

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 14.05.2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFEITO DA eCG SOBRE A IRRIGAÇÃO SANGUÍNEA DAS
ESTRUTURAS OVARIANAS E TEMPERATURA VULVAR DE
BÚFALAS MURRAH COM OVULAÇÃO SINCRONIZADA**

FELIPE RYDYGIER DE RUEDIGER

Botucatu - SP
Novembro 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFEITO DA eCG SOBRE A IRRIGAÇÃO SANGUÍNEA DAS
ESTRUTURAS OVARIANAS E TEMPERATURA VULVAR DE
BÚFALAS MURRAH COM OVULAÇÃO SINCRONIZADA**

FELIPE RYDYGIER DE RUEDIGER

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Oba

Botucatu - SP
Novembro 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Ruediger, Felipe Rydygier de.

Efeito da eCG sobre a irrigação sanguínea das estruturas ovarianas e temperatura vulvar de búfalas Murrah com ovulação sincronizada / Felipe Rydygier de Ruediger. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Eunice Oba

Capes: 50504002

1. Doppler, Ultrassonografia. 2. Termografia médica. 3. Radiação infravermelha. 4. Folículo ovariano. 5. Corpo lúteo. 6. Progesterona.

Palavras-chave: Corpo lúteo; Folículo; Progesterona; Termografia digital por infravermelho; Ultrassonografia Doppler.

Felipe Rydygier de Ruediger

**EFEITO DA eCG SOBRE A IRRIGAÇÃO SANGUÍNEA DAS ESTRUTURAS
OVARIANAS E TEMPERATURA VULVAR DE BÚFALAS MURRAH COM
OVULAÇÃO SINCRONIZADA**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Eunice Oba

Presidente e orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu /SP

Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu /SP

Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu /SP

Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur

Membro

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE – Presidente Prudente/SP

Prof. Dr. Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho

Membro

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA - Registro/SP

DEDICATÓRIA

In Memoriam, com muito amor ao meu pai Ricardo Rydygier de Ruediger, que nos deixou durante o doutoramento. Meu grande exemplo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar no caminho certo, me dar forças, coragem e sabedoria em todos os momentos.

Agradeço a minha Mãe Telma, mesmo com a distância sinto diariamente todo o calor do seu amor, todas as palavras de incentivo, cada vez que pensa em mim, muito obrigado por ser quem é, por tudo que fez e faz por mim, por sua força para nos mantermos em pé, por todos os seus sonhos abdicados para realizar os meus, faltam palavras.....

À minha irmã Paula, meu terceiro pilar, pelo carinho e compreensão. Mostrando sempre com sua alegria o lado bom da vida.

À Gabi, mais que uma noiva, uma amiga, parceira e cúmplice. Por todo seu amor, carinho e incentivo em todos os momentos. Pela ajuda nos trabalhos, artigos e tese. Sempre com um abraço carinhoso e uma palavra de incentivo.

Ao meu avô Newton, tios e primos os quais carrego em meu coração.

À minha orientadora Profa. Dra. Eunice pelas conversas, vivência, amizade, paciência, amparo, conselhos e claro sua orientação. Muito obrigado Professora, levarei para toda a vida!

Ao Dr. Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho pela amizade e pelo apoio em realizar o experimento, assim como por participar da banca de defesa.

Ao Prof. Dr. Rogério Antônio de Oliveira pela realização das análises estatísticas dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira e a Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza, pela colaboração e participação na banca de defesa.

Ao amigo Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur pela disponibilidade, colaboração na execução deste projeto e participação na banca de defesa.

Aos Professores da pós-graduação em Biotecnologia Animal, pelo conhecimento passado, dedicação e paciência.

Aos amigos que me ajudaram durante o experimento, Paulo, Viviane, Ariane, Doze e Rafael Leciolli.

Aos funcionários da APTA de Registro e do Departamento de Reprodução Animal.

Aos amigos de pós-graduação, pelo apoio, troca de conhecimento, momentos de descontração e por fazerem a estada aqui muito mais agradável. Muito obrigado!

Agradeço todos que fizeram e fazem parte da minha caminhada profissional tendo cada um guardado com uma importância única.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos.

