



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

LOUISE CARNEIRO DE CARVALHO

**EFEITO DO INTERVALO DE TEMPO ENTRE A INDUÇÃO DA PUBERDADE E A IATF EM
BÚFALAS PRÉ-PÚBERES**

BELÉM - PA

2019

LOUISE CARNEIRO DE CARVALHO

**EFEITO DO INTERVALO DE TEMPO ENTRE A INDUÇÃO DA PUBERDADE E A IATF EM
BÚFALAS PRÉ-PÚBERES.**

Monografia apresentada ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Moura Monteiro

BELÉM – PA
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C331e Carvalho, Louise Carneiro de
 Efeito do intervalo de tempo entre a indução de puberdade e a IATF em búfalas pré-púberes / Louise
Carneiro de Carvalho. - 2019.
 45 f.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Campus Universitário de
Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019.
 Orientação: Prof. Dr. Bruno Moura Monteiro
1. Novilhas. 2. Indução de puberdade. 3. IATF. I. Monteiro, Bruno Moura, *orient.* II. Título

CDD 599.642

LOUISE CARNEIRO DE CARVALHO

**EFEITO DO INTERVALO DE TEMPO ENTRE A INDUÇÃO DE PUBERDADE
E A IATF EM BÚFALAS PRÉ-PÚBERES.**

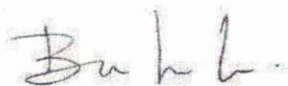
Monografia apresentada ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal
Rural da Amazônia para a obtenção do título de bacharel em medicina veterinária

Área de concentração: Reprodução Animal

21 de junho de 2019

Data da Aprovação

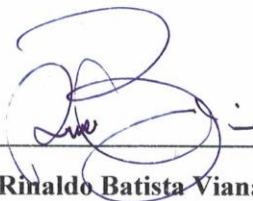
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Bruno Moura Monteiro



Prof. Dr. Moysés dos Santos Miranda



Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana

*Ao meu avô **Alcides Carneiro** (In Memoriam) por me dar a oportunidade de ter
convivido com um ser de tanta fé e luz aqui na terra, e mesmo depois da sua
ausência física, em momento algum estive só.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Se existe algo para agradecer neste momento, seria a chance de sempre encontrar em meu caminho, pessoas boas e dispostas à ajudar ao próximo... Obrigada **Deus** por sua imensa bondade!

Aos meus pais, **Luiz Otávio Wanzeller de Carvalho** e **Sebastiana Carneiro de Carvalho** por sempre retirarem as pedras do meu caminho, por me apoiarem e tornarem este sonho possível, serei eternamente grata!

Ao meu companheiro desta jornada chamada vida: **Vinícius Nascimento**, sem você este trabalho não seria possível! Obrigada por ser meu exemplo de profissional e também por todos os ensinamentos nestes anos, certamente esta vitória é sua também!

Ao **Prof. Dr. Bruno Moura Monteiro** pela orientação e por ser sempre tão solícito em compartilhar seu conhecimento comigo.

Aos M.V. **Elivelton Souza** e **Diego Dubeibe** pela disponibilidade em ajudar neste trabalho.

Ao amigo **Iago Rodrigues** por nunca me deixar na mão e me ajudar com as planilhas rs.

Agradeço à toda equipe da **Empresa Bubras** e **Fazenda Alta Floresta** pelo apoio na realização deste experimento, em especial ao **Sr. Nestore Guarino Mejias** por disponibilizar sua fazenda e animais para a realização deste experimento, além de me dar a minha primeira oportunidade profissional, significa muito para mim!

As minhas amigas **Rafaela Sena**, **Ynaê Diniz**, **Mayra Abreu** e **Josye Bianca** por estarem comigo do início ao fim da graduação.

E a todos os **meus amigos** que estiveram junto comigo nestes 5 anos de UFRA.

Aos **meus mestres**, que sempre se doaram exercendo a docência contribuindo para a formação de excelentes profissionais!

E por fim agradeço **à vida** que sempre me brindou com alegria, momentos bons e vontade de fazer o melhor!!

QUE BELA AVENTURA!

RESUMO

Diferentes protocolos de indução de puberdade já foram avaliados, principalmente com o uso de progesterona na espécie bovina. Este trabalho buscou avaliar a eficiência de um protocolo de indução de puberdade na espécie bubalina sobre a prenhez após a IATF, e qual melhor intervalo entre a indução e o início do protocolo de IATF. No início do protocolo de indução de puberdade, as novilhas receberam um implante intravaginal liberador de progesterona (P4) de 4º uso. Este implante permaneceu no animal por 10 dias. Após 10 dias do início do protocolo de indução, o implante foi retirado e nos animais que estavam acíclicos foi administrado 0,5 mg de cipionato de estradiol. Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais quanto ao momento de receber o protocolo de indução da puberdade: grupo Indução45 – recebeu o protocolo de indução de puberdade no Dia -55, com fim do protocolo de indução no Dia -45 e o início do protocolo de IATF no Dia 0; o grupo Indução12 - recebeu o protocolo de indução de puberdade no Dia -22, com o fim do protocolo de indução no Dia -12 e o início do protocolo de IATF no Dia 0; grupo Controle - não recebeu protocolo de indução de puberdade, somente o protocolo de IATF com início do Dia 0. Os animais de todos os grupos foram mantidos no mesmo lote de manejo e começaram o protocolo de IATF no mesmo momento (Dia 0). No início do protocolo de sincronização da ovulação (Dia 0), às 16h:00min, as novilhas receberam um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (P4) e 2,0 mg IM de benzoato de estradiol (BE). No Dia 9, às 16h:00min, os implantes intravaginais foram removidos e se administrou 25 mg IM de dinoprost (PGF2 α) e 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG). No Dia 11, às 16h:00min, as novilhas receberam 10 μ g IM de GnRH. Os animais foram inseminados 16 horas após a aplicação de GnRH, a partir das 08h:00min. Após 30 dias da IATF foi realizado o diagnóstico de gestação através de ultrassonografia, a taxa de prenhez do grupo Indução45 foi de 42,2%, grupo Indução12 foi de 44,2% e o grupo Controle obteve uma taxa de prenhez de 21,8%. Concluiu-se que os protocolos de indução de puberdade em novilhas búfalas pré-púberes aumenta a prenhez após a IATF, e que o intervalo de 12 dias entre o fim da indução e o início do protocolo de IATF pode ser preconizado, por apresentar semelhante P/IA que o intervalo de 45 dias, além de ser mais curto.

PALAVRAS-CHAVE: Novilhas, indução de puberdade, IATF.

ABSTRACT

Different protocols of puberty induction have already been evaluated, mainly with the use of progesterone in bovine specie. This work aimed to evaluate the efficiency of a puberty induction protocol in the buffalo species on pregnancy after TAI, and what better interval between the induction and the initiation of the timed artificial insemination (TAI) protocol. At the beginning of the puberty induction protocol, heifers received a 4-use progesterone-releasing intravaginal (P4) implant. This implant remained in the animal for 10 days. After 10 days of initiation of the induction protocol, the implant was withdrawn and 0.5 mg of estradiol cypionate was given to animals that were acyclic. The animals were divided into three experimental groups regarding the time to receive the puberty induction protocol: Induction group₄₅ - received the puberty induction protocol at Day -55, with end of the induction protocol at Day -45 and the beginning of the protocol of TAI on Day 0; the Induction₁₂ group - received the puberty induction protocol at Day -22, with the end of the induction protocol at Day -12 and the start of the IATF protocol at Day 0; Control group - did not receive puberty induction protocol, only the IATF protocol with start of Day 0. Animals of all groups were kept in the same management lot and started the IATF protocol at the same time (Day 0). At the beginning of the ovulation synchronization protocol (Day 0) at 4:00 p.m., heifers received a progesterone-releasing intravaginal device (P4) and 2.0 mg estradiol benzoate (BE) IM. On Day 9, at 4:00 p.m., intravaginal implants were removed and 25 mg IM of dinoprost (PGF₂ α) and 400 IU of equine chorionic gonadotrophin (eCG) were administered. On Day 11, at 4:00 p.m., heifers received 10 μ g IM of GnRH. The animals were inseminated 16 hours after the application of GnRH, from 08h00min. After 30 days of IATF, the diagnosis of gestation was performed by ultrasonography, the pregnancy per AI (P/AI) of the Induction group₄₅ was 42.2%, the Induction group₁₂ was 44.2%, and the Control group had a pregnancy rate of 21.8 %. It was concluded that the puberty induction protocols in prepubertal buffalo heifers increase pregnancy after TAI, and that the 12-day interval between the end of induction and the beginning of the TAI protocol can be recommended because it presents similar P/IA than the 45-day interval, in addition to being shorter.

