



**EFEITO DO CLOPROSTENOL ($\text{PGF}_{2\alpha}$) SOBRE O
PUERPÉRIO DE BÚFALAS (*Bubalus bubalis*) LEITEIRAS
DA RAÇA MURRAH**

PAULO COSTA FERRAZ

2006

PAULO COSTA FERRAZ

**EFEITO DO CLOPROSTENOL (PGF_{2α}) SOBRE O
PUERPÉRIO DE BÚFALAS (*Bubalus bubalis*) LEITEIRAS
DA RAÇA MURRAH**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação a nível de Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Jorge Del Rei Moura

Co-orientador:

Prof. Dr. Paulo Bonomo

ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL
2006

636.29 Ferraz, Paulo Costa.
F435e Efeito do cloprostenol (PGF₂α) sobre o puerpério de búfalas (*Bubalus Bubalis*) leiterias da raça Murrah / Paulo Costa Ferraz. Itapetinga-Ba: UESB-Itapetinga, 2006.
79p. Il.

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - *campus* de Itapetinga; Área de concentração em Produção de Ruminantes. Sob a orientação do Prof^o. Dr. Sc. Antônio Jorge Del Rei Moura e com a Co-orientação do Prof^o Dr. Sc. Paulo Bonomo.

Os trabalhos foram elaborados segundo as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT e das Normas Brasileiras de Registro – NBR’s.

Bibliografia: p.56-67

1. Reprodução animal – Bubalinos 2. Búfalos – Búfalas – Involução uterina. 3. Cloprostenol. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Moura, Antônio Jorge Del Rei. III. Bonomo, Paulo. IV. Título.

Catálogo na Fonte:

Rogério Pinto de Paula – CRB 1746 - 6ª Região

Diretor da Biblioteca – UESB – Campus de Itapetinga-Ba

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Reprodução animal - Bubalinos
2. Búfalas – Involução uterina
3. Búfala - Cloprostenol

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração em Produção de Ruminantes
Campus de Itapetinga-BA

TERMO DE APROVAÇÃO

Título: Efeito do cloprostenol ($PGF_{2\alpha}$) sobre o puerpério de búfalas (*Bubalus Bubalis*) leiteiras da raça Murrah.

Autor: Paulo Costa Ferraz

Orientador: Prof. Dr. Antonio Jorge Del Rei Moura

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Bonomo

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **Mestre em Zootecnia**, área de concentração em **Produção de Ruminantes**, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antonio Jorge Del Rei Moura, D. M.V., UESB.
Presidente

Prof. Dr. Jurandir Ferreira da Cruz, D. Sc., UESB.

Prof. Dr. José Carlos de Andrade Moura, D. M.V., UFBA.

Data de defesa: 14/07/2006

UESB - Campus Juvino Oliveira, Praça Primavera nº 40 – Telefone: (77) 3261-8628 Fax: (77) 3261-8701 – Itapetinga – BA – CEP: 45.700-000 – E-mail: mestrado.zootecnia@uesb.br

À Rita Nascimento companheira de todas as horas, por sua cumplicidade, dedicação, compreensão e amor, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o supremo criador, por minha existência e pela bênção de todos os dias.

Aos animais (*Bubalus bubalis*) por serem objeto de estudo.

Aos meus pais Valdemar de Souza Ferraz e Luiza de Melo Costa Ferraz por sonharem mais uma vez comigo e pelo amor incondicional mesmo antes da minha existência.

Aos meus irmãos Cristianne Costa Ferraz e João Carlos Costa Ferraz por compreenderem as minhas ausências.

Aos proprietários da Fazenda Cabana da Ponte Ltda. Sr. José Viana Oliveira Paula e Sra. Vera Maria Palmeira de Paula pela oportunidade concedida para realização dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Antonio Jorge Del Rei Moura por ter acreditado nas minhas idéias, por sua orientação e ensinamentos, sendo, portanto, um exemplo de profissional.

Ao Profs. Drs. Jurandir Ferreira da Cruz e Paulo Bonomo pela valiosa colaboração e auxílio na construção deste estudo.

Ao Prof. Dr. José Carlos de Andrade Moura pelo incentivo na realização deste ideal.

Aos colegas da pós-graduação, em especial Pedro Queiroz Júnior (Caatingueiro) e Ronaldo Silva pelas vivências, ensinamentos e companheirismo.

À Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia - ADAB pela compreensão nos momentos destinados ao estudo.

Aos colegas da ADAB pelo auxílio e apoio em todos os momentos desta jornada.

Ao responsável pelo Setor de Bubalinocultura da Fazenda Cabana da Ponte Ltda. Sr. Ernestino e a sua esposa D. Valda, aos funcionários, Pedro, Zé Baixinho e Daniel pela inestimável atenção, carinho e colaboração sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

A José Dantas Gusmão Filho e à Sirlane de Oliveira (Cica) pelo apoio e ajuda inestimável na execução da parte experimental deste trabalho.

Por fim, a todos que acreditaram no meu trabalho e capacidade, dando forças para crescer cada vez mais, eis o resultado.

A conquista real de um objetivo se inicia na capacidade de pensar e sonhar. Neste sonho, começamos a trabalhar e investir tudo de que dispúnhamos na construção do ideal. O caminho foi longo e os atalhos nem sempre confiáveis, mas nem as maiores tempestades puderam abalar o ritmo de nossa trajetória. E quando chega o momento de alcançarmos a vitória maior é que descobrimos o quanto ainda somos pequenos e temos que

aprender, pois cada conquista
nossa abre as portas para a
busca de um novo sonho. (Autor
Desconhecido)

RESUMO

FERRAZ, P. C. **Efeito do cloprostenol (PGF_{2α}) sobre o puerpério de búfalas (*Bubalus Bubalis*) leiteiras da raça Murrah.** Itapetinga-BA: UESB, 2006. 79 p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia – Produção de Ruminantes).*

O presente estudo objetivou verificar a eficiência da aplicação de diferentes doses do análogo sintético da PGF_{2α} (Cloprostenol) com o tempo de involução uterina das búfalas e a influência deste tratamento na performance reprodutiva futura, relacionando escore corporal da búfala com sexo e peso da cria na velocidade das modificações histológicas do útero no transcórper do processo reprodutivo. A implantação e execução do experimento foram conduzidas na Fazenda Cabana da Ponte Agropecuária Ltda., Itororó-BA, sendo a primeira etapa realizada no período de março a setembro de 2004 e a segunda de outubro de 2004 a novembro de 2005. Foram utilizadas 45 fêmeas bubalinas da raça Murrah, pluríparas com idade variando de 6 a 18 anos. Os animais foram divididos em três grupos contendo 15 búfalas cada – G1, G2 e G3. No grupo G1, todos os animais receberam 2 ml de solução fisiológica (NaCl 0,09%) IM 2 dias pós-parto. Os animais do grupo G2 receberam 0,530 mg de Cloprostenol (2 ml IM de Ciosin[®]) em dose única 2 dias pós-parto. No grupo G3, os animais receberam duas doses de 0,530 mg de Cloprostenol sendo a primeira 2 dias pós-parto e uma segunda aplicação de 0,530 mg de Cloprostenol 5 dias após a primeira dose. Em todos os animais foram realizados exames ginecológicos por palpação retal uma vez por semana durante cinco semanas após o parto. O grau de involução uterina foi avaliado adotando-se uma escala de 1 a 3 (Grau 1 – Útero pouco involuído; Grau 2 – Útero com parte de sua massa na cavidade abdominal; Grau 3 – Útero em quase sua totalidade pélvica apresentando-se simétrico ou com discreta assimetria). A involução uterina foi considerada completa quando não houve mais alterações do diâmetro após três exames consecutivos. Para o estudo histológico foram coletados fragmentos da parede dorsal dos cornos uterinos dos diferentes grupos nos dias 10^o, 20^o e 30^o após o parto. A aplicação de duas doses de 0,530 mg de cloprostenol sódico aumentou a velocidade do processo de involução uterina, quando comparado ao G1 e ao G2. As búfalas do G3 que apresentaram involução anatômica do útero mais rápida, também anteciparam o aparecimento do primeiro estro pós-parto. As fêmeas bubalinas apresentaram um restabelecimento histológico da estrutura uterina já observada aos 30 dias de involução, independente dos tratamentos. A aplicação do cloprostenol em suas diferentes doses não interferiu na taxa de concepção, no período de serviço e no intervalo entre partos, com relação à taxa de concepção, apesar de não ter ocorrido diferença significativa, a aplicação de 2 doses de PGF_{2α} apresentou-se viável economicamente. O escore da condição corporal, sexo e peso do bezerro não tiveram influência significativa sobre o tempo de involução anatômica do útero. O baixo Escore da Condição Corporal, no entanto, mostrou influência negativa sobre a taxa de concepção, período de serviço e intervalo entre partos.

Palavras-chaves: Reprodução, Bubalinos, Involução Uterina, Cloprostenol.

* Orientador: Prof. Antonio Jorge Del Rei Moura, D.M.V., UESB e Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Bonomo, D. Sc, UESB.

ABSTRACT

FERRAZ, P. C. **Effect of Cloprostenol (PGF_{2α}) Murrah race in dairy female buffaloes (*Bubalus bubalis*) puerpério.** Itapetinga-BA: UESB, 2006. 79 p. (Dissertation- Animal Science Master – Ruminants' Production).*

The present study has aimed to check the application efficiency of PGF_{2α} (Cloprostenol) with the female buffaloes' uterin involution period of time and the influence of this treatment in future reproductive performance relating corporal score of the female buffalo with the bred's sex and weight in the histological modifications speed of womb in the reproduction process elapsing. The implantation and carrying out of experiments were conducted in the "Fazenda Cabana da Ponte Agropecuária Ltda.", Itororó-Ba, being the first phase in the period March through September 2004 and the second October 2004 through November 2005. Forty-five (45) female bubalinas of Murrah race, pluralized with age ranging from 6 to 18 years. The animals were divided into three (3) homogenic groups composing 15 female buffaloes each – G1, G2 and G3. In group G1, all animals received 2 ml physiological solution (NaCl 0,09%) IM two days (2) postpartum. The animals of group G2 received 0,530 mg of Cloprostenol (2 ml IM of Ciosin[®]) in unique dose two (2) days postpartum. In group G3, animals got 2 cloprostenol doses of 0,530 mg five days after the first dose. In all the animals were carried out gynecological examination for retal palpation once a week during 5 weeks' postpartum. Womb involution grade has been evaluated by adopting a phase from 1 to 3 (Grade 1 – uterus a bit involuted; Grade 2 – uterus with part of its mass in abdominal cavity; Grade 3 – uterus in almost its total pelvis presenting simetric or with discreet assimenty). Uterin involution was admitted full when there were no more diameter alterations after three (3) consecutive examinations. For hitological study were collected back wall fragments of different group uterin horns of different groups on the days 10th, 20th and 30th postpartum. The 0,530 mg two (2) doses application in groups on the days 10th, 20th and 30th postpartum, average number of days between partum and conception. For histological study were collected back wall fragments of uterin horns of the different groups in the 10, 20 and 30 days time postpartum, objecting the secreting activity level of endometrical glands. The two doses' applications of Sodic Cloprostenol (Ciosin[®]) in dairy buffaloes postpartum increased uterin involution speed process, when compared with the G1 (control) and G2 (one (1) dose of Cloprostenol) and G3 female buffaloes (two (2) doses Cloprostenol) which presented the quickest anatomical involution of uterus, also the G2 (one (1) dose). Cloprostenol application in its different doses was not capable to interfere statistically in conception rate, in operation time and in the interval between partums, but in relation with conception rate, despite there is not statistical significance, has presented livingly economically. Female buffaloes have presented a uterin structure histological settlement already observed on 30 involution days. The corporal condition score, sex and heifer's weight has not had significant influence over uterus' anatomical involution time. The corporal condition score this time has had negative influence on conception rate operation time and interval among partums.

Keywords: Reproduction, Bubalinos, Uterin Involution, Cloprostenol

* Adviser: Prof. Antonio Jorge Del Rei Moura, D.M.V., UESB e Co-advises: Prof. Dr. Paulo Bonomo, D. Sc., UESB.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis Mensuradas nos diferentes grupos de tratamento	44
Tabela 2	Tempo em dias ($X \pm DP$) necessários para o útero alcançar completa involução, tônus e simetria dos cornos em búfalas Murrah, Itororó-BA.	46
Tabela 3	Peso médio ao nascer dos bezerros bubalinos da raça Murrah por tratamento, Itororó-BA.....	47
Tabela 4	Influência do sexo e peso ao nascer dos bezerros bubalinos da raça Murrah após o parto normal, Itororó-BA	47
Tabela 5	Tempo (dias) demandado para ocorrência do primeiro estro e número relativos de fêmeas em estro, até 150 dias pós-parto, em búfalas leiteiras da raça Murrah, Itororó-BA	50
Tabela 6	Taxa de gestação, Período de Serviço e Intervalo entre partos de fêmeas bubalinas da raça Murrah, Itororó-BA.....	51
Tabela 7	Escore da condição corporal no pré e pós-parto de vacas bubalinas leiteiras da raça Murrah, Itororó-BA.....	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Horas de Insolação ocorridas nos meses de janeiro a dezembro de 2004, Itororó-BA.....	38
Figura 2	Índice pluviométrico da Fazenda Cabana da Ponte Ltda, Itororó-BA.	39
Figura 3	Protocolo utilizado nos diferentes grupos tratados em búfalas Murrah no pós-parto, Itororó-BA, 2004.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPc	- Adenosina Monofosfato Cíclico
BE	- Balanço Energético
CL	- Corpo Lúteo
E ₂	- Estradiol
ECC	- Escore da Condição Corporal
FD	- Folículo Dominante
FSH	- Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	- Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IEP	- Intervalo entre partos
IM	- Intramuscular
LH	- Hormônio Luteinizante
P ₄	- Progesterona
PGE ₂	- Prostaglandina PGE ₂
PGF _{2α}	- Prostaglandina PGF _{2α}
PGFM	- Metabólito da Prostaglandina
PGs	- Prostaglandinas
CUPG	- Corno Uterino Previamente Grávido
PS	- Período de Serviço
RIA	- Radioimunoensaio
WGr	- Greenwich

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO LITERATURA	18
2.1 Regulação Endócrina do Ciclo Estral	18
2.2 Ciclo Estral e Dinâmica Folicular nas búfalas	19
2.3 Puerpério	24
2.3.1 Involução Uterina	24
2.3.2 Biópsia	28
2.4 Retorno da Atividade Cíclica Ovariana no Pós-parto	30
2.5 Utilização da Prostaglandina $F_{2\alpha}$ no Puerpério imediato	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 Local do Experimento	38
3.2 Seleção e Manejo dos Animais	39
3.3 Constituição dos Grupos Experimentais e Tratamentos	40
3.4 Exames de Acompanhamento Ginecológico	42
3.5 Biópsia Uterina: Coleta e Processamento do Material	43
3.6 Variáveis Estudadas	43
3.7 Análise Estatística	44

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Involução Uterina	45
4.2 Exame Histológico do Útero	48
4.3 Atividade Cíclica Ovariana do Pós-parto	50
4.4 Utilização do Cloprostenol no Puerpério Recente	52
5. CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
APÊNDICE	
ANEXOS	

1. INTRODUÇÃO

A crescente explosão mundial da população humana nos leva a um grande desafio em busca da eficiência em produzir cada vez mais, em menor espaço de tempo e a baixo custo, alimentos nobres de alto valor biológico.

Os Bubalinos vêm tornando-se uma fonte alternativa viável na produção de proteínas de origem animal de alto valor biológico, de forma econômica, por tratar-se de um animal de grande rusticidade, associado a sua grande capacidade de adaptação, precocidade, longevidade, com vida útil próxima a 15 anos. Apresenta taxas de natalidade superior a 80% e de mortalidade inferior a 3% ao ano (MOREIRA *et al.*, 1994) com elevadas taxas de produtividade como produtoras de carne e leite, sendo mais eficientes do que os bovinos para converter forragem grosseira em leite, pois necessitam apenas de 10.000 Kcal, enquanto os bovinos de 15.000 Kcal para produzirem 1 kg de leite.

No Brasil, encontramos produções médias em búfalas leiteiras na ordem de 1.100 a 1.200 kg de leite por lactação com 8,5 a 10% de gordura que são facilmente encontradas como uma tendência desta produção no Estado de São Paulo direcionadas para fabricação de queijos, principalmente mozzarella e ricota, sendo necessários apenas 5 kg de leite de búfalas para produzirem 1 Kg de queijo comparados à necessidade de 8 a 10 kg de leite bovino para produzirem o mesmo queijo (VALE, 1999).

A carne bubalina dentro da cadeia produtiva brasileira já é reconhecida como um produto diferenciado por apresentar características similares à carne bovina, sendo do ponto de vista nutricional, mais magra e com menos 40% de colesterol e 55% de calorias e, mais 11% de proteínas e 10% de minerais (MADELLA-OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Os bubalinos ainda podem ser usados como força de trabalho e ocupar desde áreas nobres até as não totalmente habitadas por outras espécies de interesse pecuário. Segundo Baruselli (1993) o búfalo torna possível ao pequeno produtor uma atividade rentável, mesmo em regiões adversas à pecuária convencional.

