

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

LUCIANA FERRI FRARES

**USO DO ACETATO DE DESLORELINA COMO INDUTOR DA OVULAÇÃO
NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BÚFALAS DURANTE
A ESTAÇÃO REPRODUTIVA DESFAVORÁVEL**

CURITIBA

2010

LUCIANA FERRI FRARES

**USO DO ACETATO DE DESLORELINA COMO INDUTOR DA OVULAÇÃO
NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BÚFALAS DURANTE
A ESTAÇÃO REPRODUTIVA DESFAVORÁVEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Linha de Pesquisa Reprodução e Melhoramento Genético Animal, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador:

Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss

CURITIBA

2010

DEDICO E OFEREÇO

À minha querida mãe, Clarice, a maior incentivadora dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Clarice Ferri, a pessoa que mais admiro, respeito e amo, por todo esforço, dedicação e amor.

Aos meus irmãos, Angela e Leandro que, apesar da distância, estão sempre dispostos a me ajudar.

Àquele que com seu apoio faz toda a diferença, Vinícius.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss, pela oportunidade, confiança e auxílio.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Luiz Ernandes Kozicki, pela oportunidade de ingresso no Mestrado e por todos os ensinamentos.

Aos proprietários das fazendas, Sr. Davi Thiessen e Sr. Ivo de Almeida, por acreditarem no meu trabalho e me receberem de maneira tão atenciosa e acolhedora. Assim como a todos os funcionários das mesmas.

Ao Prof. Dr. José Antônio Dell'Aqua Junior, pelo material fornecido e pelos esclarecimentos dados.

À minha colega, Renata, pela ajuda incondicional em todas as etapas desse Mestrado.

Ao REUNI, Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais, pela concessão da bolsa durante o ano de 2010.

À Universidade Federal do Paraná.

A todos que de alguma forma cooperaram durante esse período.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS.....	III
INTRODUÇÃO.....	10
OBJETIVO GERAL	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
CAPÍTULO 1: FISILOGIA REPRODUTIVA E HORMONIOTERAPIA APLICADA NA ESPÉCIE BUBALINA: UMA REVISÃO.....	12
RESUMO	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DA ESPÉCIE BUBALINA.....	16
Causas de anestro em búfalas.....	17
HORMONIOTERAPIA.....	18
Uso de progestágenos e estradiol.....	18
Uso da Gonodotrofina Coriônica Equina (eCG).....	21
Uso do Hormônio Liberador das Gonadotrofinas (GnRH).....	22
Uso do análogo do GnRH (Deslorelina).....	24
CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29
CAPÍTULO 2: USO DO ACETATO DE DESLORELINA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BÚFALAS DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA DESFAVORÁVEL.....	37
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAL E MÉTODOS.....	41
Animais e Local do Experimento.....	41
Delineamento Experimental.....	41

Exames ultrassonográficos.....	42
Análise estatística.....	43
RESULTADOS.....	44
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS DA MOLÉCULA DE DESLORELINA.....	24
FIGURA 2 - PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO – GRUPO 1.....	42
FIGURA 3 - PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO – GRUPO 2.....	42
FIGURA 4 - FOLÍCULO DOMINANTE COM 11 MM DE DIÂMETRO VISUALIZADO DURANTE O EXAME ULTRASSONOGRÁFICO NO DIA 16 DO PROTOCOLO..	43
FIGURA 5 - EXAME ULTRASSONOGRÁFICO PARA DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO NO 55º DIA APÓS A IATF.....	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ANÁLISE DOS PARÂMETROS NOS DIAS 16 E 17 DO PROTOCOLO DE IATF.....	43
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

BE – Benzoato de Estradiol
CID-R – Dispositivo Intravaginal de Progesterona
CL – Corpo Lúteo
CRESTAR – Implante Subcutâneo de Progesterona
E2 - Estradiol
eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina
EPE – Extrato de Pituitária Equina
FD – Folículo Dominante
FSH – Hormônio Folículo Estimulante
GnRH – Hormônio Liberador das Gonadotrofinas
h - Horas
hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana
IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IM – Intramuscular
IV – Intravenoso
LH – Hormônio Luteinizante
mg – Miligramas
mm – Milímetros
P4 – Progesterona
PRID – Dispositivo Intravaginal de Progesterona
PGF ou PGF2 α – Prostaglandina
 μ g – Microgramas

INTRODUÇÃO

O crescente interesse dos criadores, aliado ao aumento do rebanho mundial (média de 7,8% ao ano) tem feito com que a espécie bubalina venha se tornando uma fonte viável de proteína de origem animal. A produção de leite de búfala aumentou 28,3% nos últimos 10 anos, sendo que hoje é responsável por 12,4% da produção mundial (BARUSELLI, 1994).

As raças de búfalos introduzidas no Brasil foram as seguintes: Jafarabadi, Carabao, Murrah e Mediterrâneo, sendo as duas últimas de aptidão leiteira. O número de animais vem crescendo a uma taxa média anual de 12,5%, tendo alcançado 2,5 milhões de cabeças no país (ABCB, 2008).

Os búfalos, quando criados em localidades distantes da região equatorial, têm um comportamento reprodutivo influenciado positivamente pela diminuição do fotoperíodo (número de horas de luz do dia). Portanto, pode-se considerar a búfala como poliéstrica estacional e reprodutora de período curto (ZICARELLI, 1990).

Devido à sazonalidade ocorre a concentração das parições, que afeta a produção do leite e conseqüentemente de seus derivados como a mussarela, produto muito valorizado no ramo alimentício (BARUSELLI, 2003).

Para que a búfala cicle o ano inteiro, torna-se necessária a indução do cio para inseminação artificial em tempo fixo no período em que os animais apresentam anestro estacional, neste caso, primavera e verão.

A criação de novos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para búfalas em período reprodutivo desfavorável tornará a produção leiteira homogênea durante todo o ano, fazendo com que a comercialização dos produtos lácteos seja estável, sem oscilações drásticas de preços.

OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do acetato de deslorelina, como indutor da ovulação em protocolos de sincronização de cio para inseminação artificial em tempo fixo em búfalas, durante a estação reprodutiva desfavorável.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo 1

Induzir o estro em búfalas leiteiras mediante o emprego de dois protocolos hormonais diferentes durante a estação reprodutiva desfavorável.

Objetivo 2

Utilizar a IATF visando a reprodução ao longo de todo o ano e, conseqüentemente, incrementar a produção de leite no período de entre-safra.

CAPÍTULO 1
FISIOLOGIA REPRODUTIVA E HORMONIOTERAPIA APLICADA NA
ESPÉCIE BUBALINA: UMA REVISÃO

FISIOLOGIA REPRODUTIVA E HORMONIOTERAPIA APLICADA NA ESPÉCIE BUBALINA

RESUMO – Os búfalos, quando criados em localidades distantes da região equatorial, têm um comportamento reprodutivo influenciado positivamente pela diminuição do número de horas de luz no dia (fotoperíodo). Portanto, pode-se considerar a búfala como poliéstrica estacional e reprodutora de período curto. Para que a fêmea cicle o ano inteiro, torna-se necessária a indução do cio para inseminação artificial em tempo fixo no período em que os animais apresentam anestro estacional, neste caso, primavera e verão. A criação de novos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para búfalas em período reprodutivo desfavorável tornará a produção leiteira homogênea durante todo o ano, fazendo com que a comercialização dos produtos lácteos seja estável, sem oscilações drásticas de preços.

Palavras-chave: búfalas; anestro; sincronização.

REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY AND HORMONAL THERAPY IN BUFFALOES

ABSTRACT – Buffaloes, when created in locations far from the equatorial region, have a reproductive behavior positively influenced by the decrease of the number of hours of light each day (photoperiod). Therefore, the female buffalo can be considered to have seasonal polyestric thread and short period reproductor. For the female to cycle the whole year, it becomes necessary the induction of estrus for fixed time artificial insemination at the period that the animals shows anestrus, in this case, spring and summer. The creation of new fixed time artificial insemination protocols to buffaloes in unfavorable reproductive period becomes milk production homogeneous during all the year, stabilizing the marketing of dairy products, avoiding drastic swings in prices.

Key words: buffaloes; anestrus; synchronization.

1- INTRODUÇÃO

O búfalo doméstico, *Bubalus bubalis*, é uma espécie distinta dentro da família dos bovídeos, sendo que aqueles classificados como “do pântano” podem ser utilizados para tração animal e são manejados de maneira similar ao gado de corte, e os búfalos de rio são produtores de leite.

As características da espécie que se destacam são: rusticidade, prolificidade, adaptabilidade, vida útil de até 15 anos, precocidade, docilidade, elevada taxa de produtividade de carne e leite, aliadas à natalidade superior a 80% e mortalidade inferior a 3% ao ano (MOREIRA et al., 1994).

Os búfalos, quando criados em localidades distantes da região equatorial, têm um comportamento reprodutivo influenciado positivamente pela diminuição de horas de luz do dia. O padrão sazonal reprodutivo desta espécie ainda não está totalmente esclarecido, pois não se sabe se é determinado por fatores ambientais ou genéticos. No entanto, existem evidências de que a temperatura ambiental, o fotoperíodo, a umidade relativa e a pluviosidade podem exercer influência sobre o sistema endócrino dos búfalos (ZICARELLI, 1990; SING, NANDA & ADAMS, 2000; SHAH, 1990).

Devido à sazonalidade reprodutiva da espécie, a concentração de partos faz com que a produção de leite seja heterogênea. Um dos fatores que limitam o desempenho reprodutivo de rebanhos inseminados artificialmente é a dificuldade na detecção do estro pelo inseminador, pois poucas fêmeas bubalinas apresentam comportamento homossexual, que é bem característico no estro de fêmeas bovinas, por exemplo, e porque os sinais são discretos. Portanto, a utilização de protocolos que não necessitem de identificação de cio contribuirá para o incremento da utilização da inseminação artificial nos rebanhos de bubalinos, principalmente devido à sua facilidade de execução (BARUSELLI e CARVALHO, 2005).