KEY WORDS: Heifers, puberty induction, TAI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Protocolo experimental para indução de puberdade em novilhas búfalas com 45 dias de intervalo até o protocolo de IATF.....	25
Figura 2 - :Protocolo experimental para indução de puberdade em novilhas búfalas com 12 dias de intervalo até o protocolo de IATF.....	25
Figura 3: Protocolo experimental de sincronização da ovulação para a IATF.....	26
Figura 4 Taxa de prenhez por inseminação (P/IA) dos grupos submetidos à IATF.....	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS	12
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1. FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA BÚFALA.....	13
3.2 . PUBERDADE.....	16
3.3. INDUÇÃO DE PUBERDADE	17
3.4. IATF DE NOVILHAS BÚFALAS	19
3.5. IATF EM BÚFALAS.....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1. LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	22
4.2. ANIMAIS.....	22
4.3. CARACTERÍSTICAS AVALIADAS.....	23
4.4. PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE PUBERDADE.....	23
4.5. PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO PARA IATF	25
4.6. TAXA DE PREENHEZ POR INSEMINAÇÃO (P/IA).....	25
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos (ABCB, 2005), a produção de búfalos apresenta inúmeras vantagens sobre a bovina, em especial em termos da qualidade da carne (OLIVEIRA, 2005) e composição do leite (TONHATI et al., 1996). Apesar do diferencial de mercado, a produtividade da bubalinocultura ainda fica abaixo do seu potencial. Os baixos índices produtivos são resultados de uma série de falhas no sistema de criação, entre eles deficiências na sanidade, no sistema de pastejo e nas deficiências nos programas reprodutivos e de melhoramento genético. Segundo (EUCLIDES FILHO et. al., 2000), o monitoramento do progresso genético deve ser uma preocupação para toda e qualquer raça e espécie, e para isto é imprescindível conhecer o tamanho do efetivo, o intervalo de gerações, e a variabilidade genética do rebanho.

A idade ao primeiro parto é um fator determinante na produtividade de um rebanho, sendo a idade à puberdade fator fundamental no sucesso reprodutivo da fêmea em sua primeira estação reprodutiva (DAY ; ANDERSON, 1998). A redução da idade ao primeiro parto proporciona incrementos nos índices de desfrute do rebanho, demonstrando a importância da utilização de fêmeas sexualmente mais precoces para a atividade pecuária ter maior eficiência e rentabilidade (PATTERSON, et. al., 1992; FRIES & ALBUQUERQUE, 1999).

O início da vida reprodutiva na espécie bubalina, ou puberdade, é comumente mais tardia em comparação com o gado bovino (JAINUDEEN; HAFEZ, 2016). Existe grande variação com relação ao momento em que a fêmea bubalina atinge a puberdade, o que pode ser atribuído a aspectos ligados ao manejo, alimentação e seleção genética, entre outros. Variações entre 10 a 36 meses são citadas na literatura (VALE; RIBEIRO, 2005).

É importante realizar manejos que potencializem o desenvolvimento endócrino do animal, para que ocorra a primeira ovulação e a possibilidade desse animal engravidar precocemente, reduzindo assim o período de recria. Novilhas com idade avançada à puberdade permanecem na fazenda ocupando áreas de pastagens que poderiam ser destinadas a outras categorias (ELER et al., 2010).

. A puberdade tardia é um dos principais fatores que contribuem para as perdas econômicas. A má nutrição provoca ciclos estrais anormais, reduzindo a taxa de concepção e reduzindo o peso ao nascimento, em contra partida, estratégias de manejo que antecipem o estro

ovulatório em novilhas pré-púberes irão melhorar taxas reprodutivas e acelerar o progresso genético (BORGHESE; TERZANO; MAZZI, 2011).

A simulação das alterações hormonais que ocorrem em torno da puberdade pode induzir a maturidade sexual em novilhas pré-púberes. Alguns experimentos já foram realizados para induzir e sincronizar o estro em novilhas búfalas (GHUMAN et al., 2008; PERERA, 2011), embora em muito menor quantidade do que em bovinos. A identificação de animais mais precoces, natural ou artificialmente, sendo criados e manejados com foco na precocidade trariam maior lucratividade para os produtores de leite e derivados ou os de carne. A melhora na eficiência reprodutiva do rebanho aumenta a quantidade de bezerros produzidos, assim como o número de lactações durante a vida produtiva, e tudo isso em um menor período de tempo e com o mesmo capital investido em estrutura e mão-de-obra.

Para a escolha dos protocolos que foram utilizados na indução de puberdade deste estudo, nos baseamos em um estudo anteriormente realizado em bovinos por Rodrigues, A.D.P., 2014, que constatou a eficiência do intervalo de 12 dias entre a indução de puberdade e a IATF, e comparamos com um outro protocolo mais longo, optamos por 45 dias de intervalo, pois dessa maneira haveria um intervalo de dois ciclos na novilha caso a indução funcionasse, e conseqüentemente maior contato com a progesterona, além de um grupo controle, e comparamos qual o mais eficiente.

2. OBJETIVOS

2.1.1 OBJETIVO GERAL

Determinar os efeitos do protocolo de indução de puberdade preconizado para bovinos sobre a prenhez por inseminação (P/IA) de novilhas búfalas pré-púberes após um protocolo de IATF.

2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a P/IA das fêmeas que receberam ou não um protocolo de indução da puberdade antes da IATF;
- Comparar a P/IA das fêmeas que tiveram um intervalo de 45 ou 12 dias entre o fim do protocolo de indução da puberdade e o início do protocolo de IATF;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FISIOLÓGIA REPRODUTIVA DA BÚFALA

As búfalas são consideradas poliétricas contínuas em regiões próximas a linha do Equador, onde as variações de luminosidade não são tão intensas durante o ano inteiro, não sofrendo influência do fotoperíodo, ciclando assim durante todo o ano. Na medida em que os animais se afastam da linha do Equador, tanto para o norte quanto para o sul, a reprodução é influenciada positivamente pela redução das horas de luz no dia, portanto é considerada poliétrica estacional de dia curto (PHOGAT et al., 2016), com sua estação de monta condensada entre os meses de março a julho na região sudeste do Brasil (CARVALHO; SOARES; BARUSELLI, 2016).

Em Cuba, as búfalas do rio apresentam forte estacionalidade reprodutiva, com 80,31% dos partos ocorrendo entre os meses de junho a setembro (CAMPO, et al., 2005), com concepções entre agosto a novembro. Na Turquia, a concentração de partos se dá entre os meses de agosto a outubro (SOYSAL et al., 2005) e, portanto, as concepções ocorrem de outubro a dezembro. Na região norte da Índia, as taxas de concepção são maiores entre outubro e janeiro, fazendo com que a maioria dos partos ocorra entre agosto e novembro, enquanto no sul daquele país as concepções são favorecidas entre os meses de outubro a abril, com concentração de partos de agosto a fevereiro (GANGWAR, 1985). No Brasil, os animais criados na região do Vale do Ribeira, no município de Registro-SP (24°30'07" de Latitude Sul e 47°50'54" de Longitude Oeste), apresentam concentração de parições entre os meses de fevereiro a abril (BARUSELLI, 1993), demonstrando que a maioria das concepções ocorre entre abril e junho, época em que a luminosidade diária no Estado de São Paulo vai se tornando cada vez mais restrita, com períodos de escuro mais longos. Já no nordeste brasileiro, no município de Paracuru, Estado do Ceará, (3°45'59" de Latitude Sul e 39°14'36" de Longitude Oeste), a maior concentração de partos ocorre no primeiro semestre do ano, com 79,3% dos eventos concentrados entre janeiro e junho, época de maior pluviosidade local (SAMPAIO NETO et al., 2001). As concepções se dão, portanto, sob condições locais, nos meses de março a agosto. A

sazonalidade dos partos confirma que fatores ambientais locais influenciam fortemente a concepção em búfalas. (GARCIA, 2006)

Esta estacionalidade é influenciada pela ação do hormônio melatonina, cuja concentração sanguínea encontra-se elevada nas estações do ano com baixa luminosidade (ZICARELLI, 1994). Este fato tem levado vários pesquisadores a desenvolverem programas de seleção de animais que não são afetados na sua atividade reprodutiva pela estação do ano, ou através de protocolo baseado em estimulação hormonal para “desestacionalizar” a reprodução desses animais (BARUSELLI, 2000; OHASHI; BARUSELLI, 2008). Na Amazônia, bem como em outras regiões onde não ocorre a diferença de luminosidade é frequente a observação da concentração de partos em determinadas épocas do ano. Entretanto, nestes casos a “reprodução estacional” não é um processo fisiológico como nas regiões onde ocorre a diferença da luminosidade, mas um problema reprodutivo em função da disponibilidade (estação chuvosa) ou carência de alimento (estação seca), favorecendo, respectivamente, a atividade reprodutiva ou o anestro (ovário afuncional). (OHASHI, et. al., 2012)

A população ovariana das búfalas no nascimento (folículos primordiais) é de 12.000 - 20.000 e o desenvolvimento dos folículos ovarianos é caracterizado pela ocorrência de ondas foliculares, na maioria das vezes de duas ondas por ciclo estral, todavia, pode ocorrer apenas uma ou três (CAMPANILE et al., 2010). O ciclo estral da fêmea bubalina apresenta quatro fases distintas (pró-estro, estro, metaestro e diestro), com intervalos médios de 21 dias (intervalo 16 - 33 dias) e duração média de estro de 18 h (intervalo 5-36 h), concentrados na maioria das vezes à noite, visto a temperatura ser mais amena durante esse período (PERERA, 2011). Da mesma forma, estudo de BARUSELLI et. al. (1997) demonstrou que a dinâmica folicular na espécie bubalina é semelhante à bovina.