LISTA DE ABREVIATURAS

- °C – Graus Celsius
µg – Micrograma
BE – Benzoato de estradiol
CL – Corpo lúteo
cm² – Centímetro quadrado
eCG – Gonadotrofina coriônica equina
FD – Folículo dominante
FPO – Folículo pré-ovulatório
FSH – Hormônio folículo estimulante
GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofina
h – Hora
HHG – Eixo hipotálamo-hipófise-gonadal
IA – Inseminação artificial
IATF – Inseminação artificial em tempo fixo
Kg – Quilograma
LH- Hormônio luteinizante
m – Metro
MHz – Mega-hertz
mL – Mililitro
mm – Milímetro
mm² – Milímetro quadrado
ng – Nanograma
P4 – Progesterona
pg – Picograma
PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}
RIA – Radioimunoensaio
TA – Temperatura ambiente
TDPI – Termografia digital por infravermelho

TG – Temperatura de bulbo negro

TR – Temperatura retal

UI – Unidade internacional

UR – Umidade relativa do ar

WBGT – Temperatura de bulbo úmido

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1- Linha do tempo do protocolo hormonal, com e sem eCG, das ultrassonografias e das colheitas de sangue. Implante intravaginal de progesterona (P4), benzoato de estradiol (EB), gonadotrofina coriônica equina (eCG), prostaglandina F 2 α (PGF2 α), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), ultrassom (US), colheita de sangue (BS).....p.42

Figura 2 – Imagens ultrassonográficas *colour* Doppler do folículo pré-ovulatório, demonstrando a maior irrigação do seu perímetro previamente à ovulação (esq.) e do CL com sua área irrigada máxima (dir.).....p.44

Figura 3 – Médias \pm erro padrão, do diâmetro, perímetro, perímetro irrigado e porcentagem do perímetro irrigado do folículo de búfalas Murrah, entre os grupos eCG ($n = 20$) e controle ($n = 20$). * $P < 0,05$ entre os tratamentos.....p.45

Figura 4 – Médias \pm erro padrão, do diâmetro, área, área irrigada e porcentagem da área irrigada do CL de búfalas Murrah, entre os grupos eCG ($n = 20$) e controle ($n = 20$). * $P < 0,05$ entre os tratamentos.....p.45

Figura 5 – Médias \pm erro padrão da concentração plasmática de progesterona de búfalas Murrah, entre os grupos eCG ($n = 20$) e controle ($n = 20$). * $P < 0,05$ entre os tratamentos.....p.46

Capítulo 2

Figura 1- Linha do tempo do protocolo hormonal, das ultrassonografias, das termografias e das colheitas de sangue. Implante intravaginal de progesterona (P4), benzoato de estradiol (EB), gonadotrofina coriônica equina (eCG), prostaglandina F2 α (PGF2 α), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), ultrassom (US), termografia digital por infravermelho (TDPI) e colheita de sangue (BS).....p.64

Figura 2 – Termogramas da vulva (A), olho (B) e mufla (C) de búfalas, com as áreas de aferição demarcadas.....p.65

Figura 3 – Variação da temperatura da superfície da vulva (VST) e concentração plasmática de progesterona, durante os dias do experimento em búfalas.....p.68

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 – Média ± erro padrão (EP) e nível de significância (P) entre os grupos tratados com e sem eCG, para crescimento médio diário dos folículos de búfalas Murrah.....p.44

Tabela 2 – Coeficiente de correlação de Pearson e nível de significância (P) observados entre o diâmetro, área, área irrigada e porcentagem da irrigação do CL em relação a concentração plasmática de progesterona em búfalas Murrah.....p.46

Tabela 3 – Coeficiente de correlação de Pearson e nível de significância (P) entre os diâmetros do folículo (FOL) e corpo lúteo (CL), área do CL, perímetro do FOL, área irrigada do CL, perímetro irrigado do FOL, porcentagem irrigada da área do CL e do perímetro do FOL e a concentração plasmática de progesterona de búfalas Murrah.....p.47

Capítulo 2

Tabela 1 – Médias ± erro padrão (EP), das temperaturas da superfície da vulva, mufla, olho e retal (TR) de búfalas Murrah e dos dados climáticos.....p.66

Tabela 2 – Coeficientes de correlação de Pearson e nível de significância (P) entre a temperatura retal (TR) e as temperaturas da superfície da vulva, mufla e olho, obtidas por termografia digital por infravermelho em búfalas Murrah.....p.67

Tabela 3 – Médias ± erro padrão (EP) e nível de significância (P) das temperaturas da superfície da vulva, mufla e olho, obtidas por termografia digital por infravermelho, comparadas entre as fases folicular e luteínica de búfalas Murrah.....p.67