Os protocolos objetivam sincronizar a inseminação artificial e empregá-la em todas as fêmeas da propriedade, mesmo naquelas que não estejam manifestando estro ou ciclicidade, colaborando, assim, para o aumento do emprego desta biotécnica nos rebanhos de bubalinos e permitindo que o melhoramento genético e o incremento na produtividade do leite sejam mais rápidos e eficientes (BARUSELLI, 1994).

Esta revisão tem como objetivo reunir informações sobre as características reprodutivas peculiares da espécie bubalina, bem como, os diversos protocolos hormonais que podem ser empregados com objetivo de sincronizar o estro e a ovulação para inseminação artificial em tempo fixo na espécie.

2- CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DA ESPÉCIE BUBALINA

Essa espécie animal pode ser caracterizada como poliéstrica estacional de dias curtos, semelhante aos caprinos e ovinos. Em regiões distantes da linha do Equador, onde há maior variação diária na duração das horas de luz, o comportamento reprodutivo dos bubalinos é positivamente influenciado pela diminuição das horas de luz do dia. Portanto, há maior manifestação de cio durante o outono e inverno (BARUSELLI, 1994; ZICARELLI, 1994).

Em regiões tropicais, onde o fotoperíodo é relativamente constante, as alterações anuais na precipitação parecem influenciar a ciclicidade estral, assim como a disponibilidade e qualidade da forragem também estão relacionadas com esse padrão cíclico de reprodução (PERERA et al., 1987).

Segundo Sing et al. (2000), ainda não está estabelecido se a estacionalidade reprodutiva dos bubalinos é uma característica genética ou consequência de fatores ambientais. No entanto, sabe-se que fatores como a extensão do dia, a temperatura ambiental, a pluviometria e a umidade relativa do ar exercem grande influência sobre o sistema endócrino dessa espécie (SHAH, 1990).

De acordo com Zicarelli (1994), o hormônio responsável por sinalizar a alternância claro/escuro em búfalos é a melatonina, que controla o início ou o término da atividade cíclica. Os níveis de melatonina apresentam um ciclo de 24 horas, e representam um sinal endócrino que alerta e modifica para um padrão baixo os outros hormônios envolvidos na regulação da função reprodutiva. Os melhores indicativos de sensibilidade ao fotoperíodo nas búfalas podem ser aferidos a partir dos níveis de melatonina e seu aumento noturno (PARMEGGIANI et al., 1992).

O anestro é uma importante causa de ineficiência reprodutiva e tem sido diferenciado em temporário ou anestro profundo, de acordo com o tempo

transcorrido entre o parto e a concepção (< ou > 150 dias), respectivamente (ZICARELLI, 1997), ou em superficial e anestro profundo (PRESICCE et al. 2005), segundo a presença ou ausência de folículos ovarianos, respectivamente.

Gupta et al. (2007) realizaram experimento para avaliar a recuperação de folículos pré-antrais correlacionando com a estação reprodutiva. Estes autores obtiveram número significativamente menor de oócitos em búfalas coletadas durante os meses com temperatura superior a 25°C.

A concentração de partos conseqüente à estação reprodutiva faz com que a produção de leite seja heterogênea durante o ano, prejudicando a atividade e lucratividade do setor (BARUSELLI e CARVALHO, 2003)

2.1- Causas de anestro em búfalas

a) Ovários inativos e ovários com folículos anovulatórios

Ovários inativos ou não-funcionais são uma das mais importantes causas de anestro em búfalos (BARUAH et al., 2000).

Com base nos resultados de um único exame de palpação retal, a inatividade ovariana é detectada e constitui 28% de todas as causas de infertilidade funcional pós-parto em búfalos e 67% dos casos de ovários inativos (RAO e SREEMANNARAYANAN, 1982).

Apesar de palpação transretal ser uma técnica barata, que tem sido aceita como ferramenta de análise, sua precisão é limitada em comparação com a análise do perfil de progesterona.

O tamanho dos ovários, o grau de relaxamento da parede retal, o escore corporal e a habilidade do profissional, influenciam no diagnóstico desses folículos via palpação retal (HANZEN et al., 2000). A ultra-sonografia transretal revelou a presença de folículos anovulatórios nos ovários de todas as búfalas em anestro com 60-240 dias após o parto (DAHIVA et al., 2003).

b) Subestro ou cio silencioso

O subestro é mais freqüente no período pós-parto precoce (EL-SHAFIE et al., 1983), durante o período úmido (CHAUHAN et al., 1981), em épocas que os animais estão desnutridos (LUBIS e FLETCHER, 1987), e quando estão com bezerro ao pé (ARYA e MADAN, 2001).

Com base nos resultados da palpação retal dos ovários e/ou análise de progesterona, larga variação na frequência de subestro entre 15 e 73% foram relatadas em bubalinos em anestro 60-240 dias pós-parto (UCAR et al, 2004).

Para a identificação do cio de bubalinos são necessárias duas ou mais observações diárias, durante toda a estação reprodutiva, além da necessidade de detectar o início e o final do cio para realizar a inseminação artificial no momento mais apropriado.

c) Atividade luteal prolongada ou corpo lúteo persistente

Os resultados da palpação retal dos ovários, duas vezes, com intervalo de 10 dias, juntamente com análise de progesterona, revelou atividade luteal prolongada em 8% das búfalas com cio não observado 60 a 90 dias pós-parto (SHAH et al., 1990).

d) Cistos ovarianos

A incidência de cistos ovarianos em búfalas, mesmo em pesquisas clínicas sobre animais inférteis, é geralmente baixa, com um intervalo entre 0,2 e 4% (VALE et al., 1988).

Cistos foliculares e cistos de corpo lúteo foram diagnosticados em 3-6 e 4-5%, respectivamente, de búfalas com cio não observado e com 45 a 90 dias após o parto (METWELLY, 2001).

3- HORMONIOTERAPIA

3.1- Uso de progestágenos e estradiol

A progesterona exógena suprime os pulsos de LH (hormônio luteinizante), resultando na persistência do folículo dominante, evitando assim o cio e a ovulação. A utilização de protocolos à base de progesterona para sincronizar o cio, resulta em menor variação no momento da manifestação de cio em comparação com protocolos baseados em prostaglandina (KINDER et al., 1996).

Outra vantagem dos tratamentos à base de progesterona é que eles podem ser usados para induzir o estro em novilhas pré-púberes e em múltiparas em anestro no período pós-parto. Tratamentos com progesterona com duração superior a 12 dias e os iniciados no final do ciclo estral resultam

em altos índices de manifestação de cio, porém, em taxas de prenhez baixas (ROCHE, 1974).

A necessidade da incorporação de um agente luteolítico é determinada pelo fato de que a luteólise deve ocorrer no momento da retirada da progesterona exógena. Nos protocolos que utilizam progestagénos por um curto período de tempo, um agente luteolítico deve ser utilizado para que a sincronização de cio seja eficaz (ODDE, 1990). A prostaglandina e o estradiol são muito utilizados, sendo este último com baixa ação luteolítica e menos eficaz para sincronização do cio quando o tratamento é iniciado durante a primeira onda de crescimento folicular do ciclo estral (LANE et al., 2001).

Stevenson et al. (2006) concluíram que a inclusão de progesterona no protocolo Ovsynch melhora a fertilidade de vacas em lactação. Contudo, em novilhas leiteiras, Rivera et al. (2005) demonstraram não haver diferença nas taxas de prenhez quando um implante de progesterona foi adicionado ao protocolo Ovsynch.

Os tratamentos utilizados para o re-estabelecimento da atividade ovariana pós-parto incluem a inserção de dispositivos para liberar P4. Os dispositivos mantêm as concentrações plasmáticas de P4 durante um determinado período de tempo. Quando essas concentrações de P4 atingem níveis subluteais durante o tratamento, há um aumento na frequência de pulsos de LH, levando ao crescimento folicular, que, por sua vez, impede a atresia do folículo dominante. Este mecanismo permite o crescimento e a maturação do folículo dominante com capacidade de ovulação, mesmo em animais em anestro (RHODES et al., 2002).

O estrógeno (E_2), quando associado à progesterona, promove o crescimento sincronizado de uma nova onda folicular cerca de 4 a 5 dias após sua aplicação, independente do estágio do ciclo estral no qual o tratamento é iniciado (ROCHA, 2000).

A combinação de progesterona e benzoato de estradiol (BE) no tratamento de anestro anovulatório resultam em manifestação de cio em aproximadamente 85% dos animais tratados, dentro de sete dias após o término do tratamento (RHODES et al., 2002).

O tratamento com estrógeno resultou na emergência consistente de uma nova onda folicular 3 a 5 dias (média de 4,3 dias) após o tratamento (BÓ et al.,

1995), independentemente do estágio de desenvolvimento do folículo dominante no tempo do tratamento. O tratamento com P4 resultou no surgimento de uma nova onda folicular 2 a 5 dias após o tratamento (CAVALIERI et al., 1998; CAVALIERI et al., 2001).

Na Índia, búfalas sincronizadas durante a estação reprodutiva favorável com dispositivos à base de progestágeno, apresentaram cio entre 25 e 72 horas após a remoção dos mesmos e índice de prenhez de 43,7% (RAO e RAO, 1979). Já Baruselli et al. (2003), observaram a taxa de concepção de 57,5% ao utilizarem CID-R® associado ao protocolo Ovsynch em búfalas.

Quando as búfalas são tratadas no anestro sazonal os resultados são menos consistentes. Andurkar et al. (1997) realizaram uma série de experimentos nos quais utilizaram (CID-R® por 12 dias + 0,25 mg de PGF), (CID-R® por 8 dias + BE + 0,25 mg de PGF) e (CID-R® por 12 dias) e constataram os seguintes percentuais de manifestação de cio: 85,7; 50 e 71,4%; respectivamente.

Também na espécie bubalina, Markandeya e Bharkad (2002) verificaram que tanto novilhas (n=6) como vacas (n=6) em anestro, apresentaram 100% de estro comportamental após a utilização do CRESTAR®.