LUCY et.al., (1992) definem a dinâmica folicular como o processo de crescimento e regressão de um conjunto de folículos antrais, um destes se desenvolve até atingir a fase de folículo pré-ovulatório e ovular para formar um corpo lúteo, após a ovulação, a cada onda folicular surge um folículo dominante, o qual impede o crescimento de folículos subordinados menores. Os folículos dominantes ao crescerem e atingirem seu diâmetro máximo não ovulam e dão início ao processo de regressão, tornando possível o crescimento de uma nova onda. Durante a última onda de crescimento folicular o folículo que se desenvolve é o ovulatório (PRADO, C. 2004).

Após a ovulação (dia 0), tem início a primeira onda folicular ovariana. A segunda surge no dia 10 e para os animais com 3 ondas por ciclo, a primeira onda ocorre também no dia 0, a segunda no dia 9 e a terceira no dia 16 do ciclo, sendo assim, a variação de dias no ciclo estral pode estar relacionado com a quantidade de ondas foliculares o animal apresentou do determinado ciclo (GIMENES et al., 2011).

O corpo lúteo é a estrutura responsável pela duração e regularidade dos ciclos estrais, pelo controle da ocorrência de ovulações e pela manutenção da gestação. Segundo VIANA et. al. (1999), este se desenvolve após a ruptura do folículo ovariano, auxiliado pela força de contração das células musculares lisas da camada da teca (MOTTA et. al. 1994). Após essa ruptura, o corpo lúteo é chamado de corpo hemorrágico que se forma a partir de uma cavidade central preenchida por fluidos de hemácias e coágulos (EL-SHEIKH, et.al., 1967).

Se não houver fertilização, ocorrerá a regressão do corpo lúteo, permitindo a maturação de outros folículos ovarianos. À medida que ocorre degeneração celular, o órgão diminui de tamanho, torna-se branco ou castanho claro, e passa a se chamar *corpo albicans* (PRADO, C. 2004). Na fase de regressão em fêmeas bubalinas, o peso do corpo lúteo diminui um terço e o peso do *corpo albicans* equivale a um quarto do corpo lúteo maduro (EL-SHEIKH, et.al., 1967).

No período médio do ciclo estral, os folículos secretam estradiol que estimula a síntese de receptores de ocitocina no endométrio, o corpo lúteo secreta ocitocina que age sobre as células glandulares do endométrio e estimula a secreção de $\text{PGF2}\alpha$. Dessa forma segue-se a regressão do corpo lúteo com a subsequente queda dos níveis plasmáticos de progesterona. Ocorre a ovulação do folículo pré-ovulatório e se inicia um novo ciclo estral (BAZER, et al. 1994).

O comportamento da fêmea ao cio também é bem peculiar, sendo observados sinais clínicos de estro, tais como: micção, vocalização, inchaço vulvar e descarga de muco, manifestados de forma muito discreta e pouco pronunciada, havendo a necessidade do uso de rufião com buçal marcador, juntamente com a frequente observação visual para detectá-lo, sendo que um dos sinais mais seguros para detecção de estros é a aceitação de monta pelo rufião (SUTHAR; DHAMI, 2010).

Segundo VALE et al. (1984), a frequência do aparecimento de cio em búfalas está diretamente relacionada com a hora do dia, nas regiões tropicais úmidas ou mesmo em outras regiões de clima mais ameno, durante o verão, sob temperaturas elevadas, a fêmea bubalina tem tendência em apresentar sinais de estro à noite, quando a temperatura está mais amena.

3.2 PUBERDADE

A puberdade na fêmea pode ser definida como o período em que se estabelece a primeira ovulação, com a formação de um corpo lúteo de vida normal (VALE; RIBEIRO, 2005). Dessa forma este evento tem sido classificado como o primeiro período de estro, seguido por ovulação ou início da ciclicidade reprodutiva. (WILTBANK, KASSON, INGALLS, 1969). A puberdade depende de vários fatores, entre eles podemos citar o fator genético, a sanidade do rebanho, nutrição e escore de condição corporal, idade e peso.

A puberdade não está associada com o desenvolvimento anatômico completo do corpo, mas é expresso sempre que o funcionamento fisiológico de algumas glândulas endócrinas se torna completo, juntamente com o alcance mínimo do desenvolvimento estrutural do trato reprodutivo feminino (VALE, 1994; VALE et al., 1990).

Após o nascimento das bezerras, as concentrações séricas do hormônio luteinizante (LH) diminuem. A partir da 10ª semana de vida, observa-se um aumento gradativo na secreção de LH, se estendendo até a 22ª semana, quando ocorre decréscimo na secreção de LH caracterizando uma segunda fase de contenção da atividade gonadal (EVANS, et.al. 1992). Ao final deste período há um aumento na produção de GnRH assim como um aumento da resposta hipofisária, essa liberação de gonadotrofinas estimula o desenvolvimento das gônadas, fato este que aumenta as concentrações circulantes de estradiol. A aquisição da capacidade reprodutiva ocorre após a diminuição do efeito do feed-back negativo ao estradiol, com uma subsequente liberação de teores suficientes de LH, capazes de estimular um maior desenvolvimento folicular e ocasionar a primeira ovulação, em novilhas esses eventos ocorrem no período peripuberal (DAY; ANDERSON, 1998)

Em novilhas bubalinas o início da puberdade pode ser considerado quando os níveis plasmáticos de progesterona atingem valores superiores a 1,5 ng/mL em dois ciclos estrais consecutivos (TERZANO; BARILE; BORGHESE, 2012).

As búfalas geralmente alcançam a puberdade quando atingem aproximadamente 60% do peso adulto das fêmeas do rebanho (250 a 400 kg), mas a idade na qual ocorre o desencadeamento da puberdade pode ser altamente variável podendo ocorrer entre os 18 a 46 meses (DROST, 2007).

Existe grande variação com relação ao momento em que a fêmea bubalina atinge a puberdade, os aspectos ligados ao manejo e alimentação devem ser observados e também o fato de existirem variações entre Búfalos da Água (Murrah, Mediterrâneo e Jafarabadi) e do Pântano (Carabao), sendo este último mais tardio (VALE; RIBEIRO, 2005).

O principal fator que influencia a idade da puberdade (após a genética e a exposição ao touro) é o nível nutricional (BORGHESE et al., 1993, 1994, 1996; TERZANO et al., 1996). BORGHESE et al. (1997). TERZANO et al. (2007) demonstraram que não há atraso na idade da puberdade dos animais desde que o ganho médio diário não estivesse abaixo de 600 gramas de peso vivo por dia (g/dia), tanto em sistemas de pastejo ou criação intensiva.

A puberdade tardia é um dos principais fatores que contribuem para as perdas econômicas. A má nutrição provoca ciclos estrais anormais, reduzindo a taxa de concepção e reduzindo o peso ao nascimento, enquanto os procedimentos que antecipam o estro ovulatório em novilhas pré-púberes irão melhorar taxas reprodutivas e acelerar o progresso genético (BORGHESE; TERZANO; MAZZI, 2011).

3.3 INDUÇÃO DE PUBERDADE

A precocidade sexual avaliada por meio da idade à puberdade ou idade ao primeiro parto, constitui um dos parâmetros mais confiáveis quando se deseja mensurar e elevar a eficiência reprodutiva do rebanho, pois expressa, em linhas gerais, o melhor índice para avaliação da fertilidade inerente a uma fêmea. Vários fatores podem influenciar o momento em que a puberdade é manifestada. O fator genético pode afetar diretamente o peso ideal, bem como a idade em que a puberdade é manifestada (MARSON et al., 2004). O aparecimento da puberdade está estreitamente relacionado à condição alimentar sob a qual são mantidas as bezerras após o desmame, ou seja, está relacionada ao desenvolvimento corporal, sendo mais precoce nos animais mantidos em melhores condições nutricionais (GRUNERT & GREGORY, 1984). ROMANO (1997) observou que novilhas da raça Nelore quando alimentadas com elevados níveis nutricionais apresentavam uma redução na idade à puberdade (aos 510 dias) quando comparado com novilhas que eram submetidas a uma dieta de baixos níveis nutricionais (aos 596 dias).

Para a indução de puberdade em novilhas bovinas, vários protocolos vêm sendo testados e utilizados nos últimos anos, com metodologias distintas (ANDERSON et al., 1996; RASBY et al., 1998; VOGG et al., 2004). Várias substâncias hormonais também são utilizadas para induzir a puberdade em novilhas e desta forma aumentar a eficiência reprodutiva destes animais (RASBY et al., 1998; VOGG et al., 2004; BRAGANÇA et al., 2004). Foi relatado que o crescimento folicular pode ser induzido com o emprego de diferentes hormônios tais como a progesterona, o estradiol e a combinação destes, e também com o GnRH e seus análogos (THATCHER et al., 2001).

Dentre essas metodologias, existem vários estudos utilizando progestágenos (TANAKA et al., 1995; HALL et al., 1997; RASBY et al., 1998; LUCY et al., 2001; GREGORY; ROCHA, 2004; SÁ FILHO et al., 2015). De acordo com AZEREDO et al. (2007), a utilização de protocolos hormonais em novilhas com intuito de induzir e sincronizar o estro teve resultados positivos, pois a progesterona, quando utilizada em novilhas, inclusive pré-púberes, é capaz de iniciar a atividade ovariana cíclica. A progesterona vai atuar como indutora nesse processo de antecipação da puberdade, que é o principal objetivo para a eficiência reprodutiva (PFEIFER et al., 2009).

Um estudo de DAY et. al. (1984) já mostrava a eficiência da progesterona na indução da puberdade de novilhas. Outro estudo de AZEREDO et al. (2007) também demonstrou sucesso no uso da progesterona para iniciar a atividade cíclica ovariana.