A bubalinocultura mundial vem crescendo num ritmo mais acelerado que a bovinocultura refletindo assim, o crescente interesse mundial por esta espécie. Entre os anos de 1984 a 2004, ocorreu um aumento de 30% da população bubalina no mundo em contrapartida a um aumento de 6,8% da população bovina. No Brasil, neste mesmo

período observou-se um aumento de 50% da população bovina e bubalina, com um efetivo em 2004 de 192 milhões de bovinos, conquistando o patamar de maior rebanho comercial do mundo e o 11º rebanho mundial de búfalos com 1,2 milhões de cabeças (FAO, 2005). A região Norte é detentora do maior rebanho bubalino com 64%, seguida respectivamente, pelas regiões Sul com 12%, Nordeste 10%, Sudeste 9% e a Centro-Oeste 5%.

Dos Estados do Nordeste, a Bahia está em segundo lugar com uma população de 18.434 animais, representando 16% do rebanho, sendo primeiro o Maranhão com 67% (ANUALPEC, 2005). Segundo Moura (1995) e Cassiano *et al.* (2003) o rebanho brasileiro é formado basicamente pelas raças Jafarabadi, Murrah, Mediterrâneo e Carabao. O tipo Baio, embora não seja considerada uma raça pela Associação Brasileira de Criadores de Bubalinos (ABCB) apresenta características interessantes à pesquisa e está, juntamente com a raça Carabao, em risco de extinção e descaracterização (CASSIANO *et al.*, 2003). Os búfalos estão incluídos no grupo dos bovinos, uma sub-família da família *Bovidae*. Há dois grupos principais de búfalos domésticos, o gênero *Bubalus*, espécie *Bubalus bubalis*, incluindo o búfalo de rio ou leiteiro com $2n = 50$ cromossomos e o do pântano ou Carabao, com $2n = 48$ cromossomos.

Diversos pesquisadores (Del Rei & Carvalho, 1995; Bartolomeu *et al.*, 1999 e Baruselli & Carvalho, 2003) vêm trabalhando na tentativa de tornar cada vez mais produtiva a espécie bubalina, a qual, atualmente participa com 12,4% da produção de leite e 1,2 % de toda carne produzida no mundo (FAO, 2005). A observação destes dados demonstra a potencialidade da bubalinocultura como atividade primária emergente, podendo contribuir ainda mais para o atendimento da demanda alimentar. No entanto, torna-se necessário de forma progressiva, que novos trabalhos sejam realizados para dotar este segmento pecuário de biotecnologias direcionadas à melhoria da eficiência produtiva e reprodutiva, maximizando a rentabilidade da atividade e possibilitando à população mais uma fonte alternativa de alimentos nobres. Ressalta-se que para alcançar resultados satisfatórios na utilização de quaisquer biotécnicas se faz necessário a observação de alguns requisitos básicos tais como: nutrição adequada, suplementação mineral correta, controle sanitário, controle reprodutivo e gerenciamento.

Um dos aspectos que necessita de um maior auxílio no que tange ao desenvolvimento de biotécnicas na reprodução bubalina é a redução do intervalo entre partos. O uso da prostaglandina exógena na involução uterina para um retorno à

atividade reprodutiva mais rápido nas búfalas necessita de maiores estudos para elucidar algumas lacunas e sedimentar conhecimentos já desenvolvidos em outras espécies. Para um rápido retorno à atividade reprodutiva é importante que ocorra uma involução uterina num menor espaço de tempo, caso contrário será observado um maior intervalo entre partos, o que limitaria a permanência desta fêmea na fase produtiva - quantidades de lactações e de bezerros - durante sua vida útil.

Esse processo envolve modificações na camada interna de revestimento e também na atividade contrátil do miométrio para expulsão do conteúdo remanescente pós-parto e também redução do volume uterino. A atividade da camada muscular uterina (miométrio) após o parto está relacionada à estimulação provocada pela prostaglandina $\text{PGF}_{2\alpha}$. Esta substância é produzida pelas células endometriais do útero e é responsável pela correta involução uterina no pós-parto em tempo normal e retorno mais rápido da atividade cíclica ovariana, evidenciando uma interação entre o útero e os ovários no período pós-parto, uma vez que variações da concentração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ endógena estão associadas com o retorno da atividade cíclica.

A relação entre a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o crescimento folicular decorre do aumento da atividade mitogênica dos folículos favorecidos pela $\text{PGF}_{2\alpha}$. Dentro do âmbito da fisiologia reprodutiva da búfala comparando-se com bovinos. Vasconcelos (2000), afirma que o uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena deverá apresentar um efeito satisfatório no incremento da fertilidade e performance produtiva.

Percebe-se desta forma, que quanto mais maximizada for a produção, através da utilização de biotécnicas, maior será a exigência para uma melhor eficiência reprodutiva, a qual segundo Andrade Moura (2005) pode ser simbolicamente configurada por um triângulo equilátero em que a sua base está representada por Fecundidade (capacidade de produzir gametas viáveis) e seus lados compostos por Fertilidade (capacidade de produzir crias vivas) e Prolificidade (capacidade de produzir maior quantidade de crias vivas em sua vida).

Em virtude da busca por uma eficiência produtiva dos rebanhos, basicamente no manejo reprodutivo como sendo parte importante no programa de produção animal, e conseqüentemente, na rentabilidade da atividade, este estudo foi realizado procurando conhecer mecanismos da involução uterina que possibilitem um rápido retorno à vida reprodutiva, visando a diminuição do período do puerpério e o retorno ao ciclo estral, estro e nova gestação.

Este trabalho objetivou verificar a eficiência da aplicação de diferentes doses do cloprostenol-sódico, um análogo sintético da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Cionsin[®] Schering-Plough Coopers, São Paulo, SP) com o tempo de involução uterina de búfalas e a influência deste tratamento na performance reprodutiva futura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Regulação endócrina do ciclo estral

O ciclo estral compreende os eventos reprodutivos que ocorrem entre dois períodos consecutivos de receptividade sexual (estro ou cio). A regulação desse ciclo é determinada por mecanismos endócrinos e neuro endócrinos que envolvem, principalmente, o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), o hormônio luteinizante (LH), o hormônio folículo estimulante (FSH), o estradiol (E_2), a progesterona (P_4), a inibina e a prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) (MARQUES JR., 1993)

O GnRH é sintetizado por neurônios hipotalâmicos e secretado por núcleos de liberação tônica (basal) e núcleos de liberação pré-ovulatória sob a forma de pulsos, os quais atingem a adenohipófise através do sistema porta-hipotálamo-hipofisário onde determinam a secreção, pelo mesmo mecanismo, de núcleos de liberação tônica (basal) e núcleo de liberação pré-ovulatória dos hormônios FSH e LH e estes induzem a secreção dos esteróides gonadais, os quais realizam controle, através de um mecanismo de retro alimentação (positivos em determinados momentos e negativos em outros). Esses hormônios gonadais também atuam no hipotálamo, hora estimulando núcleos de secreção tônica e bloqueando núcleos de liberação pré-ovulatória e vice-versa (GRUNERT *et al.*, 2005).

O FSH secretado pelas células basófilas da adenohipófise atua nos ovários promovendo desenvolvimento folicular com formação de receptores para FSH e LH, além de estimular a síntese estrogênica. A regulação do FSH ocorre quando determinadas concentrações plasmáticas de estradiol atingem os núcleos hipotalâmicos de liberação pré-ovulatória de GnRH, determinando a secreção deste hormônio que, ao chegar a adenohipófise, irá sensibilizá-la para que sua ação possa inibir a secreção de FSH e estimular a secreção pré-ovulatória de LH. Outro mecanismo de regulação é através da secreção ovariana da inibina (produzidas pelas células da granulosa do folículo dominante) que inibe a secreção de FSH, inibindo o crescimento de outros folículos recrutados nas ondas foliculares (PALHANO *et al.*, 2003).

O LH secretado pela adenohipófise é regulado pela progesterona e pelo estradiol ovarianos. Durante a maior parte do ciclo estral, esses dois hormônios inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (GOODMANN & KARSCH, 1980; PRICE e WEBB, 1988). O LH é liberado sob a

forma de pulsos que variam em frequência e amplitude (HAUGER *et al.*, 1977; RAHE *et al.*, 1980). Após a luteólise, realizada pela PGF_{2α}, a concentração sérica de progesterona cai a níveis inferiores a 1 ng/ml, o que permite o aumento da frequência dos pulsos de LH (GOODMANN & KARSCH, 1980). O aumento na frequência de pulsos de LH estimula a maturação do folículo dominante (FD) que passa a secretar quantidades crescentes de 17β-estradiol (IRELAND & ROCHE, 1987).

O estradiol estimula a síntese de receptores para GnRH na hipófise (SCHOENEMANN *et al.*, 1985) tornando-a mais sensível a esse hormônio (KESNER *et al.*, 1981) ao mesmo tempo em que aumenta a frequência e a amplitude dos pulsos de GnRH (HANSEL & CONVEY, 1983) e estimula a síntese de gonadotrofinas, que resulta no pico de LH (HURNIK, 1987) e, conseqüentemente, na ovulação do folículo dominante (KARSCH *et al.*, 1979, 1997).

2.2 Ciclo estral e dinâmica folicular nas búfalas

A espécie bubalina apresenta estacionalidade reprodutiva mesmo em locais com boa disponibilidade de alimentos durante todo o ano. Esta estacionalidade reprodutiva nos búfalos é influenciada pelo aumento da distância da linha do Equador. A fêmea bubalina é poliéstrica estacional (fotoperíodo negativo). A variação na concentração sanguínea de melatonina sinaliza a estação do ano para o sistema reprodutivo enquanto o aumento na concentração plasmática de melatonina após o pôr do sol é menor em indivíduos menos sensíveis ao fotoperíodo. Animais pertencentes aos rebanhos localizados próximos à linha equatorial, apresentam uma estacionalidade reprodutiva influenciada mais por fatores nutricionais do que o Fotoperíodo (ZICARELLI, 1997).

O ciclo estral na fêmea bubalina tem duração média de 21 dias (HAFEZ, 2003). Este pode ser dividido em três fases, sendo a primeira proliferativa ou estrogênica (fase folicular), a segunda secretória ou progesterônica (fase luteínica) e a terceira com involução do endométrio e déficit de progesterona (fase de luteólise) (PALHANO *et al.*, 2003).

Segundo Bo *et al.* (2000) a fase folicular ou de regressão luteal começa com a luteólise, na qual as concentrações de progesterona sanguíneas declinam abruptamente a níveis menores de 1 ng.ml⁻¹ e permitem o aumento da frequência dos pulsos de LH que, por sua vez, estimulam o desenvolvimento do folículo dominante. Este folículo

completa seu crescimento e produz altas quantidades de estradiol desencadeando o comportamento do estro e induzindo a descarga pré-ovulatória de LH (Fase Periovulatória). Com a descarga de LH ocorrem: estimulação da maturação folicular final, ativação do oócito para que reinicie a meiose (que se encontra em prófase I, ovócito I) e a ovulação e luteinização das células da granulosa e da teca que formarão o corpo lúteo (CL). Com a formação do CL começa a Fase Luteal. O CL é uma glândula secretória que produz, principalmente, progesterona e ocitocina, sendo a progesterona P_4 necessária para implantação e manutenção da gestação, tendo em sua produção inadequada, a principal causa de infertilidade e morte embrionária (WEBB *et al.*, 2002).

A progesterona é essencial para a ciclicidade normal e após a concepção é o principal hormônio de manutenção da gestação e, caso não ocorra a gestação, o endométrio começa a produzir a $PGF_{2\alpha}$ e libera através de pulsos com duração de uma hora, com repetições a cada seis horas durante 24-30 horas, para que ocorra a luteólise (BENITES, 2002). Este é um mecanismo complexo no qual intervém o estradiol produzido pelo folículo dominante em crescimento (induz a síntese de receptores de ocitocina), a ocitocina (induz a síntese de $PGF_{2\alpha}$) e a $PGF_{2\alpha}$ (que por sua vez estimula a síntese de ocitocina).

Segundo Vale (1988), o ciclo estral em bubalinos pode ter variação conforme o sistema de manejo e do grupamento genético criado, sendo observados na literatura variações na duração entre 18 a 32 dias com uma média de 23-24 dias, apresentando uma duração estral média de 21,7 h com uma variação de 12 a 36 h, ocorrendo a ovulação após o início do estro no período de 24 a 36 h, tendo sua maior ocorrência de estro noturno.

Porto Filho *et al.* (1999) em estudo realizado com novilhas bubalinas de 24 a 30 meses, pelo sistema de radiotelemetria, observaram estro com duração média de $12,1 \pm 6,2$ h (variação de 1,0 a 24,9 h) com uma média de montas de $22,9 \pm 17,2$ (variação de 3 a 80) e duração de dois segundos por monta. O tempo para ocorrência da ovulação foi de $30,3 \pm 5,5$ h (variação de 19,9 a 43,5 h) do início do cio e de $18,1 \pm 4,7$ h (variação de 7,5 a 37,1 h) do final do estro.

O controle fisiológico do recrutamento, da seleção, do crescimento, da dominância e da atresia de folículos ovarianos em bovinos ainda não está completamente esclarecido. Até recentemente, os estudos relacionados à dinâmica folicular ovariana limitavam-se à observação dos ovários após o sacrifício do animal ou

ovariectomizado e a um reduzido número de avaliações realizadas em um mesmo animal por procedimentos cirúrgicos.

Com o advento da ultra-sonografia, essa linha de investigação tem progredido rapidamente. Pierson & Ginther (1987) afirmam ter sido possível distinguir os três principais componentes ovarianos – folículos, corpos lúteos (CL) e estroma – por meio de ultra-sonografia, o que levou a concluir que esse é um método seguro de identificação, medição de folículos, detecção de CL e cavidades luteínicas em novilhas e, portanto, poderia ser útil para estudar alterações ovarianas na vaca.

O estudo da dinâmica folicular durante o ciclo estral pode ajudar a esclarecer os fenômenos que interferem na sincronização do ciclo estral e na ovulação, colaborando, assim, para o incremento da fertilidade. A dinâmica folicular ovariana tem sido definida como o processo de crescimento contínuo e de regressão de um grupo de folículos, entre os quais um se desenvolve até o estágio de folículo pré-ovulatório (LUCY *et al.*, 1992).

Pesquisas endocrinológicas e ultra-sonográficas demonstraram que o crescimento folicular durante o ciclo estral em bovinos ocorre em ondas (SÁVIO *et al.*, 1988; SIROIS & FORTUNE, 1988; DRIANCOURT, 1991; FORTUNE *et al.*, 1991). O crescimento dos folículos ovarianos em bovinos (GINTHER *et al.*, 1989; BO *et al.*, 1994) e bubalinos (BARUSELLI & CARVALHO, 2003) tem um padrão denominado ondas de crescimento folicular, onde num ciclo estral há a emergência de duas ou três ondas de crescimento folicular (BARUSELLI, 1997b; BINELLI, 2000; BO *et al.*, 2000).

Em cada onda de crescimento folicular desenvolve-se um folículo dominante, que suprime o crescimento dos outros folículos menores. Os folículos dominantes que crescem e atingem seu diâmetro máximo no meio do ciclo estral sob altos níveis de progesterona, não ovulam e iniciam o processo de regressão permitindo o início de uma nova onda de crescimento folicular. O folículo dominante que se desenvolve durante a última onda de crescimento folicular de cada ciclo estral é o folículo ovulatório (LUCY *et al.*, 1992). Baruselli *et al.* (1997) observaram maior número de búfalas (63,3%) com ciclos de duas ondas de crescimento folicular. Contudo, é consenso que o número de ondas de crescimento folicular está associado à duração do ciclo estral.

No que diz respeito à dinâmica folicular em bubalinos no Brasil, Del Rei *et al.* (1991), Baruselli (1997a), Bartolomeu *et al.* (1999), implementaram estudos utilizando a ultra-sonografia para definir os padrões de desenvolvimento dos folículos nessa espécie.

Os primeiros trabalhos relacionados sobre crescimento folicular em bubalinos foram realizados por Singh *et al.* (1984) que observaram a presença de estruturas ovarianas durante o ciclo estral em novilhas da raça Surti. Estes autores notaram, pela palpação retal, que 65,4% das novilhas cíclicas apresentavam folículos com diâmetro (> 8 mm) no meio do ciclo entre o 9º e o 13º dia. Utilizando a histologia ovariana, Danell (1987) observou duas ondas de crescimento folicular em novilhas bubalinas: a primeira onda inicia-se no 3º dia e permanece até o 13º dia do ciclo, enquanto a segunda começa no 9º dia e mantém-se até o término do ciclo estral. Essas fêmeas bubalinas apresentavam comportamento folicular semelhante àquele apontado para bovinos por BO *et al.*, (2000).

Danell (1987) assegura que a histologia ovariana demonstra a existência de uma população estimada de 12.636 e 10.136 folículos primordiais em novilhas bubalinas cíclicas e não cíclicas, respectivamente. Segundo o autor, esse número é bastante reduzido quando comparado aos 50.000 folículos primordiais de novilhas bovinas. O número de folículos (> 1 mm) também difere entre as duas espécies, pois os bovinos possuem aproximadamente 90 folículos, enquanto que as búfalas apresentaram apenas 46,3. O número de folículos atrésicos também difere entre as duas espécies: em bubalinos, 43% dos folículos em desenvolvimento tornam-se atrésicos, o que ocorre com 50% dos folículos em desenvolvimento nos bovinos. Le Van *et al.* (1989) também observaram a existência de menor número de folículos antrais na espécie bubalina que na espécie bovina. Estes autores notaram que os ovários de bubalinas possuem 20% dos folículos antrais encontrados nos ovários de bovinos ($47,5 \pm 23,8$ vs $233,01 \pm 95,8$; respectivamente).