Sing et al. (1984) trataram búfalas em anestro com PRID® + GnRH (G1) e GnRH (G2) e obtiveram índices de 43% (G1) e 11% (G2) de taxa de ovulação e de concepção 14% (G1) e 0% (G2). Moura (2003) administrou 0,5 (G1) e 1 mg (G2) de benzoato de estradiol 24 horas após a retirada do CID-R®, as taxas de prenhez foram 6,7% (G1) e 10% (G2). O grupo controle também não apresentou resultados satisfatórios (10,3%).

No entanto, em estudo posterior, Baruselli e Carvalho (2003a) verificaram que a associação de eCG no momento de retirada do dispositivo de liberação de P4, e de hCG – indutor de ovulação – 48 horas após, proporcionou melhor taxa de concepção (53,5%) que aquela obtida com o protocolo Ovsynch (28,2%) em búfalas tratadas na estação reprodutiva desfavorável.

Ao avaliar o efeito do uso da progesterona no protocolo Ovsynch em búfalas acíclicas, De Rensis et al. (2005) observaram um incremento na taxa de concepção. Estes autores sugerem que a suplementação de progesterona

deve ser feita entre 0 e 7 dias no protocolo Ovsynch para que uma taxa de concepção satisfatória seja alcançada.

3.2 - Uso da Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)

Estudos indicam que o tratamento com eCG, após a retirada do dispositivo de progesterona, aumenta a produção de P4 pelo corpo lúteo e pode ser uma alternativa para melhorar o desempenho reprodutivo de vacas em anestro, sincronizados para IATF (BARUSELLI et al., 2004)

O tratamento com eCG aumentou as taxas de prenhez em rebanhos de vacas amamentando com alta incidência de anestro (BÓ et al., 2003). Marques et al. (2003) avaliaram o efeito de tratamento eCG no momento da remoção do dispositivo de P4 sobre a dinâmica folicular, ovulação e as concentrações plasmáticas de progesterona em 50 vacas de corte primíparas amamentando e concluíram que o tratamento com eCG aumentou significativamente as concentrações plasmáticas de progesterona 12 dias após o término de tratamento.

Baruselli et al. (2004), ao realizarem protocolos de inseminação artificial em tempo fixo baseados em progesterona em bovinos de corte, obtiveram aumento da porcentagem de vacas que ovularam, da circulação de progesterona no protocolo seguinte e da fertilidade nos animais que receberam eCG.

Com base nesses estudos, pesquisadores analisaram a possibilidade de incluir o eCG em protocolos de sincronização em búfalas.

O subfuncionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal resultando em níveis baixos de FSH e LH, tem sido relatado por vários autores em búfalas em anestro em regiões de clima tropical e subtropical (JANAKIRAMAN et al., 1980; RAO e SREEMANNARAYANAN, 1983).

Muitos protocolos utilizados em vacas apresentaram respostas variáveis em búfalas (DE RENSIS e LÓPEZ-GATIUS, 2007). Uma das razões para essa discrepância pode ser porque as búfalas apresentam maior variação no intervalo do pico de LH pré-ovulatório e ovulação (BARKAWI et al., 1993).

Murugavel et al. (2009) utilizaram 65 búfalas com média de 120 dias pós-parto divididas em dois grupos: protocolo com (CID-R® + eCG) e sem (CID-R®) a adição de gonadotrofina coriônica eqüina. A taxa de ovulação foi

maior no grupo com eCG (84,4% versus 57,6%). As taxas de prenhez não diferiram estatisticamente, porém numericamente o grupo controle (CID-R®) teve resultado pior (27,3% versus 40,6%).

3.3 - Uso do Hormônio Liberador das Gonadotrofinas (GnRH)

A reprodução em mamíferos é controlada pelas interações entre o hipotálamo, hipófise anterior e gônadas. O hipotálamo libera pulsos do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), um decapeptídeo que é o principal regulador da gametogênese e da esteroidogênese. O GnRH liga-se com alta afinidade aos seus receptores na hipófise para estimular a liberação dos hormônios gonadotróficos, hormônio luteinizante (LH) e, em menor medida, hormônio folículo estimulante (FSH). As interações do GnRH com os seus receptores é fundamental para a regulação da reprodução (RISPOLI e NETT, 2005).

O uso terapêutico do GnRH justifica-se pelo seu efeito fisiológico de estimular a liberação de LH e FSH da hipófise anterior. Essas liberações agudas, que constituem ondas pré-ovulatórias, são precedidas por uma onda semelhante de liberação de GnRH.

A utilização do GnRH para sincronização da onda de crescimento folicular e para a indução da ovulação tem resultado em taxas de concepção satisfatórias nos programas de inseminação artificial em tempo fixo em bovinos por exemplo. A administração durante qualquer fase do ciclo estral resulta em um pico de LH que promove a ovulação dos folículos maiores de 9,0mm (BODENSTEINER et al., 1996) ou a luteinização dos folículos não-viáveis e a emergência de uma nova onda de crescimento folicular dois ou três dias depois (TWAGIRAMUNGU et al., 1994). Recomenda-se realizar uma segunda injeção de GnRH 48 horas após a administração da prostaglandina para promover a sincronização da ovulação e posterior inseminação artificial em tempo fixo (DE RENSIS e PETERS, 1999).

O GnRH associado à PGF2 α sincroniza o crescimento dos folículos ovarianos e o folículo em crescimento pode ser ovulado de forma bem precisa pelo uso da segunda dose de GnRH 1,5 a 2 dias após a aplicação da PGF2 α . Este protocolo foi denominado Ovsynch e apresenta resultados semelhantes à inseminação com detecção de cio natural (PURSLEY et al., 1995).

Segundo Beltran e Vasconcelos (2008), o tratamento com GnRH induziu a ovulação do folículo dominante da primeira onda de crescimento folicular no dia 5 do ciclo estral. Houve um aumento nas concentrações de progesterona durante a fase lútea nas vacas em lactação apesar da exposição ao estresse térmico. A taxa de concepção foi de 36,8% para animais com temperatura retal abaixo de 39,7°C.

Se uma injeção de GnRH for administrada em um período em que não há folículos dominantes no ovário, os folículos vão continuar a se desenvolver (GINTHER et al., 1996). Entretanto, se houver folículo dominante, este vai ovular dentro de 29 horas após o início da onda de LH (WILTBANK & HAUGHIAN, 2003). Para Duffy et al. (2000), a alta porcentagem de folículos dominantes no dia da aplicação de PGF2 α pode garantir boas taxas de ovulação após a segunda aplicação de GnRH.

Com intuito de determinar a dose mínima efetiva de GnRH e/ou seus análogos em protocolos de sincronização da ovulação em bubalinos, Rastegarnia et al. (2004) realizaram estudo com 50 e 100 μ g de gonadorelina (análogo do GnRH) e concluíram que a ovulação do folículo dominante ocorreu em até 48 horas seguida pelo surgimento de uma nova onda de crescimento folicular 72 horas após a injeção de GnRH quando a dose de 100 μ g foi empregada.

Em estudo realizado por Baruselli et al. (2001), as búfalas tratadas receberam, em dia desconhecido do ciclo estral, 20 μ g de busarelina, sendo aplicados, 7 dias mais tarde, 15 mg de prostaglandina (PGF2 α) e dois dias após a administração da PGF2 α , os animais receberam 10 μ g de busarelina. A taxa de concepção obtida foi considerada satisfatória (47%).

Com o objetivo de avaliar a eficácia do protocolo Ovsynch na sincronização da ovulação e taxa de concepção em búfalas da raça Murrah, Paul e Prakash (2005) utilizaram doses de 10 μ g de GnRH (busarelina) nas duas aplicações. Como resultado 90% dos animais (n=9) tiveram a ovulação sincronizada em um intervalo de 12 horas (20-32 h) após a segunda dose de GnRH e 33,3% foram diagnosticados como “prenhes”.

Quando a indução da ovulação é realizada no período de anestro sazonal, os mecanismos básicos que regulam a duração do ciclo não funcionam normalmente, e o ciclo estral subsequente é, muitas vezes, de curta

duração (GARVERICK et al., 1992).

Para avaliar a dinâmica ovariana, as concentrações de progesterona e a taxa de prenhez em búfalas acíclicas (NYC) com o protocolo Ovsynch, Ali e Fahmy (2007) utilizaram doses de 100 µg de GnRH (buserelina). A inseminação artificial foi feita 14 horas após a segunda dose. No dia 7, todas as búfalas do grupo NYC apresentavam folículo pré-ovulatório, assim como no dia 9, onde 100% dos animais haviam ovulado. A taxa de concepção foi considerada satisfatória (37,5%) considerando a condição reprodutiva das búfalas avaliadas.

De Rensis et al. (2005) estudaram o efeito da suplementação de progesterona no protocolo Ovsynch em búfalas acíclicas e obtiveram um acréscimo na fertilidade, o que resultou em uma taxa de concepção de 30%. Pode-se considerar esse resultado positivo, pois no grupo que não teve suplementação a taxa de concepção foi de apenas 4,7%.

3.4 - Uso do análogo do GnRH – Deslorelina

A maioria dos análogos são produzidos pela substituição e/ou remoção dos aminoácidos da molécula natural de GnRH. A substituição da glicina na posição 6 por D-alanina, triptofano ou serina, confere uma maior estabilidade estrutural e metabólica, aumentando a meia-vida e a ação do análogo (MONAHAN et al., 1973).

A deslorelina é um análogo do GnRH produzido pela substituição da glicina na posição 6 pelo triptofano, retirando a glicina da posição 10 e adicionando uma amida na prolina da posição 9 (6-D-triptofano-9-(N-etil-L-prolinamida)-10-Desglicinamida LH-RH) (Figura 1).