Os implantes intravaginais de progesterona vem sendo amplamente reutilizados nos protocolos de IATF visando um melhor custo benefício para o produtor. Um estudo de BARUSELLI et al. (2006) aponta que a reutilização de implantes intravaginais reduz custos de um programa de indução de puberdade e IATF na espécie bovina e, portanto, é uma prática válida para que cada vez mais as biotecnologias tenham bons resultados e garanta a eficiência reprodutiva nos rebanhos brasileiros.

Em búfalas, estudos nessa vertente também foram realizados (SAINI et al., 1988; HONNAPPAGOL e PATIL, 1991; ANDURKAR e KADU, 1995; ZICARELLI et al., 1997). No entanto, este trabalho é inédito em búfalas comparando estes protocolos. Um estudo de BARILE et al. (2001) demonstra resultados satisfatórios em novilhas búfalas pré-púberes, sob mesma nutrição e manejo, induzidas com dispositivo intravaginal de progesterona.

GHUMAN, et. al., (2008) também realizaram estudos induzindo a puberdade em novilhas búfalas através de implantes de melatonina (18mg), obtendo a ovulação de animais submetidos ao protocolo.

3.4 IATF DE NOVILHAS BÚFALAS

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) induz uma regularidade hormonal, permitindo assim um controle sobre o estro, a ovulação, o momento da inseminação artificial, e consequentemente otimizando a produção (SÁ FILHO, et al., 2010).

Essa técnica vem sendo amplamente utilizada por trazer inúmeros benefícios para o produtor, principalmente sua contribuição com o melhoramento genético, além disso a possibilidade de induzir a ciclicidade em animais que estão em anestro por algum motivo aumenta a eficiência reprodutiva (VIANA et al., 2008; TAIRA et al., 2010) .

A utilização de novilhas em protocolos de IATF é importante pois é sempre necessária a reposição de matrizes nos rebanhos, e é interessante que essas matrizes produzam crias para a viabilidade do processo produtivo (SÁ FILHO, et al., 2010).

A sincronização do estro é menos eficiente em novilhas do que em vacas pluríparas, e isso se deve à vários fatores, entre eles o fator fisiológico que pode dificultar a sincronização da ovulação devido aos níveis sanguíneos de progesterona como consequência isso levará à menores taxas de concepção, também por influência da idade e o desenvolvimento inadequado na primeira estação reprodutiva (SILVEIRA, 2014).

Um estudo atestou que os níveis de progesterona durante o ciclo são um importante fator de influência, neste estudo um dispositivo intravaginal de progesterona combinado com benzoato de estradiol ou cipionato de estradiol causou atresia do folículo dominante. (WHEATON e LAHM, 2007)

Protocolos de IATF realizados por SÁ FILHO, et al. (2008) em vacas em lactação demonstraram diminuição de resultados quando comparados com novilhas.

Um outro fator que exerce influência na eficiência dos protocolos em novilhas é o temperamento, esta categoria animal tende a ser mais agitada, principalmente quando criada em sistema extensivo (FUJITA, et al., 2013). Um trabalho de COOKE, et al. (2011) descreve que o

temperamento agitado quando associado com respostas fisiológicas e comportamentais pode ter influência negativa na eficiência reprodutiva de vacas.

Apesar desses fatores é importantíssimo mencionar a importância desta categoria e de estudos para garantir que estes animais sejam eficientes do ponto de vista reprodutivo e produzam bezerros o mais cedo possível, pois é isso que vai gerar lucro para o produtor e é o objetivo da linha de produção, as novilhas exercem forte influência na eficiência reprodutiva, estas quando alcançam o objetivo e emprenham mais cedo, além de aumentar a eficiência, a idade ao primeiro parto, tem maior possibilidade de ficarem prenhes na próxima estação, quando primíparas, e poderão apresentar um intervalo entre partos menor (GREGORY; ROCHA, 2004; AZEREDO et al., 2007; GOTTSCHALL et al., 2008 e GOTTSCHALL et al., 2009).

3.5 IATF EM BÚFALAS

PURSLEY et al. (1995), propuseram um método de sincronização, que consiste primeira administração intramuscular de GnRH, sem levar em conta o período do ciclo estral. O tratamento com GnRH induz a ovulação do folículo dominante, quando presente no momento do tratamento, promovendo o início sincronizado de uma nova onda de crescimento folicular. Após sete dias é realizado o tratamento com prostaglandina com a finalidade de regredir o corpo lúteo presente. Se esse for decorrente do tratamento inicial de GnRH, ocorrerá tempo suficiente para responder ao agente luteolítico. Uma segunda dose de GnRH é administrada 48 horas após a PGF, com a finalidade de promover a ovulação sincronizada do folículo dominante. A inseminação artificial é realizada 16 a 18 horas após o último tratamento hormonal, sem a necessidade de detecção do estro. Esse protocolo ficou conhecido como “*Ovsynch*”.

BARUSELLI et al. (1999) estudaram a eficiência do protocolo *Ovsynch* em búfalas com 45-60 dias pós-parto. Verificaram uma taxa de concepção de 50,2% entre 261 búfalas tratadas. Os autores concluíram que a técnica era viável em bubalinos. Em outro estudo, BARUSELLI (2001), avaliando a eficiência do protocolo *Ovsynch* em búfalas acima de 60 dias pós-parto, obteve taxa de prenhez de 66,9%.

BARUSELLI et al. (2003) demonstraram que houve diferença na taxa de prenhez em búfalas quando utilizado o protocolo *Ovsynch* em estações diferentes do ano, apresentando 48,8% (472/967) na estação reprodutiva favorável e 6,9% (6/86) na estação reprodutiva não

favorável. Esse resultado é indicativo de que, mesmo com estimulação hormonal exógena utilizando GnRH e PGF_{2α}, as búfalas em anestro estacional não respondem ao protocolo Ovsynch (BARUSELLI; CARVALHO; JACOMINI, 2009).

Os protocolos de sincronização da ovulação para IATF utilizados no Brasil e na América do Sul são principalmente aqueles que utilizam como base o uso de P4/progestágeno mais estradiol (BISINOTTO et al., 2013). Trabalho de BARILE et al. (1996) em vacas bubalinas demonstrou que a sincronização feita com dispositivo intravaginal liberador de progesterona, assim como em fêmeas bovinas, é capaz de controlar a ovulação e induzir uma boa taxa de sincronização.

Um aspecto comum entre tais protocolos de sincronização da ovulação para IATF é a inserção de um dispositivo intravaginal contendo P4 mais administração de benzoato de estradiol (BE; 2mg IM) no dia 0; esse procedimento tem por finalidade a regressão folicular, pois altas concentrações de estradiol na presença de progesterona promovem a regressão folicular e a emergência de uma nova onda de crescimento; administração de prostaglandina (PGF_{2α}), no momento da retirada do dispositivo, induzindo a luteólise, ou seja, a quebra do corpo lúteo (P4) pela prostaglandina (PGF_{2α}) e mais 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) pois a eCG que se liga aos receptores foliculares de FSH e de LH (STEWART; ALLEN, 1981), estimulando o crescimento folicular e a ovulação, mesmo em animais que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas (BARUSELLI et al., 2004).

BARUSELLI et al. (2002), avaliaram a utilização do protocolo para sincronização da ovulação para IATF em búfalas com o hCG como indutor de ovulação. Nesse estudo, os animais receberam um dispositivo de P4 (CIDR-B®) mais a administração de 2mg BE (D0). O dispositivo foi removido e uma dose de PGF_{2α} mais 500UI de eCG foram administrados no D9. Após dois dias do tratamento (D11) as búfalas receberam 1.500UI de hCG por via IM. As fêmeas foram inseminadas 14h após o tratamento com hCG (D12). A TP foi de 53,5%, demonstrando que as búfalas tratadas com P4+BE+eCG+hCG obtiveram uma taxa considerada satisfatória, uma vez que os animais receberam uma única inseminação e o protocolo foi realizado na estação reprodutiva desfavorável.

CARVALHO et al. (2007) estudaram a utilização de GnRH como indutor de ovulação. Neste estudo, os autores obtiveram TP de 51,8%, demonstrando que a utilização de GnRH como indutor de ovulação apresenta resultados satisfatórios na estação reprodutiva desfavorável. Este

resultado indica que o GnRH proporciona semelhante TP e pode também colaborar para a redução do custo do protocolo. Semelhante taxa de P/IA foi observada quando o GnRH foi substituído por BE como indutor de ovulação, tanto em novilhas quanto em vacas búfalas (CARVALHO et al., 2017).

Posteriormente, esse protocolo à base de P4+BE+eCG+GnRH foi também validado na estação reprodutiva favorável (MONTEIRO et al., 2016), quando boa parte das fêmeas estão ciclando, e também comparando a eficiência deste protocolo entre as estações reprodutivas favorável e desfavorável (MONTEIRO et al., 2018). Estes estudos demonstraram que as búfalas podem ser submetidas a programas de IATF em qualquer momento do ano, sem comprometimento da eficiência reprodutiva.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DE EXPERIMENTO

O experimento foi realizado em uma fazenda localizada no município de Tailândia (02°47'02,2" S 48°57'34,8" O), no Estado do Pará.

