ESCOLA SUPERIOR BATISTA DO AMAZONAS – ESBAM
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CARLOS GIRBRAN DE LIMA SILVA

TAXA DE PRENHEZ EM BUBALINOS (*Bubalus bubalis)* SEGUNDO O DIÂMETRO FOLICULAR NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

Manaus
2017

CARLOS GIRBRAN DE LIMA SILVA

TAXA DE PRENHEZ EM BUBALINOS (*Bubalus bubalis)* SEGUNDO O DIÂMETRO FOLICULAR NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de Graduação em Medicina Veterinária.

Orientador Professor Me. Jose Allan Soares de Araújo

Manaus

2017

Ficha Catalográfica

S586t Silva, Carlos Girbran de Lima

Taxa de Prenhez em Bubalinos (Bubalus bubalis) segundo o diâmetro folicular na inseminação artificial em tempo fixo (IATF) / Carlos Girbran de Lima Silva. – Manaus: Escola Superior Batista do Amazonas-ESBAM, 2017.

Fls: 44

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de graduação em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Me. José Allan Soares Araújo

1. Bovídeo asiático 2. Inseminação artificial 3. Eficiência reprodutiva e produtiva I. Título

CDU: 636

Bibliotecária Responsável: Roseane Pereira CRB 11/ 886

CARLOS GIRBRAN DE LIMA SILVA

TAXA DE PRENHEZ EM BUBALINOS (*Bubalus bubalis)* SEGUNDO O DIÂMETRO FOLICULAR NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de Graduação em Medicina Veterinária.

Aprovado em: 21/06/2017

Prof. Jose Allan, Soares de Araújo. Me. ESBAM

Dr. Haruo Takatani. Esp. CRMV/AM

Paulo César Goncalves de Azevedo Filho. Me. ESBAM

Dedico...

Aos meus pais, Antônio Carlos e Sandra Maria, por todo amor e dedicação, sem vocês eu não conseguiria essa vitória.

A minha esposa Mainã e, aos meus filhos, Nicolas e Hadassa, pela paciência e apoio, sempre me incentivando a prosseguir.

Aos meus irmãos, Cassio Gyrlan e Calil Gileno, por estarem ao meu lado, em todos os momentos dessa trajetória.

A todos os familiares e amigos, vocês suavizaram a caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus, nosso pai, sempre presente em minha vida, a quem recorro nos momentos de tristeza e com quem me regozijo nos momentos de vitória.

Ao meu orientador Jose Allan, por ter compartilhado suas experiências e conhecimentos, pois essas oportunidades me trouxeram a este momento. Como, também meus agradecimentos são extensivos aos professores da ESBAM, pela atenção e por todo conhecimento repassado durante o período de graduação.

Ao meu supervisor de Estágio Dr. Tomaz Pina e aos companheiros de estagio, pela paciência e humildade, esses quatro meses de estagio serviram de ensinamento prático e, com certeza levarei essa experiência para toda a minha vida.

Aos amigos que conquistei durante toda essa jornada, aos parceiros de estudo, em especial alguns que guardarei em minhas memórias, como o Ângelo, Gabriel, Jeffison, Hermancler (*in memorian*) Jânio, Márcia, Silvia e Odete, enfim, a todos que me apoiaram de alguma forma, saibam que todos os obstáculos que passamos, valeram a pena.

Muito obrigado...

"A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo como seus animais são tratados."

(Mahatma Gandhi)

LISTA DE TABELA

Página

Tabela 1. Aspectos corpóreos e aptidões produtivas das raças de *Bubalus bubalis* 11

Tabela 2. Características da estrutura reprodutiva da búfala e da vaca 13

LISTA DE FIGURA

		Página
Figura 1.	Criação de búfalo na Amazônia	10
Figura 2.	Ciclo estral da búfala	14
Figura 3.	Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em bubalino	17
Figura 4	Protocolo Ovsynch utilizado em búfalo	18
Figura 5.	Protocolo Ovsynch associado a dispositivo intravaginal (P4) utilizado em búfalo	19

SUMÁRIO

		Página
	INTRODUÇÃO	9
	CAPÍTULO I	
1	**REVISÃO DE LITERATURA: Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em bubalinos *(Bubalus bubalis*)**	10
1.1	**Histórico**	10
1.2	**Características da Espécie**	11
1.3	**Fisiologia Reprodutiva da Búfala**	12
1.3.1	**Sistema Reprodutor**	12
1.3.2	**Puberdade e Maturidade**	13
1.3.3	**Ciclo Estral**	14
1.3.4	**Dinâmica Ovariana**	15
1.3.5	**Eficiência Reprodutiva**	15
1.4	**Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)**	16
1.4.1	**Protocolos para bubalinos**	18
1.4.1.1	**Protocolo Ovsynch**	18
1.4.1.2	**Implante de Dispositivo Intravaginal (P4) associado com o Protocolo Ovsynch**	19
1.4.2	**Tamanho do Folículo em relação a Taxa de Prenhez**	20
1.4.3	**Manejo do Sêmen**	21
1.5	**Importância do uso da IATF para a Bubalinocultura**	21
1.6	**Referências**	22
	CAPITULO 2	
	Taxa de Prenhez em Bubalinos (*Bubalus Bubalis)*, segundo o Diâmetro Folicular na Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	25
	ANEXOS	35

INTRODUÇÃO

A criação de Búfalo (*Bubalus bubalis*) é uma das atividades econômicas, que ao longo dos anos se amplia, constituindo um rebanho de 1,3 milhões de animais, amplamente distribuído em todo o país (BRASIL, 2015).

O uso de Biotécnicas em reprodução de bovídeos é um recurso que vem sendo empregado continuamente, em razão da simplificação do processo que, conforme explica Ohashi e Baruselli (2014) se deve ao fato desta tecnologia ser bastante empregada e com obtenção de bons resultados.

Entretanto, o uso da Biotécnica de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) encontra entraves, como a estacionalidade reprodutiva da espécie e poucos estudos direcionados a área de reprodução de búfalos, haja vista o custo pouco acessível do processo e o grau de risco no manejo reprodutivo desta espécie animal.

Por essa razão, o presente Trabalho de Conclusão de Curso está direcionado ao estudo do uso da biotécnica de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em búfalas, em período desfavorável da reprodução, no intuito de contribuir com o melhoramento da capacidade reprodutiva e produtiva desta espécie.

Sendo que, este estudo está organizado em dois capítulos, no primeiro capítulo está disposta a Revisão bibliográfica, enquanto o segundo capítulo está organizado o artigo científico, que segue os moldes de formatação de critérios de submissão da revista ACTA Amazônica (anexo D), que fará a avaliação da relevância do estudo e possível publicação.

CAPITULO I

1 REVISÃO DE LITERATURA: Inseminação Artificial em Tempo Real (IATF) em bubalinos *(Bubalus bubalis*)

1.1 Histórico

De acordo com Bastianetto (2009), os búfalos são animais domésticos que foram introduzidos no Brasil no Sec. XIX, através de duas fontes documentadas, a primeira descreve a origem por importação e, a segunda destaca que esses animais são sobreviventes de navios que aportaram na costa brasileira e tinham como destino a América Central.

Para a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, existe um registro mais remoto da entrada desses animais, por meio da importação de um lote de búfalos da Itália, em 1902, que tinha como destino a ilha de Marajó (ABCB, 2017). Como, também, é descrito que a região norte, particularmente o estado do Pará, teria sido a primeira região a adotar a criação intensiva deste animal, uma atividade que nos dias atuais pode ser encontrada em todo o país (BRASIL, 1998),

Segundo Lourenço Junior e Garcia (2008), a criação do búfalo na região Amazônica encontrou um bioma perfeito para o seu desenvolvimento, conforme demonstrado na **Figura 1**, uma atividade que contribui com a economia e ocupa mais as áreas de várzeas, um ambiente perfeito para a criação desse tipo de bovídeo, que necessita de abundância de água no ambiente de criação.

Figura 1. Criação de búfalo na Amazônia

Fonte: Arquivo Pessoal

1.2 Características da espécie

O Búfalo é uma espécie nativa da Ásia, pertencente à família dos bovídeos (*Bovidae*), subfamília *Bovinae*, gênero *Bubalus*, espécie *bubalis*, dividido em duas subespécies, a *var bubalis*, conhecido como búfalo de rios (River Buffalo) e, *var kerebeu* (Carabao), conhecido como búfalo de pântano (BRASIL, 1998).

De acordo com, a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB, 2017), são reconhecidas quatro raças de *Bubalus bubalis* criadas em território brasileiro, o Mediterrâneo, Murrah, Jafarabadi e Carabao, sendo as três primeiras da variedade búfalo de rio, enquanto a última é da variedade búfalo de pântano.

Dentre as principais características do Búfalo doméstico, está o temperamento mais tranquilo, em relação aos parentes selvagens e agressivos, como o Bisão americano e o Búfalo africano, bem como, a rusticidade, adaptabilidade e resistência a doenças (BRASIL, 1988).

A maioria das raças apresenta a pelagem e os pelos negros e, por essa razão sofrem muito quando estão expostos ao sol, pois esses animais têm problema com a regulação térmica, sendo imprescindível que o ambiente de cultivo possua abundancia de agua e áreas sombreadas (ANDRADE e GARCIA, 2005).

É um animal que apresenta uma boa estrutura anatômica e aporte cárneo (ANDRADE e GARCIA, 2005). Sua dieta é basicamente gramínea e fibras vegetais, conseguindo extrair nutrientes até mesmo em solo com baixa qualidade, mas responde em desempenho e composição corporal, quando ocorre melhora na nutrição (LOURENÇO JR. e GARCIA, 2008).

Quanto as características produtivas das raças criadas no país, cada uma apresenta um aspecto interessante para a produção, conforme descrito na **Tabela 1**, o que o torna a criação bem satisfatória (ANDRADE e GARCIA, 2005).

Tabela 1. Aspectos corpóreos e aptidões produtivas das raças de *Bubalus bubalis*

Raça	Peso	Altura	Aptidão produtiva e características corpóreas
Carabao	M-750 a 800kg F- 500 a 600kg	M-1,40cm F- 1,32cm	Aptidão produtiva diversificada, leite, carne e forca motriz, essa última é usada na tração agrícola e no transporte de carga e, de sela. Pelagem e pele cinza escura ou rosilha, com mancha mais clara ou branca nas patas, no pescoço e abaixo da mandíbula, dorso, além de tufos claros nas arcadas orbitárias superiores, nas comissuras labiais e no ventre. Cabeça relativamente pequena, com perfil craniano e chanfro retilíneos. Chifres longos, grandes e fortes, em posição horizontal para fora.
Mediterrâneo	M-750kg	M-1,50cm	Aptidão produtiva mista, com prevalência para a atividade leiteira. Pelagem e pele pretas, incluindo os chifres, cascos, espelho nasal e mucosas aparentes.

	F- 550kg	F- 1,40cm	Cabeça de tamanho médio e perfil convexo. Chifres pretos, longos, fortes e grossos, estendendo para trás e terminando em forma semicircular ou de lira.
Murrah	M-750kg	M-1,40cm	Aptidão produtiva mista, mais prevalência para leiteira. Pelagem e pele pretas, incluindo os chifres, cascos, espelho nasal e mucosas aparentes, com exceção da ponta da cauda que pode ser branca, preta ou mesclada.
	F- 550kg	F- 1,32cm	Cabeça de comprimento médio, perfil retilíneo ou levemente subconvexo. Chifres pequenos, relativamente finos, com a ponta retorcida para dentro e enrolada
Jafarabadi	M-590kg	M-1,42cm	Aptidão produtiva: mista Pelagem e pele pretas, incluindo os chifres, cascos, espelho nasal e mucosas. Cabeça com perfil craniano ultraconvexo e chanfro de retilíneo a subconvexo; chifres longos, fortes e grossos, com curvatura final para cima e para dentro, em harmonia com o perfil craniano
	F- 454kg	F- 1,40cm	

Fonte: Arquivo Pessoal, adaptado de Andrade e Garcia (2005).