Baruselli & Carvalho (2003) não observaram diferenças significativas quanto ao diâmetro máximo do primeiro folículo dominante e ao diâmetro máximo do folículo ovulatório em ciclos de duas ondas ($1,51 \pm 0,24$ vs $1,55 \pm 0,16$ cm) e em ciclos de três ondas de crescimento folicular ($1,33 \pm 0,18$ vs $1,34 \pm 0,13$ cm). No entanto, diferenças estatisticamente significativas foram constatadas quanto ao diâmetro máximo do primeiro folículo dominante ($1,51 \pm 0,24$ Vs $1,33 \pm 0,18$ cm) e do folículo ovulatório ($1,55 \pm 0,16$ Vs $1,34 \pm 0,13$ cm) entre ciclos de duas e de três ondas de crescimento folicular.

Trabalhos voltados ao estudo da dinâmica folicular durante o ciclo estral da búfala no Brasil demonstraram que a dinâmica folicular dessa espécie é similar aos bovinos, com maior frequência de ciclos de 2 e de 3 ondas de crescimento folicular e

que o número de ondas foliculares durante o ciclo estral está associado à duração da fase luteal e do ciclo estral (DEL REI *et al.*, 1991; BARUSELLI., 1997a; BARUSELLI *et al.*, 1997 e BARTOLOMEU *et al.*, 1999; BARTOLOMEU, 2003).

O restabelecimento da dinâmica folicular em bubalinos é similar à observada em bovinos, tendo maior frequência os ciclos de 22 dias com duas ondas de crescimento folicular em contrapartida ao de três ondas. Foram observados no pós-parto, ciclos de curta duração com 13 dias relativos à ocorrência de uma onda de crescimento folicular com baixos níveis P₄, estando a duração da fase luteal e do ciclo estral associados ao número de ondas de crescimento folicular (USMANI *et al.*, 1985; BARUSELLI *et al.*, 2003).

Nas raças do rio, o primeiro cio pós-parto acontece ao redor de 42 dias e nas búfalas egípcias ocorre em torno de 44 dias, sendo relatado um limite de 120 e 147 dias respectivamente. A estação de parição é um dos fatores que estão envolvidos, sendo que os partos na primavera e no verão tiveram os maiores intervalos entre as coberturas. O estro ocorrido dentro dos primeiros 30 dias pós-parto é geralmente infértil, e a concepção melhora progressivamente com intervalos maiores de cobertura (BHATTACHARYA & ROY 1991).

Del Rei *et al.* (1991) estudando a correlação da involução uterina e primeiro cio pós-parto de fêmeas bubalinas da raça Murrah observaram que o aparecimento do primeiro cio das primíparas foi de $31,6 \pm 2,0$ dias com a involução uterina ocorrendo entre 20 a 25 dias pós-parto, enquanto que nas pluríparas o primeiro cio pós-parto foi observado com $35,5 \pm 2,4$ dias com a involução uterina ocorrendo entre 25 a 30 dias pós-parto.

Um outro aspecto a ser considerado diz respeito ao equilíbrio energético corporal, o qual é considerado o principal fator de influência nos processos reprodutivos. O balanço energético (BE) negativo prolongado ($\cong 20\%$ de perda de peso vivo) no pós-parto prejudica o retorno a ciclicidade ovariana. Em bubalinos tal qual em bovinos existe uma forte influência do (BE) negativo, o qual ocorre no início da lactação, tendo como conseqüência a ausência de ovulação (RICHARDS *et al.*, 1989; HEGAZY *et al.*, 1994). A baixa ingestão de matéria seca ou longos períodos de restrição alimentar interfere no desenvolvimento folicular, os quais crescem, mas em seguida entram no processo de atresia por insuficiência de LH circulante (RHODES *et al.*, 1995).

O balanço energético negativo tem correlação significativa com a redução do escore da condição corporal (ECC) e da perda de peso durante os quatro primeiros meses do período lactacional, causando longos períodos de serviço e diminuição da eficiência reprodutiva futura (BHALARU *et al.*, 1987). Por isso, é importante que as búfalas apresentem um bom ECC (1 magra e 5 gorda) na parição, pois as reservas de lipídios são mobilizadas para compensar as necessidades nutricionais neste período de maior demanda.

O ECC e a amamentação têm efeitos significativos sobre o período de inatividade ovariana das vacas que manifestam estro durante as primeiras 13 semanas pós-parto, uma vez que as vacas que apresentaram bom ECC ao parto ou aquelas com amamentação restrita apresentam período de inatividade ovariana mais curto, em relação aquelas com ECC inferior ao parto ou com amamentação à vontade (BUSTAMANTE *et al.*, 1997).

Em estudo realizado por Ribeiro Filho *et al.* (2003) pôde ser observado a influência do ECC sobre a taxa de prenhez em búfalas leiteiras. Foram encontrados taxa de prenhez superiores para o grupo com ECC maior que 2,5 em comparação ao grupo com ECC menor ou igual a 2,5 (90% vs 50% respectivamente).

Segundo Baruselli (2000), búfalas que apresentaram boas reservas corporais no momento do parto (3,0 a 3,5 de ECC) tiveram desempenho reprodutivo satisfatório, sendo observados melhores índices reprodutivos com ECC maior ou igual a 4,0 no primeiro cio pós-parto: a) maior taxa de prenhez, b) menor percentual de anestro, c) menor número de doses de sêmen ou de serviços por concepção, d) redução no período de serviço e e) maior taxa de gestação. Por outro lado, as búfalas que pariram magras com ECC menor ou igual a 2,5 obtiveram os mais baixos índices reprodutivos, o que também foi observado por Guido *et al.* (1999).

2.3 Puerpério

2.3.1 Involução uterina

O puerpério fisiológico pode ser dividido em três fases, começando propriamente após o delivramento dos anexos fetais no período de seis e oito horas após o parto.

Primeira fase denominada de puerpério recente, onde neste período inicial ocorre a maior parte da involução uterina e, nessa fase, a hipófise passa a ser sensível ao GnRH

(entre o 7^o e 14^o dia pós-parto). O final do puerpério recente ocorre por volta do 10^o dia após o parto, sendo seu término marcado pela cessação da eliminação dos lóquios.

Segunda fase denominada de puerpério clínico que engloba o puerpério recente e estende-se até aproximadamente 21 dias após o parto, sendo que ao final dessa fase ocorre a completa involução uterina com o útero retornando as condições de órgão não gestante. Na fase final do puerpério clínico e início do puerpério tardio entre 15 e 30 dias pós-parto, ocorre o início da atividade ovariana.

Terceira fase é denominada de puerpério tardio que vai do 21^o até o 42^o dia após o parto. Ao final do puerpério tardio, o exame histopatológico de biópsia uterina não apresenta alterações do endométrio, estando o útero a partir deste momento apto a uma nova gestação (GRUNERT *et al.*, 2005).

No puerpério são observadas alterações uterinas e fisiológicas importantes tais como: involução uterina, com diminuição do peso e volume, aumento do tônus, regeneração endometrial e reativação da atividade endócrina do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, levando a retomada do ciclo estral. (MARQUES JÚNIOR, 1993; MOURA, 1995).

No pós-parto imediato de bubalinos e bovinos entre 48 e 72 horas o útero é um órgão volumoso e flácido, situando-se no assoalho da cavidade abdominal, apresentando um comprimento em torno de um metro e peso variando entre 9 a 10 kg (MORROW *et al.*; 1966; CHAUHAN *et al.*, 1977; KAIDI *et al.*, 1991). Logo após o parto normal dos bovinos, a massa uterina que pesa aproximadamente 10 kg, diminui para 0,7 a 0,8 kg até a sexta semana pós-parto, observando uma redução em mais de 10 vezes o seu tamanho, após total involução uterina (WILT BANK, 2000).

Na espécie bovina, a redução do tamanho uterino 24 horas após o parto ocorre devido às contrações das fibras musculares, as quais podem acontecer a intervalos de três a quatro minutos. Kaidi *et al.* (1991) afirmam que este processo está associado à redução em tamanho das miofibrilas de 700-750 µm no parto para menos de 500 µm um dia após e para 200 µm no terceiro dia. Já a redução da carúncula ocorre por três processos: desaparecimento do tronco caruncular, dissolução da parede superficial da carúncula e a vasoconstrição no tronco caruncular.

Após a ocorrência da gestação o corno grávido é consideravelmente maior do que o corno não grávido, sendo, no entanto, que ambos os cornos são deficientes em tônus muscular. O útero involui mais rapidamente nas fêmeas primíparas (HAFEZ, 2003).

O processo de involução envolve modificações na camada interna de revestimento, na atividade contrátil do miométrio, para expulsão do conteúdo remanescente pós-parto e redução do tamanho do útero. Kirakofe (1980) aponta que logo após a expulsão fetal e da placenta, o útero inicia uma fase involutiva que conduz à reparação de um ambiente apropriado para o estabelecimento de uma nova concepção.

A involução uterina resulta do envolvimento de três processos: histo-fisiológico, contração, perda e reparo tecidual (SCHIRAR & MARTINET, 1982). Chagas *et al.* (1998) em trabalhos de avaliação histológica do útero no pós-parto, relatam que a involução uterina pode ser comparada a um processo de reação inflamatória em que observaram uma involução uterina mais rápida em animais que apresentaram achados evidentes de processo inflamatório uterino.

Deste modo, pode-se dizer que a involução uterina é dependente das contrações miometriais, eliminação bacteriana, eliminação do lóquios ou corrimento uterino e regeneração endometrial (MARQUES JÚNIOR, 1993).

A involução do útero na espécie bubalina acontece de forma rápida conforme observaram Soares *et al.* (1985) em que a completa involução se deu aos $29,7 \pm 7,4$ dias pós-parto conduzindo-se com rapidez nas três primeiras semanas. O que está em concordância com os achados de Del Rei *et al.* (1991) que foram de 25 dias para primíparas, enquanto para as múltíparas foram de 30 dias com uma média de 27,5 dias.

Um maior percentual de involução uterina se dá em torno de 30 a 60 dias e sabe-se que alterações durante o puerpério influem diretamente sobre o aparecimento do primeiro estro fértil pós-parto (PARGAONKAR & KAIKINI, 1974; RAO *et al.*, 1983). No entanto, Vale (1988) cita que a involução uterina se faz com muita rapidez, sendo que a descarga de lóquio Rubra, ocorre entre 24 e 96 horas após o parto e a descarga de lóquio Alba entre 16 a 20 dias.

Segundo Donkin (1980), o processo de involução uterina é realizado em duas fases distintas: a primeira, mais rápida e de fácil constatação (até o 17º dia pós-parto) sendo que, durante a primeira semana com eliminação de conteúdo denominado lóquios, constituído de muco, sangue e restos de membranas fetais. A segunda fase, mais lenta e menos definida, ocorrendo retorno do útero à cavidade pélvica, com cornos uterinos simétrico ou com pequena assimetria. Provavelmente por isso, alguns pesquisadores preferem limitar suas observações até um determinado período do pós-parto.

No processo de involução uterina, deve-se observar a interferência de alguns fatores tais como: manejo, raça, sanidade e alimentação (VALE *et al.*, 1986; DEEVER, 1997). Na espécie bubalina, ainda deve-se acrescentar como fatores que interferem na involução uterina, a estação do ano, especialmente nos animais criados em localidades distantes da região equatorial, cujo comportamento reprodutivo são influenciados positivamente pela diminuição de horas de luz do dia (ZICARELLI, 1990). Considera-se ainda, que o tipo do parto e a retenção de placenta possam dificultar a involução uterina por interferir na manutenção das contrações miométriais, favorecendo ao crescimento bacteriano.

Quanto à localização do útero durante o processo de involução uterina, estudos com rebanho bovino leiteiro, mostraram que em 95% das partições, o útero encontrava-se na cavidade abdominal na primeira semana pós-parto; na segunda semana 8,2% dos úteros já estão localizados na cavidade pélvica; na terceira, quarta e sexta semanas 20,6%, 53,7% e 82,9%, respectivamente, as fêmeas já apresentam completa involução dos cornos uterinos, com média de duração de $29,7 \pm 9,6$ dias e amplitude de variação de 14 a 67 dias.

Em relação à quinta semana os autores observaram que algumas vacas pluríparas apresentavam o útero ainda na cavidade abdominal ou em transição entre a cavidade abdominal e a pélvica, aparentemente sem que houvesse problemas, o que não foi identificado em vacas primíparas (SANCHEZ *et al.*, 1999).

No que se refere à completa involução uterina em búfalas, Soares *et al.* (1985) observaram que esta ocorre aos $29,8 \pm 7,5$ dias pós-parto, sendo conduzida com maior rapidez nas três primeiras semanas. Já em estudos realizados por Bhattacharya & Roy (1991) o tempo médio para completa involução uterina em búfalas Murrah, foi de 39 dias, com variação de 15 a 67 dias. Tendo o tempo de retração uterina efeito significativo sobre a duração do intervalo do parto até a concepção subsequente.

Ainda podem ser observados na literatura dados variações quanto ao período de involução uterina em trabalhos como os de Luketuke & Roy (1964) com 39,3 dias, Chauhan *et al.* (1977) com 33,68 dias; Vale *et al.* (1986) com 28,6 dias; Devanathan *et al.* (1987) com 36 dias; Perera *et al.* (1987) com 32,9 dias; Del Rei *et al.* (1991) com 27,5 dias e Baruselli *et al.* (1996) com 25,23 dias.

A taxa de involução uterina é mais significativa em vacas que amamentavam suas crias, comparado com as que não amamentavam ou as que eram ordenhadas duas vezes ao dia nos primeiros 30 dias pós-parto. Isto ocorre devido ao estímulo da mamada

pela cria no pós-parto atuando de forma indireta, mas benéfica neste processo, promovendo a liberação de ocitocina pela neurohipófise. A ocitocina é um potente estimulante das contrações da musculatura lisa uterina previamente sensibilizada pelos estrógenos liberados durante o parto (PETERS & LAVEN, 1996; HAFEZ, 2003).

Nas búfalas do pântano, em amamentação, a involução uterina ocorre por volta dos 28 dias, enquanto que em búfalas do rio, ordenhadas manualmente, ocorre em torno de 45 dias, sendo observado a influência de alguns fatores tais como: tipo de parto, tipo de manejo (amamentação e ou ordenhadas) e produção de leite (JAINUDEEN & HAFEZ, 2003). Ainda, o tempo de involução uterina segundo Perera *et al.* (1987), apresenta correlação positiva sobre o aparecimento do primeiro cio pós-parto, o que também foi observado por Peter *et al.* (1987) e Sheldon *et al.* (2000).

A involução uterina é um dos fatores que devem ser controlados para o rápido restabelecimento da fertilidade no período pós-parto, para que o período de serviço não ultrapasse os 60 dias e o intervalo entre partos não ultrapassem os 12 meses, devido o período de gestação da búfala sempre excede os 300 dias, sendo grande a variação dessa característica, influenciada pela raça, estação do ano, clima, alimentação e pela posição geográfica (VALE *et al.*, 1986).

2.3.2 Biópsia Uterina

O útero da búfala é do tipo bipartido e mede cerca de 27,0 cm de comprimento (VALE *et al.*, 2002). A parede do órgão consiste de três camadas principais: 1) fina camada de revestimento ou perimétrio; 2) grossa camada muscular ou miométrio e, 3) camada de revestimento mucoso interno ou endométrio. O perimétrio é composto de tecido colágeno semidense, recoberto por um mesotélio peritoneal, à exceção de sua parte posterior. O miométrio é formado por uma camada muscular interna e uma camada muscular circular, encontrando-se entre as duas, o sistema vascular. O endométrio é diferenciado em duas partes: a área intercotiledonária e as carúnculas, as quais são os sítios de junção do útero com as membranas fetais. Esta mucosa apresenta um epitélio cilíndrico estratificado que penetra no córion até a porção muscular, formando grandes túbulos glandulares com as mesmas características do epitélio superficial (FRANDSON, 1979).

A biópsia endometrial é um procedimento para diagnóstico complementar, indicada, principalmente, através do estudo histopatológico. Esta avalia as condições

estruturais do endométrio, existência ou não de lesões inflamatórias, sua característica aguda ou crônica, permitindo uma decisão mais precisa quanto ao futuro reprodutivo e viabilidade econômica do tratamento. Estudando o endométrio de búfalas, Samad & Ali (1995) concluíram que uma avaliação histológica é importante para o diagnóstico da função endometrial e que a biópsia é um procedimento para esta avaliação.

Para o estudo histológico é necessário coleta de material para biópsia do corno uterino. Sendo os fragmentos coletados com auxílio da pinça de Formel, modelo de Nielson, a qual após limpeza e desinfecção da região perineal é introduzida na vagina encoberta pela camisa sanitária, até o fundo do saco vaginal onde esta camisa é rompida, e a pinça ultrapassa a cérvix e fixando no corno uterino previamente grávido para coleta do fragmento. O material deve ser acondicionado, conservado, identificado e processado em laboratório para avaliação dos parâmetros qualitativos do endométrio como: presença e intensidade de infiltrado inflamatório no revestimento epitelial; presença e intensidade infiltrado inflamatório no estroma dos estratos compacto e esponjoso e grau de atividade secretora das glândulas endometriais (CHAGAS *et al.*, 1998).

