidas aos animais, transferindo-os para um piquete-maternidade, ou seja, uma área separada onde ficarão até o parto, de preferência com bom pasto, sombra e água à vontade, além da tranquilidade que requer toda fêmea gestante (Marques, 2011; Camargo Júnior et al., 2012).

#### Idade ao primeiro parto

O registro da idade das novilhas ao primeiro parto (IPP) é muito importante, pois esta tem alta correlação com a vida útil produtiva do animal, significando que as fêmeas que têm o seu primeiro parto mais cedo são mais férteis e produzem mais durante a sua vida reprodutiva. As novilhas, ou primíparas, devem ser manejadas com muita atenção. Não se deve permitir a monta e/ou inseminar fêmeas com um peso menor que 350 kg, para não comprometer a vida reprodutiva da fêmea com uma gestação em estado corporal não condizente. Assim, utilizar o sistema de escore corporal é importante para não se cometer erros nessa fase tão crucial da vida do animal (Camargo Júnior et al., 2012).

### Período de serviço

Outro momento importante é o chamado período de serviço (PS), que antecede a fecundação. O período de serviço corresponde ao tempo que vai do parto até a primeira cobrição fértil. Esse período se divide em período puerperal,

quando ocorre a involução uterina e recomposição do trato reprodutivo, e período de serviço propriamente dito, em que a fêmea é coberta pelo touro ou inseminada artificialmente (Camargo Júnior et al., 2012).

#### Intervalo de partos

O intervalo de partos (IDP) é um dos índices mais importantes da criação animal, pois é dependente de todas as práticas de manejo (nutricional, reprodutivo e sanitário). Quanto maior o IDP, menor será a produtividade do rebanho, acarretando prejuízos econômicos ao produtor. Assim, muita atenção deve ser dada à recuperação da fêmea após o parto, bem como à alimentação, antes e depois do parto e, também, à utilização de reprodutores saudáveis. Esses cuidados interferem diretamente no ciclo reprodutivo do animal, alterando o IDP. A búfala deve parir uma cria por ano e, caso isso não aconteça, devem ser concentrados esforços na identificação das causas. Para que a fêmea produza uma cria por ano, o IDP não deve passar dos 60–90 dias (Camargo Júnior et al., 2012).

#### Seleção/escolha de reprodutores e matrizes

A maior eficiência reprodutiva de um rebanho está intimamente ligada aos animais de reprodução que o compõem e ao nível de melhoramento genético que se quer implantar. Assim, tais aspectos passam pela seleção e/ou escolha de reprodutores e matrizes, encontrando-se suporte na literatura sobre essas afirmações em Marques (2011).

#### Reprodutores

A seleção de reprodutores começa com a escolha de matrizes, mães de futuros touros. Elas devem apresentar todas as características raciais desejáveis, aptidão para o fim a que se destina, leite ou carne, habilidade materna e capacidade reprodutiva. O produto proveniente de tais acasalamentos deve ser identificado e o seu desempenho acompanhado até o final da primeira lactação. O seu crescimento deve ser acompanhado e deseja-se que o ganho de peso médio diário seja entre 500 g e 700 g ao longo do período de crescimento.

O teste de touros para produção de carne consiste em avaliar seus descendentes logo após o desmame, em provas de ganho de peso que se estendem de 154 a 210 dias, conforme o critério adotado. Nessa prova, procura-se reunir animais da mesma idade ou com idades semelhantes. Ao término da prova, os animais normalmente são classificados em elite para os maiores ganhadores, superior para os que superam a média e assim, sucessivamente. O grupo de progênie representa a habilidade do pai em transmitir a característica desejada, ganho de peso e índice de conversão aos seus descendentes, sendo também classificados como touros melhorantes ou não, em função do programa estabelecido (Oba, 2003).