No setor produtivo de corte, Lourenço et al. (2001) explica que, esses animais são abatidos cada vez mais jovens, com idade inferior a 24 meses e peso vivo em torno de 450 a 500kg, motivados pelo programa “Baby buffalo”, um projeto que tem como principal interesse, colocar no mercado carne de animais abatidos mais precocemente, visto o corte macio da carne deste espécime nessa fase do desenvolvimento, proporcionando maior aceitabilidade do consumidor.

Enquanto, que a produção leiteira, uma das principais aptidões deste animal, as búfalas são consideradas boas produtoras de leite, em pastagem nativa não ultrapassam 5 litros/fêmea/dia, mas podem ser encontradas produtoras com média de 7 litros/fêmea/dia (BRASIL, 1988).

O leite de búfala é mais consistente, do que o bovino, apresentando uma economia na elaboração de derivados do leite, em torno de 40% no iogurte, 35% no queijo branco, 39% na mozarela, 20% no provolone, 41 % no requeijão marajoara e, 29% no doce de leite (HÜHN et al., 1984).

1.3 Fisiologia Reprodutiva da Búfala

1.3.1 Sistema Reprodutor

Segundo Ohashi e Baruselli (2014), o sistema reprodutivo da búfala é morfologicamente semelhante ao da bovina, consistindo de dois ovários, útero, tuba uterina, cornos uterinos, cervix, vagina e vulva. Entretanto, Vale e Ribeiro (2005), destaca algumas diferenças entre os sistemas reprodutivos dessas duas espécies, conforme descrito na **Tabela 2**.

Tabela 2. Características da estrutura reprodutiva da búfala e da vaca

Estrutura	Vacas (*Bos taurus)*	Búfala (*Bubalis)*
Ovário	Comprimento = 3,5 - 4,5 cm Largura = 2,5 cm Peso = 15 - 20g	Comprimento = 2,5 - 3,0 cm Largura = 1,4 cm Peso = 4,6g
Corpo Lúteo (CL)	Tonalidade amarelo claro, proje tando-se até o meio do ciclo para a superfície do ovário	Tonalidade Marrom/avermelhado Enterrado para o interior do ová rio.
Tuba uterina	Comprimento = 25 - 26 cm. Atra vés do seu percurso encontra-se aderida na bursa ovárica	C = 19 - 24 cm. Encontra-se cravada na bursa ovárica
Cornos uterino	Rígidos e tortuosos; tônus na fase estrogênica	Mais rígidos e tortuosos que nos bovinos; maior tônus.
Corpo do útero	Comprimento = 6,35 - 12,70 cm	C = 5,3 – 8,0 cm
Cervix	Muscular e tortuosa, 2 – 4 anéis cervicais, abertos durante o cio	Menor com mais anéis cervicais 3 – 5, que mesmos no cio são de difícil dilatação
População folicular no nascimento.	60.000 – 100.000	12.000 – 20.000

Fonte: Arquivo pessoal, adaptado de Vale e Ribeiro (2005)

1.3.2 Puberdade e Maturidade Sexual

De acordo com, Hafez et al. (2014), o controle do processo reprodutivo nos bubalinos, assim como nos animais domésticos, está intrinsicamente ligado a maturidade do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas. Um sistema que funciona como start up, no sentido de iniciar, coordenar e regular as funções do sistema reprodutivo, utilizando mensageiros químicos ou hormônios para executar esse processo, que geralmente se inicia na puberdade, quando se estabelece a primeira ovulação nas fêmeas.

Segundo Jainudeen e Hafez (2014) a puberdade na búfala è um processo de difícil detecção, manifestando-se mais tardia em relação aos bovinos, não ocorrendo mudanças no comportamento e muito menos é observado sinais aparentes de cio. Nas búfalas do rio, a puberdade se apresenta entre 15 a 18 meses, enquanto, em búfalas do pântano, se evidencia entre 21 a 24 meses. Para maior controle é importante o uso de rufiões, associado a observação visual frequente, para que não se perca a produtividade (OHASHI e BARUSELLI, 2014).

A maturidade sexual apresenta-se entre 24 a 30 meses para as Murrah, Mediterrânea, Jafarabadi e seus mestiços, e até 36 meses para a Carabao e seus mestiços, no entanto é possível que novilhas Murrah, criadas em ambiente amazônico e com níveis nutricionais satisfatórios, atinjam a puberdade entre 13 a 18 meses, com maturidade sexual de 24 a 27 meses de idade. Já, o primeiro parto ocorre entre de 35 a 56 meses nas novilhas tipo river, podendo chegar até 40 meses, com peso corporal de até 480kg, porém, estudos apresentam uma média de 39,8 meses, com peso médio 456kg, com mestiços mais precoces (RIBEIRO, 2008).

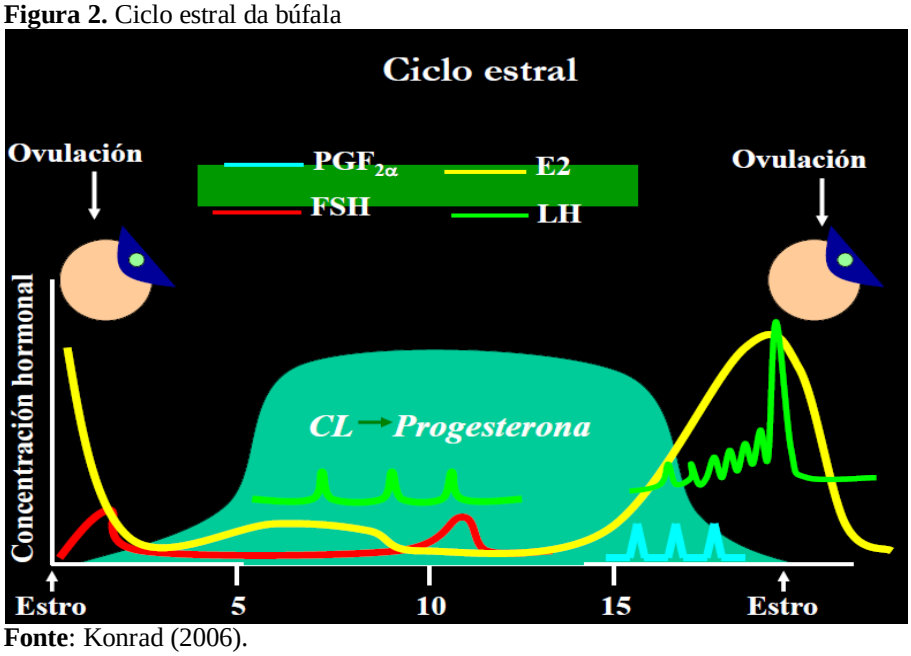
O período de gestação, varia de acordo com a raça, sendo mais longo em relação aos bovinos. Os búfalos de rios regulam a gestação entre 305 a 320 dias e, os búfalos de pântano varia entre 320 a 340 dias. Sendo que, o intervalo de parto em condições naturais è de 18 meses, podendo ser alterado para intervalos de 14 a 15 meses, para rebanhos leiteiros bem manejados, assim como, o período mais favorável, encontra-se entre 2 a 5 meses após o pico das aguas, com taxa de nascimento superior a 80%, em rebanhos de alto padrão genético (JAINUDEEN e HAFEZ, 2014).

1.3.3 Ciclo Estral

Os búfalos são poliëstricos e parem durante todo o ano, entretanto estudos apontam a influência da temperatura, nutrição e fotoperíodo sobre o estro, causando partos estacionados, principalmente em localidades distantes da região equatorial, ocasionando a atividade ovariana em búfalas que parem no verão e no outono, em relação as fêmeas que parem no outono e no inverno, motivadas pela luminosidade e de aporte nutricional (JAINUDEEN e HAFEZ, 2014).

Segundo Vale e Ribeiro (2005), assim como os bovinos, o ciclo estral da búfala possui quatro fases, pró-estro, estro, metaestro e diestro, durando entre 16 a 33 dias, com maior concentração entre 21 a 24 dias, influenciado por fatores exógenos e endógenos, como clima, temperatura, manejo, nutrição, genética e estresse térmico. O estro dura entre 8 a 32 horas, ocorrendo geralmente a noite, enquanto o cio, geralmente ocorre entre as 18h as 6h, quando a temperatura se manifesta amena, com duração de 12 a 30hs, posteriormente acontece a ovulação entre 15 a 18hs após o cio, ou, 18 a 45hs após o início do cio, um estágio precedido de pico de LH, conforme **Figura. 2** e, a liberação de apenas um oócito (JAINUDEEN e HAFEZ, 2014).

Figura 2. Ciclo estral da búfala



Fonte: Konrad (2006).

Como, também, é importante saber que diversos distúrbios reprodutivos podem provocar a ocorrência de ciclos curtos e longos, ou, não detectáveis, como, no caso de distúrbios uterinos, ocasionados por endometrite e infecções uterinas que podem impactar no estro; patologias ovarianas como cistos ovarianos e ovários inativos, diversas situações que, em geral, estão relacionadas a fatores endógenos e ambientais, como o estresse térmico, alterações endócrinas, manejo inadequado e problemas de hierarquia social no rebanho (VALE e RIBEIRO, 2005).

1.3.4 Dinâmica Ovariana

De acordo com, Siqueira et al. (2009) o ovário da búfala é ovoide e pequeno, se comparado ao do bovino, bem como possui menor quantidade de folículos primordiais e maior taxa de atresia folicular.

Em média, o comprimento do ovário é de 25 a 30 mm e a largura de 14 mm e peso de 4,6g e, é composto por folículos ovarianos, que são unidades funcionais da Gônada feminina, com estrutura organizada, constituída de um oócito, cercado por células foliculares, que tem como função proporcionar um ambiente adequado ao crescimento e a maturação do oócito e, na produção de hormônios esteroides, que exercem ações fundamentais no controle intraovariana da foliculogênese (VALE e RIBEIRO, 2005).

Para Mondadoria et al. (2007), os folículos ovarianos possuem diâmetros variados, tendo sido registrado diâmetros médios entre 35, 41,8 e 53,3 μm, para folículo primordial, primário e secundário, enquanto os oócitos localizados nesses folículos registram diâmetro médio de 24,9, 26,9 e 29,4 μm. Como, também, ocorreram registros em diâmetros médios, entre 20 a 30 μm (oócito) e 50 a 100μm (folículo) para os secundários e, 30 a 60 μm (oócito) e 100 a 300 μm (folículo) para os terciários (KUMAR et al., 1997; SIQUEIRA et al., 2009).

Gimenes et al. (2007) observou que a divergência folicular e a capacidade ovulatória pôde ser avaliada por meio de exame de ultrassonografia, tendo o diâmetro dos dois maiores folículos encontrados de 7,2 ± 0,3 mm e de 6,4 ± 0,3 mm, correspondente ao folículo dominante e o subordinado, no início do desvio folicular, e a capacidade ovulatória do folículo dominante foi adquirida a partir de 8,5 mm. Sendo importante esclarecer, que a capacidade ovulatória somente é obtida quanto o folículo dominante alcança o maior diâmetro, culminando na ovulação, na maioria dos casos.

1.3.5 Eficiência Reprodutiva

De acordo com Vale e Ribeiro (2005), a eficiência produtiva e reprodutiva da búfala interage com involução uterina e com a atividade ovariana no pós-parto, que determinará ou

não o surgimento de um novo ciclo estral, com crescimento de ondas foliculares, ovulação e fecundação.