Nogueira (1994), trabalhando com vacas zebuínas, obteve índices de 86,2% de sucesso em biópsias aos 31 dias pós-parto. Dos fragmentos coletados conseguiu 84% de lâminas classificadas como aptas para o diagnóstico da condição uterina. Ainda segundo o autor, o epitélio endometrial estava presente em 100% das lâminas e as glândulas endometriais em 90,4%. Os úteros em involução apresentaram degeneração das glândulas endometriais, qualificadas como média ou intensa. Os vasos sanguíneos estavam normais, sem sinais de degeneração em 76,2% dos animais.

Gier & Marion (1968) observaram que a regeneração do epitélio uterino inicia-se imediatamente após o parto nas áreas não comprometidas com a gestação. Já McEntee (1990) registrou que no 2º dia do puerpério, o epitélio intercaruncular está intacto e consiste de tecido colunar pseudoestratificado, alterando-se no 4º dia, passando a ser colunar cúbico. Entre o 12º e 15º dia do período pós-parto o tecido necrosado desprende-se por completo da superfície caruncular do útero das fêmeas bovinas (WAGNER & HANSEL, 1969).

Bonnett *et al.* (1991) por sua vez reportaram que a presença de epitélio intacto ao longo da biópsia é rara, e que, somente em 26% dos casos não houve epitélio que pudesse ser quantificado e qualificado como colunar e ocasionalmente cuboidal em 90 a 99% dos exames.

Nogueira (1994) verificou a ocorrência de edema intersticial 71,4%, sendo observado nas secções e qualificado como médio ou intenso nos úteros em involução. Neste aspecto, Bugner (1981) observou discreto edema da lâmina própria até o 15º dia do puerpério em vacas nelore, o que não foi observado após o 20º dia do puerpério.

McEntee (1990) observou após a realização de necropsias em fêmeas bovinas que no segundo dia após o parto, as glândulas na zona esponjosa estavam dilatadas, revestidas por epitélio colunar e envolvidas por fibras colágenas. Do quinto ao nono dia as glândulas apresentavam-se com dilatação moderada, outras com lume estreito, epitélio colunar baixo, com reduzida função mitótica, núcleos picnóticos e presença de macrófagos com pigmentos no lume e ao redor das mesmas. O restante das glândulas apresentava-se com lume pequeno e revestido por epitélio colunar e macrófagos com pigmentos.

Archbald *et al.* (1972) reportaram a presença de numerosos remanescentes de células do corioalantóide em necrose, sendo fagocitadas por macrófagos nas criptas maternas ou excretadas com o lóquio no primeiro dia pós-parto, sendo que os referidos remanescentes podem estar presentes após o 11º dia pós-parto.

Células inflamatórias representadas por eosinófilos, neutrófilos, macrófagos e raras células gigantes, se fazem presentes ao redor do tecido necrótico nos primeiros dias do puerpério. As células monucleares nesta fase são de presença dispersa e reduzida, porém cada vez mais freqüentes, inclusive com formação de acúmulos linfóides, a partir do décimo dia do período pós-parto (McENTEE, 1990).

2.4 Retorno à atividade cíclica ovariana no pós-parto

Para se obter a maximização da eficiência reprodutiva, não deve ocorrer atraso do reinício da atividade ovariana e da ciclicidade no puerpério (SHORT *et al.*, 1990). É imprescindível o conhecimento das funções endócrinas e ovarianas no pós-parto, bem como de possíveis fatores que podem alterá-las, tais como: genéticos, nutricionais, hormonais, ambientais, lactação, amamentação, número de partos e a relação mãe/cria (SHAH *et al.*, 1990; WILLIAMS & GRIFFITH, 1995; BATISTA *et al.*, 2001).

As condições climáticas podem interferir positiva ou negativamente no índice de concepção. Os meses de maior número de horas solares são os que apresentam as mais baixas taxas de concepção (LOURENÇO JUNIOR *et al.*, 2001). Na Índia, em fêmeas

Murrah, aproximadamente 70% das concepções ocorrem entre os meses de setembro a novembro, período compreendido entre o final do período chuvoso e o inverno, sendo as parições distribuídas entre os meses de julho a setembro, durante o período chuvoso (JOGI *et al.*, 1998).

Em diversos lugares do mundo o primeiro serviço para concepção é mais elevado no verão com 66% enquanto que no inverno é mais baixo variando de 59 a 62%. No Brasil, Lourenço Júnior *et al.*, (2001) observaram 83% das fecundações ocorrendo entre maio a outubro, sendo que 57% destas ocorreram na época menos chuvosa.

Vários trabalhos em diferentes grupamentos genéticos e ambientes (GANGWAR, 1980, 1985; McCOOL *et al.*, 1987; OBI-REDDY *et al.*, 1987; SHAH *et al.*, 1990; BARUSELLI, 1993; ZICARELLI, 1994) têm apontado que o desempenho reprodutivo na espécie bubalina sofre maior influência dos fatores ambientais que os genéticos. O fotoperíodo, a precipitação pluviométrica, a umidade relativa do ar e a temperatura apresentam efeitos pronunciados sobre a eficiência reprodutiva. Os bubalinos em todo o mundo parecem possuir um comportamento reprodutivo positivamente influenciado pela diminuição de horas luz/dia e/ou da disponibilidade de forragens (GANGWAR, 1980; BARUSELLI, 1993; ZICARELLI, 1994).

De acordo com Zicarelli (1994), a búfala, embora fértil durante o ano inteiro, tem sua atividade sexual aumentada quando há diminuição das horas de luz/dia. O comportamento sexual é inverso em comparação a fêmeas bovinas que apresentam maior frequência de estros quando há aumento de horas luz/dia (SHAH, 1990). Como observados na espécie ovina, o hormônio melatonina produzido pela glândula pineal, parece ser o indicador que sinaliza a mudança de claro/escuro do dia, em bubalinos (BORGHESE *et al.*, 1994; ZICARELLI, 1994).

Na região norte da Índia, a taxa de prenhez é mais alta durante a estação fria (outubro a janeiro) quando os dias são mais curtos e mais baixa durante os meses mais quentes e secos (maio a julho) quando os dias são mais longos (OBI-REDDY *et al.*, 1987).

McCool *et al.* (1987), trabalhando na Austrália com búfalos do pântano, observaram um longo período de anestro pós-parto ($5,8 \pm 3,3$ meses) nas búfalas que pariram no final da estação seca, o que coincidiu com o período em que as condições de forragens foram mais pobres em concomitância ao período de alta temperatura.

Na Região Sudeste do Brasil foi observada a mais alta taxa de prenhez (95,38%) entre os meses de março a agosto quando os níveis de chuva, luz e temperatura eram mais baixos (BARUSELLI, 1992). Resultados similares também foram encontrados no sul do país por Silva & Grodzik (1991).

Brunetta *et al.* (2003) apontam que, na região Amazônica, o tipo de criação tem maior influência sobre o manejo reprodutivo, pois a maior distribuição dos partos concentra-se nos meses de abril a agosto para animais criados em pastagem artificial. Já nas áreas de várzeas, os partos ocorrem entre os meses de outubro a dezembro, parecendo não sofrer influência do fotoperíodo, como preconiza Zicarelli (1999). Mas, há aspectos ligados à influência das águas dos rios e da estação chuvosa que caracterizam a não estacionalidade reprodutiva destes animais nesta região, pelo fato de estarem próximos à linha do equador, onde há pouca variação de insolação durante o ano, a despeito do que ocorre em outras regiões do Brasil.

O peso e ECC ao parto, são indicadores confiáveis que refletem as reservas energéticas corporais e o futuro desempenho reprodutivo pós-parto das fêmeas. Embora estas medidas possam parecer imprecisas ou mesmo subjetivas, os resultados obtidos demonstram ser os mesmos indicadores funcionais do estado energético e do desempenho reprodutivo após o parto (BARUSELLI, 1992).

O efeito do ECC e do peso no momento do parto, as subseqüentes alterações no peso corporal durante a fase inicial da lactação e o futuro desempenho reprodutivo em fêmeas bubalinas foram registradas por Bhalaru *et al.* (1987). Os autores observaram que os animais perdiam peso até quatro meses de lactação e que após esse período recuperam o peso perdido, rapidamente. Sugerindo que tal fato pode ser uma das razões para o longo período de serviço e baixa eficiência reprodutiva na espécie.

Hegazy *et al.* (1994) estudando o efeito do ECC em búfalas egípcias, utilizaram um escore corporal moderado (3-3,5). O intervalo do parto à primeira ovulação e dias abertos foi 47,2 e 81,5 dias, respectivamente, enquanto o número de serviço por concepção foi de 1,25 apresentando diferença significativa ($P < 0,05$) quando comparado às búfalas com ECC inferior a três, onde o intervalo do parto à primeira ovulação e dias abertos foi 62,9 e 95,3 dias, respectivamente, e o número de serviço por concepção de 1,7 às búfalas com ECC inferior a três, no momento do serviço, mostraram um intervalo do parto ao primeiro estro de 80,9 dias comparado aos 59,3 dias daquelas com escore moderado.

Bhalaru *et al.* (1987) quando estudaram o efeito do ECC no parto de búfalas, verificaram que o intervalo do parto ao primeiro estro em fêmeas com escore média e gorda, foi significativamente ($P < 0,01$) inferior (66,2 e 66,9 dias) ao das fêmeas com escore magro (77,7 dias). Ainda observaram que a taxa de gestação máxima (91,7%) foi alcançada quando o ECC era de 3,5 sendo portanto, considerado ideal (padrão) para uma fertilidade máxima.

Em bovinos, Short *et al.* (1990) e Jolly *et al.* (1995) discutiram a hipótese de um modelo de controle da função ovariana após o parto e registraram que a partir do final da gestação não existiria diminuição dos receptores de GnRH na hipófise e o hipotálamo estaria repleto de GnRH. Contudo, para Jolly *et al.* (1995), o conteúdo hipofisário de LH seria baixo em decorrência da ação direta de bloqueio de síntese a esse hormônio exercida pelo esteróides sobre o GnRH e, conseqüentemente, diminuindo a síntese do LH. Logo após o parto a concentração de FSH aumenta, estimulando o desenvolvimento de folículos. O crescimento folicular resulta na produção de 17β estradiol e inibina, e, finalmente, ocorre uma restauração gradual da retroalimentação positiva com liberação pré-ovulatória de gonadotrofinas. A onda pré-ovulatória de GnRH é de alta amplitude e de duração prolongada, aproximadamente 40 vezes acima da onda basal, sendo este aumento de GnRH seguido por alteração pulsátil de LH, detectável na circulação periférica e desta forma, têm-se estabelecidas funções reprodutivas.

Williams & Griffith (1995) enfocaram que as inibições desta inter-relação poderiam ocorrer sob o efeito da sub-alimentação, da amamentação e da relação mãe/cria, intermediada pelos opióides endógenos. Na última década tem sido mostrado que os opióides estão envolvidos no controle da liberação de LH em uma grande variedade de espécies através da supressão da liberação hipotalâmica de GnRH (BROOKS *et al.*, 1986).

Fonseca (1991) aponta a amamentação constante com cria ao pé como estímulo responsável pelo mau funcionamento reprodutivo pós-parto, pois devido a este estímulo e principalmente, em fêmeas com deficiência nutricional, ocorre liberação de opióides endógenos (encefalinas, endorfinas e dinorfinas) contidos em pequenos neurônios do corpo estriado da área pré-óptica do hipotálamo, adrenal, células foliculares ovarianas e outros locais, inibindo assim, a liberação de GnRH.

Em trabalho realizado por Berber *et al.* (2001) no pós-parto das búfalas foi observada influência negativa da lactação sobre a taxa de retorno ao estro, sendo

encontrados os menores valores nas lactantes em comparação às não lactantes (20,3% vs. 86,0%, respectivamente).

O equilíbrio energético negativo e a amamentação reduzem os pulsos de LH, podendo levar a atresia dos folículos pequenos (WILTBANK, 2000). Alterações nas concentrações dos opióides Meta-encefalina e Beta-endorfina foram encontradas por Connor *et al.* (1990) em resposta à mudança da condição corporal ou amamentação, indicando o potencial de envolvimento na regulação neuro-endócrina do eixo reprodutivo após o parto.

El-Fadaly (1980) verificando o efeito da cria ao pé e ordenha manual em búfalas egípcias leiteiras, encontrou um intervalo médio para o primeiro estro no período pós-parto de $59,0 \pm 25,4$ dias para as búfalas ordenhadas, com variação de 22 a 120 dias. Nas fêmeas com bezerro ao pé o intervalo foi de $75, 2 \pm 24,4$ dias, variando de 38 a 135 dias. El-Fouly *et al.* (1976) também encontraram diferenças significativas em búfalas com ou sem a presença de bezerro ao pé.

2.5 Utilização da prostaglandina $F_{2\alpha}$ no puerpério recente

A ação das PGs (PGE e $PGF_{2\alpha}$) endógenas ou exógenas, nos diversos tecidos está relacionada com o estímulo ou inibição da adenilciclase e com a mudança na concentração do AMPc (adenosina monofosfato cíclico). Os mecanismos pelos quais a PGE_2 e a $PGF_{2\alpha}$ produzem a contração uterina não estão completamente elucidados. Sugere-se que esses hormônios se liguem a receptores presentes na membrana celular, modulando a atividade do AMPc. O decréscimo na concentração do AMPc aumenta a atividade da quinase da miosina de cadeia leve causando, conseqüentemente, a contração. Além disso, as prostaglandinas atuam conjuntamente com a ocitocina e promovem um aumento da liberação do cálcio do citosol (OLIVEIRA, 2002).

É importante ressaltar que os receptores para prostaglandinas dos subtipos $F_{2\alpha}$ e E_2 estão acoplados a fosfolipase C, a qual produz mobilização de íons Ca^{++} por meio da liberação de fosfoinositol. Essa mobilização de Ca^{++} é fundamental para a ocorrência da contração uterina (PALERMO-NETO, 2002).

Assim, como nas outras espécies domésticas, o fator luteolítico nas búfalas também é a prostaglandina $F_{2\alpha}$, a qual é produzida no endométrio no final da fase de diestro e no momento do parto, sendo o metabólito utilizado na dosagem sérica, o 15

keto-13,14-dihidro- PGF_{2α} (PGFM) que reflete a síntese e a liberação desse hormônio (BATRA & PANDEY, 1981).

Os efeitos da PGF_{2α} sobre contração da musculatura lisa do útero, processos inflamatórios e aumento do tônus uterino têm sido amplamente divulgados, visto que uma considerável redução no tamanho do útero ocorre no período pós-parto durante o tempo de elevada concentração desta prostaglandina (SPICER & SCHTERNKAMP, 1986; GUILBAULT *et al.*, 1988; BENCHARIF *et al.*, 2000). Assim sendo, a PGF_{2α} pode ser utilizada para melhorar a fertilidade das fêmeas no pós-parto. A sua possível liberação por meio de massagem uterina pode ser utilizada como mais uma ferramenta útil e econômica para elevar a eficiência reprodutiva (LINDELL *et al.*, 1988; VÉLEZ & RANDEL, 1990).

Madej *et al.* (1984) evidenciaram interação entre o útero e os ovários no período pós-parto, uma vez que variações da concentração de PGF_{2α} endógena estão associadas com o retorno da atividade cíclica. O restabelecimento da atividade cíclica com efeito da liberação adequada de gonadotrofinas resulta em posterior crescimento folicular acompanhado por estros detectáveis, ovulações, concepção e formação de corpo lúteo (JOCHLE *et al.*, 1989).

Entre diferentes fatores responsáveis pela baixa eficiência inclui-se o intervalo entre partos que reflete na demora do retorno da ciclicidade ovariana (PEREIRA, 1983). Existem muitas abordagens visando induzir tal ciclicidade, destacando-se as práticas de manejo e o controle sanitário e nutricional. Hansen (1986) observou folículos com diâmetro iguais ou maiores que 8 mm, presentes nos ovários no 7º dia pós-parto sem a presença de corpo lúteo, refletindo provavelmente, ação de fatores endógenos.

Peters (1989) tentando induzir o ciclo estral, verificou que a performance reprodutiva alcançada em vacas, tratadas com PGF_{2α} após o parto, não seria devido a um efeito direto na função hipofisária-ovariana, uma vez que não detectou alteração significativa na frequência e na amplitude do pulso de LH nos animais tratados. Para Villeneuve *et al.* (1988) a relação entre a produção de PGF_{2α} e o crescimento folicular decorreria do aumento da atividade mitogênica dos folículos, favorecida pela prostaglandina.

De acordo com Benites (2002) há um determinado período do ciclo estral das fêmeas dos animais de interesse zootécnico no qual não ocorre resposta ovariana à ação das prostaglandinas chamado de período refratário, que nas seguintes espécies: nos

bovinos e bubalinos, este período é de 5-7 dias após o estro, enquanto que, nos ovinos, suínos e eqüinos é de 4-5, 12-14 e 5 dias, respectivamente.

As prostaglandinas naturais são rapidamente inativadas, tendo meia vida de 1 a 10 minutos; todavia já existem análogos com uma ação mais duradoura em torno de 12 a 24 horas (OLIVEIRA, 2002).

Os análogos sintéticos da $PGF_{2\alpha}$ (Cloprostenol, Dinoprost, Misoprostol, Fluprostenol, Fluprostenol, Luprostil e Prostaleno) são os fármacos mais utilizados para sincronização de estro, controlando a atividade funcional do corpo lúteo em bovinos e bubalinos (ODDE, 1990; DEL REI & CARVALHO, 1995; VASCONCELOS, 1998; MOREIRA, 2002).

No Brasil, sua aplicação no pós-parto destas espécies tem sido pouco empregada. Albuquerque *et al.* (1997) citam os efeitos benéficos na involução uterina de vacas tratadas com cloprostenol, sendo que os melhores resultados obtidos quando a administração foi realizada entre o 12^o e 18^o dia pós-parto.