4.2 ANIMAIS

Foram utilizadas 152 novilhas búfalas pré-púberes com idade entre 12 e 16 meses e peso entre 270 e 394 Kg. Durante todo o experimento os animais foram mantidos em piquetes de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) e Mombaça (*Panicum maximum*) com predominância de Tifton 85, com água e suplementação mineral *ad libitum*. Todos os animais foram manejados de acordo com as recomendações da Comissão de Ética do Uso de Animais da Universidade Federal Rural da Amazônia (SIPAC: 23084.013121/2019-52)

4.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

Durante as avaliações foram coletadas informações de desenvolvimento corporal e desenvolvimento reprodutivo. Como características de desenvolvimento corporal, foram avaliados o peso (Kg) e o escore de condição corporal (ECC). Na avaliação de peso foram utilizadas somente novilhas que pesavam acima de 270 Kg. As avaliações de escore de condição corporal foram realizadas sempre pela mesma pessoa, utilizando a escala de 1 (extremamente magra) a 5 (extremamente gorda). (RICHARDS; SPITZER; WARNER, 1986).

Dez dias antes e no dia do início do experimento (D-65 e D-55), todos os animais foram avaliados por meio de Ultrassom veterinário A5V, (Sonoscape[®], Shenzhen, China) munido de transdutor linear e frequência 7,5 MHz, para determinar a presença do corpo lúteo nos ovários. Todos os animais que apresentaram corpo lúteo em pelo menos uma das avaliações foi considerado púbere e foi excluído do experimento.

4.4 PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE PUBERDADE

No início do protocolo de indução de puberdade, as novilhas receberam um implante intravaginal liberador de progesterona (P4) de 4º uso (previamente utilizado por 3 protocolos de IATF em búfalas). Este implante permaneceu no animal por 10 dias. Após 10 dias do início do protocolo de indução, o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de ciprionato de estradiol.

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais quanto ao momento de receber o protocolo de indução da puberdade: **grupo Indução45 (n=45)** - receberá o protocolo de indução da puberdade no Dia -55, com fim do protocolo de indução no Dia -45 e o início do protocolo de IATF no Dia 0; **grupo Indução12 (n=52)** - receberá o protocolo de indução da puberdade no Dia -22, com fim do protocolo de indução no Dia -12 e o início do protocolo de IATF no Dia 0; **grupo Controle (n=55)** - não recebeu o protocolo de indução de puberdade, somente o protocolo de IATF com início do Dia 0. Os animais de todos os grupos foram mantidos no mesmo lote de manejo e começaram o protocolo de IATF no mesmo momento (Dia 0).

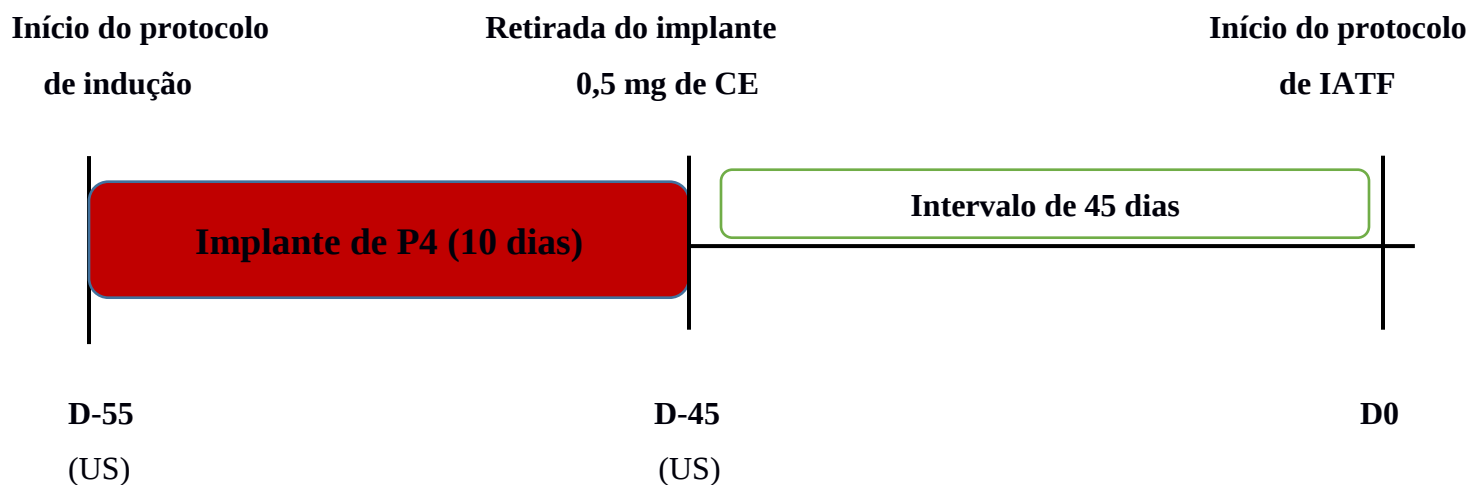
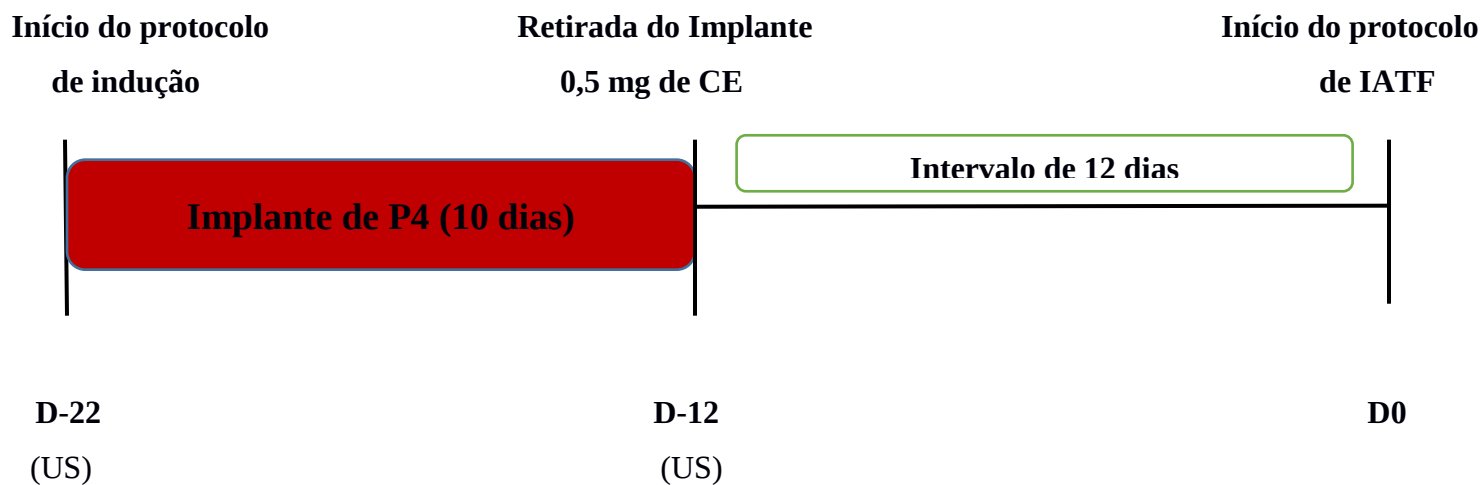


Figura 2: Protocolo experimental para indução de puberdade em novilhas búfalas com 12 dias de intervalo até o protocolo de IATF.



No presente estudo, o delineamento preconizado foi o “Casualizado em Blocos”. Antes da distribuição entre os tratamentos de indução de puberdade, os animais foram distribuídos em três diferentes grupos de acordo com o peso, somente foram utilizados no experimento animais acima de 270 kg, a divisão foi realizada da seguinte maneira - (Blocos): **Leve** (n = 50), com peso médio de $284,2 \pm 8,0$ Kg; **Intermediário** (n = 59), com peso médio de $312,2 \pm 9,3$ Kg; e **Pesado** (n = 43) com peso médio de $359,4 \pm 20,6$ Kg. Após a formação dos blocos de peso, os animais foram aleatoriamente distribuídos entre os tratamentos (Indução45, Indução12 e Controle), dentro de cada um dos 3 blocos de peso formados (Leve, Intermediário e Pesado).