Rolim Filho et al. (2011) esclarece que, o anestro é uma condição reprodutiva que dificulta o retorno da atividade ovariana, uma situação determinada por ovários inativos e não funcionais, geralmente, relacionado a aspectos ambientais, manejo e nutrição, como fotoperíodo, temperatura, proteína e minerais e, estresse térmico, que bloqueiam o eixo hipotálamo-hipófise-ovário (gônada), prejudicando a circulação dos hormônios reprodutivos: folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH) e estrógeno.

Para Jainudeen e Hafez (2014) é importante o restabelecimento do ciclo estral após o parto, haja vista que o intervalo entre o parto e a primeira ovulação é maior em bubalinos, do que em bovinos, iniciando entre 30 a 60 dias pós-parto, sendo que a maioria das fêmeas nesse período passam despercebidas e, o anestro durante a lactação dura em média de 28 a 42 dias.

Outro importante assunto, observado por Ohashi e Baruselli (2014) é a necessidade de atenção aos aspectos desfavoráveis ao desempenho, como atraso da idade ao primeiro parto, dificuldade na detecção do cio, prolongada perda de libido dos machos, e manejo reprodutivo, todos esses fatores influenciam no processo reprodutivo da fêmea, principalmente na época das chuvas ou quando ocorre diminuição da luminosidade e diferença na oferta de alimentos.

Sartori e Guardieiro (2010) enfatizam a importância da nutrição no desempenho reprodutivo, podendo afetar direta ou indiretamente os aspectos da fisiologia da fêmea bovina por meio da perda de energia, proteína e gordura presentes na dieta, principalmente no período pós-parto, período que ocorre mais perda do ganho, interferindo na ciclicidade das vacas, por meio do restabelecimento da pulsatilidade normal de LH. Dentre os diversos minerais, o cálcio e o fosforo são os mais necessários em fêmeas em pós-parto.

Baruselli e Carvalho (2005) destacam a importância da condição corporal (ECC) no tratamento de Inseminação Artificial em búfalas, onde animais que apresentaram ECC $\geq$ 3,5 no momento da sincronização, tiveram boa eficiência ao tratamento. Sendo, também, analisado em outro estudo a importância da búfala parir em boa condição corporal, entre 3,0 a 4,5, para obtenção de bons indicies reprodutivos em programa de inseminação, entretanto, também, observou-se que animais extremamente gordos (5,0) apresentaram queda na eficiência reprodutiva (RIBEIRO, 2008).

1.4 Inseminação Artificial em Tempo Real (IATF)

Nos últimos anos, com o crescimento do setor produtivo, observou-se um expressivo avanço em pesquisas cientificas direcionadas ao setor de reprodução de animais, principalmente

no uso de biotecnologias reprodutivas, como forma de aumentar a eficiência reprodutiva e produtiva dos rebanhos, permitindo o desenvolvimento de animais de padrão zootécnico e genética aprimorados (FIGUEIREDO e MOLENTO, 2014).

Para Ohashi e Baruselli (2014), a Inseminação Artificial (IA) é a biotécnica de reprodução mais utilizada em espécies domésticas. Porém, em bubalinos, o emprego desse método necessita de rígido controle, principalmente no emprego da técnica de campo, controle dos aspectos sanitários, fisiológico, nutricionais e ambientais. Como, também, pelas limitações fisiológicas no uso de IA em fêmeas em bubalinas, como o reduzido diâmetro do colo uterino que dificulta a introdução da pipeta e a dificuldade na detecção visual do estro, devido ao comportamento discreto desses animais.

Segundo Baruselli e Carvalho (2005), essas situações abriram oportunidade para o surgimento de novos estudos sobre a reprodução de bubalinos, principalmente no desenvolvimento de protocolos que não necessitem de detecção de cios, com taxas de concepção razoáveis e facilidade no manejo reprodutivo, conforme descreve a **Figura 3**.

Figura 3. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em bubalino

Fonte: Arquivo Pessoal

De certo modo, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é o método mais usado em bubalinos nos dias atuais, tendo como objetivo, o controle da ovulação, sincronizando as ondas de crescimento folicular (diâmetro folicular), a fase luteínica e sua regressão e, o momento da ovulação, permitindo que a Inseminação Artificial seja determinada em dia e hora programados (OHASHI e BARUSELLI, 2014).

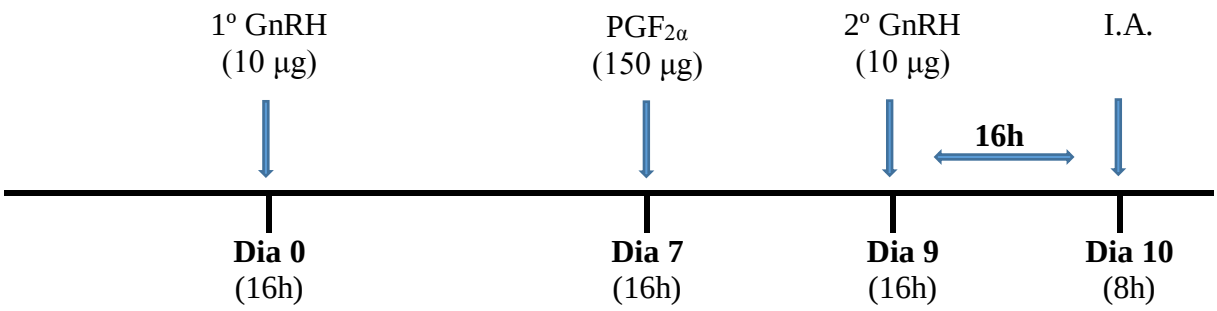
1.4.1 Protocolos para bubalinos

1.4.1.1 Protocolo Ovsynch

Ohashi e Baruselli (2014) explicam que, o protocolo Ovsynch é um dos tratamentos mais utilizado na IATF em bovídeos. Em búfalas esse protocolo responde favoravelmente na estação reprodutiva (outono e inverno), particularmente em rebanhos com alta taxa de ciclicidade, com taxas de prenhez em torno de 50%, consideradas satisfatória (BARUSELLI et al., 2009).

De acordo com Baruselli et al. (2009), esse tipo de tratamento deve ser usado em bubalinos em pós-parto (60 dias) e consiste em administrar 10 μg de liberador da Gonadotropina (GnRH); com sete dias deve ser aplicado 150 μg de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) e, após dois dias os animais devem receber novamente 10 μg de liberador da Gonadotropina (GnRH), seguido da inseminação 16h mais tarde, conforme apresentado na **Figura 4**.

Figura 4. Protocolo Ovsynch utilizado em búfalo



Fonte: Arquivo Pessoal, adaptado de Ohashi e Baruselli (2014)

Observou-se que 60,6 % dos animais apresentaram sincronização na ovulação após a 1ª dose de GnRH, média de 33,0 ± 8,3 hs, após o início do tratamento, enquanto o intervalo entre a 2ª dose de GnRH e a ovulação a média foi de 32,0 ± 5,7 hs. A maioria dessas ovulações (92%), acontecido antes das 12hs e 100% dos animais apresentaram concentração de progesterona (P4) abaixo de 1nd/mL, 48hs após a aplicação de $PGF_{2\alpha}$, indicando alta eficiência luteolítica (OHASHI e BARUSELLI, 2014).

De acordo com Baruselli et a. (2009), estudos em que a taxa de prenhez varia entre 37,9 a 56,7%, provam que as búfalas continuam apresentando estacionalidade reprodutiva, sugerindo que o problema possa estar relacionado ao escore de condição corporal-ECC (1 a 5), haja vista, que búfalas com ECC≥3,5 apresentaram maiores taxas de prenhez, acima de 50%, como, também pode ter ocorrido pouca resposta ao tratamento com GnRH/ $PGF_{2\alpha}$ /GnRH para IATF.

Outro importante dado, observado por Ohashi e Baruselli (2014) é que em búfalas primíparas ocorreu uma reduzida taxa de prenhez (35%) em comparação às multíparas (51,0%), sugestivas de anestro pós-parto, que pode ser resolvido com adequado manejo nutricional. Como, também relata casos de búfalas inseminadas com pós-parto inferior a 60 dias que apresentaram a mesma TP (50,9%); 60 a 99 dias (48,2%) e com mais de 100 dias (47,2%), um desempenho satisfatório em animais entre 40 e 60 dias pós-parto, com intervalo entre partos de até 12 meses.

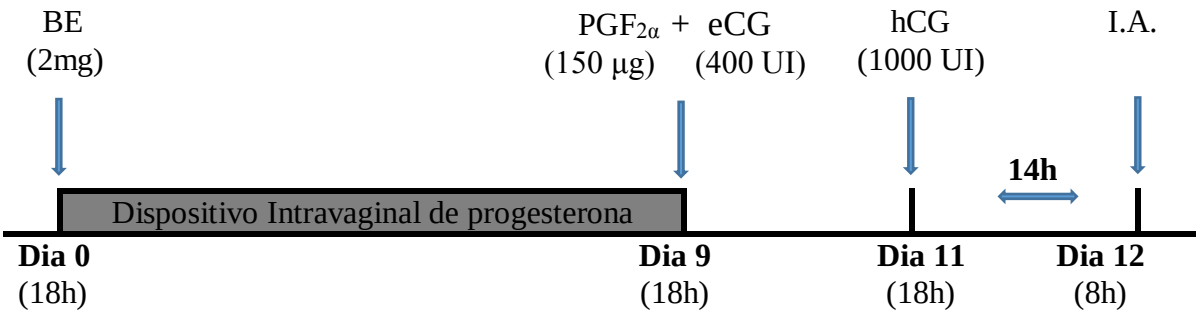
Como, também contribuem os autores, sugerindo que esse tratamento só deve ser usado em estação reprodutiva (outono e inverno) com maior TP (48,8%), do que as tratadas fora da estação reprodutiva (6,9%), devido à alta ciclicidade e custos moderados da técnica.

1.4.1.2 Implante de Dispositivo Intravaginal (P4) associado com o Protocolo Ovsynch

Devido o resultado pouco satisfatório do protocolo Ovsynch para IATF em búfalas em período desfavorável a reprodução, novas pesquisas surgiram e o novo método associa o protocolo Ovsynch associado a dispositivos intravaginais ou auriculares à base de progesterona e progestágenos com $PGF_{2\alpha,}$ e estrógenos (OHASHI e BARUSELLI, 2014).

De acordo com Ohashi e Baruselli (2014), o protocolo deste novo método consiste em administrar 2mg de Benzoato de estradiol (BE) no primeiro dia, associado ao momento da inserção do dispositivo intravaginal de progesterona; com nove dias, o dispositivo deve ser removido e deve ser aplicado 150 µg de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) e 400 UI de Gonadotrofina coriônica equina (eCG); após dois dias, deve ser administrado 1.000 UI de Gonadotrofina coriônica humana (hCG), seguido da inseminação 14hs depois, de acordo com a **Figura 5**.

Figura 5. Protocolo Ovsynch associado a dispositivo intravaginal (P4) utilizado em búfalo



Fonte: Arquivo Pessoal, adaptado de Ohashi e Baruselli (2014)

Baruselli et al. (2009) destaca que, o uso dos dispositivos intravaginais de progesterona mostra-se eficiente e diminui os custos do processo, visto que esses dispositivos possuem capacidade de reutilização, em até três vezes. Também, observa que a exposição de búfalas em anestro ao P4 exógena pode estimular o crescimento e a maturação do FD pois aumenta a

liberação de LH e, promovendo a sincronização da ovulação, porém, dependendo da evolução do anestro, a taxa de ovulação ao final do tratamento com P4 pode não ser satisfatória, mas o uso da gonadotrofina pode melhorar a resposta folicular ao tratamento.