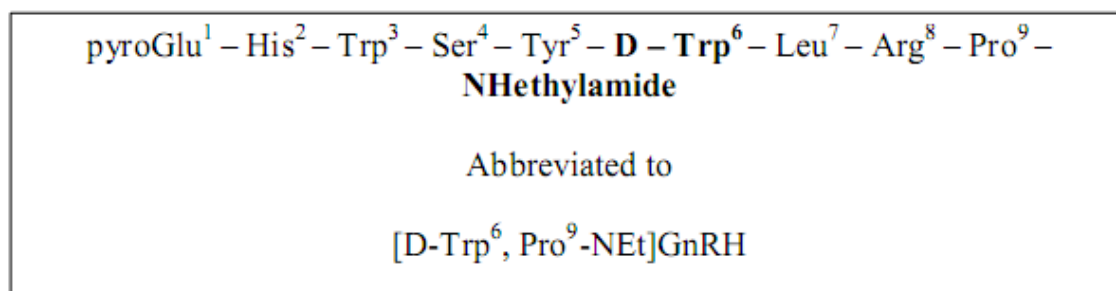


Figura 1 - Sequência de aminoácidos da molécula de deslorelina (Adaptado de: SILVESTRE, 2003 – Tese)

A avaliação da resposta biológica de um agonista considera seu receptor de afinidade, absorção *in vivo*, distribuição e resistência à degradação e eliminação. Conseqüentemente, o método utilizado para determinar a potência de um agonista deve ser a comparação com outros agonistas. Os sistemas de ensaio geralmente são baseados em avaliações *in vivo* ou *in vitro* dos agonistas (KARTEN e RIVIER, 1986).

Os efeitos do tratamento contínuo com agonista de GnRH caracterizam-se por uma fase estimulatória aguda seguida por uma depressão crônica das gonadotrofinas. O tratamento a longo prazo com agonista de GnRH pode induzir a infra-regulação dos receptores de GnRH, dessensibilizar a hipófise e abolir a liberação pulsátil de FSH e LH (D'OCCHIO et al., 2000).

Desenvolvido recentemente, o Suprelorin® ganhou espaço no mercado devido as suas vantagens: facilidade de uso, biocompatibilidade, liberação de longo prazo de quantidades suficientes e custo. O agente ativo, deslorelina, um agonista de GnRH, é administrado por via subcutânea (implante), com uma duração de 6 meses de atividade ou superior a 12 meses, dependendo da formulação utilizada. O mecanismo de ação é pela supressão do eixo hipofisário-gonadal, e tem sido empregado com sucesso na prevenção da atividade cíclica em cães (TRIGG et al., 2006).

Padula et al. (2002) observaram que em bovinos a administração crônica de agonistas potentes de GnRH dessensibiliza a glândula pituitária anterior e pode induzir um estado de anestro anovulatório, o que é prejudicial à reprodução e conseqüentemente à produção. O tempo de retomada de ciclos ovulatórios é variável com sincronia mínima do período de emergência após o período de anestro induzido. Esta variação no tempo da ovulação pode refletir a natureza lipofílica do agonista e sua ligação com reservas de gordura para criar um depósito para liberação lenta e contínua (KARTEN e RIVIER, 1986)

Não existe relato de uso do análogo de GnRH – deslorelina – na espécie bubalina em protocolos de sincronização de cio e ovulação. Portanto, é necessário avaliarmos o efeito desse hormônio em outras espécies para que possamos traçar seu perfil de ação.

O tratamento a longo prazo com deslorelina (5 mg), administrada através de um implante subcutâneo, suprimiu o crescimento do folículo em vacas leiteiras (SILVESTRE et al., 2009) e aplicado uma ou duas vezes

durante 6 semanas aumentou significativamente a proporção de vacas que apresentaram ciclos estrais anormais (PADULA e MACMILLAN, 2005).

Contudo, em outro estudo, os implantes de deslorelina induziram a ovulação e estimularam o desenvolvimento de um corpo lúteo normal quando utilizados em vacas leiteiras não lactantes (BARTOLOME et al., 2004).

O Ovuplant® é um dispositivo que foi registrado para uso nos EUA e na Austrália para induzir ovulação de folículos maiores que 35 mm durante o estro em éguas. Encontra-se disponível comercialmente na forma de um implante de curta duração que libera 2,2 mg a cada dois a três dias e tem demonstrado ser eficiente em aumentar as concentrações de LH e induzir a ovulação em éguas cíclicas (SQUIRES et al., 1994; MUMFORD et al., 1995). Dois estudos, realizados em éguas, compararam o Ovuplant® com o hCG e obtiveram um intervalo entre tratamento e ovulação, respectivamente, de 1,98 a 1,88 dias (MCKINNON et al., 1993) e 2 a 2,2 dias (VANDERWALL et al., 2001).

Melo et al. (2005) compararam o uso de deslorelina (1 mg/IM) com o extrato de pituitária eqüina (10 mg/IV) e constataram que ambos os agentes foram eficientes na indução da ovulação em éguas. Assim como Lindholm et al. (2010) que, utilizando doses de 1,5; 1,0 e 0,5 mg de buserelina e deslorelina, concluíram que foram igualmente eficazes em induzir a ovulação em até 48 h após a administração. Portanto, a dessensibilização e o prolongamento do ciclo estral da égua ocorrem quando doses muito altas do agonista são utilizadas (JOCHLE e TRIGG, 1994).

O desenvolvimento de tratamentos de fertilidade utilizando deslorelina, resultou em diversas terapias como a indução da ovulação, tratamento da doença cística ovariana e prevenção da mortalidade embrionária em bovinos. Ambrose et al. (1998) induziram a ovulação em vacas leiteiras quando a deslorelina foi utilizada em substituição à segunda injeção de GnRH no protocolo Ovsynch. Isso ocorreu porque esse agente induz uma maior secreção de LH quando comparado com a buserelina (RAJAMAHENDRAN et al., 1998), o que pode melhorar a diferenciação do CL, resultando em maiores concentrações de progesterona durante a fase lútea.

Em outro estudo, novilhas pré-púberes responderam com um aumento agudo de LH após a inserção de um implante de deslorelina (BERGFELD et al., 1996).

O tratamento com GnRH de animais em anestro sazonal, como ovelhas por exemplo, atingiu um resultado limitado (SCHNEIDER e REHBOCK, 2003). Há necessidade de injetar progesterona nesses animais para simular o período luteal do ciclo.

4- CONCLUSÃO

O crescente interesse dos criadores, aliado ao aumento do rebanho, tem feito com que a espécie bubalina venha se tornando uma fonte viável de proteína de origem animal. Contudo, sabe-se da limitação destes animais no que diz respeito à função reprodutiva durante a primavera e o verão em regiões distantes da linha do Equador. Para que a búfala cicle o ano inteiro, torna-se necessária a indução do cio para inseminação artificial em tempo fixo no período em que os animais apresentam anestro estacional. Atualmente os protocolos mais indicados são aqueles que utilizam implante de progesterona para retomada da ciclicidade, prostaglandina para lise do corpo lúteo e emergência de uma nova onda folicular, eCG para promover o crescimento dos folículos e GnRH e seu análogos, como o acetato de deslorelina, para induzir a ovulação.

Sendo assim, a criação de novos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para búfalas leiteiras durante a estação reprodutiva desfavorável disponibilizará, ao produtor, alternativas viáveis e compatíveis com as especificidades do sistema de produção e manejo reprodutivo, melhorando seus índices, diminuindo os custos e padronizando a produção leiteira durante todo o ano.

5- REFERÊNCIAS

ABCB – Associação Brasileira dos criadores de búfalos. Disponível em www.bufalo.com.br.

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

ANDURKAR, S.B.; KADU, M.S.; CHINCHKAR, S.R.; SADEKAR, R.D. Serum progesterone profile in buffaloes treated with CIDR-device and combinations. **Indian Journal of Animal Reproduction**, v.18, n.2, p.104-107, 1997.

AMBROSE, J.D.; PIRES, M.F.A.; MOREIRA, F.; DIAZ, T.; BINELLI, M.; THATCHER, W.W. Influence of deslorelin (GnRH-agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology**, n.50, p.1157–1170, 1998.

ARYA, J.S.; MADAN, M. Postpartum reproductive cyclicity based on ovarian steroids in suckled and weaned buffaloes. **Buffalo Journal**, n.17, p.361–369, 2001.

BARKAWI, A.K.; BEDEIR, L.H.; EL WARDANI, M.A. Sexual behavior of Egyptian buffaloes in post-partum period. **Buffalo Journal**, n.9, p.225–236, 1993.

BARTOLOME, J.A.; SANTOS, J.E.P.; PANCARCI, S.M.; MELENDEZ, P.; ARTECHE, A.C.M.; HERNANDEZ, O.; ARCHBALD, L.F.; TRIGG, T.; THATCHER, W.W. Induction of ovulation in nonlactating dairy cows and heifers using different doses of a deslorelin implant. **Theriogenology**, n.61, p.407–419, 2004.

BARUAH, K.K.; NEWAR, S.; BARUAH, A.; BHUYAN, D.; Status of macro and micro mineral levels in postpartum anestrous swamp buffaloes in relation to soil and plants. **Indian Journal Dairy Science**, n.53, p.424–427, 2000.

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

BARUSELLI, P.S.; AMARAL, R.; BARUFI, F.B.; VALENTIM, R.; MARQUES, M.O. Lecirelin and Buserelin (Gonadotrophin releasing hormone agonists) are equally effective for fixed time insemination in buffalo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.38, n.3, p.142-145, 2001.

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

BARUSELLI, P.S.; CARVALHO, N.A.T.; HENRIQUEZ, C.E.P.; AMARAL, R., NICHI, M.; REICHERT, R.H. Use of progesterone associated to Ovsynch protocol for timed artificial insemination in buffalo. In: Congresso Nazionali Sull' Allevamento del Bufalo, 2, 2003. Monterotondo **Proceedings...** p.265-268, 2003.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science** n.82/83, p.479–486, 2004.

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N.A.T. Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*) (Biotechnology of reproduction in buffalo (*Bubalus bubalis*)). **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte**, n.29(1), p.4-17, 2005.

BELTRAN, M.P.; VASCONCELOS, J.L.M. Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.580-586, 2008.

BERGFELD, E.G.; D'OCCHIO, M.J.; KINDER, J.E. Pituitary function, ovarian follicular growth, and plasma concentrations of 17 beta-estradiol and progesterone in prepubertal heifers during and after treatment with the luteinizing hormone-releasing hormone agonist Deslorelin. **Biology Reproduction**, n.54, p.776-782, 1996.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, n.43, p.31–40, 1995.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, n.78, p.307–326, 2003.