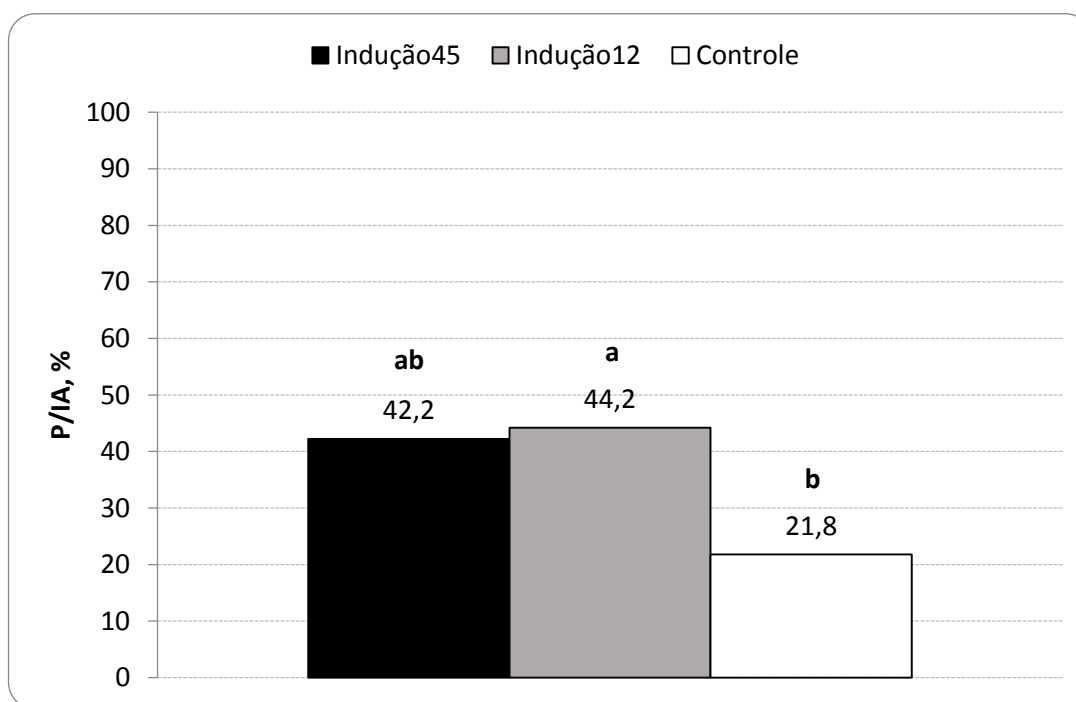
A variável contínua P/IA foi apresentada porcentagem (%) para frequência de ocorrência (prenhe = 1; vazia = 0). A comparação entre as frequências de acordo com as variáveis classificatórias (Tratamento, Bloco e Tratamento*Bloco) foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA), usando o procedimento GLIMMIX do SAS® versão 9.3 (SAS/STAT, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Dessa forma, o modelo estatístico foi composto pela variável resposta P/IA (%), variáveis classificatórias Tratamento, Peso e interação Tratamento*Peso, e a covariável (efeito linear) ECC no D-55. Diferença significativa foi considerada quando $P \leq 0,05$.

Os gráficos e as tabelas confeccionadas usando o programa Microsoft Excel versão 2016 para Windows 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A P/IA está demonstrada na Figura 4. Com base no modelo estatístico, foi observado somente efeito para Tratamento ($P = 0,0490$), sem efeito para Peso ($P = 0,1733$) ou para interação Tratamento*Peso ($P = 0,3005$). Também não foi observado linear para ECC no D-55 ($P = 0,4860$).

Figura 4 Taxa de prenhez por inseminação (P/IA) dos grupos de novilhas búfalas submetidos à IATF



Letras diferentes indicam $P = 0,0490$

Embora tenha sido observada eficiência dos protocolos de indução da ciclicidade em novilhas búfalas, não se verificou diferença entre os dois protocolos. Resultados similares para indução da ciclicidade em bovinos foram observados por CABRAL, et al. (2013) ao demonstrar que a utilização de protocolos hormonais com implante de progesterona de quarto uso foi capaz de induzir a atividade ovariana cíclica em novilhas por AZEREDO et al. (2007) que também demonstrou efeito positivo na utilização de progesterona em novilhas pré-púberes para iniciar a atividade estral.

Em novilhas Nelore com idade semelhante à dos animais utilizados neste estudo (12 a 15 meses), foram observadas taxas de indução de puberdade de 80%, porém em animais que receberam suplementação após o desmame para atingir peso corporal de 300 kg ao início do tratamento de indução de puberdade (DAY; NOGUEIRA, 2013). Outro estudo de ANDERSON et al. (1996) também obteve um resultado satisfatório utilizando um protocolo somente à base de progestágeno (Norgestomet) durante 10 dias, induzindo a puberdade em 86% das novilhas utilizadas.

A exposição à progesterona e seus análogos vem sendo amplamente utilizada em protocolos de indução de puberdade em novilhas com o intuito de aumentar a eficiência reprodutiva destes animais, esta exposição à progesterona diminui o número de receptores de estradiol no hipotálamo, causando a diminuição no efeito de feedback negativo sobre a liberação de GnRH, possibilitando aumento na secreção de LH. (ANDERSON, et. al., 1996; HALL, et. al., 1997; DAY; ANDERSON, 1998; RASBY et al., 1998)

Um artigo de SÁ FILHO, et. al. (2015) com a compilação de vários estudos comprovou que a adição de estradiol ao final do período de exposição à progesterona pode simular o proestro fisiológico e melhorar os resultados para a indução de ciclicidade. Outros autores já vinham trabalhando em seus projetos com a associação de estradiol à progesterona, como mostra um trabalho de VOGG et al. (2004), que utilizaram um protocolo de sete dias, onde no dia zero, as novilhas recebiam esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) e uma aplicação de 1 mg de Estradiol por via intramuscular.

HERNÁNDEZ et al. (2008) não encontraram diferença no período de manifestação de estro em vacas Brangus sincronizadas, após a remoção de implante de progesterona novo e reutilizado, que variou de 24 a 80 horas após a remoção do implante. Os resultados de novilhas em cio e taxa de fertilidade encontrados demonstraram que a utilização do protocolo de indução de cio com implantes de quarto uso aumentou o número de novilhas inseminadas na estação de monta.

NOGUEIRA et al. (1989), que avaliaram fêmeas bubalinas, indicaram que novilhas bubalinas da raça Mediterrâneo e Jafarabadi entraram em reprodução aproximadamente aos 2 anos de idade. Esta idade é aproximada à relatada aos animais *Bos taurus indicus*, que iniciam a ciclicidade reprodutiva entre 22 e 36 meses de idade. (SOUZA, et.al., 1995; RESTLE et.al.,

1999; ROMANO et.al., 2007). Sendo assim, a idade ao primeiro parto ocorre em média entre 3 e 4 anos de idade nos rebanhos brasileiros (NOGUEIRA, 2004; MALHADO, et.al. 2013).

A precocidade sexual da fêmea bovina, avaliada por meio da idade à puberdade ou idade ao primeiro parto, constitui um dos parâmetros mais confiáveis quando se deseja mensurar e elevar a eficiência reprodutiva do rebanho, pois expressa, em linhas gerais, o melhor índice para avaliação da fertilidade inerente a uma fêmea (MARSON et al., 2004). MARQUES (1991) encontrou a média de idade ao primeiro parto de $1.157,14 \pm 168,59$ dias, para 1.080 registros, referentes a seis diferentes grupos genéticos de búfalas, no período de 1966 a 1986.

Um outro estudo de ROLIM FILHO et. al. (2009) mostraram a média da idade ao primeiro parto de $52 \pm 7,54$, com valores mínimo e máximo de 23,31 e 64,55 meses, respectivamente, em um total de 418 observações em búfalas. Estes dados não são interessantes do ponto de vista produtivo, e a indução de puberdade, por meio da progesterona, tem se tornado uma importante ferramenta na melhoria destes índices produtivos.

Sendo assim, os protocolos de indução de puberdade se mostraram muito eficientes em novilhas búfalas pré-púberes e podem contribuir amplamente na eficiência reprodutiva do rebanho. Além disso, o fato de um determinado animal responder à um tratamento de indução de puberdade pode significar também uma forma de seleção para precocidade sexual, tendo em vista que esta capacidade de resposta está relacionada à idade em que o animal apresentaria a primeira ovulação espontaneamente, o que pode representar em um grupo de novilhas submetidas ao mesmo manejo uma diferenciação (DAY; NOGUEIRA, 2013).

Mesmo sem diferença entre os protocolos de indução da puberdade comparados em nosso estudo, o protocolo Indução12 foi maior que o grupo Controle, que não recebeu indução alguma, podendo-se concluir assim, que o protocolo mais curto, de 12 dias é uma opção viável para o produtor. Esta informação já estava disponível para bovinos através de um estudo realizado em 2014 por Rodrigues, A.D.P., que comprovavam que o intervalo de 12 dias entre o protocolo de indução e a inseminação artificial em tempo fixo aumentava as taxas de prenhez em novilhas Nelore, em relação a intervalos de 10 ou 14 dias entre o fim do protocolo de indução e o início do protocolo de IATF.

7. CONCLUSÕES

A utilização do protocolo de indução da puberdade indicado para bovinos, que associa um dispositivo intravaginal de **progesterona de quarto ao estradiol**, aumenta a P/IA de novilhas búfalas pré-púberes submetidas a programas de IATF.

Em virtude da semelhante eficiência na P/IA observada entre os protocolos de indução testados, sugere-se que novilhas búfalas pré-púberes que participarão de programas de sincronização do estro e da ovulação sejam submetidas ao intervalo mais curto entre o protocolo de indução da puberdade e o início do protocolo de IATF (Indução12), por questões de facilidade de manejo e menor duração da estação de monta.

REFERÊNCIAS

ABCB. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BUFALOS. **Boletim Informativo do Búfalo**. n.02. Junho 2005.52p. Disponível em www.bufalos.com.br >Acesso em 25/03/2019.

ANDERSON, L.H.; McDOWELL, C.M.; DAY, M.L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v.54, p. 1025-1031, 1996.

ANDURKAR, S.B., KADU, M.S., 1995. Induction of oestrus and fertility with CIDR device and combination in non-cycling buffaloes. **Indian J. Anim. Reprod.** 16 (2), 81–84.

AZEREDO, D.M.; ROCHA, D.C.; JOBIM, M.I.M.; MATTOS, R.C.; GREGORY, R.M. Efeito da sincronização e da indução de estros em novilhas sobre a prenhez e o índice de repetição de crias na segunda estação reprodutiva. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, 2007.