Durante estudos em bovinos, observou-se que o uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em processo de indução, possui ação sobre os hormônios FSH e LH, estimulando o crescimento folicular e a ovulação. Em búfalos, este fármaco mostrou-se eficaz para aumentar a taxa de prenhez em protocolos de IATF em situação de anestro, tendo sido verificado uma taxa de ovulação de 70% (BARUSELLI et al., 2009). Em vacas em anestro a taxa de ovulação regulou entre 30,6 a 54,2 %, enquanto em vascas de corte, observa-se um efeito mais significativo em torno de 51,9% em relação aos animais que não usaram esse método (OHASHI e BARUSELLI, 2014).

Baruselli (2009) destaca a importância de analisar as diferenças encontradas na taxa de prenhez nos dois protocolos, onde a TP foi maior nos animais tratados com P4+EB+eCG+hCG (53,5%), em relação ao tratamento GnRH/$PGF_{2\alpha}$/GnRH (28,2%), um estudo considerado satisfatório, haja vista que esses animais receberam uma única inseminação, o que pode melhorar a atividade produtiva deste bovídeo durante o ano inteiro, no entanto, esse processo possui, ainda, um custo muito elevado para o produtor.

1.4.2 Tamanho do Folículo em relação a Taxa de Prenhez na IATF

Em um determinado experimento, Ohashi e Baruselli (2014), utilizou como metodologia o uso 10 μg (n = 17) de Buserilina (GnRH) no pós-parto (média de 60 dias), sete dias após recebera, $PGF_{2\alpha}$e dois dias depois $PGF_{2\alpha.}$ As búfalas que usaram 10μg de GnRH foram inseminadas 16h mais tarde, tendo sido observado que 60,6% de ovulação após o 1º GnRH, com maior diâmetro do folículo dominante (FD) de 9,5 mm e diâmetro de 10,3 mm com $PGF_{2\alpha}$.

A taxas de prenhez nesse experimento variou entre 37,9 a 56,7%, sugerindo que o problema poderia estar relacionado ao escore de condição corporal-ECC (1 a 5), visto que búfalas com ECC≥3,5 apresentaram maiores taxas de prenhez, acima de 50%, como, também, pode ter ocorrido pouca resposta ao tratamento com GnRH/ $PGF_{2\alpha}$ /GnRH para IATF(OHASHI e BARUSELLI, 2014).

Em outro estudo sobre o tamanho do folículo dominante (FD) utilizando o protocolo com eCG (400 UI) e hCG (1000 UI), de acordo com Porto Filho (2003) os resultados do diâmetro folicular obtidos foram: D9(retirada do implante) ± 8,4mm; D10 (eCG) ± 9,4mm e D11(hCG) ± 12,2mm, encontrando uma taxa de ovulação de 72,7%. Em outro experimento, nos mesmos termos, aferiu-se a taxa de prenhez de 43,1 %. Como, também Ohashi e Baruselli

(2014) encontraram taxas de concepção de 51,9% com esse mesmo protocolo, sugerindo que o eCG aumenta a taxa de ovulação e a taxa de prenhez em fêmeas bubalinas na estação reprodutiva desfavorável.

1.4.3 Manejo do sêmen

Na Inseminação Artificial (IA), a estocagem e manuseio do sêmen congelado são importantes em todo o processo, devendo o sêmen congelado ser armazenado, descongelado e manuseado apropriadamente para manter a viabilidade e oferecer a melhor oportunidade de obtenção de uma ótima taxa de concepção (DALTON, 2010).

De acordo com Danton (2010), o sêmen é mantido em um botijão de Nitrogênio, com isolamento a vácuo entre os tanques interno e externo. A estocagem deve ser em local limpo e seco e o transporte tem que ser com segurança, evitando que caia e acabe estragando o material genético.

A proteção térmica para o sêmen é a temperatura normal do corpo (37ºC), nesse parâmetro o resultado é a maior manutenção (mínimo declínio) da motilidade progressiva, quando comparado às temperaturas de 42ºC (muito quente) e 4ºC (muito frio), pois em ambas as temperaturas mostram acentuado declínio na motilidade dos espermatozoides ao longo do tempo. As palhetas de sêmen devem estar acessíveis, evitando exposição à temperatura ambiente, sendo que cada palheta fina (0,25mL), contém em torno de 2,1 milhões de espermatozoides (DALTON, 2010).

1.5 Importância do Uso da IATF para a Bubalinocultura

De acordo, com o IBGE (2015), a criação de búfalos é uma das principais atividades da economia brasileira em expansão, que conta com um rebanho efetivo de aproximadamente 1,37 milhão de cabeças. A maior parte do setor produtivo, está concentrado na região Norte (66,3%), particularmente no estado do Pará, que é responsável por 38,2% de todo o efetivo brasileiro. Entretanto, a criação deste bovídeo pode ser encontrada em outras regiões do país, como no Sudeste (12,4%), Nordeste (9,5%), Sul (7,5%) e Centro-Oeste (4,3%).

Colabora Bernardes (2007), destacando que mesmo com a dominância da espécie bovina, a espécie bubalina (*Bubalus bubalis*) vem ganhando espaço e preferência em regiões de maior tradição bovina, por ser um animal bastante versátil e excelentes produtores de carne, leite e força motriz.

Nos dias atuais, o uso de biotecnologia reprodutiva está construindo um novo capítulo na produção e reprodução de animais de alto valor zootécnico, principalmente no da IATF em bubalinos, que dependendo do protocolo de tratamento escolhido, permite o aumento na

produtividade durante o ano todo. No entanto, ainda persiste um longo caminho para que essas Biotécnicas se encontrem acessíveis a todos os produtores (Baruselli *et al*., 2009).

1.6 Referências

BRASIL – Ministério do Planejamento, Desenvolvimento e Gestão: Instituto de Geografia e Estatística Brasileiro (IBGE). **Relatório da Produção Pecuária Municipal – 2015**. Rio de Janeiro, 2015. ISSN 0101-4234.

BRASIL – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA): Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). **Criar Búfalos**. EMBRAPA: Brasília, 1988. p. 14-22**.**

ABCB – Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. **Introdução dos Búfalos no Brasil**. Disponível em <http://www.bufalo.com.br/info_criador/historico_bufalos.pdf.> Acesso em 12 de fev. 2017.

ANDRADE, Venício Jose de; GARCIA, Simone. Koprowski. **Padrões Raciais e registros de bubalinos**. CBRA- Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.29, n.1, p. 39-45, 2005.

BARUSELLI, Pietro Sampaio; CARVALHO, Nelcio Antonio Tonizza; JACOMINI, Jose Otavio. **Eficiência no uso da inseminação artificial em búfalos**. CBRA- Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, n.6, p.104-110, 2009.

BARUSELLI, Pietro Sampaio; CARVALHO, Nelcio Antonio Tonizza de. **Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*)**. CBRA- Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 29, n. 1, p. 4-17, 2005.

BASTIANETTO, Eduardo. **Criação de búfalos no Brasil: Situação e Perspectivas**. CBRA- Revista Brasileira Reprodução Animal (suplementar), Belo Horizonte, n.6, p.98-103, 2009.

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

DALTON, Joseph C. **Cuidados no manuseio do sêmen sexado**. ABS América Latina. Disponível em <http://semen.com.br/upload/library/Cuidados_Semen-sexado_PT.pdf>. Acesso em 08 de mar. 2017.

FIGUEIREDO, Jose Ricardo de; MOLENTO, Carla Forte Maiolino. Bioética e Bem estar Animal Aplicados as Biotécnicas Reprodutivas. In: GONCALVES, Paulo Bayard Dias: FIGUEIREDO, Jose Ricardo; FREITAS, Vicente José de Figueirêdo (Orgs). **Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 1. p. 1-16.

GIMENES, Lindsay Unno. **Estudo da divergência folicular e da capacidade ovulatória e Bubalinos (*Bubalus bubalis*) e zebuínos (*Bos indicus*)**. Dissertação de mestrado. USP, São Paulo, 2006. Disponível em http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-25052007-110610/pt-br.php. Acesso em 13 de mar. 2017.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R; ROSNINA, Y. Hormônios, Fatores de crescimento e Reprodução. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7 ed. Barueri: Manole, 2014. p. 33-54.

HÜHN, Sebastiao; Lourenço Jr., José Brito; CARVALHO, Luiz Octavio Danin de Moura; NASCIMENTO, Cristo Nazaré Barbosa do; VIEIRA, Luiz Carlos. Aproveitamento do leite de Búfala em produtos derivados. In: BRASIL/EMBRAPA/CPATU. **1° Simpósio do Trópico úmido: Pastagem e Produção**. [Anais...]. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1984, p. 265-269.

JAINUDEEN, M. R; HAFEZ, E. S. E. Bovinos e bubalinos. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7 ed. Barueri: Manole, 2014. p. 159-171.

KUMAR A.; SOLANKI V. S, JINDAL S.K.; TRIPATHI V. N; JAIN G, C. **Oocyte retrieval and histological studies of folicular population in buffalo ovaries**. Animal Reproduction Science, Philadelphia, v.47, p.189-195, 1997.

LOURENÇO JÚNIOR, Jose de Brito; GARCIA, Alexandre Rossetto. Panorama da bubalinocultura na Amazônia. In: Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia. **Meio ambiente e pecuária**: [anais]. 2008. Belém: FAEPA; Instituto Frutal; SEBRAE-PA.

LOURENÇO, Vanessa Vieira; LOURENÇO JÚNIOR, Jose de Brito; LOURENÇO, Lucia de Fátima Henriques; SOUSA, Consuelo Lucia; DA COSTA, Norton Amador; CARVALHO, Luiz Octávio Danin de Moura; SANTOS, Nubia de Fatima Alves dos Santos. Avaliação microbiológica e sensorial de carne de baby búfalo. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. **Carne: Qualidade e Segurança para os consumidores do Novo Milênio**. [Anais], São Pedro, p. 442-443, 2001.

MONDADORIA, R. G; LUQUE, M. C. A; SANTIN, R; BAO, S. N. **Ultrastructural and morphometric characterization of buffalo (Bubalus bubalis) ovarian preantral follicles**. Animal Reproduction Science, Philadelphia, v. 97, n. 3-4, p. 323-333, 2007.

OHASHI, Otavio Mitio; BARUSELLI, Pietro Sampaio. Biotécnicas da Reprodução Animal aplicadas a Bubalinos. In: GONCALVES, Paulo Bayard Dias: FIGUEIREDO, Jose Ricardo; FREITAS, Vicente José de Figueirêdo (Orgs). **Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 6. p. 105-123.

PORTO FILHO, Roberto Mendes. **Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo**. Tese de Dissertação em pós-graduação em reprodução animal. USP, São Paulo, 102 p, 2004. Disponível em < www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/.../Roberto_Mendes_Porto_Folho.pdf. Acesso em 25 de abr. 2017.

RIBEIRO, Haroldo Francisco Lobato. **Reprodução de bubalinos na região Amazônia**. AMAZONPEC; UFPA, Belém, 19p, 2008.

ROLIM FILHO, Sebastiao Tavares; RIBEIRO, Haroldo Francisco Lobato; VALLE, William Gomes; PICANCO, Nayma da Silva; BARBOSA, Elizabeth Machado; FERREIRA, Rafaela Nunes; SIMOES, André Reale. **Involução uterina, atividade ovariana, primeiro cio pós-parto e distúrbios reprodutivos em Búfalas**. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v.12, n. 2, p. 221-227, 2011.

SARTORI, Roberto; GUARDIEIRO, Monique Mendes. **Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina**. R. Bras. Zootec., São Paulo, v.39, p.422-432, 2010 (supl. especial).

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

VALE, William G.; RIBEIRO, Haroldo F. L. **Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto**. CBRA-Revista Brasileira de Reprod. Animal (Suplementar), Belo Horizonte, v.29, n.6, p. 63-73, 2005.