BODENSTEINER, K.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J.; Synchronization of emergence of follicular wave in cattle. **Theriogenology**, n.45, p. 1115-1128, 1996.

CAVALIERI, J.; KINDER, J.E.; FITZPATRICK, L.A. Effect of acute treatment with progesterone on the timing and synchrony of ovulation in *Bos indicus* heifers treated with a norgestomet implant for 17 days. **Journal Reproduction Fertility**, n.112, p.249–258, 1998.

CAVALIERI, J.; FARIN, P.W.; KINDER, J.E.; VAN CAMP, D.; WHITACRE, M.D.; WASHBURN, S.P.; BRITT, J.H. Ovarian follicular development following administration of progesterone or aspiration of ovarian follicles in Holstein cows. **Theriogenology**, n.55, p.805–821, 2001.

CHAUHAN, F.S.; TAKKAR, O.P.; SINGH, M.; TIWANA, M.S. Seasonal variation, biochemical profile and treatment of anestrus in buffaloes. **Indian Journal Animal Reproduction** n.1, p.31–36, 1981.

DAHIYA, V.; LOHAN, J.S.; SAINI, M.S.; KAKER, M.L.; MALIK, R.K. Ultrasonographic assessment of ovarian changes in anestrous buffaloes treated with norgestomet. **Indian Journal of Animal Science**, n.73, p.1033–1036, 2003.

DE RENSIS, F.; LÓPEZ-GATIUS, F. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): a review. **Theriogenology**, n.67, p.209–16, 2007.

DE RENSIS, F.; PETERS, A.R. The control of follicular dynamics by PGF₂ α , GnRH, hCG and estrous synchronization in cattle. A review. **Reproduction of Domestic Animals**, n. 34, p.49-59, 1999.

DE RENSIS, F.; RONCI, G.; GUARNERI, P.; BUI XUAN NGUYENC; PRESICCED, G.A.; HUSZENICZAE, 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**, n.63, p.1824–1831, 2005.

D'OCCHIO, M.J.; FORDYCE, D.; WHITE, T.R.; ASPDEN, W.J.; TRIGG, T.E. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. **Animal Reproduction Science**, n.60–61, p.433–442, 2000.

DUFFY, P. et al. Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 118, p. 9-17, 2000.

EL-SHAfiE, M.M.; BORADY, A.M.A.; MOURAD, H.M.; KHATTAB, R.M. Physiological and seasonal factors affecting reproductive performance of Egyptian buffalo heifers. **Egypt Journal Animal Production**, n.23, p.1–14, 1983.

GARVERICK, H.A.; ZOLLERS, W.G.; SMITH, M.F.; Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. **Animal Reproduction Science**, n.28, p.111–124, 1992.

GINTER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, n.55, p. 1187-1194, 1996.

GUPTA, P.S.P.; RAMESH, H.S.; NANDI, S.; RAVINDRA, J.P. Recovery of large preantral follicles from buffalo ovary: Effect of season and corpus luteum. **Animal Reproduction Science**, n.101, p.145–152, 2007.

HANZEN, C.H.; PIETERSE, M.; SCENCZI, O.; DROST, M. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. **Brazilian Veterinary Journal**, n.159, p.161–170, 2000.

JANAKIRAMAN, K.; DECAI, M.C.; AMIN, D.R.; SHETH, A.R.; MUDBIDRI, S.B.; WADEDAKAR, K.B. Serum gonadotrophin levels in buffaloes in relation to phases of estrous cycle and breeding periods. **Indian Journal Animal Science**, n.50, p.601–606, 1980.

JOCHLE, W.; TRIGG, T.E. Control of ovulation in the mare with Ovuplant TM—short-term release implant (sti) containing the GnRH analogue deslorelin acetate—studies from 1990 to 1994. **Journal Equine Veterinary Science**, n.14, p.632–44, 1994.

KARTEN, M.J.; RIVIER, J.E. Gonadotropin-releasing hormone analog design. Structure-function studies toward the development of agonists and antagonists: rationale and perspective. **Endocr Rev** n.7, p.44–66, 1986.

KINDER, J.; KIKE, K.; CAVELLIERI, J.; FITZPATRICK, L.; KOJIMA, F. Systems of oestrous synchrony in beef heifers and cows. In: **Proc Second Pan Pacific Vet. Con.**, Christchurch, New Zealand, 23–28 June, p. 1971–1995, 1996.

LANE, E.A.; AUSTIN, E.J.; ROCHE, J.F.; CROWE, M.A. The effect of estradiol benzoate or a synthetic gonadotrophin-releasing hormone used at the start of a progesterone treatment on estrous response in cattle. **Theriogenology**, n.56, p.79–90, 2001.

LINDHOLM, A.R.G.; BLOEMEN, E.H.G.; BROOKS, R.M.; FERRIS, R.A. MCCUE, P.M. Comparison of deslorelin and buserelin in mares: LH response and induction of ovulation. **Animal Reproduction Science**, n.121, p.68–70, 2010.

LUBIS, A.; FLETCHER, J.C.; Postpartum reproduction in swamp buffalo cows at two feeding levels. **Animal Reproduction Science**, n.13, p.183–189, 1987.

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

MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P.; BARUSELLI, P.S. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. In: **Proceedings 5º. Simposio Internacional de Reproducción Animal**, Córdoba, Argentina, p. 392 (abstract), 2003.

McKINNON, A.O.; NOBELLIIUS, A. M.; TARRIDA, D.E.L.; MARMO, L. FIGUEROA, S.; SKIDMORE, J.; VASEY, J.R.; TRIGG, T.E. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue deslorelin. **Equine Veterinary Journal**, v.25, p.321-323, 1993.

MELO, C.M. Efeito do armazenamento por 24 horas em diferentes sistemas de refrigeração sobre a viabilidade e fertilidade de sêmen congelado eqüino. Botucatu, 2005. 104p. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2005.

METWELLY, K.K. Postpartum anestrus in buffalo cows: causes and treatment. In: **Proc. Sixth Sci. Congr. Egypt. Soc. Cattle Diseases**, Assiut Univesity, Egypt, p. 259–267, 2001.

MONAHAN, M.W.; AMOSS, M.S.; ANDERSON, H.A.; VALE, W. Synthetic analogs of the hypothalamic luteinizing hormone-releasing factor with increased agonist of antagonist properties. **Biochemistry**, v.12, p.4616-4620, 1973.

MOREIRA, P.; COSTA, A. L.; VALENTIN, J. F. Comportamento produtivo e reprodutivo de bubalinos mestiços Murrah-Mediterrâneo em pastagem cultivada em terra firme, no Estado do Acre. Rio Branco: **Embrapa- CPAF-Acre, Boletim de Pesquisa**, n.13, p.19, 1994.

MOURA, A.J.D.R. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CID-R®) associado a estrógeno e prostaglandina F₂α em búfalas (*Bubalus bubalis*) tratadas em estações reprodutivas distintas. 2003. 127f. **Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MUMFORD, E. L.; SQUIRES, E. L.; JÖCHLE, W.; HARRISON, L. A.; NETT, T. M.; TRIGG, T.E. Use of deslorelin short-term implants to induce ovulation in cycling mares during three consecutive estrous cycles. **Animal Reproduction Science**, v.39, p.129-140, 1995.

MURUGAVEL, K.; ANTOINE, D.; RAJU, M.S.; LÓPEZ-GATIUS, F. The effect of addition of equine chorionic gonadotropin to a progesterone-based estrous synchronization protocol in buffaloes (*Bubalus bubalis*) under tropical conditions **Theriogenology**, n.71, p.1120-1126, 2009.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, n.68, p.817–830, 1990.

PADULA, A.M.; MACMILLAN, K.L. Observations on the reproductive effects of once or twice weekly injections for 6 weeks of the GnRH agonist deslorelin in the cow. **Animal Reproduction Science**, n.85, p.223-230, 2005

PADULA, A.M.; BORMAN, J.M.; WRIGHT, P.J.; MACMILLAN, K.L. Restoration of LH output and 17b-oestradiol responsiveness in acutely ovariectomized Holstein dairy cows pre-treated with a GnRH agonist (deslorelin) for 10 days. **Animal Reproduction Science**, n.70, p.49–63, 2002.

PARMEGGIANI, A.; SEREN, E.; ESPOSITO, L.; BORGHESE, A. DI PALO, R.; TERZANO, G.M. Plasma levels of melatonin in buffalo cows. Proceedings of the International Symposium 'Prospects of buffalo production in the

Mediterranean and the Middle East', Doki (Cairo), 9–12 November, **EAPP Publication**, n.62, p.401–403, 1992.

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**, n.64, p.1049–1060, 2005.

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

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 of Domestic Animals**, n.40, p.443–447, 2005.

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

RAJAMAHENDRAN, R.; AMBROSE, J.D.; SCHMITT, E.J.; THATCHER, M.J.; THATCHER, W.W. Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH-agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, follicle and corpus luteum dynamics in Holstein cows. **Theriogenology**, n.50, p.1141–55, 1998.

RAO, A.R.; RAO, S.V. Synchronisation of oestrus in buffaloes with norgestomet. **The Veterinary Record**, v.105, p.256, 1979.

RAO, A.V.; SREEMANNARAYANAN, O. Clinical analysis of reproductive failure among female buffaloes (*Bubalus bubalis*) under village management in Andhra Pradesh. **Theriogenology**, n.18, p.403–411, 1982.

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

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**, n.69, p.139–150, 2002.

RISPOLI, L.A.; NETT, T.M. Pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor: Structure, distribution and regulation of expression. **Animal Reproduction Science**, n.88, p.57–7, 2005.

RIVERA, H.; LOPEZ, H.; FRICKE, P.M.; Use of intravaginal progesterone-releasing inserts in a synchronization protocol before timed AI and first synchronizing return to estrus in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, n.88, p.957–968, 2005.

ROCHA, J.L. Sincronização hormonal da onda folicular e do estro em novilhas de corte mestiças monitoradas por radiotelemetria. 2000. 125 f. **Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

ROCHE, J.F. Synchronization of oestrus in heifers with implants of progesterone. **Journal of Reproduction and Fertility**, n.41, p.337–344, 1974.