BARILE,V.L., GALASSO, A., CARRETTA, A., 1996. Preliminary results on conception rates in Italian buffaloes after use of intravaginal progesterone device and artificial insemination. **Buffalo News letter** (F.A.O. Bulletin, Rome) 6, 3–4.

BARILE, V.L. Effect of PRID treatment on conception rate in mediterranean buffalo heifers. **Livestock Production Science**, 68 (2001) 283 – 287

BARUSELLI, P.S. et.al. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (Bubalus Bubalis). **Theriogenology**, v.47, p. 1531-1547, 1997.

BARUSELLI P. S. **Reprodução em búfalos**, 1993. Disponível em: <http://www.fmvz.usp.br/menu/sitebra11.html>. Acesso em 30/03/2019.

BARUSELLI, P. et al. Synchronization of ovulation for timed artificial insemination during the off breeding season in the buffalo. **Buffalo Symposium of Americas**. Belém: 2002

BARUSELLI, P. et al. Use of progesterone associated to “Ovsynch” protocol for timed artificial insemination in buffalo. **Congresso Nazionale Sull’Allevamento Del Buffalo**. Roma: 2003

BARUSELLI, P.S . et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 479–486, jul. 2004.

BARUSELLI, P. S. et al. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 3, p. 360–362, 1999.

BARUSELLI, P.S. Biotechnology of Reproduction in Buffalo. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Supl. 28(1):98-147, 2000.

BARUSELLI, P. S. et al. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 2, n. 2006, p. 113-132, 2006.

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

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T.; JACOMINI, J. O. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Supl.**, v. 6, p. 104–110, 2009.

BAZER, F.W. et.al. Pregnancy recognition in ruminants, pigs and horses: signals from the throphoblast. **Theriogenology**, 41: 79-94, 1994.

BISINOTTO, R. S. et al. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 4, p. 2214–2225, 1 abr. 2013.

BORGHESE, A. et al. Onset of puberty in Italian buffalo heifers. Note II – Influence of bull

exposure on age at puberty. **International Symposium “Prospect of Buffalo Production in the Mediterranean and in the Middle East”**. Anais...Cairo, Egypt: 1993

BORGHESE, A. et al. Pubertà e mantenimento dell'attività ciclica ovarica nella bufala. **AGRICOLTURA RICERCA**, v. 153, n. January, 1994.

BORGHESE, A. et al. Onset of puberty in buffalo heifers in different feeding and management systems. **International Symposium on Buffalo Resources and Production Systems**. Anais...Cairo, Egypt: 1996

BORGHESE, A. et al. Feeding system effect on reproduction performances in buffalo heifers. **V World Buffalo Congress**. Anais...Caserta, Italy: 1997

BORGHESE, A.; TERZANO, G. M.; MAZZI, M. BUFFALO BREEDING DEVELOPMENT IN ITALY (Perkembangan Program Pemuliaan Kerbau di Italia). **Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau**, p. 23–30, 2011.

BRAGANÇA, J.F.M.; GONÇALVES, P.B.D.; BASTOS, G. M.; NEVES J.P.; OLIVEIRA J.F.C.; SIQUEIRA L.C.; BORGES L.F.K.; POMBO R. D. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. **Rev Bras Rep Ani**, v. 28, n. 2, p. 73-77, 2004.

CABRAL, J.F. et al. Indução do estro em novilhas Nelore com implante intravaginal de progesterona de quarto uso. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 20, n. 1, p. 49-53, jan./mar. 2013

CAMPANILE, G. et al. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 121, n. 1–2, p. 1–11, ago. 2010.

CAMPO, E, HERRERA, P, HINCAPIÉ, JJ, QUESADA, MS, FUNDORA, O. 2005. Estacionalidad de los partos, reproducción y producción láctea en búfalas de río y mestizas.

Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, 4:1-6.

CARVALHO, N. A. T. et al. Ovulation and conception rates according intravaginal progesterone device and hCG or GnRH to induce ovulation in buffalo during the off breeding season. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. SUPPL. 2, p. 646–648, 2007.

CARVALHO, N.A.T. et. al. Ovulation synchronization with estradiol benzoate or GnRH in a timed artificial 3 insemination protocol in buffalo cows and heifers during the nonbreeding season. **Theriogenology**, v. 87, p. 333-338, 2017.

CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; BARUSELLI, P. S. Strategies to overcome seasonal anestrus in water buffalo. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 200–206, 1 jul. 2016.

COOKE, R.F.; BOHNERT, D.W.; MENEGHETTI, M. et al. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in Bos indicus beef cows. **Livestock Science**, v.142, n.1-3, p.108-113, 2011.

DAY, M.L.; ANDERSON, L.H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1-15, 1998.

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; GARCIA-WINDER, M. et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction**, v.31, p.332-341, 1984.

DAY, Michael L.; NOGUEIRA, Guilherme P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. **Animal Frontiers**, v. 3, n. 4, p. 6-11, 2013.

DROST, M. Bubaline versus bovine reproduction. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 447–9, 1 ago. 2007.

ELER, J. P., SILVA, J. A., FERRAZ, J. B. S., DIAS, F., OLIVEIRA, H. N., EVANS, J. L.,

GOLDEN, B. L. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for nelore heifers. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 951 – 954, 2002.

EL-SHEIKH, A.S., et. al. Changes in the desntiy and progesterone content of luteal tissue in the egyptian búfalo during the Oestrus cycle. **Journal of Endocrinology**, v. 39, p. 169-171, 1967

EUCLIDES FILHO, Kepler. Produção de bovinos de corte e o trinômio genótipo-ambiente-mercado. **Embrapa Gado de Corte-Docmentos (INFOTECA-E)**, 2000.

EVANS, et. al. Effects of naloxone on circulating gonadotrophin concentrations in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and fertility**, v.96, p. 847-855, 1992.

FRIES, L.A.; ALBUQUERQUE, L.G. Prenhez aos catorze mezes: Presente e Futuro. Elementos do componente genético. In: **ANAIS DA XXXVI REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 1999, Porto Alegre - RS, p. 227-239.

FUJITA, A.S. et al., Taxa de gestação em novilhas nelore sincronizadas para iatf e inseminadas com sêmen resfriado e congelado . **Archives of Veterinary Science**. v.18, n.3, p.13-21, 2013.

GANGWAR, PC. 1985. Importance of photoperiod and wallowing in buffalo production. **The Indian Journal of Dairy Science**, 38:150-155.

GARCIA, A.R. Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). **Rev. de Ciênc. Agrár.** nº 45, jan./jun.2006. Suplemento.

GHUMAN, S. et al. Induction of Ovulation of Ovulatory Size Non-Ovulatory Follicles and Initiation of Ovarian Cyclicity in Summer Anoestrous Buffalo Heifers (*Bubalus bubalis*) Using Melatonin Implants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 4, p. 600–607, 1 dez. 2008.

GIMENES, L. U. et al. Ultrasonographic and endocrine aspects of follicle deviation, and acquisition of ovulatory capacity in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers. **Animal Reproduction**

Science, v. 123, n. 3–4, p. 175–179, 2011.

GOTTSCHELL, C. S. et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, Ano 28, n. 164, jul./ago. 2008.

GOTTSCHELL, C. S. et al. Antecipação da aplicação de prostaglandina, em programa de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 4, p. 970-979, out./dez. 2009.

GREGORY, R.M.; ROCHA, D.C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA**, 1., 2004, Londrina. Anais... São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2004. p.147-154.

GRUNERT, E.; GREGORY, M.R. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca**. 2 ed. Porto Alegre: Sulina, 1984. p.163.

HALL, J.B.; STAIGMILLER, R.B.; SHORT, R.E. et al. Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestin in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1606-1611, 1997.

HERNÁNDEZ, C. W. S. et al. Reutilización de un dispositivo liberador de progesterone (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos. **Téc. Pecu. Méx.** v. 46, n. 2, p. 119-135, 2008.

HONNAPPAGOL, S.S., PATIL, R.V., 1991. Oestrus synchronization and fertility in buffalo heifers using Carboprost Tromethanine Indian . **J. Anim. Reprod.** 12 (2), 177–179.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Cattle and Buffalo. In: **Reproduction in Farm Animals**. Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2016. p. 157–171.

LUCY, M.C.; BILLINGS, H.J.; BUTLER, W.R. et al. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2 α for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v.79, p.982-995, 2001.

LUCY, M.C., et. al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3615-3626, 1992.

MALHADO, C.H.M.; MALHADO, A.C.M.; MARTINS FILHO, R.; CARNEIRO, P.L.S.; PALA, A.; ADRIÁN CARRILLO, J. Age at first calving of Nellore cattle in the semi-arid region of northeastern Brazil using linear, threshold, censored and penalty models. *Livestock Science*, v. 154, n.1-3, p. 28-33, Jun. 2013.

MARSON, E. P.; GUIMARÃES, J.D.; MIRANDA NETO, T. Puberdade e maturidade sexual em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, p, 1-64, 2004.

MARQUES, J.R.F. Avaliação genético-quantitativa de alguns grupamentos raciais de bubalinos (*Bubalus bubalis* L.). Botucatu, SP: UNESP, 1991. 134p. **Tese (Doutorado em Genética)** Instituto de Biociências - UNESP, 1991

MONTEIRO, B.M. et. al. Effect of season on dairy buffalo reproductive performance when using P4/E2/eCG-based fixed-time artificial insemination management. **Theriogenology**, v. 119, p. 275-281, 2018.