Tabela 4 – Coeficientes de correlação de Pearson e nível de significância entre os dados climáticos e as temperaturas de vulva, mufla e olho e temperatura retal (TR) de búfalas no período da manhã e da tarde.....p.68

Tabela 5 – Coeficientes de correlação de Pearson e nível de significância (P) entre as concentrações plasmáticas de progesterona e as temperaturas da superfície da vulva, mufla, olho e retal (TR) em búfalas.....p.69

Tabela 6 – Coeficientes de correlação de Pearson e nível de significância (P) entre as concentrações plasmáticas de cortisol e as temperaturas da superfície da vulva, mufla, olho e retal (TR) de búfalas e os dados climáticos.....p.69

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1. Características reprodutivas das búfalas	7
2.2. IATF em búfalas.....	9
2.3. Ultrassonografia Doppler e vascularização das estruturas ovarianas....	13
2.4. Termografia por infravermelho	17
3. HIPÓTESES.....	21
4. OBJETIVOS	22
4.1. Objetivo Geral	22
4.2. Objetivos Específicos.....	22
REFERÊNCIAS	23
Capítulo 1	37
Capítulo 2	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

RESUMO

Felipe Rydygier de Ruediger. EFEITO DA eCG SOBRE A IRRIGAÇÃO SANGUÍNEA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TEMPERATURA VULVAR DE BÚFALAS MURRAH COM OVULAÇÃO SINCRONIZADA. Botucatu – SP. 2017. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

Estratégias que busquem resultados reprodutivos superiores em búfalos devem ser pesquisadas. Para tanto, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) vem sendo estudada apresentando resultados satisfatórios em búfalas, porém os mecanismos envolvidos na ação da eCG não foram totalmente esclarecidos. A termografia digital por infravermelho apresenta importância no estudo das variações de temperaturas da vulva durante o ciclo estral, podendo auxiliar na detecção do estro nesta espécie. O objetivo do presente estudo foi avaliar as variações morfológicas e de vascularização dos folículos e corpo lúteo (CL) e nas concentrações plasmáticas de progesterona (P4) e cortisol durante protocolo hormonal para a sincronização da ovulação com e sem eCG. Também objetivou-se avaliar a influência da fase reprodutiva e do clima sobre a temperatura da superfície da vulva em búfalas Murrah. Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos, grupo com eCG (eCG, n=20) e grupo sem eCG (controle, n=20). No primeiro dia do protocolo hormonal (Dia 0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal de P4 e administração de benzoato de estradiol. No dia 9, removeu-se o dispositivo de P4, administrhou-se PGF_{2α} em todas as búfalas e eCG nos animais do grupo eCG. No dia 11, foi administrado GnRH. A partir do dia 9, foram realizadas ultrassonografias doppler no período da tarde e termografia digital pela manhã e à tarde, diariamente até o dia 16 e depois nos dias 20, 24, 28 e 32, visando avaliar o desenvolvimento e irrigação folicular e do CL, e as temperaturas superficiais da vulva, mufla e olho. Adicionalmente, foram realizadas mensurações das variáveis climáticas, temperatura retal (TR) e colheita de sangue para obter as concentrações plasmáticas de P4 e cortisol. No experimento 1 o grupo eCG apresentou maior

perímetro irrigado dos folículos nos dias 11 ($P=0,018$) e 12 ($P =0,03$), o CL apresentou maior diâmetro no dia 16 ($P<0,0001$) e maior área irrigada nos dias 14 ($P=0,008$), 15 ($P=0,0051$), 16 ($P=0,0048$), 20 ($P=0,0037$) e 24 ($P=0,022$) e produção de P4 nos dias 15 ($P=0,042$), 16 ($P=0,048$), 20 ($P=0,0054$) e 24 ($P=0,0063$). No experimento 2 as temperaturas da superfície da vulva, mufla e olho correlacionaram-se positivamente, com a TR e com os dados climáticos. As ovulações ocorreram em média aos $13,57\pm1,32$ dias, sendo que foram encontradas maiores temperaturas da superfície da vulva, olho e mufla na fase folicular em relação à luteínica. As temperaturas da superfície da vulva foram mais baixas durante os dias 16, 20, 24 e 28 e a concentração plasmática de P4 apresentou padrão inversamente proporcional. As temperaturas da superfície da mufla e do olho não acompanharam o mesmo padrão de variação das temperaturas vulvares, entretanto, correlacionaram-se positivamente com as concentrações plasmáticas de cortisol. Portanto, a utilização de eCG durante protocolo hormonal para sincronização da ovulação à base de P4 favorece a concentração plasmática de P4 pela maior irrigação do folículo que proverá um CL maior e mais irrigado. A termografia digital por infravermelho é eficaz para avaliar a influência do ciclo estral e variações climáticas sobre as temperaturas da vulva e corporal.