SCHNEIDER, F.; REHBOCK, F. Induction of fertile cycles in the Blackhead sheep during the anoestrus period. **Archives Animal Breeding**, n.46, p.47–61, 2003.

SILVESTRE, F.T.; KAMIMURA, S.; ARTECHE, A.C.; BARTOLOME, J.; PANCARCI, S.M.; THATCHER, W.W. Reproductive responses following postpartum suppression of ovarian follicular development with a deslorelin implant during summer heat stress in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, n.111, p.320–337, 2009.

SING, G.; SINGH, G.B.; SHARMA, R.D.; NANDA, A.S. Ovulation and fertility after PRID, PRID + GnRH and GnRH in anestrus buffaloes. **Theriogenology**, v.21, n.6, p.859-867, 1984.

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

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

SHAH, N.H.; WILLEMSE, A.H., VAN DE WEIL, D.F.M. Descriptive epidemiology and treatment of postpartum anestrus in dairy buffalo under small farm conditions. **Theriogenology**, n.33, p.1333–1345, 1990.

SQUIRES, E.L.; MORAN, D. M.; FARLIN, M. E.; JASKO, D. J.; KEEFE, T. J.; MEYERS, S. A.; FIGUEIREDO, E.; McCUE, P. M.; JÖCHLE, W. Effect of dose of GnRH analog on ovulation in mares. **Theriogenology**, v.41, p.757-769, 1994.

STEVENSON, J.S.; PURSLEY, J.R.; GARVERICK, H.A.; FRICKE, P.M.; KESLER, D.J.; OTTOBRE, J.S.; WILTBANK, M.C. Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. **Journal of Dairy Science**, n.89, p.2567–2578, 2006.

TRIGG, T.E.; DOYLE, A.G.; WALSH, J.D.; SWANGCHAN-UTHAI, T. A review of advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction **Theriogenology**, n.66, p.1507–1512, 2006.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBALT, L.A.; PROULX, J.G. et. al. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in

postpartum cyclic cows treated with Buserelin and Cloprostenol. **Journal of Animal Science**, n.72, p.1796-1805, 1994.

UCAR, M.; KUCUKKEBABCI, M.; GUNDOGAN, M.; UGUZ, C.; SABAN, E. Reproductive performance of Anatolian water buffaloes during postpartum period. **Indian Veterinary Journal**, n.81, p.784–786, 2004.

VALE, G.W.; OHASHI, O.M.; SOUSA, J.S.; REBIERO, H.F.L. Clinical reproductive problems of buffaloes in Latin America. In: **Proceedings...** of the Second World Buffalo Congress, vol. II, New Delhi, India, p.206–217, 1988.

VANDERWALL, D.K.; JUERGENS, T.D.; WOODS, G.L. Reproductive performance of commercial broodmares after induction of ovulation with hCG or Ovuplant™ (deslorelin). **Journal Equine Veterinary Science**, v.21, p.539-542, 2001.

WILTBANK, M. C.; HAUGHIAN, J. M. GnRH: Bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização. IN: Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos 7. **Anais...** Passos, CONAPEC Jr. & CBRA, p.121-131, 2003.

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

ZICARELLI, L. Management in different environmental conditions. In: World Buffalo Congress 4, São Paulo **Proceedings...** v.1, p.15-39, 1994.

ZICARELLI, L. Reproductive seasonality in buffalo. **Proceedings...** of the Third Course on Biotechnology of Reproduction in Buffaloes (Issue II), Gaserta, Italy 6–10 October, p.29–52, 1997.

CAPÍTULO 2
USO DO ACETATO DE DESLORELINA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO EM BÚFALAS DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA
DESFAVORÁVEL

USO DO ACETATO DE DESLORELINA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BÚFALAS DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA DESFAVORÁVEL

RESUMO – O objetivo desse estudo foi avaliar a eficiência do acetato de deslorelina como indutor de ovulação em comparação com o hormônio GnRH (buserelina) em um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em búfalas durante a estação reprodutiva desfavorável. O experimento foi realizado com 68 búfalas das raças Murrah e Mediterrâneo. Os animais foram divididos em dois grupos: G1 ou buserelina (n=20) e G2 ou deslorelina (n=48). No dia 0, os animais receberam 2 mg de benzoato de estradiol (IM) e um dispositivo intravaginal de progesterona que permaneceu por duas semanas. No dia 14, os animais receberam 150 µg de D-cloprostenol e 400 UI de eCG. No dia 16, os animais do Grupo 1 receberam 10 µg de buserelina e os animais do Grupo 2 receberam 100 µg de acetato de deslorelina. No Dia 17, os animais de ambos os grupos foram inseminados. Exames ultrassonográficos foram realizados em todos os dias de aplicação do protocolo e o diagnóstico de gestação foi feito 55 dias após a IATF. O diâmetro médio do folículo dominante no Dia 16 do protocolo foi de $7,9 \pm 3,3$ mm no Grupo 1 (buserelina) e $8,9 \pm 3,4$ mm no Grupo 2 (deslorelina). No dia 16, 35% dos animais (n=24) do Grupo 1 e 54,1% dos animais (n=37) do Grupo 2 apresentavam folículo dominante (diâmetro > 8 mm). A taxa de ovulação foi de 15% para o grupo que recebeu buserelina e de 35,4% para o grupo que recebeu deslorelina. Com relação à taxa de concepção, foi de 20% e 39,6% para G1 e G2, respectivamente. Nenhuma das variáveis analisadas diferiu estatisticamente ($p>0,05$). Contudo, observou-se uma tendência de melhores resultados quando o acetato de deslorelina foi utilizado.

Palavras-chave: deslorelina; búfalas; estação desfavorável; inseminação artificial em tempo fixo; agonista; sincronização de cio.

USE OF DESLORELIN ACETATE AS AN INDUCER OF OVULATION IN FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION IN BUFFALOES DURING THE UNFAVORABLE BREEDING SEASON

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the efficiency of deslorelin acetate as an inducer of ovulation in comparison with the hormone GnRH (buserelin) in a protocol of fixed-time artificial insemination (FTAI) in buffaloes during the unfavorable breeding season. The experiment was conducted with 68 water buffaloes of Murrah and Mediterranean breeds. The animals were divided into two groups: G1 or buserelin (n = 20) and G2 or deslorelin (n = 48). At day 0, animals received 2 mg of estradiol benzoate (IM) and an intravaginal progesterone device that remained for two weeks. At day 14, animals received 150 g of D-cloprostenol and 400 IU eCG. At day 16, animals in Group 1 received 10 µg of buserelin and Group 2 received 100 µg of deslorelin acetate. At Day 17, animals from both groups were inseminated. Sonographic examinations were performed on all days of the application protocol and pregnancy diagnosis was made 55 days after FTAI. The average diameter of dominant follicle at Day 16 of the protocol was 7.9 ± 3.3 mm in Group 1 (buserelin) and 8.9 ± 3.4 mm in Group 2 (deslorelin). At day 16, 35% of animals (n = 24) in Group 1 and 54.1% of animals (n = 37) Group 2 had a dominant follicle (diameter > 8 mm). The ovulation rate was 15% for the group that received buserelin and 35.4% for the group that received deslorelin. The conception rate was 20% and 39.6% for G1 and G2, respectively. None of the variables differed statistically ($p > 0.05$). However, there was a tendency of better results when the deslorelin acetate was used.

Key-words: deslorelin; buffaloes; unfavorable season; fixed-time artificial insemination; agonist; synchronization of estrus.

1- INTRODUÇÃO

O rebanho bubalino mundial desempenha importante papel na produção de proteína de origem animal, especialmente nos países do terceiro mundo. Estima-se que o aumento deste rebanho seja da ordem de 10% ao ano, o que reflete o crescente interesse mundial por esta espécie (VALE, 1988).

A população bubalina brasileira (*Bubalus bubalis*) é composta por aproximadamente 2,5 milhões de animais e apresentou nos últimos 10 anos crescimento médio anual de 12%, índice também verificado nas criações estabelecidas na Amazônia brasileira (DIAZ et al., 2001). Paralelamente ao crescimento quantitativo do rebanho bubalino, existe a necessidade de incremento qualitativo na produção, inclusive no tocante às características reprodutivas, a fim de se acelerar os efeitos positivos do melhoramento genético, que possibilita progressos genéticos significativos nos animais de produção.

A estacionalidade reprodutiva da búfala é a característica fisiológica que exerce maior impacto econômico na atividade. A concentração dos partos nesta espécie nos meses de março a junho na região Sul e Sudeste do Brasil, área de grande poder aquisitivo e demanda de derivados lácteos, determina a concentração da produção de leite até o mês de setembro, com ausência de matéria prima nos meses do verão (BARUSELLI et al., 2003)

Para o desenvolvimento da bubalinocultura, atividade que apresenta características peculiares e economicamente relevantes, é indispensável adequar técnicas de reprodução e multiplicação de material genético superior para elevar a produção de leite dos animais.

Com o objetivo de facilitar o manejo e aumentar a eficiência da inseminação artificial foram desenvolvidos protocolos que dispensam a detecção do estro. Esses protocolos sincronizam o crescimento folicular e a ovulação, permitindo a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Durante a estação reprodutiva desfavorável (primavera/verão) a maioria das búfalas apresenta períodos de anestro prolongado e não respondem de forma adequada ao tratamento com GnRH (Ovsynch). Portanto, é necessário o desenvolvimento de protocolos distintos utilizando progesterona, estradiol, prostaglandina, eCG e GnRH.

Em virtude da necessidade de maior conhecimento sobre a dinâmica folicular ovariana em búfalas submetidas a novos protocolos de sincronização do estro, o presente estudo teve o objetivo de avaliar os efeitos da utilização do acetato de deslorelina (um análogo sintético do GnRH) em um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo sobre a indução da ovulação e, conseqüentemente, a taxa de concepção de fêmeas bubalinas na estação reprodutiva desfavorável na região sul do Brasil.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Animais e local do experimento

O experimento foi realizado nos meses de novembro de 2009 e janeiro de 2010 (fora da estação reprodutiva da espécie). Foram utilizadas 68 búfalas pluríparas das raças Murrah e Mediterrâneo, em bom escore de condição corporal (ECC média de 3,5 – em escala de 1 a 5) provenientes de duas fazendas localizadas no município de Antonina, no estado do Paraná.