Os índices genéticos que devem ser levados em consideração para a seleção de um reprodutor são os indicadores mais importantes para o efetivo melhoramento genético, no caso a PTA e a DEP, que indicam ou predizem a capacidade ou habilidade de um animal transmitir geneticamente a sua produção. Na falta desses indicadores ou índices, além da "balança" e produção de leite de seus descendentes, um reprodutor deve apresentar as seguintes características:

- Circunferência escrotal acima de 30 cm, aos 24 meses.
- Temperamento vivo, sem ser nervoso. Isso pode ser uma demonstração de alta libido.
- Grande capacidade respiratória, peito largo e profundo e costelas largas, arqueadas e separadas, além de porte satisfatório para a raça.
- Vigor e bons aprumos.
- Pelos macios, assentados e brilhantes.
- Costado amplo, garupa e coxas enxutas e descarnadas. A pele deve ser solta e elástica.
- Órgãos genitais íntegros, com testículos de consistência apropriada.
- Membros dianteiros descarnados, fortes e quase retos.
- Quartelas flexíveis e fortes (articulação que liga o casco à canela).
- Cascos curtos, redondos e sola plana.

- Unhas não muito abertas e talões altos (parte superior das unhas).
- Bom desenvolvimento ponderal e precocidade para ganho em peso.
- Boa fertilidade.

Devem ser associados a todas essas características rigorosos exames clínicos e laboratoriais, inclusive com avaliação andrológica completa do animal.

#### **Matrizes**

No caso de uma criação já implantada, são utilizadas as fêmeas existentes na própria fazenda, e o objetivo principal da exploração é a produção de leite, com seleção voltada para animais de procedência leiteira. A escolha deve ser realizada com base, principalmente, na categoria das fêmeas em lactação, em razão de promover o melhoramento do seu rebanho, e também nos registros zootécnicos (desempenho produtivo e reprodutivo) e genealogia (ascendência dos animais), de modo que essas fêmeas devem apresentar escore de condição corporal satisfatório e ciclos estrais regulares. As seguintes características devem ser observadas na escolha de matrizes:

- Escolher fêmeas aptas à reprodução, devendo a palpação retal ser realizada por médico-veterinário da área.
- Para fêmeas destinadas à produção de leite, analisar o período de lactação, o qual deve ser de aproximadamente 270 dias.
- Na aquisição de novilhas ou bezerras, observar as produções das mães e avós, a origem (linhagem) e produção do pai por meio das outras filhas.
- · Deve ser fértil, com aspecto saudável e temperamento dócil.
- Em relação à forma (morfologia), uma boa búfala de leite deve ter a semelhança de uma cunha, ou seja, triangular quando vista de frente, de cima e dos lados.
- Em exames físicos, é importante um úbere grande, com ligamentos dianteiros e traseiros firmes, bem irrigados, salientando as duas grossas

veias mamárias (que passam pelas laterais da barriga) e grande quantidade de veias menores e bem ramificadas. As tetas devem estar dispostas simetricamente de tamanho que caiba na mão fechada de uma pessoa adulta.

- Os aprumos devem ser bem retos, com os membros posteriores ligeiramente arqueados.
- Narinas largas e peito denotando grande capacidade respiratória (alto e largo) e pernas dianteiras bem separadas.
- Garupa larga e comprida, ligeiramente inclinada para trás.
- Pele solta e costelas bem separadas e arqueadas.
- As fêmeas devem ser magras, porém não debilitadas, esguias, com pescoço fino e coxas torneadas.

Além dos fatores mencionados, é importante realizar exames ginecológicos, e verificar a saúde das glândulas mamárias, na observância de presença ou não de mastite, como também, do aspecto de saúde do animal.

### Estação monta ou reprodutiva

Trata-se do período do ano em que matrizes aptas à reprodução são submetidas ao acasalamento, que pode ser efetuado com touros (monta natural e controlada) ou IA. A estação reprodutiva permite uma distribuição mais uniforme dos nascimentos e facilita o manejo das matrizes. Além disso, pode ser implantada em período do ano com maior oferta de alimentos. Sua duração depende da meta a ser alcançada e idade dos animais.