Vale (1991) observou em búfalas que o endométrio libera uma elevada quantidade de prostaglandina $F_{2\alpha}$ imediatamente após o parto. Esta liberação endógena de $PGF_{2\alpha}$ aumenta o tônus da musculatura lisa e promove a involução uterina. A concentração durante a luteólise é de 900 pg/ml, enquanto o nível basal circulante é de 250 pg/ml. Madej *et al.* (1984); Toribio *et al.* (1994) observaram logo após o parto, que a alta secreção de $PGF_{2\alpha}$ é mantida até o 13^o dia, declinando em seguida até chegar a concentrações basais entre 15^o e o 21^o dia pós-parto.

Segundo Vasconcelos *et al.* (2000) a aplicação da $PGF_{2\alpha}$ nas primeiras horas pós-parto foi efetiva na redução da incidência de retenção de placenta, principalmente nas vacas que anteciparam o parto (<280 dias). A ação miotônica ou miocontrátil da prostaglandina endógena sobre o útero é potencializada com a aplicação da prostaglandina exógena, causando maior amplitude das contrações uterinas, o que pode auxiliar na eliminação da placenta e melhorar a involução uterina.

O retorno da atividade cíclica e o processo de involução uterina culminam com a plena reativação e sincronia do eixo hipotálamo-hipófise-ovário que permitem o crescimento folicular, o estro, a ovulação, a concepção, o desenvolvimento do corpo lúteo e a gestação (MALVEN, 1984; MARQUES JUNIOR, 1993). Segundo Kindahl *et al.* (1999) a liberação da prostaglandina $F_{2\alpha}$ pós-parto intensifica este processo, tendo uma maior duração da liberação da $PGF_{2\alpha}$ nas espécies com o tipo de placenta

cotiledonária (vaca, búfala, ovelha e cabra) do que nas de placenta tipo difusa (égua e porca).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido na propriedade Fazenda Cabana da Ponte Agropecuária Ltda., situada no município de Itororó, localizada na região Sul da Bahia, apresentando coordenadas geográficas (15°18'14" de latitude sul e 40°12'20" de longitude WGr). Com altitude de 268 metros, temperatura média anual de 30,5°C atingindo máxima de 43°C e mínima de 18°C. O período de chuvas abrange os meses de outubro a março e o período de outono a inverno com chuvas, de menor intensidade tendo pluviosidade média anual de 1012 mm e intensidade de insolação média mensal de 6,1 horas em 2004 (Figura 1).

O experimento foi executado em duas etapas. A primeira etapa, compreendida no período de março a setembro de 2004, (visou o estudo da involução uterina, biópsia e 1º estro pós-parto). A segunda etapa realizada no período de outubro de 2004 a novembro de 2005, (teve o propósito de acompanhar o período de gestação até o parto subsequente).

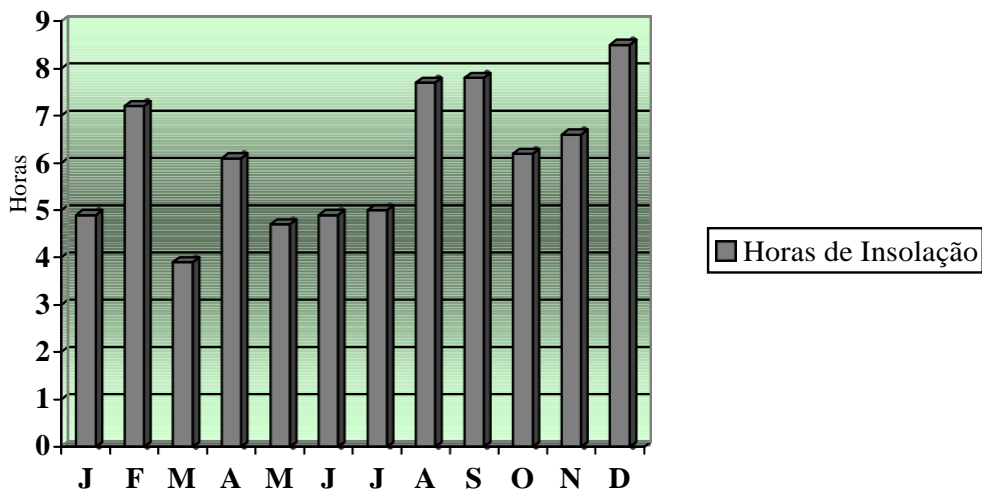


Figura 1. Horas de Insolação ocorridas nos meses de janeiro a dezembro de 2004, Itororó-BA.

FONTE: Ceplac/Cepec/Climatologia

3.2 Seleção e manejo dos animais

Foram utilizadas 45 fêmeas bubalinas da raça Murrah, pluríparas, com idade variando de 6 a 18 anos, sem anormalidade reprodutiva, verificadas através de prévio Exame Clínico Tocoginecológico, conforme Bondurant (1986), com diagnóstico de gestação positivo.

As búfalas foram identificadas, com brincos plásticos numerados e afixados na orelha esquerda de cada animal. O programa profilático seguiu a conduta de manejo da propriedade, de acordo com o calendário de vacinações sistemáticas contra febre aftosa, brucelose, carbúnculo sintomático e raiva, bem como controle de endo e ectoparasitas, conforme a necessidade do rebanho e submetido aos testes de brucelose e tuberculose.

Os animais foram mantidos em idêntico manejo de pastejo com predominância de pastagem nativa, capim angola (*Brachiaria mutica Forsk Stapf.*) nas áreas úmidas, capim colômbio (*Panicum maximum Jacq.*) consorciados espontaneamente com leguminosas nativas e recebendo mineralização efetuada “*ad libitum*”. A capacidade de suporte foi estimada em 0,70 UA/ha durante o experimento.

Durante todo o período experimental, a disponibilidade de pastagens foi considerada deficiente em termos qualitativos e quantitativos, principalmente nos meses de estiagem (Figura 2), o que refletiu negativamente no ECC dos animais. Ressalta-se também, que no ano anterior ao início do experimento, a disponibilidade de forragem também foi deficiente em virtude dos baixos índices pluviométricos.

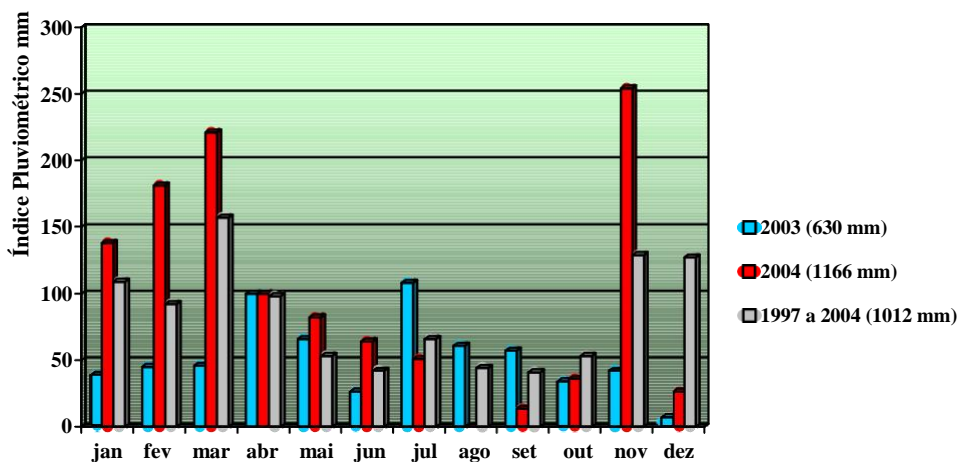


Figura 2. Índice pluviométrico da Fazenda Cabana da Ponte, Itororó-BA.

FONTE: Faz. Cabana da Ponte, Itororó-BA, 2005.

Os partos ocorreram nos meses de março a julho de 2004. Os bezerros foram pesados individualmente, classificados por sexo e identificados com brinco numerado na orelha esquerda, eles permaneciam juntos, em tempo integral, com as búfalas por 30 dias antes de entrarem no processo de ordenha.

As fêmeas foram examinadas por palpação do trato genital através do toque retal ginecológico e da inspeção visual da genitália externa e regiões periféricas, durante os meses de abril a setembro de 2004, uma vez por semana iniciando-se no 7º dia e estendendo-se até o 35º dia pós-parto, objetivando determinar o tempo da completa involução anatômica do útero. O local para aferição do diâmetro de cada corno uterino foi definido aproximadamente dois ou três centímetros antes da inserção do ligamento intercornual. Este local foi escolhido por ser o ponto em que é maior o diâmetro do corno anteriormente gestante, e por ser facilmente reconhecível.

A involução uterina foi considerada completa quando o útero retornou à cavidade pélvica e os cornos uterinos apresentaram-se simétricos ou com discreta assimetria e com tonicidade normal.

A observação do comportamento sexual e aceitação da monta foi realizada três vezes ao dia, às 06 h, às 12 h e às 17 h por meio da presença de marca de tinta amarela do “buçal marcador” registrada pelo salto de um dos três reprodutores da raça Mediterrâneo. Os reprodutores foram previamente examinados clínico-andrológicamente e colocados junto às búfalas experimentais desde o momento do parto até a comprovação da realização e confirmação do serviço.

3.3 Constituição dos Grupos experimentais e tratamentos

O experimento foi conduzido avaliando os três grupos, simultaneamente, em um período de estação reprodutiva favorável. As 45 fêmeas após parto normal, foram divididas aleatoriamente em três grupos distintos de 15 animais cada. O primeiro animal a parir foi incluído no Grupo 1, o segundo no Grupo 2, o terceiro no Grupo 3, o quarto no grupo 1 e assim sucessivamente, sendo o protocolo dos tratamentos realizado conforme descrito na Figura 3.

Grupo 1– Controle (G1) (n = 15)

Os animais receberam uma aplicação de 2 ml de Solução Fisiológica (0,09%), por via intramuscular (IM), no segundo dia pós-parto, repetindo-se o mesmo procedimento no 5º dia na metade menos 1½ dos animais do referido grupo.

Grupo 2 – Uma dose (G2) (n = 15)

Os animais receberam uma aplicação de 0,530 mg de Cloprostenol (2 ml de Ciosin[®] - Schering Plough Coopers) em dose única por via (IM), no segundo dia pós-parto.

Grupo 3 – Duas doses (G3) (n = 15)

Os animais receberam uma primeira dose de 0,530 mg de Cloprostenol (2 ml de Ciosin[®] - Schering Plough Coopers) por via (IM), no segundo dia pós-parto e outra aplicação no 5º dia após a primeira.

A aplicação da prostaglandina e do placebo (solução fisiológica 0,09% Nacl) nos diferentes grupos foram realizados pelo mesmo operador, utilizando seringa descartável de 3 ml. A coleta dos dados foi feita em formulários próprios constando: estágio da involução uterina, tônus, diâmetro dos cornos, estro, dentre outras ocorrências reprodutivas.

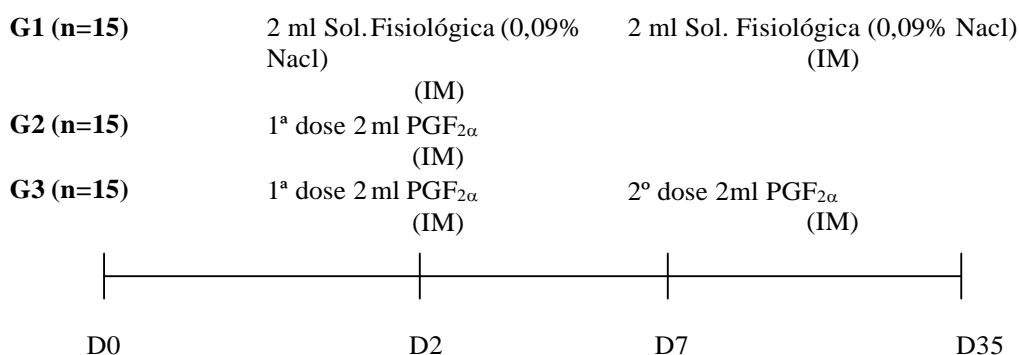


Figura 3. Protocolos hormonais pós-parto utilizados nos três grupos de búfalas Murrah.

3.4 Exames de acompanhamento ginecológico

Após o tratamento, todos os animais dos três grupos foram monitorados, conforme descrição a seguir:

Para evitar variações decorrentes da forma de realização dos exames, todos os procedimentos foram realizados por um mesmo profissional.

A velocidade de involução uterina foi avaliada semanalmente, através de palpação retal, no período 7, 14, 21, 28 e 35 dias pós-parto. O grau de involução foi avaliado adotando-se localização numa escala de 1 a 3, sendo o maior valor para o útero mais involuído, a partir do seguinte procedimento:

Grau 1 - útero pouco involuído, com a totalidade da sua massa na cavidade abdominal apresentando grande assimetria, não sendo possível examinar toda sua extensão;

Grau 2 - útero com parte de sua massa na cavidade abdominal, com razoável assimetria entre os cornos, sendo possível a sua palpação e o exame de toda a sua extensão;

Grau 3 - útero em quase sua totalidade na cavidade pélvica, apresentando-se simétrico ou com discreta assimetria.

A involução uterina foi considerada completa quando não houve mais alteração do diâmetro e do tônus uterino, após duas palpações consecutivas.

Foi utilizada pontuação com critérios pré-estabelecidos e descritos para consistência (tônus), Flácido = 1, Moderado = 2 e Aumentado = 3; enquanto que para o diâmetro do corno gravídico foi utilizado como referência os dedos do profissional com parâmetro: 01 Dedo = 2 cm, 02 Dedos = 4 cm, 03 Dedos = 6 cm e 04 Dedos = 8 cm.

O intervalo parto-primeiro estro foi obtido pela média de dias do parto até a manifestação de estro em cada grupo, taxa de gestação e período de serviços pelo número médio de dias entre o parto e a concepção.

Todas as fêmeas foram avaliadas, antes e após o parto, quanto ao ECC numa escala de 1 (magra) a 5 (gorda), conforme citado por Baruselli (1993). Os animais com ECC no pós-parto inferior a 2,5 não foram utilizados, assim como aqueles com qualquer problema ao parto, como distorcias, retenção de placenta entre outras.

3.5 Biópsia Uterina: Coleta e processamento do material

Para o estudo histológico foram coletadas amostras dos diferentes grupos no 10^o, 20^o e 30^o dias após o parto, sendo realizada coleta de fragmentos da mucosa na parede dorsal dos cornos uterinos, em sua porção medial. Os fragmentos foram coletados utilizando-se a pinça de Formel, modelo Nielsen, confeccionada no laboratório de reprodução animal da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia campus de Itapetinga pelo Prof. Antonio Jorge Del Rei, a qual, após limpeza e desinfecção da região perineal foi introduzida, encoberta com camisa sanitária até o fundo do saco vaginal, local onde esta foi rompida. A pinça então foi finalmente introduzida na cavidade uterina por fixação do colo uterino através do reto.

O material obtido foi imediatamente colocado em frascos individuais, identificados, fixados em Solução de formol a 10% com pH neutro. Após a coleta, os fragmentos foram remetidos ao Laboratório de Histopatologia da Universidade Federal Fluminense e, posteriormente, desidratados, diafanizados e incluídos em blocos de parafinas. A partir das inclusões foram processados em cortes de 5 micras de espessura e coradas posteriormente pela Técnica de Hematoxilina – Eosina (H-E) e pelo reativo de Schiff (PAS), conforme Luna (1968) para microscopia ocular.

Os cortes histológicos foram avaliados atribuindo-se parâmetros qualitativos para o endométrio, nos diferentes períodos do pós-parto.

3.6 Variáveis Estudadas

Foram avaliadas e comparadas entre os grupos as seguintes variáveis: tempo de involução uterina, intervalo parto/primeiro estro/cobertura, taxa de gestação aos 200 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis mensuradas nos diferentes grupos de tratamento.

Variável	Forma de Mensuração
Tempo de involução uterina	Avaliado semanalmente, através de palpação retal e calculado pela média de dias do parto até a completa involução uterina.
Intervalo parto primeiro estro até 150 dias pós-parto	Calculado pela média de dias do parto até o aparecimento do estro.
Taxa de gestação até 200 dias pós-parto	Número de fêmeas gestantes dividido pelo total de fêmeas de cada grupo.
Período de serviço	Número médio em dias do parto à nova concepção.
Total de búfalas que apresentaram cio até 150 dias pós-parto	Número total de cio observados no período.
Intervalo entre partos de búfalas com período de serviço até 200 dias pós-parto	Calculado pela média de dias entre partos das fêmeas com período de serviço até 200 dias.
Sexo e peso do bezerro	Média do peso do bezerro por sexo.

3.7 Análise Estatística

As variáveis mensuradas nos grupos foram submetidas à Análise de Variância através dos procedimentos do Sistema para análises estatísticas - SAEG (RIBEIRO JUNIOR, 2001). O teste t de “Tukey” e o teste X^2 (Qui-quadrado) foram utilizados para comparação das médias entre os grupos, nas diferentes fases estudadas. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas a 1%, 5% e 10% de probabilidade a depender do grau de confiança da variável estudada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Involução Uterina

Na avaliação do processo de involução uterina, através da palpação retal, não foram observadas grandes alterações do útero no primeiro exame no 7º dia pós-parto. Isto se deu, em parte, pela posição abdominal do útero não permitir uma avaliação precisa da sua involução neste período. Entre o 7º e 14º dia a involução uterina foi mais rápida, tendo sido verificada a aproximação ou o retorno do útero para a cavidade pélvica, o que possibilitou a avaliação mais precisa do diâmetro dos cornos uterinos. No período entre o 14º e o 21º dia, a involução uterina apresentou-se com intensidade moderada. Do 21º ao 28º dia, a involução uterina foi mais lenta, com pequenas reduções no tamanho do útero e no diâmetro dos cornos. Entre o 28º ao 35º dia, as reduções dos cornos foram quase imperceptíveis.