MONTEIRO, B.M. et. al. Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn–winter). **Animal Science Journal**, v. 87, p. 13-20, 2016.

MOTTA, P.M. et. al. An ultrastructural study of the fibromuscular capsule of the corpus luteum in mice. **Acta anatômica**, v. 149, p. 247-259, 1994.

NOGUEIRA, J.R. et. al. ASPECTOS DA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE BUBALINOS DAS RAÇAS MEDITERRANEO E JAFARABADI. **B. Indústr. anim.**, Nova Odessa, SP, 46(1):45-53, jan./jun. 1989.

NOGUEIRA, G.P. Puberty in South American Bos Indicus (Zebu) Cattle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.361-372, Jul. 2004.

OHASHI, et. al., Distúrbios reprodutivos no rebanho bubalino nacional. **Ciência Animal**, 22(1): 171-187, 2012 – Edição Especial

OHASHI, O.M. & BARUSELLI, P.S. Biotécnicas da reprodução animal aplicadas em bubalinos. In: **Biotécnica aplicadas à Reprodução Animal**. 2.ed. São Paulo: Roca, p.105- 123, 2008.

OLIVEIRA, A. L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça, de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte.v.29.n.2 pg.122-134. Abr/Jun.2005.

PATTERSON, D.J.; PERRY, R.C.; KIRACOFÉ, G.H.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B.; CORAH, L.R.; Management considerations in heifer development and puberty. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p. 4018-4035, 1992.

PERERA, B. M. A. O. Reproductive cycles of buffalo. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 194–199, 1 abr. 2011.

PFEIFER, L.F.M. et al. Efeito da duração do tratamento com progestágeno e da maturidade sexual na taxa de prenhez em novilhas de corte: avaliação econômica e biológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1205-1210, 2009.

PHOGAT, J. B. et al. Seasonality in Buffaloes Reproduction. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 6, n. 2, p. 46–55, 2016.

PRADO, C. Imunolocalização do bFGF em corpo lúteo de búfalas em diferentes estágios do ciclo estral. **Dissertação** - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia. São Paulo, 2004.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915–923, 1 nov. 1995.

RASBY, R.J.; DAY, M.L.; JOHNSON, S.K.; Kinder J.E.; Lynch J.M.; Short R.E.; Wettemann R.P.; Hafs H.D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol, **Theriogenology**, v. 50, p. 55-63, 1998.

RESTLE, J., POLLI, V.A., SENNA, D.B., Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.34, n.4, p. 701-707, Apr. 1999.

RICHARDS, M.W.; SPITZER, J.C.; WARNER, M.B. Effect of Varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **Journal of Animal Science**. v. 62, n. 2, p. 300, 1986.

RODRIGUES, A. D. P. et al. Effect of interval from induction of puberty to initiation of a timed AI protocol on pregnancy rate in Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 82, n. 5, p. 760-766, 2014.

ROLIM FILHO et.al. Desempenho reprodutivo de fêmeas bubalinas criadas em sistema misto (várzea e pastagem artificial) no estado do Pará. I. Idade a primeira cria, intervalo entre partos, época de parição, eficiência reprodutiva e taxa de prenhez. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 754-763, jul./set. 2009.

ROMANO, M.A., et. al. Follicular dynamics in heifers during pre-pubertal and pubertal period kept under two levels of dietary energy intake. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, n.6, p. 616-622, Dec. 2007.

ROMANO, M. C. Efeito do nível nutricional sobre a antecipação da idade à puberdade e caracterização de dinâmica folicular nos períodos pré e pós-púbere em novilhas Nelore. São Paulo, 1997. 103p.(**Tese em medicina veterinária**) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

SÁ FILHO, M.F.; MARQUES, M.O.; BARUSELLI, P.S. Indução de ciclicidade e IATF em novilhas zebuínas. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (**4º Simpósio Internacional de Reprodução Animal**) Anais... Londrina, p.79-100, 2010.

SÁ FILHO, M. F. et al. Impact of progesterone and estradiol treatment before the onset of the breeding period on reproductive performance of Bos indicus beef heifers. **Animal reproduction science**, v. 160, p. 30-39, 2015.

SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. et al. TA linheifers. In:**International Symposium on Applied Animal Reproduction**, III. 2008, Londrina, Proceedings... Londrina: 2008, p. 5467,2008

SAINI, M.S., GALHOTRA, M.M., SANGWAN, M.L., RAZDAN, M.M., 1988. Use of PRID in inducing estrus and its effect on the sexual behaviour of Murrah buffalo heifers. **Indian J. Dairy Sci.** 41 (1), 40–42.

SAMPAIO NETO, JC, MARTINS FILHO, R, LOBO, RNB, TONHATI, H. 2001. Avaliação dos desempenhos produtivo e reprodutivo de um rebanho bubalino no Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30:368-373.

SILVEIRA, E.F et al.. Comparison of long-term progesterone-based protocol on reproductive performance of prepubertal and pubertal beef heifers v.19, n.1, p.01-06, 2014

SOUZA, E.M., et. al. Effects of Genetic and Environmental Factors on Age at First Calving in Dairy Gir Herds. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.6, p. 926-935, 1995.

STEWART, F.; ALLEN, W. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of reproduction and fertility**, v. 62, p. 527–536, 1981.

SUTHAR, V. S.; DHAMI, A. J. Estrus detection methods in buffalo. **Veterinary World**, v. 3, n. 2, p. 94–96, 2010.

SOYSAL, MI, TUNA, YT, GÜRCAN, EK. 2005. An investigation on the water buffalo breeding in Danamandira Village of Silivri District of Istanbul Province of Turkey. **Journal of Ttekirdag Agricultural Faculty**, 2:73-78.

TAIRA, E.M.; PINTO, F.L.; RAMO, L.D. et al. Use of LH to induction of ovulation in TAI protocol for heifers. **Colloquium Agraria**, v.6, p.43-49, 2010.

TANAKA, Y.; VINCENT', D.L.; LEDGERWOOD, K.S. et al. Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. **Theriogenology**, v.43, p.1077-1086, 1995.

TERZANO, G. M. et al. Onset of puberty in buffalo heifers bred on pasture or in intensive feeding system. **Agric. Sci.**, v. 2, p. 89–92, 1996.

TERZANO, G. M. et al. Effect of intensive or extensive systems on buffalo heifers performances: onset of puberty and ovarian size. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. sup2, p. 1273–1276, 15 jan. 2007.

TERZANO, G. M.; BARILE, V. L.; BORGHESE, A. Overview on Reproductive Endocrine Aspects in Buffalo. **Journal of Buffalo Science**, v. 1, p. 126–138, 2012.

THATCHER, W. W. et al. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1435-1450, 2001.

TONHATI, H., ALBUQUERQUE, L.G., OLIVEIRA, J.F.S. et al. Melhoramento genético em bubalinos. Programa Vale do Ribeira, SP. In: **SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO GENÉTICO ANIMAL**, 1, 1996, Ribeirão Preto, SP. Anais...Ribeirão Preto, 1996. p.69-72.

VALE, W. G. et al. Studies on the reproduction of water buffalo in the Amazon basin. Livestock reproduction in Latin America. Proceedings of the final research co-ordination meeting, Bogota, 19-23 September 1988. **Organized by the joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.**, p. 201–210, 1990.

VALE, W. G. Reproductive management of water buffalo under amazon conditions. **Buffalo Journal**, v. 10, n. 2, p. 85–90, 1994.

VALE, W. G.; RIBEIRO, H. F. L. Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. **Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte**, v. 29, n. 2, p. 63–73, 2005.

VALE, W. G.; WEITZE, K. F.; GRUNERT, E. Estrous behaviour and ovarian function in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) under Amazon conditions. **10th International Congress on Animal Reproduction and AI**. Anais...Urbana, Illinois: University of Illinois at Urbana-Champaign, 1984. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8623409>>. Acesso em: 21 maio. 2018

VIANA, J.H.M. et.al. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.51, n.3, p.251-256, 1999.

VIANNA, G.N.O.; KOZICKI, L.E.; WEISS, R.R. et al. Comparison of different protocols for estrus synchronization and fixed-time artificial insemination in Nelore cows under postpartum anestrus. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.4, p.247-254, 2008.

VOGG, G.; SOUZA, C.J.H.; JAUME, C.M.; MORAES J.C.F. Utilidade do benzoato de estradiol após suplementação com progestágeno na sincronização de cios de novilhas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p. 41-46, 2004.

WILTBANK, J.N.; KASSON, C.W.; INGALLS, J.E. Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. **Journal of Animal Science**, v.29, p. 602-605, 1969.

WHEATON, J.E.; LAHM, G.C. Induction of cyclicity in postpartum anestrous beef cows using progesterone, GnRH and estradiol cypionate. (ECP). **Animal Reproduction Science**, v.102, p.208-216, 2007

ZICARELLI, L., DE FILIPPO, C., FRANCILLO, M., PACELLI, C., VILLA, E., 1997. Influence of insemination technique and ovulation time on fertility percentage in synchronized buffaloes. In: Proc. **V. World Buffalo Congress, Caserta**, Italy, 13–16 October 1997 pp. 732–737.

ZICARELLI, L. Management in different environmental conditions. **Buffalo Journal**, Suppl. 2:17-38, 1994.