Animais adultos podem ter uma estação de monta de 60 a 90 dias, enquanto, para novilhas, preconiza-se um período de até 45 dias, possibilitando um número maior de dias para recuperação do pós-parto (Oba; Camargos, 2011). O sistema de acasalamento é de extrema importância e a escolha deve ser definida de acordo com a infraestrutura disponível, treinamento de mão de obra e objetivos a serem alcançados. Pode ser adotada a monta natural ou a monta controlada, contudo, para um efetivo melhoramento destaca-se a IA/IATE.

#### Cálculo do índice de eficiência reprodutiva

Calcula-se a eficiência reprodutiva (ER) de um rebanho de várias formas. O cálculo descrito a seguir, utilizando-se apenas IDP, é o mais simples e aproximado da realidade.

ER (%) = IDP observado / IDP Ideal x 100

Em que:

IDP observado

IDP Ideal – 365 (IDP ideal de 365 dias).

# Operacionalização do manejo reprodutivo na propriedade

Para realizar um bom manejo reprodutivo na propriedade, devem-se observar, inicialmente, os cuidados com as fêmeas gestantes. Obrigatoriamente, tais cuidados passam pela confirmação da gestação, aos 60 dias após a monta ou a IA, para que sejam providenciadas as devidas ações preventivas sanitárias, nutricionais e de controle reprodutivo, com o final da gestação e início do parto.

O manejo sanitário deve ser seguido e o controle de ecto e endoparasitas deve ser rigoroso com as crias. O sucesso de uma atividade pecuária depende de manejo e de uma boa administração, visando à obtenção de bons resultados. Devem ser levados em consideração os seguintes pontos:

- 1) Registro de dados é muito importante anotar todas as informações relacionadas à vida de cada animal, como registro ou controle zootécnico (idade, partos, filiação, origem, ocorrências de doenças, alimentação, medicamentos utilizados, produções, peso de leite, peso corporal, etc.), dados dos pais e avós, problemas genéticos ou de outra ordem que ocorrerem.
- 2) Variações climáticas observar as alterações climáticas que ocorrem de ano para ano e outras variáveis ambientais, pois podem ser grandes aliadas no manejo dos animais.

3) Tratamento dos animais – como é fundamental o tratamento dispensado aos animais, observar o trato dos vaqueiros no manejo diário, principalmente na ordenha. Vaqueiro nervoso e bruto não serve para o trabalho direto com o gado.

A fazenda que comercializa o leite ou fabrica queijos deverá realizar exames rotineiros com o objetivo de controlar e tratar as fêmeas que, cobertas ou inseminadas, não retornaram ao cio após 60 dias. O veterinário deve realizar o diagnóstico de gestação e, caso positivo, deverá indicar a data provável do parto. Quando diagnosticar fêmeas vazias, tentar de forma precoce determinar o problema. Após o "toque" (diagnóstico da gestação), deverá ser elaborada uma lista das fêmeas vazias e daquelas que irão parir nos próximos 15 a 30 dias.

Deve-se ainda calcular os dias secos e controlar o parto, verificar as fêmeas em lactação a cada mês, para calcular sua produção média e prever sua produção total. Todas as fêmeas com mais de 30 dias pós-parto devem ser examinadas, assim como aquelas servidas por três vezes e que continuam retornando o cio.

As fêmeas com retenção de placenta, com abortamentos ou com descargas vaginais fétidas ou purulentas deverão passar pelo exame de brucelose e, caso positivo numa prova e contraprova, devem ser eliminadas. Todas as fêmeas com mais de 60 dias pós-parto, que ainda não apresentaram cios, e as que apresentam descarga anormal (secreção purulenta pela vulva) durante o cio devem ser examinadas, para que seja providenciado o respectivo tratamento ou a sua eliminação do rebanho.

Ocorrências reprodutivas incomuns devem também ser observadas, como: retenção de placenta, parto gemelar, partos com problemas, doenças debilitantes e gestação com cios não podem ficar muito tempo sem ser examinadas, pois casos assim podem aumentar os custos em relação aos benefícios. A assistência veterinária a cada visita elimina as causas da infertilidade e ainda recomenda medidas necessárias para obter o máximo desempenho reprodutivo. A cada visita realizada, os registros da fazenda serão atualizados pelo técnico, acrescentando os achados clínicos e tratamentos de ocasião.