Palavras-chave: ultrassonografia Doppler, termografia digital por infravermelho, folículo, corpo lúteo, progesterona.

ABSTRACT

Felipe Rydygier de Ruediger. EFFECT OF eCG ON BLOOD IRRIGATION OF OVARIAN STRUCTURES AND VULVAR TEMPERATURE OF MURRAH BUFFALOES WITH SYNCHRONIZED OVULATION. Botucatu - SP. 2017. Thesis (Ph.D.) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science.

Strategies that seek better reproductive results in buffaloes should be researched. Thus, equine chorionic gonadotrophin (eCG) was studied presenting satisfactory results when used in buffalo during the breeding season and anestrous period, but the mechanisms involved in the reproductive improvement observed with the eCG implementation were not fully understood. The superficial digital thermography may be important in the study of temperature variations of the vulva inherent to the estrous cycle, and may help in the detection of estrus in this species. The objective of the present study was to evaluate the morphological and irrigation alterations in the follicles and corpus luteum (CL) and the changes in plasma concentrations of progesterone (P4) during hormonal protocol for ovulation synchronization with and without eCG. As well the aim of this study was to evaluate the influence of the reproductive phase and the climate on the superficial vulvar temperature in Murrah buffaloes. The animals were randomly divided into two groups, group with eCG (eCG, n = 20) and group without eCG (control, n = 20). On the first day of the hormonal protocol (Day 0), cows received an intravaginal P4 device and estradiol benzoate administration. On day 9, the P4 device was removed, PGF_{2α} was administered in all buffaloes and eCG in eCG group. On day 11, GnRH was administered. From day 9, Doppler ultrasonography was daily performed in the afternoon and digital thermography in the morning and afternoon, until day 16 and later on days 20, 24, 28 and 32, to evaluate follicular and CL development and irrigation, and superficial temperatures of the vulva, mufla and eye. In addition, the climatic variables, rectal temperature (RT) and blood collection to evaluated for P4 and cortisol plasma concentrations were performed. In the experiment 1, the eCG group showed a greater follicular perimeter irrigation on days 11 ($p = 0.018$) and 12 ($p = 0.03$), the

CL presented a larger diameter on day 16 ($p < 0.0001$) and higher irrigated area on days 14 ($p=0.008$), 15 ($p=0.0051$), 16 ($p=0.0048$), 20 ($p=0.0037$) and 24 ($p=0.022$) and P4 production on days 15 ($p = 0.042$), 16 ($p = 0.048$), 20 ($p = 0.0054$) and 24 ($p = 0.0063$). In experiment 2 the surface temperatures of the vulva, mufla and eye were positively correlated with RT and climatic data. Ovulation occurred on average at 13.57 ± 1.32 days, with higher temperatures of the vulva, eye and mufla in the follicular phase compared to luteinic. Vulval temperatures were lower during days 16, 20, 24 and 28 and P4 plasma concentration was inversely proportional, but mule and eye temperatures did not follow the same pattern of vulvar temperature variation. Therefore, the use of eCG during P4-based hormonal protocol for ovulation synchronization favors P4 plasma concentration by the greater irrigation of the follicle that will provide a greater and more irrigated CL. Digital infrared thermography is effective to evaluate the influence of the estrous cycle and climatic variations on vulva and body temperatures.

Keywords: Doppler ultrasound, infrared digital thermography, follicle, corpus luteum, progesterone.

1. INTRODUÇÃO

O rebanho bubalino brasileiro é estimado em 1,32 milhões de cabeças (IBGE, 2017), demonstrando um crescimento anual de aproximadamente 3,5% (BERNARDES, 2007), superior ao dos bovinos (MACHADO et al., 2007), com excelente capacidade de adaptação da espécie às condições ambientais do Brasil, apresentando alto desempenho produtivo e reprodutivo (BARUSELLI e CARVALHO, 2002).

No Brasil, os búfalos são criados para a produção de carne (MARIANTE et al., 2003) e de leite (JORGE et al., 2006). A produção nacional de leite de búfala supera 92 milhões de litros por ano, com destaque a região Sudeste do país que apresenta uma desenvolvida cadeia produtiva de leite e derivados (IBGE, 2017).