CAPÍTULO II

Taxa de prenhez em Bubalinos (*Bubalus bubalis)* segundo o diâmetro folicular na Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Carlos Girbran de Lima Silva[1]* Jose Allan Soares de Araújo[2] Tomaz Pina Maia[3] Haruo Takatani[4] Paulo César Goncalves de Azevedo Filho[5]

RESUMO

Na Amazônia a criação de búfalos encontrou um bioma atrativo a criação. Entretanto, os búfalos apresentam problemas com a reprodução natural, impactando na capacidade reprodutiva. Por isso, foi realizado um experimento analisando o processo de reprodução artificial de búfalos desenvolvido em animais pertencentes ao rebanho da Embrapa/PA, utilizando a técnica de IATF, em período desfavorável da reprodução, para contribuir com o melhoramento da capacidade reprodutiva e produtiva deste espécime. Foram usadas 28 fêmeas adultas e multíparas, com idade entre 3 a 6 anos, escore de ECC≥3,5 e peso entre 450 a 550kg, todas em estado de pós-parto (60 dias), tendo recebido o protocolo Ovsynch associado a implante com progesterona (P4): D0-dispositivo intravaginal de progesterona (P4) e 2 mg de Benzoato de Estradiol (RIC-BE®); D9-remoção do dispositivo e 2mL de prostaglandina (Prolise®) e 2mL de eCG (Sincro ECG®); D11-1 mL de hCG (Chorulon®), seguido da IATF 14hs depois; Antes da IATF foi realizado exame ultrassonográfico, observando-se, que ocorreu a média de ovulação de 100% (±100%:28); o maior folículo dominante (FD) encontrado foi de ± 14,00mm e o menor ±9,2mm; Tendo 14 gestado e 14 não, apresentando uma taxa de prenhez de 50% (±50%:28). Tendo resultado satisfatório, visto que 100% das fêmeas sincronizaram a ovulação progressivamente e 50% gestaram. Concluindo que, ocorreu eficiência reprodutiva no uso do protocolo Ovsynch associado a implante de progesterona (P4), sendo importante a continuidade de estudos semelhantes, visando o melhoramento da capacidade reprodutiva e produtiva da espécie.

Palavras-chave. Bovídeo asiático. Inseminação artificial. Eficiência reprodutiva e produtiva.

Bubbles pressure rate (Bubalus bubalis) according to the folicular diameter at IATF

ABSTRACT

In the Amazon, the creation of buffalo found an attractive biome to breed. However, buffalo present problems with natural reproduction, impacting on reproductive capacity. Therefore, an experiment was carried out analyzing the process of artificial reproduction of buffaloes developed in animals belonging to the herd of Embrapa / PA, using the IATF technique, in an unfavorable period of reproduction, to contribute to the improvement of the reproductive and productive capacity of this specimen. Twenty-eight adult and multiparous females, aged 3 to 6 years, ECC score ≥3.5 and weight between 450 and 550kg, all postpartum (60 days) were used, receiving the Ovsynch protocol associated to the implant With progesterone (P4): D0-progesterone intravaginal device (P4) and estradiol benzoate 2 mg (RIC-BE®); D9-removal of the device and 2mL of prostaglandin (Prolise®) and 2mL of eCG (Synchro ECG®); D11-1 mL of hCG (Chorulon®), followed by IATF 14h later; Before the IATF, an ultrasonography examination was performed, observing that the mean ovulation was 100% (± 100%: 28); The largest dominant follicle (FD) found was ± 14.00 mm and the lowest ± 9.2 mm; Having 14 pregnant and 14 not having a pregnancy rate of 50% (± 50%: 28). The results were satisfactory, since 100% of the female's synchronized ovulation progressively and 50% of the females became pregnant. In conclusion, reproductive efficiency occurred in the use of the Ovsynch protocol associated with progesterone implant (P4), and it is important to continue similar studies, aiming at improving the reproductive and productive capacity of the species.

Keywords: Asian bovid. Artificial insemination. Reproductive and productive efficiency.

[1]*Aluno de Graduação de Medicina Veterinária, ESBAM. e-mail: Girbran_pestinha@hotmail.com.

[2] Mestre em Medicina Veterinária em Ruminantes e Equídeo, UFCG e; Professor, orientador e coordenador de curso, ESBAM. E-mail: joseallan@esbam.edu.br.

[3]Graduado em Medicina Veterinária, UFPA e Colaborador Técnico da Reprogen.

[4]Mestrando em Produção Animal, CNPq/Uniniltonlins. Presidente do CRMV/AM.

[5]Mestre em Ciência Animal, UFPR e, Professor e orientador de curso, ESBAM.

INTRODUÇÃO

De acordo com a ABZ (2016), os búfalos são animais de grande eficiência produtiva, que conquista a cada dia um novo número de pecuaristas interessados em investir na criação deste animal. Bastianetto (2005) destaca que, o diferencial na criação deste bovídeo de origem asiática, está nas características naturais da espécie e no amplo mercado para o leite, carne e couro.

Na Amazônia, segundo Lourenço Jr e Garcia (2008), a criação de búfalo encontrou um ambiente propício ao seu desenvolvimento, com imensas terras inundadas que podem ser utilizadas na criação deste animal, contribuindo com a economia da região.

No entanto, a criação deste bovídeo apresenta alguns entraves naturais da espécie, como a estacionalidade reprodutiva, que prejudica o aproveitamento do potencial reprodutivo e produtivo deste animal, por essa razão o uso de Biotécnicas de reprodução artificial torna-se a solução mais viável, porém, esse tratamento requer cuidados na sua administração, bem como, ainda é um recurso de pouca acessibilidade (OHASHI e BARUSELLI, 2014).

Para Ohashi e Baruselli (2014), dentre as biotécnicas de reprodução mais empregadas está a Inseminação Artificial por Tempo Fixo (IATF), cuja principal estratégia é o controle da ovulação em período programado, por meio da sincronização do crescimento folicular (diâmetro folicular) até o momento da ovulação.

Assim como, Baruselli et al. (2009) observa que, os tratamentos de IATF mais empregados em búfalos são o Ovsynch e, o Ovsynch associado a dispositivos intravaginais ou auriculares à base de progesterona ou progestágenos. O primeiro é mais empregado em períodos favoráveis a reprodução e o outro, em períodos não favoráveis a reprodução deste bovídeo, sendo que este último tratamento é o bastante estudado.

Dessa forma, objetivou-se analisar o processo de reprodução artificial de búfalos (*Bubalus bubalis*) desenvolvido em animais pertencentes ao rebanho da Embrapa/PA, utilizando a técnica de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), em período desfavorável da reprodução, a fim de contribuir com o melhoramento da capacidade reprodutiva e produtiva do búfalo.

MATERIAL E METÓDOS

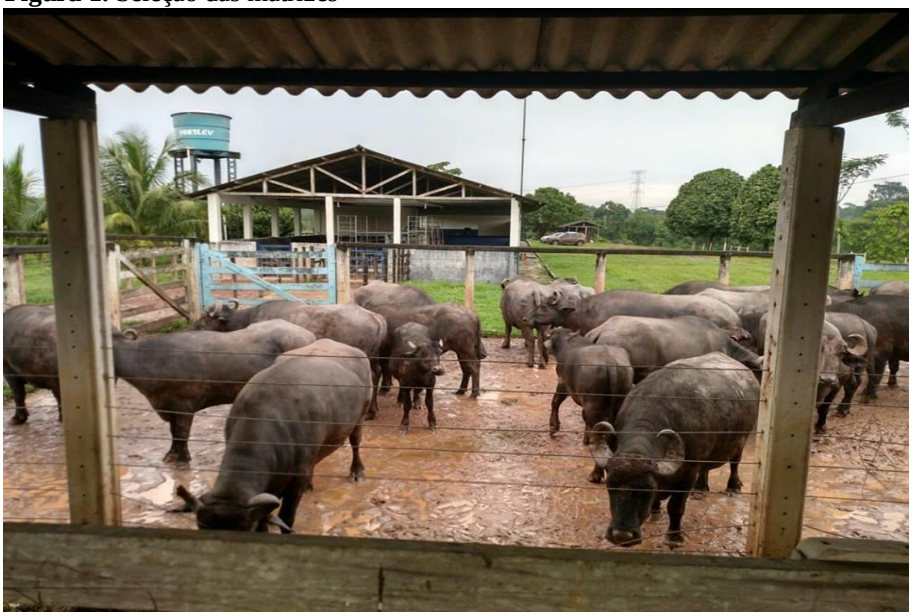
O experimento foi desenvolvido na Embrapa Amazônia Oriental, Unidade de Pesquisa Animal "Senador Álvaro Adolfo", localizada em Belém/PA. A pesquisa ocorreu durante o período de estágio obrigatório, entre os meses de fevereiro a junho/2017, época considerada desfavorável a reprodução da espécie em questão e, contou com a aprovação do Comitê de Ética para o Uso de Animal (CEUA/ESBAM) registrado sob o n° 041/2017 (anexo C).

Neste estudo foram utilizadas vinte e oito fêmeas búfalas das raças Murrah e Mediterrâneo, oriundas da Embrapa Amazônia Oriental, com registro zootécnico, dados de produção, controle de fazenda, sanitário e vacinal, com controle de Brucelose, Febre Aftosa e parasitas diversos.

A escolha das raças está relacionada a opção de controle e aspectos produtivos, tendo todas as búfalas passado por um exame ginecológico para avaliar a presença de cio, avaliação do escore corporal e de possíveis problemas que poderiam prejudicar o processo.

Todas eram adultas e multíparas, de corte e de leite, com idade entre 3 a 6 anos, apresentando bom estado nutricional e escore de ECC≥4,0, conforme apresenta a **Figura 1**, com variação de peso entre 450 a 550kg, que se encontravam de pós-parto de até 60 dias.

Figura 1. Seleção das matrizes



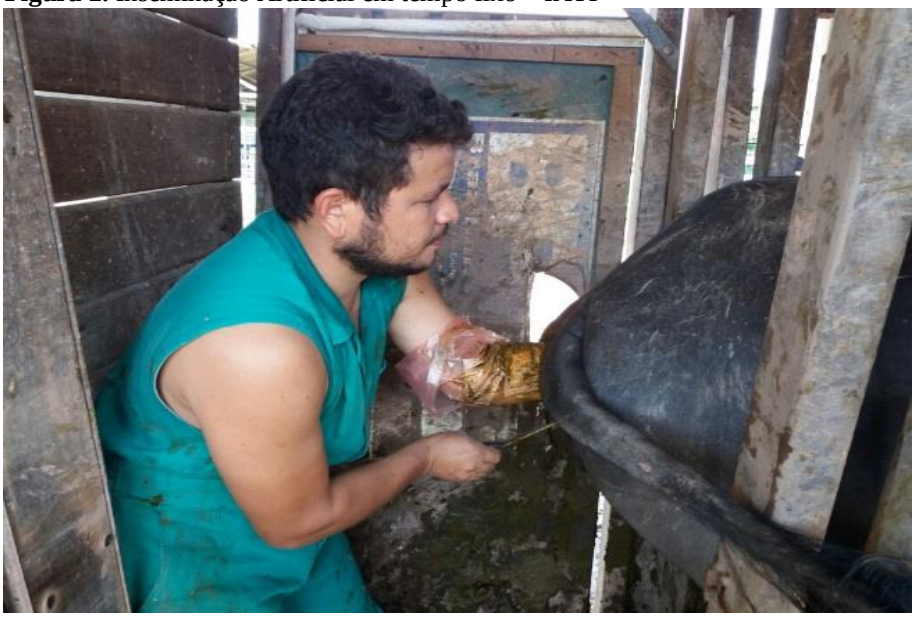
Fonte: Arquivo Pessoal

A alimentação desses animais é constituída por pastagens de braquiarão (*Brachiaria brizantha*) e quicuio-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*). O sistema de alimentação é silvipastoris e pastejo rotacionado intensivo, com suplementação de concentrado, com 18% de PB e 75% de NDT e minerais necessários a suplementação de nutrientes perdidos no pós-parto, direto no cocho.