Após todos os esforços para melhorar o manejo reprodutivo do rebanho, a fazenda terá com condições para implantar o melhoramento genético no rebanho e aumentar os índices de eficiência reprodutiva.

### Referências

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, n. 1, p. 23-28, 2007.

ANAND, T.; KUMAR, D.; CHAUHAN, M. S.; MANIK, R. S.; PALTA, P. Cysteamine supplementation of in vitro maturation medium, in vitro culture medium or both media promotes in vitro development of buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, n. 2, p. 253-257, 2008.

BARUSELLI, P. S. Basic requiriments for artificial insemination and embryo transfer in buffaloes. **Buffalo Journal**, v. 10, p. 53-60, 1994. Suppl. 2.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; CARVALHO, N. A. T.; SÁ FILHO, M. F.; FERRAZ, M. L.; BARNABE, R. C. O estado atual da biotecnologia reprodutiva em bubalinos: perspectiva de aplicação comercial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 285-292, 2007.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; CARVALHO, N. A. T.; SÁ FILHO, M. F.; FERRAZ, M. L. Folliculogenesis applied to reproductive biotechnologies in buffaloes. In: INTERNATIONAL BUFFALO CONFERENCE, 2010, New Delhi. **Proceedings**... [S.I.]: Central Institute for Research on Buffaloes Hisar India, 2010. p. 67-176.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C.; BERBER, R. C. A. Evaluation of synchronization of ovulation for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 6, p. 431-442, 2003.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; VISINTIN, J. A.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C.; AMARAL, R. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 3, p. 360-363, 1999.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; VISINTIN, J. A.; PORTO-FILHO, R.; CARVALHO, N. A. T.; CAMPANILE, G.; ZICARELLI, Z. Failure of oocyte entry into oviduct in superovulated buffalo. **Theriogenology**, v. 53, n. 1, p. 491, 2000. Proceedings of Annual Conference of The International Embryo Transfer Society, 2000, Maastrich.

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, n. 8, p. 1531-1547, 1997.

BARUSELLI, P. S.; SOARES, J. G.; GIMENES, L. U.; MONTEIRO, B. M.; OLAZARRI, M. J.; CARVALHO, N. A. T. Control of buffalo follicular dynamics for artificial insemination, superovulation and in vitro embryo production. **Buffalo Bull**, v. 32, n. 1, p. 160-167, 2013.

- CAMARGO JÚNIOR, R. N. C.; MARQUES, J. R. F.; MARCONDES, C. R.; ARAUJO, C. V.; AGUIAR, J. F.; MARQUES, L. C.; RODRIGUES, A. E. Índices de eficiência reprodutiva de búfalos da Amazônia Oriental do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 4, p. 796-803, 2012.
- CAMPANILE, G.; BARUSELLI, P. S.; NEGLIA, G.; VECCHIO, D.; GASPARRINI, B.; 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, n. 1-2, p. 1-11, 2010.
- CARVALHO, F. C. A. **Análise estrutural e ultra-estrutural de folículos pré-antrais de fetos e de fêmeas bubalinas (***Bubalus bubalis***) em diferentes fases reprodutivas**. 2005. 95 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CARVALHO, N. A. T.; BOMBONATO, P. P.; D'ANGELO, M.; BARUSELLI, P. S.; Caracterização anatomo funcional do sistema genital de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) e suas implicações na múltipla ovulação e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 95-103, 2011.
- CARVALHO, N. A. T.; NAGASAKU, E. M.; VANNUCCI, F. S.; TOLEDO, L. M.; BARUSELLI, P. S. Ovulation and conception rate according intravaginal progesterone device and hCG or GnRH to induce ovulation in buffalo during the off breeding season. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, p. 646-648, 2007. Suppl. 2.
- CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; BARUSELLI, P. S. Strategies to overcome seasonal anestrus in water buffalo. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 200-206, 2016.
- CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; PORTO FILHO, R. M.; GIMENES, L. U.; SOUZA, D. C.; NICHI, M.; SALES, J. S.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a timed artificial insemination protocol in buffalo during the nonbreeding season. **Theriogenology**, v. 79, n. 3, p. 423-428, 2013.
- CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; SOUZA, D. C.; MAIO, J. R. G.; SALES, J. N. S.; MARTINS, B. J.; MACARI, R. C.; D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S. Ovulation synchronization with estradiol benzoate or GnRH in a timed artificial insemination protocol in buffalo cows and heifers during the nonbreeding season. **Theriogenology**, v. 87, p. 333-338, 2017.
- CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; SOUZA, D. C.; MAIO, J. R. G.; SALES, J. N. S.; MARTINS, B. J. Ovulation synchronization with EB or GnRH in buffalo TAI during the non breeding season. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 523, 2012.
- DAS, G. K.; KHAN, F. A. Summer anoestrus in buffalo a review. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 6, p. 483-494, 2010.
- DE RENSIS, F.; RONCI, G.; GUARNERI, P.; NGUYEN, B. X.; PRESICCE, G. A.; HUSZENICZA, G.; SCARAMUZZI, R. J. Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 63, n. 7, p. 1824-1831, 2005.
- DROST, M. Advanced reproductive technology in the water buffalo. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 450-453, 2007.
- FAO. **FAOSTAT** Agriculture data. Disponível em: <a href="http://apps.fao.org/cgi-gin/nph-db.pl?subset=agriculture/">http://apps.fao.org/cgi-gin/nph-db.pl?subset=agriculture/</a>>. Acesso em: 20 jun. 1999.