Durante o experimento, os animais foram mantidos a pasto (*Brachiaria decumbens*) e receberam suplementação mineral *ad libitum*. As ordenhas eram realizadas diariamente pela manhã com produção média diária por animal de 10 litros de leite na presença dos bezerros.

2.2 - Delineamento experimental

Exames ultrassonográficos ovarianos prévios ao protocolo foram realizados em todos os animais para verificação da condição folicular e para proporcionar a divisão dos animais em dois grupos homogêneos.

No dia 0 do protocolo, as 68 búfalas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (Cronibest®, Biogenesis-Bagó, Brasil) via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona (Cronipres Monodose®, Biogénesis-Bagó, Brasil) que permaneceu por duas semanas. No dia 14, foi feita a aplicação de 150 µg de D-cloprostenol (Croniben®, Biogénesis-Bagó, Brasil) e 400 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina – eCG (Folligon®, Intervet Schering-Plough Animal Health, Brasil) ambas por via intramuscular. Também nesse dia, foi retirado o implante de progesterona. No Dia 16, os animais do Grupo 1 receberam 10 µg de buserelina (Conceptal®, Intervet Schering-Plough Animal

Health, Brasil), e os animais do Grupo 2 receberam 100 µg de acetato de deslorelina via intramuscular. No Dia 17, ou seja, 24 horas após a aplicação do indutor de ovulação, os animais de ambos os grupos foram inseminados (Figuras 2 e 3).

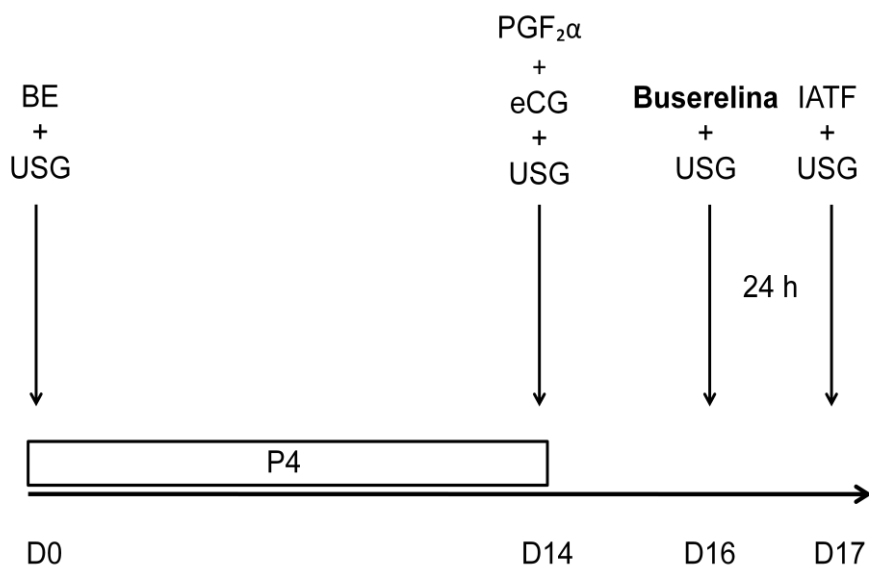


Figura 2 - Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo – Grupo 1.

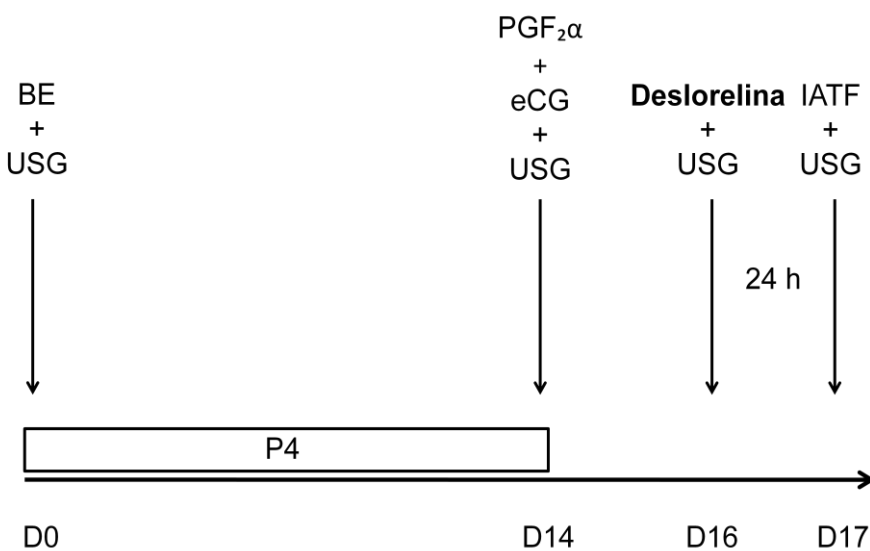


Figura 3 - Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo – Grupo 2.

2.3 - Exames ultrassonográficos

Os exames ultrassonográficos ovarianos foram realizados com um transdutor linear de 5 MHz (modelo Aloka 500).

No dia 16, após a aplicação de GnRH ou deslorelina, o objetivo do exame foi verificar a presença de folículos com diâmetro superior a 8,0 mm (Figura 4). Outras duas avaliações ultrassonográficas foram realizadas: no momento da inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (D0) e no dia da administração da PGF2 α e do eCG (D14).

No dia da inseminação artificial (D17), foram realizados exames ultrassonográficos nos animais de ambos os grupos, para verificar a ocorrência ou não ovulação. A ausência dos folículos dominantes previamente identificados indicou a ocorrência da ovulação (NASSER et al., 1993). Foi considerada ovulação sincronizada aquela ocorrida no período de 24 horas após a aplicação dos indutores da ovulação (buserelina ou deslorelina).

O exame ultrassonográfico para diagnóstico de gestação foi realizado 55 dias após a inseminação artificial.



Figura 4 – Folículo dominante com 11 mm de diâmetro visualizado durante o exame ultrassonográfico no dia 16 do protocolo.

2.4 - Análise estatística

As variáveis taxa de ovulação, porcentagem de ovulação sincronizada após a aplicação dos indutores de ovulação e taxa de prenhez, foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado. O diâmetro folicular foi analisado pelo teste T-Student. Foi admitido o nível de 5% de significância para os testes realizados.

3- RESULTADOS

A dinâmica folicular foi realizada em todos os dias de manejo do protocolo (0, 14, 16 e 17), sendo que o folículo dominante foi avaliado no dia 16 do protocolo, antes da aplicação do indutor de ovulação e teve, em média, $7,9 \pm 3,3$ mm no Grupo 1 (buserelina) e $8,9 \pm 3,4$ mm no Grupo 2 (deslorelina).

Tabela 1 – Análise dos parâmetros nos dias 16 e 17 do protocolo de IATF.

Parâmetro analisado – D16	G1 (buserelina)	G2 (deslorelina)
Número de animais (n)	20	48
FD (diâmetro médio em mm)	$7,9 \pm 0,7^a$	$8,9 \pm 0,4^a$
FD (maior diâmetro em mm)	15,0	20,0
FD (menor diâmetro em mm)	4,0	2,0
% animais com folículo > 8 mm	35,0 ^a	54,1 ^a
% de prenhez com folículo > 8 mm	50,0 ^a	63,1 ^a
Parâmetro analisado – D17		
Taxa de ovulação (%)	15,0 ^a	35,4 ^a
Taxa de prenhez (%) no 55 ^o dia	20,0 ^a	39,6 ^a

Letras iguais na mesma linha demonstram que não houve diferença significativa para as variáveis testadas

A presença do folículo dominante no dia 16 (Tabela 2) demonstra a eficiência do protocolo quanto à sincronização de cio. Não houve diferença estatística entre os grupos com relação a esta variável ($p > 0,05$).

Os animais que foram prenhes apresentaram, em sua maioria, o folículo dominante com o diâmetro maior que 8 mm em ambos os grupos testados.

No dia 17 do protocolo (dia da IATF) foi realizado o exame ultrassonográfico dos ovários e o desaparecimento dos folículos dominantes previamente identificados (dia 16) indicou a ocorrência da ovulação. A taxa de ovulação demonstra a eficiência do indutor da ovulação utilizado.

Não houve diferença estatística significativa entre os grupos G1 (GnRH) e G2 (Deslorelina) com relação à taxa de prenhez.



Figura 5 – Exame ultrassonográfico para diagnóstico de gestação no 55º dia após a IATF.

4- DISCUSSÃO

O protocolo utilizado em nosso experimento foi determinado mediante os estudos já realizados em búfalas durante a estação reprodutiva desfavorável. O uso do implante de progesterona por 14 dias foi baseado no estudo de Sing (2003), que obteve taxa de concepção de 83% em búfalas inseminadas após uso de implante de progesterona em associação com aplicação de PGF2 α . Este autor indica que o tratamento com progesterona é mais efetivo quando os implantes permanecem por 10 a 14 dias em comparação com o uso por 8 dias.

A adição de 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) ao protocolo teve como objetivo o incremento no crescimento dos folículos. Segundo Baruselli et al. (2002), a utilização de 400 UI de eCG no momento da remoção do dispositivo de progesterona, resulta em aumento nas taxas de ovulação e concepção em vacas sem CL no momento da inserção do dispositivo.

Já Presicce et al. (2005) afirmaram que o tratamento de búfalas, apresentando algum crescimento folicular, com P4+eCG durante os meses da estação desfavorável pode gerar taxas de concepção de até 70%.

Em nosso estudo, o uso da prostaglandina (D-cloprostenol) no dia da retirada do implante (dia 14) visou a lise do corpo lúteo e conseqüentemente a queda na concentração de progesterona. Brito et al. (2002) testaram a eficácia da PGF₂ α na sincronização de cio em 33 búfalas e concluíram que o maior diâmetro do folículo dominante foi obtido quando o D-cloprostenol foi utilizado, independente da dose. Baseado nesse estudo é que nosso grupo escolheu este princípio ativo do luteolítico utilizado no protocolo.