O tempo de retração anatômica do útero teve efeito significativo ($p < 0,1$) sobre o aparecimento do primeiro cio pós-parto (Tabela 5), visto que o experimento foi realizado no período favorável, com menor intensidade de luz (Figura 1), pois a espécie bubalina é poliéstrica estacional de dia curto. Desta forma, não foi possível comparar o período de retração uterina na época desfavorável com maior intensidade de luz. Estas observações concordam com os achados em bovinos realizados por Fernandes *et al.* (2002) e Albuquerque *et al.* (1997).

O tempo de involução uterina do Grupo 3 foi significativamente menor ($p < 0,1$) que os demais Grupos, ou seja $21,9 \pm 5,2$ vs $26,1 \pm 6,8$ e $25,6 \pm 7,8$ do G1 e G2 respectivamente. Os animais do Grupo 3 que receberam duas doses de Cloprostenol apresentaram útero mais involuído à palpação retal entre a quarta e a quinta semana pós-parto em relação ao Grupo 1 (controle) e o Grupo 2 (uma dose).

Os valores encontrados para o tempo de involução uterina do Grupo Controle ($26,1 \pm 6,8$ dias) assemelham-se aos dados de Soares *et al.* (1985) com 29,8 dias, Vale *et al.* (1986) com 28,6 dias, Del Rei *et al.* (1991) para fêmeas pluríparas (25 a 30 dias) e próximo para as primíparas (20 a 25 dias) e Baruselli *et al.* (1996) com 25,2 dias. Contrapõem-se aos achados de Pargaonkar & Kaikini (1974) e Rao *et al.* (1983) que afirmam que o maior percentual de involução uterina se dá em torno de 30 a 60 dias e os achados de Bhattacharya & Roy (1991) com 39,0 dias.

Com relação ao tempo para o aumento do tônus uterino o Grupo 3 apresentou menor tempo ($p < 0,1$) que os grupos controle G1 com média de tempo para o tônus aumentado de $25,2 \pm 6,8$ dias (variação de 21 a 35) e Grupo 2, com média de $24,7 \pm 7,8$ dias (variação de 14 a 35) em comparação ao Grupo 3 com média de $21,0 \pm 5,2$ dias (variação de 14 a 35) (Tabela 2).

O aumento acentuado do tônus uterino no Grupo controle dos 21 aos 28 dias pode ser devido à liberação de prostaglandina induzida pela manipulação do útero. Aspecto fisiológico este já observado em bovinos por Carvajal (1989) entre o 25° e o 45° dia pós-parto.

Tabela 2. Tempo em dias ($X \pm DP$) necessários para o útero alcançar completa involução, tônus e simetria dos cornos em búfalas Murrah, Itororó-BA.

Tratamentos	n	Involução uterina	Tônus uterino	Simetria/cornos
G1 – controle	15	$26,1 \pm 5,5$ a	$25,2 \pm 6,8$ a	$30,8 \pm 5,7$ a
G2 – uma dose	15	$25,6 \pm 5,7$ a	$24,7 \pm 7,8$ a	$27,1 \pm 6,4$ b
G3 – duas doses	15	$21,9 \pm 5,2$ b	$21,0 \pm 5,2$ b	$26,6 \pm 6,0$ b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade (teste Tukey)

A constatação do menor tempo para completa involução uterina do Grupo 3 em relação ao Grupo 1 e 2 reforçam os achados (BENCHARIF *et al.*, 2000; FERNANDES *et al.*, 2002) da involução uterina em decorrência da aplicação de duas doses de cloprostenol no pós-parto de fêmeas bovinas, e ao trabalho de Albuquerque *et al.* (1997) em bovinos com aplicação do análogo sintético no período de 12 a 18 dias pós-parto.

Quanto à interferência do peso do bezerro no processo de involução uterina, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$). No Grupo controle o peso médio ao nascer foi de $38,0 \pm 4,3$ kg (variação de 33 a 48), no Grupo 2 foi de $36,6 \pm 3,2$ kg (variação de 30 a 42) e, no Grupo 3 foi de $37,1 \pm 5,1$ kg (variação de 30 a 44) (Tabela 3).

Tabela 3. Peso médio ao nascer dos bezerros bubalinos da raça Murrah por tratamento, Itororó-BA.

Tratamento	n	Peso ao nascer dos bezerros/kg
G1- Controle	15	38,0 ± 4,3 a
G2 – uma dose	15	36,6 ± 3,2 a
G3 – duas doses	15	37,1 ± 5,1 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de análise de variância.

Também não foram observadas diferenças estatísticas ($p>0,05$) quando classificados o peso dos bezerros por sexo entre os grupos e dentro dos próprios grupos (Tabela 4). Não foi verificada a influência do sexo do bezerro sobre o processo de involução uterina das búfalas. Estes achados corroboram com Baruselli *et al.* (1996) quando comparado o peso por sexo e contrapõem aos mesmos autores quando os animais foram estratificados por faixa etária de peso independente do sexo. Os achados de Crespi (1991), divergem dos dados encontrados neste trabalho ao afirmar que os bezerros do sexo masculino influenciaram para um maior período de involução (33,4 dias) comparados aos bezerros do sexo feminino que contribuíram para um menor tempo de involução (28,9 dias) ($p<0,05$).

Tabela 4. Influência do sexo e peso ao nascer dos bezerros bubalinos da raça Murrah após o parto normal, Itororó-BA.

Tratamento	n	Sexo	Peso do bezerro por sexo		Peso do bezerro por sexo	
			entre tratamentos		dentro de cada tratamento	
G1- Controle	6	M	38,1 ± 3,9	A	38,1 ± 3,9	a
	9	F	37,8 ± 4,8	a	37,8 ± 4,8	a
G2 – uma dose	5	M	38,2 ± 2,6	A	38,2 ± 2,6	a
	10	F	35,9 ± 3,3	a	35,9 ± 3,3	a
G3 – duas doses	7	M	38,1 ± 4,5	A	38,1 ± 4,5	a
	8	F	36,2 ± 5,8	a	36,2 ± 5,8	a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de análise de variância

Não foi constatada diferença significativa ($p>0,05$) em relação à idade média das búfalas entre os grupos G1 - 12,3 ± 2,8 - G2 – 12,0 ± 4,9 e G3 - 10,8 ± 3,6. Este fator

não apresentou influência significativa no processo de involução uterina entre os grupos.

4.2 Exame Histológico do Útero

Ao exame histológico realizado aos 10 dias pós-parto, o endométrio mostrou-se sem revestimento epitelial, com edema acentuado desde a camada compacta até a esponjosa, com as carúnculas degeneradas ou necróticas em descamação no lume uterino. Porém, em alguns pontos intercaruncular observou-se recomposição epitelial, ora pseudo-estratificado ora simples cúbico (reepitelização) e em outras áreas parte da camada compacta descamava junto com o revestimento epitelial.

Estas observações são similares às citadas por Archbald *et al.* (1972) que evidenciaram áreas focais de células epiteliais na primeira semana do puerpério, assim como observaram uma necrose do *stratum compactum*, quando este epitélio era descamado no lume. Alterações semelhantes também foram reportadas por McEntee (1990) que no pós-parto imediato, observou a presença de um epitélio intacto do tipo colunar pseudo-estratificado e logo depois se apresentava colunar, com intervalo de 4 dias. Observou-se ainda na camada compacta grande quantidade de células descamando-se e presença de exsudato hemorrágico.

Estes achados são semelhantes aos citados por Archbald *et al.* (1972) que observaram uma descamação tecidual mais evidente neste período. A camada compacta apresentava um edema moderado, porém na camada esponjosa este edema era mais evidente. Wagner & Hansel (1969) e McEntee (1990) reportaram um edema intenso na zona esponjosa que se prolongava até o período do 8º dia do puerpério, quando então se tornava gradativamente menos acentuado. Nesta fase da involução a presença de macrófagos e neutrófilos encontrava-se aumentada mas, com relação aos pigmentos, era rara a presença dos mesmos. Com relação às glândulas endometriais, as observações aqui obtidas diferem ligeiramente das citadas por Bügner (1981) que no 10º dia verificou que nas vacas Nelore as glândulas se apresentavam com aspecto normal.

Ainda no 10º dia, as carúnculas continuavam o processo de necrose e a descamação da porção compacta, juntamente com o epitélio que revestia as bordas carunculares. O miométrio mostrava edema discreto e as outras alterações eram semelhantes. O tecido endometrial apresentava ainda variação quanto à definição do epitélio, às vezes cúbico, às vezes pseudo-estratificado, no entanto, em alguns pontos

observava-se proliferação de um epitélio cilíndrico de aspecto morfológicamente normal. Quanto ao tipo de epitélio de revestimento do endométrio existem opiniões divergentes que podem ser devido à amostragem dos animais, aos diferentes estágios de ciclo, inerentes ao próprio puerpério, à raça, à estação do ano ou ainda devido às diferenças de processamento das técnicas (BONNETT *et al.*, 1991).

Neste período (10º dia) o endométrio apresentava, ainda, alterações regressivas caracterizadas principalmente por exsudato e presença de tecido em descamação. Wagner & Hansel (1969) observaram em bovinos um fenômeno semelhante em que o tecido caruncular descamado era expelido do útero entre o 7º e o 14º dia do período pós-parto, enquanto que Gier & Marion (1968) reportaram que a descamação do *stratum compactum* estava completa no 15º dia do puerpério, diferindo, portanto dos resultados obtidos no presente estudo. Intensa celularidade com infiltração de células inflamatórias mononucleares foi também observada nesta fase, com predominância de linfócitos e plasmócitos. Outrossim, grandes focos de linfócitos foram também observados por McEntee (1990) no 15º a 17º dias pós-parto.

No 20º dia pós-parto a lâmina epitelial intercaruncular continha um epitélio cilíndrico (colunar) simples, morfológicamente modelado. Ainda nesta fase, a camada compacta possuía acúmulos linfóides, assim como uma discreta presença de polimorfonucleares, enquanto que na camada esponjosa a presença destas células era mais moderada. A existência de acúmulos linfóides, nesta fase da involução também foi reportada por McEntee (1990) até o 22º dia do período pós-parto. Neste período também foi possível observar que algumas glândulas uterinas já exibiam ramificações e um revestimento com epitélio normal, porém sem atividade secretória, assim como a presença considerável de fibroblastos que proliferavam da região basal em direção à zona superficial da carúncula similar aos achados de MacEntee (1990). Vale ressaltar que ainda neste período foi possível observar a continuidade da reepitalização caruncular, porém sem atingir toda a superfície superior da carúncula. Estas observações estão em concordância com os resultados de Archbald *et al.* (1972) que evidenciaram uma superfície caruncular inteiramente revestida por epitélio normal no 19º dia de puerpério.

No 30º dia pós-parto o endométrio apresentou-se revestido por epitélio simples cilíndrico. Neste período, pôde-se observar no endométrio a ausência de edemas, a presença esparsa de linfócitos, de macrófagos com pigmentos marrons-claro no citoplasma e no fibroblasto. Nas carúnculas, a reepitelização estava completa, no

entanto, foram detectadas pequenas áreas desnudas. A presença de macrófagos, fibroblastos e a neoformação capilar caruncular eram similares à involução observada ao 20º dia pós-parto. Finalmente, nesta fase de involução uterina, pôde-se observar que as carúnculas exibiam uma reepitalização normal e completa.

Estes achados são semelhantes aos observados em bovinos por Gier e Marion (1968), Wagner & Hansel (1969), Archbald *et al.* (1972) e aos de McEntee (1990) onde verificaram que o epitélio endometrial uterino foi restabelecido aos 30 dias pós-parto. No entanto, em búfalas, foram inferiores aos 35 dias citados por Peter *et al.* (1987) na Índia em animais da raça Murrah.

4.3 Atividade Cíclica Ovariana no Pós-parto

Os animais que receberam duas doses de cloprostenol (Grupo 3) retornaram mais rapidamente à atividade ovariana com o aparecimento do primeiro estro pós-parto. No entanto, o Grupo controle e o de uma dose de cloprostenol não apresentaram diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$). O tempo médio para ocorrência do primeiro estro pós-parto foi de $44,2 \pm 16,8$ dias (variação 21 a 85 dias) para o Grupo 3 e de $64,3 \pm 25,8$ dias (variação 28 a 104) e de $57,6 \pm 26,7$ dias (variação 28 a 130) para os Grupo controle e Grupo 2, respectivamente. Os achados referentes ao primeiro estro pós-parto, bem como o número de búfalas em estro, estão mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Tempo (dias) demandado para ocorrência do primeiro estro e número relativos de fêmeas em estro, até 150 dias pós-parto, em búfalas leiteiras da raça Murrah, Itororó-BA.

Tratamento	n	Búfalas em cio (%)	Primeiro cio (dias)
G1 – controle	13	86,7 a	$64,3 \pm 25,8a$
G2 – uma dose	12	80,0 a	$57,6 \pm 26,7a$
G3 – duas doses	13	86,7 a	$44,2 \pm 16,8$ b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 10% de probabilidade (teste Tukey)

A luz dos dados obtidos, evidencia-se a existência de uma relação entre a involução uterina e a atividade ovariana no pós-parto de bubalinos e de bovinos. Esta observação está de acordo com Del Rei *et al.* (1991) em bubalinos, Sheldon *et al.*

(2000) e Fernandes *et al.* (2002) em bovinos, relatam uma correlação positiva entre involução uterina e o retorno à atividade ovariana no pós-parto, afirmando ainda, que o retardo na involução uterina pode atrasar a presença de atividade funcional nos ovários, postergando o início do primeiro estro pós-parto.

Foi observado que aplicação de duas doses de cloprostenol no pós-parto (Grupo 3) foi capaz de reduzir o intervalo entre o parto e o aparecimento do primeiro estro pós-parto em 20,1 dias com relação ao Grupo controle e 13,4 dias para o Grupo 2 evidenciando haver correlação positiva entre a velocidade de involução uterina com o reinício da atividade ovariana pós-parto.

Tabela 6. Taxa de gestação, Período de Serviço e Intervalo entre Partos em fêmeas bubalinas da raça Murrah, Itororó-BA.

Tratamento	n	Taxa de gestação %	Período de serviço/dias	Intervalo entre parto/dias
G1- Controle	8	*53,3 a	84,4 ± 48,6a	389,6 ± 48,6a
G2 – uma dose	9	*60,0 a	78,7 ± 50,8a	384,2 ± 50,3a
G3 – duas doses	12	*80,0 a	80,9 ± 55,7a	387,5 ± 55,2a

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste Qui-quadrado. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pela análise de variância.

A taxa de gestação avaliada até 200 dias pós-parto entre o Grupo 1 (53,3%), Grupo 2 (60%) e Grupo 3 (80%) apesar de valores discrepantes, não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$) (Tabela 6). Isto demonstra que apesar da involução uterina ter ocorrido mais rapidamente no Grupo 3 outros fatores interferiram na taxa de gestação. Estes dados sugerem que o efeito da restrição alimentar, no pós-parto traduzido pelo baixo ECC tenha influência decisiva sobre o desempenho reprodutivo das búfalas. Este achado corrobora com Bhalaru *et al.* (1987), Baruselli (1992), Guido *et al.* (1999) e Ribeiro Filho *et al.* (2003) que observaram influência significativa do ECC sobre a taxa de gestação.

Na avaliação do período de serviço e do intervalo entre partos dos grupos estudados, não foram constatadas diferenças estatísticas significativas entre as médias dos grupos. Foram observadas no Grupo 1 médias de 84,4 ± 48,6 dias para o PS (variação de 48 a 189) e 389,6 ± 48,6 dias para o IEP (variação de 348 a 494); no Grupo 2 de 78,7 ± 50,8 dias para o PS (variação de 35 a 183) 384,2 ± 50,3 dias para o IEP

(variação de 340 a 488) e no Grupo 3 de $80,9 \pm 55,7$ dias para o PS (variação de 30 a 192) $387,5 \pm 55,2$ dias para o IEP (variação de 333 a 497) (Tabela 6).

Ao contrário do que foi observado em bovinos o uso de duas doses de cloprostenol no pós-parto em búfalas, não influenciou na redução do período de serviço e do intervalo entre partos (ALBUQUERQUE *et al.*, 1997; MACHADO *et al.*, 2003; FERNANDES *et al.*, 2004; ZANCHET, 2005).

4.4 Utilização do Cloprostenol no Puerpério Recente

Não foram observadas durante todo o período experimental quaisquer reações indesejáveis que pudessem ser relacionadas à aplicação da prostaglandina e da solução fisiológica, como sialorréia, dispnéia ou sudorese.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as médias do ECC dos três grupos no momento do parto e no período pós-parto (Tabela 7). O ECC tem sido apontado como importante fator que influencia o desempenho reprodutivo em bubalinos (BARUSELLI, 2000) e bovinos (FERREIRA, 1990; FERNANDES *et al.*, 2002).