Todas receberam o mesmo protocolo Ovsynch associado a implante com progesterona (P4), conforme segue: D0-Aplicação de 2 mL de Benzoato de Estradiol (RIC-BE®) e implante de dispositivo intravaginal de progesterona(Sincrogest®), sendo que esses dispositivo nunca tinham sido usado; D9- Retirada de implante e aplicação de 2mL de prostaglandina (Prolise®) e 2mL de Gonadotrofina coriônica equina (Sincro ECG®); D11- Foi aplicado 1 mL de Gonadotrofina coriônica humana (Chorulon®), seguido da inseminação 14hs depois (D12).

Antes da inseminação, foi realizado exame ultrassonográfico, para avaliar a capacidade ovulatória do folículo dominante (diâmetro folicular), seguido da inseminação dentro das 14hs, após aplicação do hCG, conforme **Figura 2**.

Figura 2. Inseminação Artificial em tempo fixo – IATF

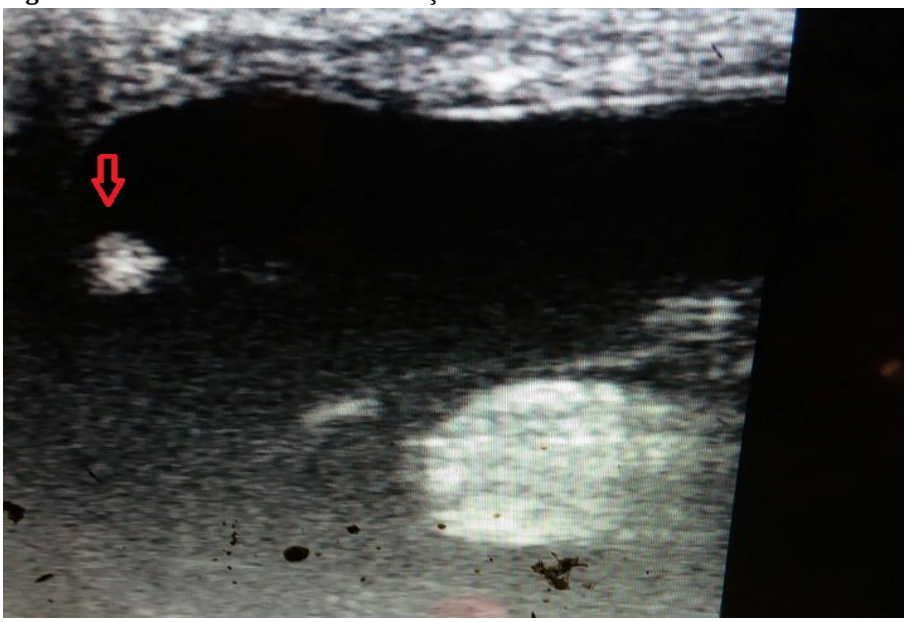


Fonte: Arquivo Pessoal

O Sêmen utilizado era congelado e de boa procedência, tendo sido efetuado o manejo adequado desse material biológico até a inseminação, que inclui o controle da temperatura.

Por último, após trinta dias, foi confirmada a prenhez por meio de ultrassom vaginal, de acordo com **Figura 3**.

Figura 3. Ovulo fecundado – Confirmação de Prenhez

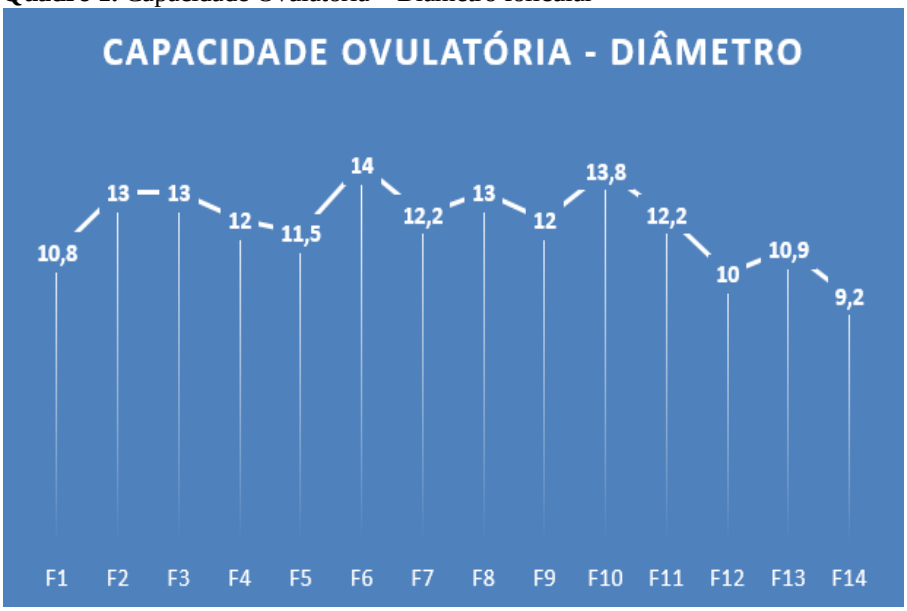


Fonte: Arquivo Pessoal

RESULTADOS

Os animais apresentaram bom estado nutricional e resistiram bem ao experimento. O resultado encontrado no exame ultrassonográfico determinou que 100% (±100%:28) ovularam progressivamente até a IA. O maior folículo dominante (FD) encontrado foi de ± 14,00mm e o menor ±9,2mm, uma taxa média do diâmetro folicular na IATF de ± 11,97mm (±11,97:14), conforme observado na **Quadro 1**.

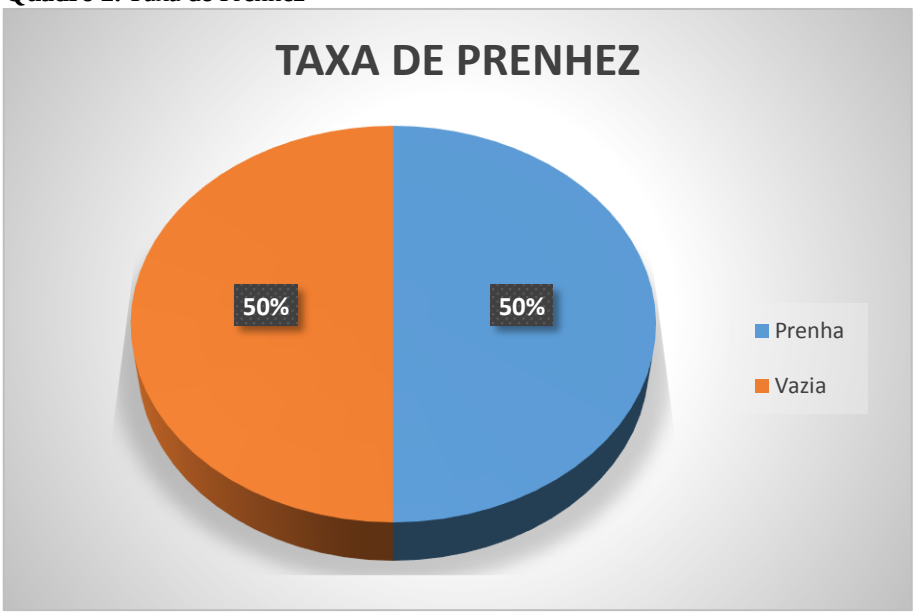
Quadro 1. Capacidade Ovulatória – Diâmetro folicular



Fonte: Arquivo Pessoal

Das vinte e oito fêmeas inseminadas, 14 gestaram e 14 não, sendo aferido uma taxa de prenhez de 50% (±50%:28), de acordo com o **Quadro 2**.

Quadro 2. Taxa de Prenhez



Fonte: Arquivo Pessoal

DISCUSSÃO

O experimento poderia ser considerado exitoso, somente com a taxa de evolução do folículo, pois de acordo com Porto Filho (2003) a taxa de evolução encontrada para esse protocolo é de ±72,7%. Entretanto, devem ser consideradas outras implicações como o fato de 14 búfalas não terem gestado, se no decorrer do experimento ocorreu a evolução progressiva, podendo ter sido ocasionados por causas diversas, entre elas fisiológicas, ambientais ou nutricionais, além de distúrbios reprodutivos (VALE e RIBEIRO, 2005).

A média do diâmetro folicular encontrada em capacidade ovulatória foi de ± 11,97mm, podendo ser considerada uma média relevante. Segundo Gimenes (2006), um folículo dominante alcança a partir de 8,5 mm em sua capacidade ovulatória, podendo ser considerada satisfatório valores aproximados, esclarecendo que a capacidade ovulatória é obtida quanto esse folículo dominante alcança o maior diâmetro, culminando na ovulação, na maioria dos casos.

Se as fêmeas apresentavam bom estado nutricional, com escore de condição corporal de ECC≥3,5, qual a possível situação que ocorreu para que a taxa de prenhez fosse inferior a encontrada por Ohashi e Baruselli (2014) com o mesmo protocolo, em torno de 51,9%, ou maior que o resultado de Porto Filho (2003) de 43,1%. Sugere-se que esses animais estavam acima do peso, conforme Baruselli e Carvalho (2005) descrevem em seus experimentos, animais mais gordos apresentam queda na eficiência reprodutiva. Como, também, fêmeas em pós-parto perdem muitos nutrientes, o que aparentemente não é o caso, mas a perda de minerais pode prejudicar a circulação dos hormônios reprodutivos: folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH) e estrógeno (ROLIM FILHO et al., 2011). Segundo Vale e Ribeiro (2005), muitos distúrbios reprodutivos podem provocar anestro, diminuindo a capacidade ovulatória do animal, podendo estar associados a outros fatores fisiológicos e ambientais. Como, também, destaca Ohashi e Baruselli (2014), que é importante a observação dos aspectos desfavoráveis ao desempenho, como atraso da idade ao primeiro parto, dificuldade na detecção do cio, prolongada perda de libido dos machos, e manejo reprodutivo, todos esses fatores influenciam no processo reprodutivo da fêmea. A importância da nutrição no desempenho reprodutivo, pode afetar direta ou indiretamente os aspectos da fisiologia da fêmea bovina por meio da perda de energia, proteína e gordura presentes na dieta, principalmente no período pós-parto, período que ocorre mais perda do que ganho, interferindo na ciclicidade das vacas (SARTORI e GUARDIEIRO, 2010).

CONCLUSÃO

Pontua-se, ter sido encontrado uma taxa média de diâmetro folicular de ± 11,97, determinando uma taxa de prenhez de 50% em relação ao total de animais experimentados, concluindo que ocorreu eficiência reprodutiva no uso do protocolo

Ovsynch associado a implante com progesterona (P4) em búfalas adultas e multíparas, sendo importante a continuidade de estudos semelhantes, principalmente aqueles que possam estudar novos protocolos e novas substâncias que melhorem a eficiência reprodutiva e produtiva desta espécie.

BIBIOGRAFIA CITADA

ABCB – Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. **Introdução dos Búfalos no Brasil**. Disponível em <http://www.bufalo.com.br/info_criador/historico_bufalos.pdf.> Acesso em 12 de fev. 2017.

BARUSELLI, Pietro Sampaio; CARVALHO, Nelcio Antonio Tonizza; JACOMINI, Jose Otavio. **Eficiência no uso da inseminação artificial em búfalos**. CBRA- Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, n.6, p.104-110, 2009.

BASTIANETTO, Eduardo. **Criação de búfalos no Brasil: Situação e Perspectivas**. CBRA- Revista Brasileira Reprodução Animal (suplementar), Belo Horizonte, n.6, p.98-103, 2009

GIMENES, Lindsay Unno. **Estudo da divergência folicular e da capacidade ovulatória e Bubalinos (*Bubalus bubalis*) e zebuínos (*Bos indicus*)**. Dissertação de mestrado. USP, São Paulo, 2006. Disponível em http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-25052007 -110610/pt-br.php. Acesso em 13 de mar. 2017.