O folículo pré-ovulatório é o maior folículo no pró-estro e estro (ELWISHY e GHONEIM, 1995) e tem um crescimento constante (MARION et al., 1968). No presente estudo, o folículo dominante teve, em média, diâmetro de $7,9 \pm 3,3$ mm no Grupo 1 (GnRH) e $8,9 \pm 3,4$ mm no Grupo 2 (deslorelina). Estes resultados são semelhantes aos de Berber et al. (2002), que obtiveram, em média, diâmetro de 9 mm para o folículo dominante. Rastegarnia et al. (2004), em um experimento com sincronização da ovulação comparando diferentes doses de gonadorelina em búfalas, obtiveram diâmetro médio dos folículos dominantes de 12,7 mm, valor muito superior ao de nosso experimento. Contudo, vale ressaltar, que neste último estudo os autores realizaram o protocolo de sincronização durante a estação reprodutiva favorável (março a julho).

No grupo 2 (deslorelina), o folículo dominante teve em média 8,9 mm, resultado inferior à média (11,7 mm) encontrada no estudo de Berber et al. (2002), que utilizaram o GnRH durante a estação reprodutiva (maio e junho). Portanto, podemos afirmar que o momento da realização do protocolo (estação) influencia no diâmetro do folículo dominante.

Segundo Baruselli et al. (1997), em condições normais, os folículos adquirem a capacidade de ovular em torno de 5-8 mm, o que corrobora com o resultado encontrado em nosso estudo, no qual os folículos que ovularam tiveram diâmetros que variaram entre 4,0 e 15,0 mm. Estes resultados também são semelhantes aos encontrados por Campanile et al. (2007, 2008), em estudo no qual os folículos de búfalas múltíparas, com diâmetros variando de

4,2 a 13,0 milímetros, ovularam após os animais terem sido tratados com hCG ou agonista de GnRH.

No entanto, Gimenes et al. (2007) relataram que os folículos em búfalas novilhas da raça Murrah e da raça Mediterrâneo adquiriram a capacidade ovulatória, em resposta ao LH exógeno, quando atingiram diâmetro de 8,5 a 10,0 milímetros quando tratadas com hCG ou agonista de GnRH.

A presença do folículo dominante no dia 16 em 48,5% dos animais demonstrou a eficiência de nosso protocolo quanto à sincronização de cio. Diferente do obtido por Ali e Fahmy (2007), que sincronizaram 8 búfalas acíclicas utilizando o protocolo Ovsynch e após a 2ª dose de GnRH, 100% dos animais haviam ovulado. Porém, apesar destes animais estarem em anestro, o protocolo foi realizado durante a estação reprodutiva favorável, o que pode ter influenciado os resultados superiores ao nosso estudo.

Na espécie equina, o acetato de deslorelina vem sendo utilizado com sucesso. Melo et al. (2005) compararam o uso de deslorelina (1 mg/IM) com o extrato de pituitária eqüina (EPE) (10 mg/IV) e constataram que ambos os agentes foram eficientes na indução da ovulação. Em outro estudo, Mumford et al. (1995) realizaram experimento com 40 éguas não lactantes para verificar o efeito do implante de deslorelina (2,2 mg) como indutor da ovulação. O implante de deslorelina induziu a ovulação após 48 horas, e este efeito não foi diminuído quando as éguas foram tratadas durante três ciclos consecutivos. Recentemente, Raz et al. (2009) compararam os efeitos do FSH (12,5 mg) e deslorelina (63 µg) na estimulação ovariana e produção de embriões em éguas doadoras e foi constatado que 78% dos animais que receberam deslorelina ovularam.

O único relato do uso desse hormônio na espécie bubalina é em protocolo de superovulação para transferência de embriões e a informação concreta é que esse agonista induz a ovulações férteis em búfalas, com taxa de recuperação de embriões de cerca de 46% (CARVALHO et al., 2002).

As taxas de concepção obtidas em nosso estudo foram de 20% no grupo 1 (GnRH) e 39,6% no grupo 2 (Deslorelina). Apesar de não diferirem estatisticamente, os resultados indicam tendência de que o acetato de deslorelina seja mais eficiente em induzir a ovulação em búfalas durante a estação reprodutiva desfavorável em comparação ao GnRH.

Quando o protocolo Ovsynch é realizado em búfalas durante a estação reprodutiva desfavorável as taxas de concepção são variadas: 34% (CAMPANILE et al., 2005), 30% (WARRIACH et al., 2008), 28,2% (BARUSELLI et al., 2002) e 6,9% (BARUSELLI et al., 2003). Podemos afirmar que o protocolo realizado no presente estudo, utilizando o acetato de deslorelina como indutor de ovulação, resulta em taxas de concepção superiores (39,6%) àquelas obtidas com o protocolo Ovsynch.

Novos estudos são necessários para que a dose seja ajustada e esse hormônio possa ser utilizado como um indutor da ovulação eficiente em bubalinos.

5- CONCLUSÃO

Foi possível concluir, através das taxas de ovulação e concepção, que o acetato de deslorelina é um indutor da ovulação eficiente e pode ser utilizado em protocolos de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo em búfalas durante a estação reprodutiva desfavorável visando a produção de leite no período entre-safra.

REFERÊNCIAS

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

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**, n. 47, p. 1531–1547, 1997.

BARUSELLI, P.S.; CARVALHO, N.A.T.; HENRIQUEZ, C.H.P.; AMARAL, R. Synchronization of ovulation for timed artificial insemination during the breeding season in the buffalo. In: Buffalo Symposium of Americas, 1st 2002, Belém. **Proceedings** ... Belém: Embrapa/CPATU, v. 1, p. 418-420, 2002.

BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; BANARBE, 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**, 40. n.6, 2003.

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

BRITO, L.F.; SATRAPA, R.; MARSON, E.P.; KASTELIC, J.P. Efficacy of PGF(2alpha) to synchronize estrus in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. **Animal Reproduction Science**, n. 73, p. 23–35, 2002.

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**, n. 63, p. 2334–2340, 2005.

CAMPANILE, G.; DI PALO, R.; NEGLIA, G.; VECCHIO, D.; GASPARRINI, B.; PRANDI, A.; GALIERO, G.; D'OCCHIO, M.J. Corpus luteum function and embryonic mortality in buffaloes treated with a GnRH agonist, hCG and progesterone. **Theriogenology**, n. 67, p. 1393–1398, 2007.

CAMPANILE, G.; VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; DI PALO, R.; PRANDI, A.; D'OCCHIO, M.J. Progesterone and pregnancy status in buffaloes treated with a GnRH agonist. **Livestock Science**, n. 115, p. 242–248, 2008.

CARVALHO, N.A.T.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; MADUREIRA, E.H.; VISINTIN, J.A.; D'OCCHIO, M.J. Control of ovulation with a GnRH agonist after superstimulation of follicular growth in buffalo: fertilization and embryo recovery. **Theriogenology**, n.58, p.1641-1650, 2002.

DIAZ, J.D.S.; OLIVEIRA, A.T.D.; AGUIAR, P.R.L.; RODRIGUES, J.L. Diagnóstico ultra-sonográfico do momento ovulatório em búfalas (*Bubalus bubalis*) inseminadas no estro espontâneo e induzido. **Ciência Rural**, n.31(4), p.657-662, 2001.

EL-WISHY, A.B., GHONEIM, I.M. Ovarian function in buffalo cows with special reference to the accuracy of rectal palpation. **Reproduction Domestic Animals**, Berlim, v. 30, p. 39-41, 1995.

GIMENES, L.U.; CARVALHO, N.A.T.; SÀ FILHO, M.F.; TORRES, J.J.R.S.; AYRES, H.; VANNUCCI, F.S.; BIANCONI, L.L.; BISINOTTO, R.S.; REICHERT, R.H.; BELTRAN, M.P.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Follicle selection by ultrasonography and plasmatic characteristics and ovulatory capacity in buffaloes. **Italian Journal Animal Science**, n. 6, p. 629–631, 2007.

MARION, G.B.; GIER, M.T.; CHOUDARY, J.B. Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 27, p. 451-465, 1968.

MELO, C.M.; PAPA, F.O.; MEDEIROS, A.S.L.; DELL'AQUA JR, J.A.; CARMO, M.T.; ARAÚJO, G.M.; ALVARENGA, M.A. Efeito da Deslorelina e do extrato de pituitária equina na indução da ovulação em éguas. In: XIX REUNIÃO ANUAL DA SBTE, 2005, **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 193, 2005.

MUMFORD, E.L.; SQUIRES, E.L.; JÖCHLE, E.; HARRISON, L.A.; NETT, T.M.; TRIGG, T.E. Use of deslorelin short-term implants to induce ovulation in cycling mares during three consecutive estrous cycles. **Animal Reproduction Science**, n. 39, p. 129-140, 1995.

NASSER, L. F. et al. Ovarian superovulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. **Theriogenology**, v. 40, p. 713-724, 1993.

PRESICCE, G.A.; SENATORE, E.M.; DE SANTIS, G.; BELLA, A. Follicle turnover and pregnancy rate following estrus synchronization protocols in Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Reprod. Domest. Anim.**, n. 40, p. 443–447, 2005

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

RAZ, T.; CARLEY, S.; CARD, C. Comparison of the effects of eFSH and deslorelin treatment regimes on ovarian stimulation and embryo production of donor mares in early vernal transition. **Theriogenology**, n. 71, p. 1358–1366, 2009.

SING C. Response of anestrus rural buffaloes (*Bubalus bubalis*) to intravaginal progesterone implants and PGF2alpha injection in summer. **Journal of Veterinary Science**, n. 4, p. 137–141, 2003.

VALE, W.G. **Bubalinos**: Fisiologia e Patologia da Reprodução. Campinas; Fundação Cargil, p.86, 1988.

WARRIACH, H.M.; CHANNA, A.A.; AHMAD, N. Effect of oestrus synchronization methods on oestrus behaviour, timing of ovulation and pregnancy rate during the breeding and low breeding seasons in Nili-Ravi buffaloes. **Animal Reproduction Science**, n. 107, p. 62–67, 2008.