Em comparação do ECC no momento do parto e no período pós-parto dentro de cada grupo foi observado diferença estatística nos três grupos ($p < 0,01$). As médias do ECC ao parto foram G1- $3,5 \pm 0,2$ (variação de 3,0 a 4,0); G2- $3,4 \pm 0,3$ (variação de 2,5 a 4,0) e G3- $3,5 \pm 0,2$ (variação de 3,0 a 4,0), não sendo encontrada diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$). As médias do ECC após o parto entre os grupos foram G1- $2,9 \pm 0,2$ (variação de 2,5 a 3,5); G2- $3,0 \pm 0,1$ (variação de 2,5 a 3,5) e G3- $3,0 \pm 0,2$ (variação de 2,5 a 3,5) (Tabela 7).

Quanto às médias do ECC ao parto e no pós-parto foram observadas diferenças significativas ($p < 0,01$), sendo as médias do G1- $3,5 \pm 0,2$ e $2,9 \pm 0,2$, do G2- $3,4 \pm 0,3$ e $3,0 \pm 0,1$ e do G3- $3,5 \pm 0,2$ e $3,0 \pm 0,2$. Isto ocorreu em virtude do estresse do parto associado ao início de uma nova lactação/ amamentação com redução da ingestão de matéria seca, proporcionando um período de balanço energético negativo, durante o qual os animais mobilizavam reservas corporais para suprir as suas necessidades energéticas neste período.

Tabela 7. Escore da condição corporal no pré e pós-parto de vacas bubalinas leiteiras da raça Murrah, Itororó-BA.

Tratamento	n	Escore corporal ao parto	Escore corporal após-parto
G1 – controle	15	3,5 ± 0,2 a A	2,9 ± 0,2 a B
G2 – uma dose	15	3,4 ± 0,3 a A	3,0 ± 0,1 a B
G3 – duas doses	15	3,5 ± 0,2 a A	3,0 ± 0,2 a B

Médias seguidas pela mesma letra na primeira coluna não diferem estatisticamente entre tratamentos a 5% de probabilidade pela análise de variância.

Médias seguidas pela mesma letra na segunda coluna não diferem estatisticamente dentro do mesmo tratamento a 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

O baixo ECC foi devido, provavelmente a baixa disponibilidade de pastagem podendo ter contribuído de forma negativa, para o desenvolvimento folicular. Os folículos crescem, mas em seguida entram no processo de atresia por insuficiência de LH circulante, interferindo negativamente na eficiência reprodutiva. Este aspecto corrobora com os achados de Rhodes *et al.* (1995).

Bhalaru *et al.* (1987), Richards *et al.* (1989) e Hegazy *et al.* (1994) preconizam que as búfalas devem apresentar bom ECC à parição, pois reservas de lipídios são mobilizadas para compensar a necessidade nutricional neste período de maior demanda energética.

O baixo índice de precipitação pluviométrica no antes do experimento (2003 com 630 mm) em relação aos últimos 8 anos (1997 a 2004), contribuiu para uma menor oferta de forragem, associado a uma grande infestação de plantas invasoras, submeteram os animais a uma situação de restrição alimentar, concorrendo para um baixo ECC ao parto o que perdurou nos meses subseqüentes em decorrência da nova lactação, agravando-se nos meses de menor precipitação pluviométrica.

5. CONCLUSÕES

Nas condições de realização da presente investigação, foi possível concluir que:

- A aplicação de duas doses de 0,530 mg de cloprostenol sódico no pós-parto das búfalas leiteiras aumenta a velocidade do processo de involução anatômica do útero;
- A aplicação de duas doses de cloprostenol sódico no pós-parto das búfalas leiteiras antecipa o aparecimento do primeiro estro pós-parto;
- O cloprostenol sódico em dose única ou dupla aplicado no pós-parto não interfere na taxa de gestação, no período de serviço e no intervalo entre partos;
- Em relação à taxa de gestação, apesar de não ter significância estatística, apresentou-se viável economicamente;
- As fêmeas bubalinas apresentam um restabelecimento histológico da estrutura uterina aos 30 dias de involução independente dos tratamentos;
- O escore da condição corporal, do sexo e do peso do bezerro não têm influência significativa sobre o tempo de involução anatômica do útero;
- O baixo ECC, por sua vez, apresenta influência negativa nos três grupos sobre o período de serviço, a taxa de gestação e o intervalo entre partos;
- O custo do protocolo utilizado foi de R\$ 7,00 por dose de prostaglandina, portanto, no G1 o custo foi de R\$ 0,20 por dose da solução fisiológica a 0,09%; o G2 de R\$ 7,00 e o G3 de R\$ 14,00. No presente experimento a média da produção de leite/vaca foi de 5 kg/dia. Todo leite foi processado no laticínio da propriedade e convertido em mozzarella, comercializado por R\$ 14,00 o quilo. Vale ressaltar que são necessários cinco (05) litros de leite

para a fabricação de um (01) Kg de queijo. Portanto, para cada dia de antecipação na taxa de gestação obtém-se um montante de R\$ 14,00 por vaca em lactação/dia, justificando assim, a utilização deste protocolo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F. T. et al. Efeito do cloprostenol (ICI-80.996) sobre a involução uterina em vacas mestiças Holandês-zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 49, n. 2, p.181-187, 1997.

ANDRADE MOURA, J. C. de. **Eficiência reprodutiva**. 2005. Comunicação individual apresentada ao XXXII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Uberlândia, 2005. Não Publicado.

ANUALPEC. **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP consultoria/Argos Comunicação, São Paulo, 2005. p.248.

ARCHBALD, L. F.; SCHULTZ, R. H.; FAHNING, M. L. Sequential histological study of the post-partum bovine uterus. **Journal Reproduction Fertility**, v. 29, p.133-136, 1972.

BARTOLOMEU, C. C. **Estudo da dinâmica folicular durante o tratamento com CIDR-B e Crestar visando a inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*)**. 2003. 149 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

BARTOLOMEU, C. C. et al. Sincronização do ciclo estral e da ovulação com utilização de CIDR-B e CRESTAR em bubalinos. **Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRGS**, v. 27, p. 208, 1999.

BARUSELLI, P. S. **Manejo reprodutivo de bubalinos**. 1993. 46 f. Monografia (Especialização) - Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Instituto de Zootecnia, Registro, 1993.

_____. **Atividade ovariana e comportamento reprodutivo no período pós-parto em búfalas (*Bubalus bubalis*)**. 1992, 91 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

_____. **Dinâmica folicular durante o ciclo estral e resposta superovulatória em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*)**. 1997. 96 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997a.

_____. Folliculogenesis in buffalo. **Bubalus Bubalis**, v. 4, p. 79-92, 1997b. Suppl., 4.

_____. Técnicas de manejo para exploração da bubalinocultura. In: V ENCONVET. Aracajú, Sergipe, 2000. **Anais...** p. 60-85.

BARUSELLI, P. et al. Involução uterina no período pós-parto em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*). **B. Indústr. Anim.**, N. Odessa, v.53, n. único, p.51-55, 1996.

BARUSELLI, P. S. et al. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1531-1547, 1997.

BARUSELLI, P. S. et al. Half dose of prostaglandin F2 α is effective to induce luteolysis in the synchronization of ovulation protocol for fixed-time artificial insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, n. 40, p. 397-402, 2003.

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

BATISTA, H. A. M. et al. Influência de fatores climáticos na concepção de búfalas Mediterrâneo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 2, p. 141-143, 2001.

BATRA, S. K.; PANDEY, R. S. Hormonal changes around luteolysis in buffaloes. **Indian Journal Physiol. Pharmacol**, 25, v.1, p.9, 1981. Supplement.

BHATTACHARYA, P.; ROY, A. Reprodução. In: FAO. **O búfalo**. Brasília: Ministério da Agricultura/São Paulo, Associação dos Criadores de Búfalos, 1991. p. 37-50.

BENCHARIF, D. et al. Prostaglandins and postpartum period in the cow. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 151, n. 5, p. 401-408, 2000.

BENITES, N. R. Medicamentos empregados para sincronização do ciclo estral e transferência de embriões. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Guanabara e Koogan, 2002. p. 301-313.

BERBER, R. C. A.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. Avaliação do aproveitamento do estro subsequente à sincronização da ovulação com protocolos "Ovsynch" (GnRH vs. LH) em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 3, p. 379-381, 2001.

BHALARU, S. S.; TIWANA, M. S.; NARINDER SINGH, C. Effect of body condition at calving on subsequent reproductive performance in buffaloes. **Indian Journal Animal Science**. v. 57, n.1, p. 33-36, 1987.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. In: MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo: FUMVET, 2000, p. 99-114.

BO, G. A. et al. Follicular waves dynamic after estradiol 17 β treatment of heifers with or without a progesterone implant. **Theriogenology**, New York, v. 41, p. 1555-1569, 1994.

BO, G. A.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J. Dinâmica folicular ovárica em el bovino. In: MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo: FUMVET, 2000, p. 12-34.

- BONDURANT, R. H. Examination of the reproductive tract of the cow and heifer. In: MORROW, D. A, **Current therapy in theriogenology**. W. B. Saunders Co. 1986, p. 95-101.
- BONNETT, B. N.; MILLER, R. B.; ETHERINGTON, W. G. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. **Canadian Journal Veterinary Research**, v. 55, n. 2, p. 155-173, 1991.
- BORGHESE, A. et al. Melatonina trend during seasons in heifers and buffalo cows. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4, 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo, 1994, v.4, p. 528-533.
- BROOKS, A. N. et al. Ovarian steroid involvement in endogenous opioid modulation of LH secretion in seasonality anoestrus mature ewes. **Journal Reproduction Fertility**, v. 76, p.709-715, 1986.
- BRUNETTA et al. Distribuição de partos de búfalas criadas e sistema produtivo de pastagem artificial e várzea na região Amazônica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n.2, p. 245-247, 2003.
- BÜGNER, M. **Avaliação pós-parto do sistema genital de vacas da raça nelore**. 1981. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1981.
- BUSTAMANTE, J. R. B. et al. Efeito da condição corporal ao parto e da amamentação na eficiência reprodutiva de vacas da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 26, n. 6, p. 1090-1095, 1997.
- CARVAJAL, F. D. **Efeito da aplicação de prostaglandina durante o puerpério na vaca**. 1989. 78 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1989.
- CASSIANO, L. A. P. et al. Caracterização fenotípica de raças bubalinas nacionais e do tipo Baio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 11, p. 1337-1342, nov., 2003.
- CHAGAS, W. N.; NOGUEIRA, L. A. G.; BENEVIDES FILHO, I. M. Avaliação histológica da involução uterina em vacas Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 22, n. 3, p. 164-168, 1998.
- CHAUHAN, F. S. et al. Involution of the uterus and cervix in buffaloes. **Indian Journal Dairy Science**, New Delhi, v.30, p.286-291, 1977.
- CHOHAN, K. R. Estrus synchronization with lower dose of PGF₂ α and subsequent fertility in subestrous buffalo. **Theriogenology**, New York, v. 50, p. 1101-1108, 1998.
- CONNOR, H. C.; HOUGHTON, P. L.; LEMENAGER, R. P. Effect of dietary energy, body conditions and calf removal on pituitary gonadotropins, gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and hypothalamic opioids in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v.7, n.3, p.403-411, 1990.

- CRESPI, J. G. **Contribuição ao estudo do período do puerpério, até a 10^o semana, em bubalinos (*Bubalus bubalis*), criados no litoral paranaense.** 1991. 98 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1991.
- DANELL, B. **Oestrus behavior, ovarian morphology and cyclical variation in follicular system and endocrine patterns in water buffalo heifers.** 1987. 134 f. (Thesis Doctor) - Faculty of Veterinary Medicine Swedish, University of Agricultural Sciences, Uppsala, 1987.
- DEAVER, D. R. The postpartum period. **PennState Publication.** v. 413, p. 1-5, 1997.
- DEL REI, A J. M.; GIGANTE, A.L; PINTO, P . A. Aspectos morfológicos do útero, cérvix e atividade ovariana de búfalas (*Bubalus bubalis*) primíparas e pluríparas após parto normal. In: II CONGRESSO BAIANO DE MEDICINA VETERINÁRIA. Salvador, 1991. **Anais...** p. 102
- DEL REI, A J. M.; CARVALHO, J.A . Influência do período pós-parto sobre a ocorrência de cio em búfalas Murrah D (+) clorprostenol. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL Belo Horizonte, 1995. **Anais...** p.354, 1995.
- DEVANATHAN, T. G. et al. Ovarian activity and uterine involution during postpartum period in murrah buffaloes. **Indian Veterinary Journal Science**, Madras, v.64, p.779-780, 1987.
- DONKIN, E. F. Reproductive activity in dairy cows postpartum. 1. The technique of palpation per rectum. **Zimbabwe J. Agric. Res.** , v. 18, p. 65-70, 1980.
- DRIANCOURT, M. A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 55-79, 1991.
- EL-FADALY, M. A. Effects of suckling and milking on the breeding efficiency of buffaloes. I – First postpartum oestrus. **Veterinary Medical Journal**, p. 399-404, 1980.
- EL-FOULY, M. A.; KOTBY, E. A.; EL-SOBHY, A. E. Effect of suckling on uterine and cervical involution in postpartum Egyptian buffaloes. **Indian Journal Animal Science**, v.46, n.5, p.221-227, 1976.
- FAO (Food and Agriculture Organization), FAOSTAT – Agriculture data. [Http://apps.fao.org/cgi-gin/nph-db.pl?subset=agriculture/](http://apps.fao.org/cgi-gin/nph-db.pl?subset=agriculture/).2005.
- FERNANDES, C. A. C.; VIEIRA, M. R.; VALLE, M. A. G. Efeito do cloprostenol sódico no pós-parto de vacas leiteiras sobre incidência de infecções uterinas e fertilidade futura. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, ano 22, n. 127, mai./jun., p. 41-45, 2002.
- FERNANDES, C. A.; et al. Melhoria da eficiência reprodutiva em gado de corte com a aplicação de cloprostenol sódico no pós-parto. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, ano 24, n. 142, nov./dez., p. 35-39, 2004.

FERREIRA, A. M. **Efeito da amamentação e do nível nutricional na atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras.** 1990. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1990.

FONSECA, V. O. Redução do período de serviço em vacas de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, 1991, Belo Horizonte, **Anais...**, Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991, p. 01-21.

FORTUNE, J. E. et al. Follicle selection in domestic ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 43, p. 187-198, 1991. Supplement.

FRANDSON, R. D. **Anatomia dos animais domésticos.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S/A, 1979. 429 p.

GANGWAR, P. C. Climate and reproduction buffaloes a review. **Indian Journal Dairy Science**, v. 33, n.4, p. 419-426, 1980.

GIER, H. T.; MARION, G. B. Uterus of the cow after parturition: involucional changes. **American Journal Veterinary Research**, v. 29, n.1, p. 83-96, 1968.

GINTHER, O. J. et al. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 187-200, 1989.

GOODMANN, R. L.; KARSCH, F. J. Pulsatile secretion luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, v. 107, p. 1286-1290, 1980.

GRUNERT, E.; BIRGEL, H. E.; VALE, W. G. **Patologia e clinica da reprodução dos animais mamíferos domésticos – ginecologia.** São Paulo: Livraria Varela, 2005.

GUIDO, M. C. et al. Relação entre microbióta cérvico-uterina de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) e taxa de concepção após inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, p. 444-445, 1999.

GUILBAUT, L. A.; VILLENEUVE, P.; DUFOUR, J. J. Failure of prostaglandin F_{2α} to enhance uterine involution in beef cows. **Canadian Journal Animal Science**, v.68, n.3, p.669-679, 1988.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal.** São Paulo: Manole Ltda, 2003.

HANSEL, W. CONVEY, E. M. Physiology of the estrus cycle. **Journal Animal Science**, v. 57, p. 404-424, 1983.

HANSEN, C. H. Endocrine regulation of postpartum ovarian activity in cattle: a review. **Reproduction Nutrition Development**, v.26, p.1219-1239, 1986.

HAUGER, R. L.; KARSCH, F. J.; FOSTER, D. L. A new concept for the control of the estrous cycle in ewe on the temporal relationship between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. **Endocrinology**, v. 101, p. 807-817, 1977.

HEGAZY, M. A. et al. Effect of body condition score on reproductive performance of buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS. v. 4, 27-30, 1994, São Paulo. **Proceedings...** p. 623-633.

HURNIK, J. F. Sexual behavior of female domestic mammals. **Veterinary Clinical Northern American Food Animal Practic**, v.3, p. 423-461, 1987.

IRELAND, J.; ROCHE, J. F. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: ROCHE, J. R.; O'CALLAGHAN, D. **Follicular growth and ovulation rate in farm animal**. Holland: Martinus Nijhoff, 1987. p. 1-18.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Bovinos e Bubalinos. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. São Paulo: Manole Ltda, 2003. p. 319-334.

JÖCHLE, W.; SCHNEEMAN, W.; GRUNERT, E. Clinical response in anoestrus dairy cows with high or low blood progesterone levels to treatment with the PGF analog Alfaprostol. **Zuchth**, v.24, p. 57-66, 1989.

JOGI, S.; LANKHANI; G. P., KAHLON, B. S. Effect of month, season, year of birth and lactation number on sex ratio in Murrah buffaloes. **Buffalo Bull**, v. 17, n. 2, p. 37-40, 1998.

JOLLY, P. D. et al. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. **Journal Reproduction Fertility**, v. 49, p. 477-492, 1995. Supplement.

KAIDI, R.; BROWN, P. J.; DAVID, J. S. E. Uterine involution in cattle. **Veterinary Animal**, v. 31, p. 39-50, 1991.