Considerando as peculiaridades reprodutivas das búfalas, tais quais, baixo comportamento homossexual e sazonalidade, técnicas visando melhorar a fertilidade do rebanho bubalino necessitam ser desenvolvidas.

Em vista disso, para elevar os índices reprodutivos do rebanho bubalino vem sendo empregada a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) que permite a inseminação artificial (IA) sem a observação de cio. A associação da gonadotrofina coriônica equina (eCG) a esses protocolos, apresenta resultados satisfatórios durante o período de anestro sazonal devido a sua capacidade de desestacionalização, sendo importante estratégia por permitir maior produção leiteira na entressafra, que coincide com a época de elevada disponibilidade de pastagem (CARVALHO et al., 2013a, GERDES et al., 2000). Visando elucidar as alterações ovarianas desencadeadas pela utilização da eCG a ultrassonografia doppler dos ovários é uma ferramenta útil, pois permite a avaliação de variações hemodinâmicas envolvidas no desenvolvimento folicular e luteílico (ACOSTA et al., 2002).

Fêmeas bovinas apresentam maior taxa de prenhez em programas de IATF quando são inseminadas após a expressão de cio, desta maneira a termografia digital superficial da vulva pode ser estudada na espécie bubalina buscando auxílio para detecção do estro, uma vez que variações hormonais influenciam na vascularização e no fluxo sanguíneo, alterando a temperatura da

superfície de diferentes regiões do corpo do animal (PUROHIT et al., 1985.; SCOLARI et al., 2011; TALUKDER et al., 2014).

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as variações morfológicas e de vascularização nos folículos e corpo lúteo (CL) juntamente com as variações nas concentrações plasmáticas de progesterona (P4) durante protocolo hormonal com e sem eCG, e avaliar a influência da fase reprodutiva e do clima sobre as temperaturas da superfície da vulva, olho e mufla por meio da termografia digital em búfalas Murrah.

REFERÊNCIAS¹

- ABISOGUN, A. O.; DAPHNA-IKEN, D.; REICH, R.; KRANZFELDER, D.; TSAFRIRI, A. Modulatory role of eicosanoids in vascular changes during the preovulatory period in the rat. **Biology of Reproduction**, v.38, p.756–762, 1988.
- ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. **Journal of Reproduction and Development**, v.51, p.273–280, 2005.
- ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v.125, p.759-767, 2003.
- ACOSTA, T. J.; MIYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p.127–140, 2004.
- ACOSTA, T. J.; YOSHIZAWA, N.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F2 α injection in the cow. **Biology of Reproduction**, v.66, p.651–658, 2002.
- ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.96, p.627-640, 1992.
- ALI, A.; ABDEL-RAZEK, A. K.; BDEL-GHAFFAR, S. A.; GLATZEL, P. S. Ovarian Follicular Dynamics in Buffalo Cows (*Bubalus bubalis*). **Reproduction in Domestic Animals**, v. 38. p.214–218, 2003.
- ALSAAOOD, M.; BÜSCHER, W. Detection of hoof lesions using digital infrared thermography in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.95, p.735–742, 2012.
- ARAÚJO, V. R.; DUARTE, A. B.; BRUNO, J. B.; PINHO LOPES, C. A.; FIGUEIREDO, J. R. Importance of vascular endothelial growth factor (VEGF) in ovarian physiology of mammals. **Zygote**, v.13, p.1-10, 2011.
- AYRES, H.; MINGOTI, G.Z. Angiogênese, vascularização e uso do ultrassom Doppler colorido na avaliação de estruturas ovarianas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.36, p.174-180, 2012.
- BARILE, V. L. Improving reproductive efficiency in female buffaloes. **Livestock Production Science**, v.92, p.183–194, 2005.
- BARILE, V. L. Technologies related with the artificial insemination in buffalo. **Journal of Buffalo Science**, v.1, p.139-146, 2012.