LOURENÇO JÚNIOR, Jose de Brito; GARCIA, Alexandre Rossetto. Panorama da bubalinocultura na Amazônia. In: Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia. **Meio ambiente e pecuária**: [anais]. 2008. Belém: FAEPA; Instituto Frutal; SEBRAE-PA.

OHASHI, Otavio Mitio; BARUSELLI, Pietro Sampaio. Biotécnicas da Reprodução Animal aplicadas a Bubalinos. In: GONCALVES, Paulo Bayard Dias: FIGUEIREDO, Jose Ricardo; FREITAS, Vicente José de Figueirêdo (Orgs). **Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 6. p. 105-123.

PORTO FILHO, Roberto Mendes. **Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo**. Tese de Dissertação em pós-graduação em reprodução animal. USP, São Paulo, 102 p, 2004. Disponível em < www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/.../Roberto_Mendes_Porto_Folho.pdf. Acesso em 25 de abr. 2017.

ROLIM FILHO, Sebastiao Tavares; RIBEIRO, Haroldo Francisco Lobato; VALLE, William Gomes; PICANCO, Nayma da Silva; BARBOSA, Elizabeth Machado; FERREIRA, Rafaela Nunes; SIMOES, André Reale. **Involução uterina, atividade ovariana, primeiro cio pós-parto e distúrbios reprodutivos em Búfalas**. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v.12, n. 2, p. 221-227, 2011.

SARTORI, Roberto; GUARDIEIRO, Monique Mendes. **Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina**. R. Bras. Zootec., São Paulo, v.39, p.422-432, 2010 (supl. especial).

VALE, William G.; RIBEIRO, Haroldo F. L. **Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto**. CBRA-Revista Brasileira de Reprod. Animal (Suplementar), Belo Horizonte, v.29, n.6, p. 63-73, 2005.

ANEXO A

FIGURAS

Figura 1. Seleção das matrizes (Arquivo Pessoal)

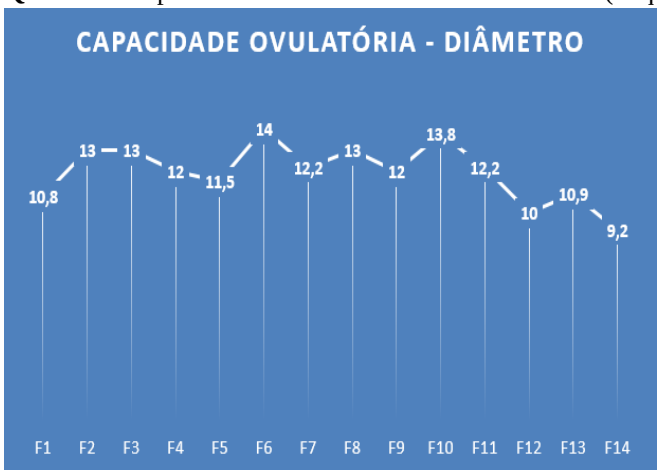
Figura 2. Inseminação Artificial em tempo fixo – IATF (Arquivo Pessoal)

Figura 3. Ovulo fecundado – Confirmação de Prenhez (Arquivo Pessoal)

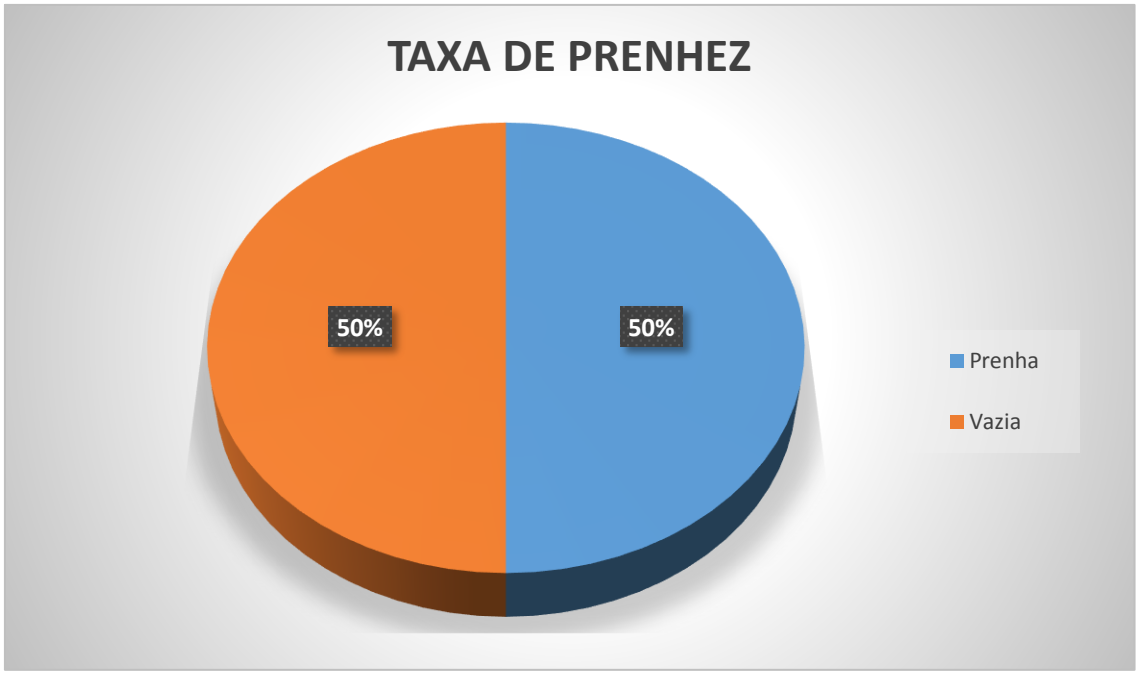
ANEXO B

QUADROS

Quadro 1. Capacidade Ovulatória – Diâmetro folicular (Arquivo Pessoal)



Quadro 2. Taxa de Prenhez (Arquivo Pessoal)



ANEXO C

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS (CEUA/ESBAM)

ESBAM

CEUA

Escola Superior Batista do Amazonas

Certificamos que o projeto intitulado **" TAXA DE PRENHEZ EM BUBALINOS (*Bubalus bubalus*) SEGUNDÓ DIÂMETRO FOLICULAR NA IATF"** protocolo sob o nº 041/2017, sob responsabilidade do (a) Profa. Ma. Vanessa Maria Machado Ale, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "comissão de Ética no uso de animais" da Escola Superior Batista do Amazonas e foi aprovado em reunião de 07/04/2017.

Manaus,06 de junho de 2017

Vanessa Maria Machado Ale

Vanessa Maria Machado Ale

Coordenadora – CEUA – ESBAM

ANEXO D

ACTA AMAZONICA

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ISSN 0044-5967 *versão impressa*

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. Submissões que não estejam de acordo com as normas são devolvidas aos autores.

1. O tamanho máximo de um arquivo individual deve ser 2 MB.

2. O manuscrito deve ser acompanhado de uma carta de submissão indicando que: a) os dados contidos no trabalho são originais e precisos; b) que todos os autores participaram do trabalho de forma substancial e estão preparados para assumir responsabilidade pública pelo seu conteúdo; c) a contribuição apresentada à Revista não foi previamente publicada e nem está em processo de publicação, no todo ou em parte em outro veículo de divulgação. A carta de submissão deve ser carregada no sistema da Acta Amazônica como "documento suplementar".

3. **Os manuscritos devem ser escritos em inglês**. A veracidade das informações contidas numa submissão é de responsabilidade exclusiva dos autores.

4. A extensão máxima para artigos e revisões é de 30 páginas (ou 7500 palavras, excluindo a folha de rosto), dez páginas (2500 palavras) para Notas Científicas e cinco páginas para outros tipos de contribuições.

5. Os manuscritos formatados conforme as Instruções aos Autores são enviados aos editores associados para pré-avaliação. Neste primeiro julgamento são levados em consideração a relevância científica, a inteligibilidade do manuscrito e o escopo no contexto amazônico. Nesta fase, contribuições fora do escopo da Revista ou de pouca relevância científica são rejeitadas. Manuscritos aprovados na pré-avaliação são enviados para revisores (pelo menos dois), especialistas de instituições diferentes daquelas dos autores, para uma análise mais detalhada.

6. A aprovação dos manuscritos está fundamentada no conteúdo científico e na sua apresentação conforme as Normas da Revista.

7. Os manuscritos que necessitam correções são encaminhados aos autores para revisão. A versão corrigida deve ser encaminhada ao Editor, via sistema da Revista, no prazo de DUAS semanas. Uma carta de encaminhamento deve ser também carregada no sistema da Revista, detalhando as correções efetuadas. Nessa carta, recomendações não incorporadas ao manuscrito devem ser explicadas. Todo o processo de avaliação pode ser acompanhado no endereço, http://mc04.manuscriptcentral.com/aa-scielo.

8. Seguir estas instruções para preparar e carregar o manuscrito: a. Folha de rosto (Title page): Esta página deve conter o título, nomes (com último sobrenome em maiúscula), endereços institucionais completos dos autores e endereço eletrônico do autor correspondente. Os nomes das instituições não devem ser abreviados. Usar um asterisco (*) para indicar o autor correspondente.

Carregar este arquivo selecionando a opção: "Title page" b. Corpo do manuscrito (main document). O corpo do manuscrito deve ser organizado da seguinte forma: Título, Resumo, Palavras-Chave, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão,

Conclusões, Agradecimentos, Bibliografia Citada, Legendas de figuras e Tabelas. Além do “main document” em inglês, o manuscrito deve ter “Titulo, Resumo e Palavras-chave” em português ou espanhol .

Carregar este arquivo como "Main document". c. Figuras. São limitadas a sete em artigos. Cada figura deve ser carregada em arquivo separado e estar em formato gráfico (JPG ou TIFF). Deve ser em alta qualidade e com resolução de 300 dpi. Para ilustrações em bitmap, utilizar 600 dpi.

Carregar cada um destes arquivos como "Figure". d. Tabelas. São permitidas até cinco tabelas por artigo. Utilizar espaço simples e a função "tabela" para digitar a tabela. As tabelas devem ser inseridas ao final do corpo do manuscrito (main document), após as legendas das figuras.

9. As Notas Científicas são redigidas separando os tópicos: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões em parágrafos, mas sem incluir os títulos das seções. Os outros tópicos da Nota Científica devem seguir o formato do artigo completo. São permitidas até três figuras e duas tabelas. Carregar as diferentes partes do manuscrito como descrito no Item 8.

10. Nomes dos autores e endereço institucional completo, incluindo endereço electrónico DEVEM ser cadastrados no sistema da Revista no ato da submissão.

11. IMPORTANTE: Os manuscritos não formatados conforme as Normas da Revista NÃO são aceitos para publicação.

FORMATO E ESTILO

12. Os manuscritos devem ser preparados usando editor de texto (e.g. doc ou docx), utilizando fonte "Times New Roman", tamanho 12 pt, espaçamento duplo, com margens de 3 cm. As páginas e as linhas devem ser numeradas de forma continua. Para tabelas ver Item 8d.

13. Título. Justificado à esquerda, com a primeira letra maiúscula. O título deve ser conciso evitando-se o uso de nomes científicos.

14. Resumo. Deve conter até 250 palavras (150 palavras no caso de Notas Científicas). Iniciar o Resumo com uma breve introdução, logo a seguir informar os objetivos de forma clara. De forma sucinta informar a metodologia, os resultados e as conclusões enfatizando aspectos importantes do estudo. O resumo deve ser autossuficiente para a sua compreensão. Os nomes científicos das espécies e demais termos em latim devem ser escritos em itálico. Siglas devem ser evitadas nesta seção; porém, se necessárias, o significado deve ser incluído. Não utilizar referências bibliográficas no resumo.