KARSCH, F. J. *et al.* Control of pre-ovulatory endocrine events in the ewe interrelationship of estradiol, progesterone and luteinizing hormone. **Endocrinology**, v. 105, p. 421-426, 1979.

KARSCH, F. J. et al. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. **Biology Reproduction**, v. 45, p. 303-309, 1997.

KESNER, J. S.; CONVEY, E. M.; ANDERSOM, C. R. Evidence that estradiol induces the pre-ovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and them increasing LHRH release. **Endocrinology**, v. 108, p. 1386-1391, 1981.

KINDHAL, H. et al. Endocrine aspects of utierine involution in the cow. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n. 3-4, p. 261-268, 1999.

KIRAKOFE, G. H. Uterine involution: its role in regulation pospartum intervals. **Journal Animal Science**. v. 51, n. 1, p. 16-28, 1980. Supplement.

LE VAN, T. Y.; CHUPI, D.; DRIANCOURT, D. A. Ovarian follicular population in buffaloes and cows. **Animal Reproduction Science**, v. 19, p. 171-178, 1989.

LINDELL, J. O.; KINDHAL, H; EDQVIST, L. E. Pos-partum release of PGF 2α and uterine involution in the cow. **Theriogenology**, New York, v. 17, p. 237-244, 1988.

LOURENÇO JÚNIOR, J. B. et al. Influência de variáveis climáticas na concepção de búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 2, p. 138-140, 2001.

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

LUKETUKE, S. N. & ROY, D. J. Studies post partum oestrus in Murrah buffalos. **Indian Journal Veterinary Science**, Madras, v.34, p.166-170, 1964.

LUNA, L. G. **Manual of histology staining methods of the armed**. Forces Institute of Pathology. New York: McGrawHill, 1968, 258p.

MACHADO, P. F., et al. Efeito do cloprostenol sódico (Ciosin[®]) sobre parâmetros reprodutivos e produtivos no pós-parto de vacas leiteiras com ou sem retenção de placenta. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, ano 23, n. 135, set./out., p. 44-46, 2003.

MADEJ, A. et al. Blood levels of 15-keto-13, 14-dihydro prostaglandin F 2α during the postpartum period in primiparous cows. **Theriogenology**, v. 21, p. 279-287, 1984.

MADELLA-OLIVEIRA, A. de F. et al. Identificação de criatórios de búfalos nas regiões norte e baixadas litorâneas do Rio de Janeiro e sul do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 1, p. 28-33, jan./mar., 2005.

MALVEN, F. V. Pathophysiology of the puerperium: definition of the problem. In: PROC. 10TH INT. CONG. ANIM. REPROD., Urbana, IL, **Proceedings...**, 1984.

MARQUES JUNIOR, A P. Fisiologia do Puerpério na vaca. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Belo Horizonte, MG, **Anais...** 1993. p. 58-69.

McCOOL, C. J. et al. Endocrinological studies on pregnancy, postpartum anoestrus and seasonal variation of ovarian activity in the Australian swamp buffalo cow. **Buffalo Journal**, n.1, p. 62-72, 1987.

McTEEN, K. **Reproductive pathology of domestic animals**. Ed. Academic Press, Inc. 1990, 410p.

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

MOREIRA, R. J. de C. **Uso do protocolo Crestar[®] em diferentes tratamentos utilizando Benzoato de Estradiol, PGF 2α , PMSG e GnRH para controle do ciclo**

estral e ovulação em vacas de corte. 2002. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.

MORROW, D. A.; ROBERTS, S. J.; McENTEE, K. A. Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. **J. A. V. M. A.**, v. 149, n. 12, p.1596-1609, 1966.

MOURA, A. J. D. **Eficiência das inseminações artificiais realizadas após o estro natural e sincronizados com prostaglandina F2 α sobre a taxa de concepção em búfalas (*Bubalus bubalis*).** 1995. 66 f. Dissertação (Mestrado Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 1995.

NOGUEIRA, L. A. G. **Alguns parâmetros clínicos e endócrinos relacionados ao retorno à atividade cíclica ovariana em vacas (*Bos Taurus indicus*).** 1994. 127 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1994.

OBI-REDDY, A. TRIPAHI, V. N.; RAINA, V. S. Effect of climate on the incidence of oestrus and conception rate in Murrah buffaloes. **Indian Journal Animal Science**, v. 57, n.3, p. 204-207, 1987.

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

OLIVEIRA, C. M. de. Medicamentos que atuam na motilidade uterina. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** São Paulo: Guanabara e Koogan, 2002. p. 354-361

PALERMO-NETO, J. Prostaglandinas. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** São Paulo: Guanabara e Koogan, 2002. p. 212-223.

PALHANO, H. B. et al. **Reprodução em Bovinos** – Fisiopatologia, Terapêutica, Manejo e Biotecnologia. Porto Alegre: Ed. A Hora Veterinária, 2003. Suplemento Técnico da Schering-Plough Coopers.

PANGAONKAR, D. R.; KAIKINI, A. L. Studies on postpartum involution of uterus in Nagpuri (Berari) buffaloes. **PKV Research Journal**, v. 2, n. 2, p. 113-115, 1974.

PERERA, B. M. A O. et al. Postpartum ovarian activity, uterine involution and fertility in indigenous buffaloes at a selected village location in Sri Lanka. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v 14, p.115-127, 1987.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado dos animais domésticos.** Escola de Veterinária, UFMG, 1983.

PETER, A T. et al. Studies on involution of the uterus in postpartum Murrah buffaloes. **Indian Journal Animal Reproduction**, v. 8, p. 1-3, 1987.

PETER, A. R.; LAVEN, R. A. Treatment of bovine retained placenta and its effects. **Veterinary Rec.**, v. 139, n. 22, p. 535-539, 1996.

- PETERS, A. R. Effect of prostaglandin F_{2α} on hormone concentrations in dairy cows after parturition. **The Veterinary Record**, v. 124, p. 371-373, 1989.
- PORTO-FILHO, R. M. et al. Detecção de cio em búfalas através do sistema de radiotelemetria. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, p. 356-358, 1999.
- PRICE, C. A.; WEEB, R. Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v. 122, p. 2222-2231, 1988.
- PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 28, n. 6, p. 929-936, 1987.
- RAO, B. R.; PATEL, U. G.; TAMHAN, S. S. Studies on the reproductive behaviour of surti buffaloes. I. Oestrus cycle. **Indian Veterinary Journal**, v. 50, n. 3, p. 257-264, 1983.
- RAHE, C. H.; OWENS, R. E.; FLEEGER, J. L.; NEWTON, H. J.; HARMS, P. G. Patterns of luteinizing hormone in the cycling dependence up on period of the cycle. **Endocrinology**, v. 107, p. 498-503, 1980.
- RIBEIRO FILHO, A. de L. Influência do escore corporal sobre a taxa de prenhez em búfalas (*Bubalus bubalis*) submetidas a protocolo de sincronização de ovulação para inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n.13 p. 471-472, 2003.
- RIBEIRO JUNIOR, J.I. **Análises Estatísticas no SAEG**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 301p.
- RICHARDS, M. W.; WETTEMAN, R. P.; SCHOENEMANN, H. M. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1520-1526, 1989.
- RHODES, F. M., DE'ATH, G., ENTWITLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 38, p. 265-277, 1995.
- SAMAD, H.; ALI, C. S. Bio-histopatological studies of endometrium in clinically normal repeat breeder Nili-Ravi buffaloes. **Buffaloes Journal**, v. 2, p. 219-225, 1995.
- SANCHEZ, J. P. G., SOBRINHO, E. B., GONÇALVES, A. A. M. Involução uterina em um rebanho Gir leiteiro segundo o período pós-parto e o número de partições. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 4, p. 345-351, 1999.
- SAVIO, J. D. et al. Patter of growth of dominant follicles during oestrus cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 83, p. 663-671, 1988.

SCHIRAR, A.; MARTINET, J. Postpartum ovarian activity and its interaction with the uterus in resuming cyclic activity postpartum. In: KARG, H. SCHALLEMBERGER, E. **Factors influencing fertility in the postpartum cow.** The Hague, Martinus Nijhoff Publishers, 1982. p. 67-94.

SCHOENEMANN, H. M.; *et al.* Pituitary luteinizing hormone releasing receptors in ovariectomized cows after challenge with ovarian steroids. **Biology of Reproduction.** v. 32, p. 574-583, 1985.

SHAH, S. N. H.; WILLEMSE, A. H.; VAN DE WIEL, D. F. M. Descriptive epidemiology and treatment of postpartum anestrus in dairy buffalo under small farm conditions. **Theriogenology**, v.33, n.6, p. 1333-1345, 1990.

SHELDON, M.; NOAKES, D. E.; DOBSON, H. The influence of ovarian activity and uterine involution determined by ultrasonography on subsequent reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, New York, v.54, p. 409-419, 2000.

SHORT, R. E. ET AL. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in post-partum beef cattle. **Journal Animal Science**, n.68, p. 799-816, 1990.

SILVA, T. E. M.; GRODZIL, L. Study of correlations between climatic factors and seasonal fertility of female buffaloes in the northeast of state of Parana-Brazil. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 3, 1991, Varna-Bulgária. **Proceedings...**v.1, 1991. p.118.

SINGH, G. et al. Studies on estrous symptoms of buffalo heifers. **Theriogenology**, v. 21, p. 849-858, 1984.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 308-317, 1988.

SOARES, J. A G.; WISCHRAL, A.; OBA, E. Involução uterina, citologia vaginal e histologia vaginal e uterina de búfalas durante o puerpério. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL VI, Belo Horizonte, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1985. **Anais...** 1985, p.411

SPICER, L. S.; ECTHERNAKAMPS, S. E. Ovarian follicular growth function and turnover in cattle: a review. **Journal Animal Science**, v.62, p.428, 1986.

TONHATI, Humberto. Resultados do controle leiteiro em bubalinos. In: I SIMPÓSIO PAULISTA DE BUBALINOCULTURA, Jaboticabal -SP: Funep, 1999. **Anais...** 1999, p.90-109.

TORÍBIO, R. E. et al. Blood levels of the prostaglandin F_{2α} metabolite during the postpartum period in *Bos indicus* cows in the humid tropics. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 41, n.8, p. 630-639, 1994.

USMANI, R. H. et al. Uterine involution and postpartum ovarian activity in Nili-Ravi buffaloes. **Theriogenology**, New York, v. 24, p. 435-448, 1985.

VALE, W. G. Fisiologia da reprodução em Búfala (*Bubalus bubalis*) In: VALE, W. G. **Bubalinos: fisiologia e patologia da reprodução**. Campinas, Fundação Cargill, 1988. p. 1-38.

_____. Aspectos endócrinos do ciclo estral da búfala. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 10 p. 221-232, 1991.

VALE, W. G. et al. Involução uterina e atividade ovariana pós-parto em búfalos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 10 p. 187-192, 1986.

VALE, W.G. Perspectivas da bubalinocultura no Brasil e na América Latina. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE BUBALINOCULTURA, 1, 1999, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: UNESP/FCAV, 1999. p. 1-26.

VALE, W. G. et al. Biometría del sistema genital de búfalas. In: CURSO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN BUFALINA. 4 al 8 Marzo, 2002, Medellín, Colombia, **Memórias...**, Medellín, 2002, p. 21-27.

VASCONCELOS, J. L. M. **Avaliação da sincronização de ovulação e fatores relacionados com a produção de leite e taxa de concepção em vacas**. 1998. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo, 1998.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Detecção de subfertilidade em vacas leiteiras por meio de medidas anatômicas da região pélvica e do aparelho genital. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n.5, p. 468-474, 2000.

VELEZ, J. S.; RANDEL, R. D. Effect of uterine manipulation on postpartum fertility and plasma 13, 14-dihydro-15 keto-prostaglandin F₂α in multiparous and primiparous brahman cows. **Journal Animal Science**, v. 68, n.5, p. 1389-1394, 1990.

VILLENEUVE, P.; DUFOUR, J. J.; GUILBAUT, L. A. Influence of infusion of prostaglandin F (PGF₂α) and weaning on surface and histologic populations of ovarian follicles in early postpartum beef cows. **Journal Animal Science**, v.66, p.3174-3184, 1988.

WAGNER, W. C. HANSEL, W. Reproductive physiology of the post partum cow. **Journal Reproduction Fertility**, v. 18, p.493-500, 1969.

WEBB, R.; WOAD, K. J.; ARMSTRONG, D. G. Corpus luteum fution: local control mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology** v. 21, p. 227-285, 2002.

WILLIAMS, G. L.; GRIFFITH, M. K. Sensory and behavioral control of gonadotrophin secretion during suckling-mediated anovulation in cows. **Journal Reproduction Fertility**, v.49, p. 463-475, 1995. Supplement.

WILTIBANK, M. C. Uso eficaz de Hormônios de Reprodução: I período logo após o parto. In: IV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2000, Conapec, Minas Gerais, **Anais...** v.1, p. 25-29, 2000.

ZANCHET, E. Efeito de duas injeções de prostaglandina F2 α após o parto na performance reprodutiva de vacas leiteiras e eficiência reprodutiva entre raças Holandesa e Jersey. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, Ano 24, n. 143, jan./fev., p.13-17, 2005.

ZICARELLI, L. **Considerazioni sull'all evamento bufalino**. Salerno: Ente Regionale Sviluppo Agricolo in Companhia, 1990. 70 p.

_____. Management in different environmental conditions. WORLD BUFFALO CONGRESS, 4, 1994, São Paulo, **Proceedings...** São Paulo, 1994, v.1, p.88-112.

_____. Stagionalità riproduttiva nella bufala. In: INTERNATIONAL COURSE OF BIOTECHNOLOGY IN BUFFALO REPRODUCTION, 3th, Napoli, Itália, 1997. **Proceedings...**, Napoli: Bubalus bubalis suppl., 1997, p. 29-52.

_____. Out-of-breeding-season mating technique in buffalo (OBSM). In: **Bubalinos, sanidades, reprodução produção**. Jaboticabal, São Paulo: FUNEP, 1999. p. 179-202.

ZICARELLI, L. Advances in buffaloes reproduction. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 27, n.2, p. 85-94, 2003.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Avaliação do Intervalo entre partos e primeiro cio e Escore da Condição Corporal.

PROPRIEDADE:

LOCAL:

INICIO EXPERIMENTO: ____/____/____

TERMINO: ____/____/____

DATA EXAME	GRUPO	Nº VACA	Nº CRIAS	ULTIMO PARTO	PARTO ATUAL	1º CIO/COBERTURA PÓS-PARTO	ECC	
							ANTES PARTO	DEPOIS PARTO

APÊNDICE B - Resenha, Histórico e Exames antes e depois dos tratamentos.

RESENHA						TRATAMENTOS		EXAMES GINECOLÓGICO INTERVALO (DIAS)							
Nº / Nome	Parto Anter Data / Sexo	Parto Atual Data / Sexo	Peso/ Numero	Ecc (1-5)		G2 Data Prost.	G3 Data Prost.	1ª Sem. 7 Dias	Biopsia 10 Dias	2ª Sem. 14 Dias	Biopsia 20 Dias	3ª Sem 21 Dias	4ª Sem. 28 Dias	Biopsia 30 Dias	5ª Sem. 35 Dias
				Antes Parto	Pós Parto										

APÊNDICE C - Comportamento do Útero, após o parto normal de Búfalas examinadas por palpação retal.

DIAS PÓS-PARTO	POSIÇÃO DO ÚTERO			CONSISTÊNCIA (TÔNUS)			DIÂMETRO				BIOPSIA UTERINA		
	GRAU 1	GRAU 2	GRAU 3	<i>FLÁCIDO</i> (1)	MODERADO (2)	AUMENTADO (3)	1 DEDO = 2 (2 cm)	2 DEDOS = 4 (4 cm)	3 DEDOS = 6 (6 cm)	4 DEDOS = 8 (8 cm)	10º DIA	20º DIA	30º DIA
1ª SEMANA 7 DIAS													
2ª SEMANA 14 DIAS													
3ª SEMANA 21 DIAS													
4ª SEMANA 28 DIAS													
5ª SEMANA 35 DIAS													

APÊNDICE D – Exames de Acompanhamento Ginecológico.

Tratamentos	Dias Pós-parto															
		7			14			21			28			35		
	n	CU	CG	CNG	CU	CG	CNG	CU	CG	CNG	CU	CG	CNG	CU	CG	CNG
G1 Controle																
G2 1 x PGF2α																
G3 2 x PGF2α																

APÊNDICE E – Mensuração do Escore Corporal das búfalas.

ANIMAL	PESO/CRIA	SEXO	ECC		IL - IL	IL - ISD	IL - ISE	IS – IS
			Antes Parto	Após Parto				

ANEXOS



ANEXO A – Momento da mensuração do ECC pós-parto, identificação do bezerro com brinco na orelha esquerda, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO B – Momento da pesagem do bezerro e identificação do sexo, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO C – Exame Ginecológico por palpação retal, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO D – Material Utilizado para Biópsia Uterina (Pinça de Formel e Camisa Sanitária).



ANEXO E – Preparação da Pinça de Formel, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO F – Momento da higienização para introdução da pinça, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO G – Coleta do material para Biópsia Uterina na parte dorsal do corno gestante, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO H – Retirada do fragmento da pinça de Formel e acondicionamento em frascos com formol.



ANEXO I – Um dos três reprodutores da raça Mediterrâneo utilizado no experimento, Itororó-Ba, 2004.



ANEXO J – Avaliação do Escore Corporal pós-parto, Itororó-Ba, 2004.