FERRAZ, M. L.; WATANABE, Y. F.; JOAQUIM, D. C.; WATANABE, M. R.; ACCORSI, M. F.; MEIRELLES, F. V.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Produção in vitro de embriões bubalinos – resultados preliminares. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 397, 2005. Suppl. 1.

GASPARRINI, B. *In vitro* embryo Production in buffalo specie: state of the art. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 237-256, 2002.

GASPARRINI, B.; BOCCIA, L.; MARCHANDISE, J.; DI PALO, R.; GEORGE, F.; DONNAY, I.; ZICARELLI, L. Enrichment of in vitro maturation medium for buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes with thiol compounds: effects of cystine on glutathione synthesis and embryo development. **Theriogenology**, v. 65, n. 2, p. 275-287, 2006.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2. ed. São Paulo: Roca 2008. 395 p.

INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY. IETS 2012 Statistics and Data Retrieval Committee Report. Champaign, 2012.

JORGE, A. M. Biotecnologias da reprodução em bubalinos. In: RAMOS, A. de A. (Ed.). **Contribuição ao estudo dos bubalinos**: período de 1972-2001: palestras. Botucatu: Unesp, 2003. p. 225-244.

KHAKI, A.; BATAVANI, R.; NAJAFI, G.; TAHMASBIAN, H.; BELBASI, A.; MOKARIZADEH, A. Effect of Leptin on In Vitro Nuclear Maturation and Apoptosis of Buffalo (*Bubalus bubalis*) Oocyte. **International Journal of Fertility and Sterility**, v. 8, n. 1, p. 43-50, 2014.

LOURENÇO JUNIOR, J. B. Produção de búfalos na Amazônia. In: SIMPÓSIO DO NÚCLEO DE ESTUDOS EM BOVINOCULTURA, 2., 2005, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro: UFRRJ, 2005. p. 207-226.

MARQUES, J. R. F. (Ed.). **Produção animal na Ilha de Marajó**. 2. ed. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2011. 243 p.

MASTELLONE, V.; MASSIMINI, G.; PERO, M. E.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; LOMBARDI, P.; BRITTI, D.; AVALLONE, L. Effects of passive transfer status in buffalo calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 24, n. 7, p. 952-956, 2011.

MISRA, A. K.; KASIRAJ, R.; RAO, M. M.; RANGAREDDY, N. S.; JAISWAL, R. S.; PANT, H. C. Rate of trasnport and development of preimplantation embryo in the superovulated buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 50, n. 4, p. 637-649, 1998.