15. Palavras-chave. Devem ser em número de quatro a cinco. Cada palavra-chave pode conter dois ou mais termos. Porém, não devem ser repetidas palavras utilizadas no título.

16. Introdução. Enfatizar o propósito do trabalho e fornecer, de forma sucinta, o estado do conhecimento sobre o tema em estudo. Especificar claramente os objetivos ou hipóteses a serem testados. Esta seção não deve exceder de 35 linhas. Não incluir resultados ou conclusões e não utilizar subtítulos na Introdução. Encerrar esta seção com os objetivos.

17. Material e Métodos. Esta seção deve ser organizada cronologicamente e explicar os procedimentos realizados, de tal modo que outros pesquisadores possam repetir o estudo.

O procedimento estatístico utilizado deve ser descrito nesta seção. O tipo de análise estatística aplicada aos dados deve ser descrita. Procedimentos-padrão devem ser apenas referenciados. As unidades de medidas e as suas abreviações devem seguir o Sistema Internacional e, quando necessário, deve constar uma lista com as abreviaturas utilizadas. Equipamento específico utilizado no estudo deve ser descrito (modelo, fabricante, cidade e país de fabricação, entre parênteses). Por exemplo: "A fotossíntese foi determinada usando um sistema portátil de trocas gasosas (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA)". Material testemunho (amostra para referência futura) deve ser depositado em uma ou mais coleções científicas e informado no manuscrito. NÃO utilizar sub-subtítulos nesta seção. Utilizar negrito, porém não itálico ou letras maiúsculas para os subtítulos.

18. Aspectos éticos e legais. Para estudos que exigem autorizações especiais (e.g. Comitê de Ética/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, IBAMA, SISBIO, CNPq, CNTBio, INCRA/FUNAI, EIA/RIMA, outros) informar o número do protocolo e a data de aprovação. É responsabilidade dos autores o cumprimento da legislação específica relacionada a estes aspectos.

19. Resultados. Os resultados devem apresentar os dados obtidos com o mínimo julgamento pessoal. Não repetir no texto toda a informação contida em tabelas e figuras. Não apresentar a mesma informação (dados) em tabelas e figuras simultaneamente. Não utilizar sub-subtítulos nesta seção. Algarismos devem estar separados de unidades. Por exemplo, 60 °C e NÃO 60° C, exceto para percentagem (e.g., 5% e NÃO 5 %).

Unidades: Utilizar unidades e símbolos do Sistema Internacional e simbologia exponencial. Por exemplo, cmol kg $^{â€“1}$ em vez de meq/100g; m s$^{â€“1}$ no lugar de m/s. Use espaço no lugar de ponto entre os símbolos: m s$^{â€“1}$ e nãoÂ m.s$^{â€“1}$; use “â€“” e não “-” para indicar número negativo. Por exemplo: â€“2 no lugar de -2. Use kg e não Kg; km no lugar de Km.

20. Discussão. A discussão deve ter como alvo os resultados obtidos. Evitar mera especulação. Entretanto, hipóteses bem fundamentadas podem ser incorporadas. Apenas referências relevantes devem ser incluídas.

21. Conclusões. Esta seção (um parágrafo) deve conter uma interpretação sucinta dos resultados e uma mensagem final que destaque as implicações científicas do trabalho.

22. Agradecimentos devem ser breves e concisos. **Incluir agência(s) de fomento**. NÃO abreviar nomes de instituições.

23. Bibliografia Citada. Pelo menos 70% das referências devem ser artigos de periódicos científicos. As referências devem ser preferencialmente dos últimos 10 anos, evitando-se exceder 40 citações. Esta seção deve ser organizada em ordem alfabética e deve incluir apenas citações mencionadas no manuscrito. Para referencias com mais de dez autores, relacionar os seis primeiros seguido de *et al*. Nesta seção, o título do periódico NÃO deve ser abreviado. Observar os exemplos abaixo:

a) Artigos de periódicos:

Villa Nova, N.A.; Salati, E.; Matsui, E. 1976. Estimativa da evapotranspiração naÂ Bacia Amazônica. *Acta Amazonica,*Â 6: 215-228.

Artigos de periódicos que não seguem o sistema tradicional de paginação:

Ozanne, C.M.P.; Cabral, C.; Shaw, P.J. 2014. Variation in indigenous forest resource use in Central Guyana. *PLoS ONE,* 9: e102952.

b) Dissertações e teses:

Ribeiro, M.C.L.B. 1983. *As migrações dos jaraquis (Pisces: Prochilodontidae) no rio Negro, Amazonas, Brasil*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 192p.

c) Livros: Steel, R.G.D.; Torrie, J.H. 1980. *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach.* 2da ed. McGraw-Hill, New York, 633p.

d) Capítulos de livros:

Absy, M.L. 1993. Mudanças da vegetação e clima da Amazônia durante o Quaternário. In: Ferreira, E.J.G.; Santos, G.M.; Leão, E.L.M.; Oliveira, L.A. (Ed.). *Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia.* v.2. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, p.3-10.

e) Citação de fonte eletrônica:

CPTEC, 1999. Climanalise, 14: 1-2 (www.cptec.inpe.br/products/climanalise). Acesso em 19/05/1999.

f) Citações com mais de dez autores:

Tseng, Y.-H.; Kokkotou, E.; Schulz, T.J.; Huang, T.L.; Winnay, J.N.; Taniguchi, C.M.; *et al.* 2008. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature*, 454:1000-1004.

24. Citações de referencias no texto. As referências devem seguir ordem cronológica. Para duas ou mais referências do mesmo ano citar conforme a ordem alfabética. Exemplos:

a)Um autor:

Pereira (1995) ou (Pereira 1995).

b) Dois autores:

Oliveira e Souza (2003) ou (Oliveira e Souza 2003).

c) Três ou mais autores:

Rezende *et al*. (2002) ou (Rezende *et al*. 2002).

d) Citações de anos diferentes (ordem cronológica): Silva (1991), Castro (1998) e Alves (2010) ou (Silva 1991; Castro 1998; Alves 2010).

e) Citações no mesmo ano (ordem alfabética):

Ferreira *et al*. (2001) e Fonseca *et al*. (2001); ou (Ferreira *et al*. 2001; Fonseca *et al*. 2001).

28. Citação de figuras no texto. As figuras devem ser citadas com letra inicial maiúscula,

FIGURAS

25. Fotografias, desenhos e gráficos devem ser de alta resolução, em preto e branco com alto contraste, numerados sequencialmente em algarismos arábicos. NÃO usar tonalidades de cinza em gráficos de dispersão (linhas ou símbolos) ou gráficos de barra. Em gráfico de dispersão usar símbolos abertos ou sólidos (círculos, quadrados, triângulos, ou losangos) e linhas em preto (contínuas, pontilhadas ou tracejadas). Para gráfico de barra, usar barras pretas, bordas pretas, barras listradas ou pontilhadas. Na borda da área de plotagem utilizar uma linha contínua e fina, porém NÃO usar uma linha de borda na área do gráfico. Em figuras compostas cada uma das imagens individuais deve ser identificada com uma letra maiúscula posicionada no canto superior direito, dentro da área de plotagem.

26. Evitar legendas desnecessárias na área de plotagem. Nos títulos dos eixos ou na área de plotagem NÃO usar letras muito pequenas (< tamanho 10 pt). Nos eixos usar marcas de escala internas. NÃO usar linhas de grade horizontais ou verticais, exceto em mapas ou ilustrações similares. O significado das siglas utilizadas deve ser descrito na legenda da figura. Cada eixo do gráfico deve ter o seu título e a unidade. Evitar muitas subdivisões nos eixos (cinco a seis seriam suficientes). Em mapas incluir escala e pelo menos um ponto cardeal.

27. As figuras devem ser elaboradas de forma compatível com as dimensões da Revista, ou seja, largura de uma coluna (8 cm) ou de uma página 17 cm e permitir espaço para a legenda. As ilustrações podem ser redimensionadas durante o processo de produção para adequação ao espaço da Revista. Na figura, quando for o caso, a escala deve ser indicada por uma barra (horizontal) e, se necessário, referenciadas na legenda da figura. Por exemplo, barra = 1 mm.

na forma direta ou indireta (entre parêntesis). Por exemplo: Figura 1 ou (Figura 1). Na legenda, a figura deve ser numerada seguida de ponto antes do título. Por exemplo: "Figura 1. Análise...". Definir na legenda o significado de símbolos e siglas usados. Figuras devem ser autoexplicativas.

29. Figuras de outras autorias. Para figuras de outras autorias ou publicadas anteriormente, os autores devem informar explicitamente no manuscrito que a permissão para reprodução foi concedida. Carregar no sistema da Revista (não para revisão), como documento suplementar, o comprovante outorgado pelo detentor dos direitos autorais.

30. Adicionalmente às figuras inseridas no sistema em formato TIFF ou JPG, os gráficos preparados usando Excel ou SigmaPlot podem ser carregados como arquivos suplementares (selecionando a opção Not for review).

31. Ilustrações coloridas. Fotografias e outras ilustrações devem ser preferencialmente em preto e branco. Ilustrações coloridas são aceitas, mas o custo de impressão é por conta dos autores. Sem custo para os autores, podem ser usadas ilustrações em preto e branco na versão impressa e coloridas na versão eletrônica. Nesse caso, isso deve ser informado na legenda da figura. Por exemplo, adicionando a sentença: " this figure is in color in theelectronicversion". Esta última informação é para os leitores da versão impressa.

Os autores podem ser convidados a enviar uma fotografia colorida, para ilustrar a capa da Revista. Nesse caso, não há custos para os autores.

TABELAS

32. As tabelas devem ser organizadas e numeradas sequencialmente com algarismos arábicos. A numeração e o título (legenda) devem estar em posição superior à tabela. A tabela pode ter notas de rodapé. O significado das siglas e dos símbolos utilizados na tabela (cabeçalhos, etc.) devem ser descritos no título. Usar linhas horizontais acima e abaixo da tabela e para separar o cabeçalho do corpo da tabela. Não usar linhas verticais.

33. As tabelas devem ser elaboradas em editor de texto (e.g. doc ou docx) e não devem ser inseridas no texto como imagem (e.g. no formato JPG).

34. A citação das tabelas no texto pode ser na forma direta ou indireta (entre parêntesis), por extenso, com a letra inicial maiúscula. Por exemplo: Tabela 1 ou (Tabela 1). Na legenda, a tabela deve ser numerada seguida de ponto antes do título: Por exemplo: "Tabela 1. Análise...". Tabelas dever ser autoexplicativas.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

1. A Acta Amazônica pode efetuar alterações de formatação e correções gramaticais no manuscrito para ajustá-lo ao padrão editorial e linguístico. As provas finais são enviadas aos autores para a verificação. Nesta fase, apenas os erros tipográficos e ortográficos podem ser corrigidos. Nessa etapa, NENHUMA alteração de conteúdo pode ser feita no manuscrito. Se isso for necessário o manuscrito deve retornar ao processo de avaliação.

2. A Acta Amazônica não cobra taxas para publicação.Além disso, não há pagamento de taxa para submissão e avaliação de manuscritos. Informações adicionais podem ser obtidas por e-mail acta@inpa.gov.br. Para informações sobre um determinado manuscrito, deve-se fornecer o número de submissão.

3. As assinaturas da Acta Amazônica (versão impressa) podem ser pagas com cheque ou vale postal. Para o exterior, a assinatura institucional custa US$ 100,00 e a assinatura individual US$ 75,00. Para contato: acta@inpa.gov.br. Tel.: (55 92) 3643-3643 ou fax: (55 92) 3643-3029.

Av. André Araujo, 2936 Aleixo
CEP 69011-970 Manaus AM Brasil
Caixa Postal 478
Tel.: +55 92 3642-3438
Fax: +55 92 3643-3223

e-Mail