NANDI, S.; RAGHU, H. M.; RAVINDRANATHA, B. M.; CHAUHAN, M. S. Production of Buffalo (*Bubalus bubalis*) Embryos in vitro: Premises and Promises. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n. 2, p. 65-74, 2002.

OBA, E. Tópicos atualizados ligados à reprodução na espécie bubalina. In: RAMOS, A. de A. (Ed.). **Contribuição ao estudo dos bubalinos**: período de 1972-2001: Palestras. Botucatu: Unesp. 2003. p. 179-198.

OBA, E.; CAMARGOS, A. S. Manejo reprodutivo em bubalinos de corte. In: SIMPÓSIO DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA, 2.; INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BUFFALO PRODUCTION CHAIN, 1., 2011, Botucatu. **Anais**. Botucatu: Unesp, 2011.

- RHODES, F. M.; BURKE, C. R.; CLARK, B. A.; DAY, M. L.; MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, v. 69, n. 3, p. 139-150, 2002.
- RHODES, F. M.; McDOUGALL, S.; BURKE, C. R.; VERKERK, G. A.; MACMILLAN, K. L. Invited review: treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 1876-1894, 2003.
- SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R.; NASSER, L. F.; TONHATI, H.; GARCIA, J. M.; GASPARRINI, B.; ZICARELLI, L.; BARUSELLI, P. S. Effect of recombinant bovine somatotropin (bST) on follicular population and on in vitro buffalo embryo production. **Animal Reproduction Science**, v. 113, n. 1/4, p. 51-59, 2009.
- SARTORI, R.; PRATA, A. B.; FIGUEIREDO, A. C. S.; SANCHES, B. V.; PONTES, G. C. S.; VIANA, J. H. M.; PONTES, J. H.; VASCONCELOS, J. L. M.; PEREIRA, M. H. C.; DODE, M. A. N.; MONTEIRO JUNIOR, P. L. J.; BARUSELLI, P. S. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 13, n. 3, p. 300-312, 2016.
- SHIVAHRE, P. R.; GUPTA, A. K.; PANMEI, A.; BHAKAT, M.; KUMAR, V.; DASH, S. K. Mortality pattern of Murrah buffalo males in an organised herd. **Veterinary World**, v. 7, n. 5, p. 356-359, 2014.
- SILVA, M. S. T.; LOURENÇO JUNIOR, J. B.; MIRANDA, H. A.; ERCHESEN, R.; FONSECA, R. F. S. R.; MELO, J. Á.; COSTA, J. M. **Programa de incentivo à criação de búfalos por pequenos produtores**: PRONAF-Pará, agosto de 2003. Belém, PA: EMBRAPA-CPATU, 2003. 20 p.
- SINGHAL, S.; PRASAD, S.; PRASAD, J. K.; GUPTA, H. P. Effect of including growth factors and antioxidants in maturation medium used for *in vitro* culture of buffalo oocytes recovered *in vivo*. **Animal Reproduction Science**, v. 113, n. 1-4, p. 44-50, 2009.
- SOUZA, D. C.; CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; MONTEIRO, B. M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of the presence of corpus luteum in lactating buffaloes on the response to the ovsynch protocol during the breeding season (preliminary results). **Animal Reproduction**, v. 12, n. 3, p. 629, July/Sept. 2015. Resumos do 29th annual meeting of the Brazilian embryo Technology Society (SBTE).
- SURRESH, K. P.; NANDI, S.; MONDAL, S. Factors affecting laboratory production of buffalo embryos: A meta-analysis. **Theriogenology**, v. 72, n. 7, p. 978-985, 2009.
- TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 96-100, 2005.
- TIZARD, I. R. Immunity in the fetus and new born. In: TIZARD, I. R. (Ed.). **Veterinary Immunology**: An Introduction. 8. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009. p. 221-233.
- ZICARELLI, L. Enhancing reproductive performance in domestic dairy water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Society of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 67, p. 443-455, 2010. Proceedings of the Eight International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants. September 3-7, 2010. Anchorage, Alaska, USA.