¹Referências organizadas de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

- BARILE, V. L.; TERZANO, G.M.; ALLEGRENI, S.; MASCHIO, M.; RAZZANO, M.; NEGLIA, G.; PACELLI, C. Relationship among preovulatory follicle, corpus luteum and progesterone in oestrus synchronized buffaloes. *Ital. Journal of Animal Science*, v.6, p.663-666, 2007.
- BARKAWI, A. H.; HAFEZ, Y. M.; IBRAHIM S. A.; ASHOUR, G.; EL-ASHEERI, A. K.; GHANEM, N. Characteristics of ovarian follicular dynamics throughout the estrous cycle of Egyptian buffaloes. *Animal Reproduction Science*, v.110, p.326–334, 2009.
- BARROS, D.V.; L. K. X. SILVA, P. R. KAHWAGE, J. B. LOURENÇO JÚNIOR, J. S. SOUSA, A. G. M. SILVA, I. M. FRANCO, MARTORANO, L. G.; GARCIA, A. R. Assessment of surface temperatures of buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) raised under tropical conditions using infrared thermography. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.68, p.422-430, 2016.
- BARUSELLI, P.S.; MUCCIOLO, R.G.; VISINTIN, J. A.; VIANA, W. G.; ARRUDA, R. P.; MADUREIRA, E. H.; OLIVEIRA, C. A.; MOLERO FILHO, J. R. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.47, p.1531–1547, 1997.
- BARUSELLI, P. S.; BERNANDES, O.; BARUFI, F. B.; BRAGA, D.; ARAUJO, D.; TONATHI, H. Calving distribution throughout the year in buffalo raised all over Brazil. In: **Proceedings of the 6th World Buffalo Congress;**. Book of the Congress, p. 234–40, 2001.
- BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T. Reproduction Management and artificial insemination in buffalo. **Proceedings of 1 Buffalo Symposium of Americas**, Belém, PA, v.1, p.119-143, 2002.
- BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T.; HENRIQUEZ, C. H. P.; AMARAL, R.; NICHI, M. Synchronization of ovulation for timed artificial insemination during the off breeding season in the buffalo. **Proceedings of 1th Buffalo Symposium of Americas**. Belém, p. 418-420, 2002.
- BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C.; BERBER, R. C. A. Evaluation of synchronization of ovulation for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.431-442, 2003.
- BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T.; GIMENES, L. U.; CREPALDI, G. A. Fixed-time artificial insemination in buffalo. *Italian Journal of Animal Science*, v.6, p.107-118, 2007.
- BARUSELLI, P. S.; SOARES, J. G.; GIMENES, L. U.; MONTEIRO, B. M.; OLAZARRI, M. J.; CARVALHO, N. A. T. Control of Buffalo Follicular Dynamics for Artificial Insemination, Superovulation and *In Vitro* Embryo Production. *Buffalo Bulletin*, v.32, n.1, p.160-176, 2013.
- BAUER, M.; SCHILLING, N.; SPANEL-BOROWSKI, K. Development and regression of non-capillary vessels in the bovine corpus luteum. *Cell Tissue and Research*, v.311, p.199–205, 2003.

- BERBER, R. C. A.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Comparison of two ovsynch protocols (GnRH vs. LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.57, p.1421-1430, 2002.
- BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.293-298, 2007.
- BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Anti-luteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1451-1463, 2001.
- BITTMAN, E. L.; KARSCH, F. J. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. **Biology of Reproduction**, v.30, p.585–593, 1984.
- BOLLWEIN H.; MAYER, R.; WEBER, F.; STOLLA, R. Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v.57, p. 2043–2051, 2002.
- BRITO, L. F.; SATRAPA, R.; MARSON, E. P.; KASTELIC, J. P. Efficacy of PGF(2alpha) to synchronize estrus in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. **Animal Reproduction Science**, v.73, p.23–35, 2002.
- CAMPANILE, G.; GASPARINI, B.; VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; SENATORE, E. M.; BELLA, A. Pregnancy rates following AI with sexed semen in Mediterranean Italian buffalo heifers (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.76, p.500-506, 2011.
- CAMPANILE, G.; NEGLIA, G. Embryonic mortality in buffalo cows Italian. **Journal of Animal Science**, v.6, p.119-129, 2010.
- CAMPANILE, G.; NEGLIA, G.; D'OCCHIO M. J. Embryonic and foetal loss in River buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.86, p.207-213, 2016.
- CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRII, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. **Ciência Rural**, v.38, n.3, 2008.
- CARVALHO, N. A T.; SOARES, J. G.; PORTO FILHO, R. M.; GIMENES, L. U.; SOUZA, D. C.; NICHI, M.; SALES, J. S.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a timed artificial insemination protocol in buffalo during the nonbreeding season. **Theriogenology**, p. 423–428, 2013a.
- CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; REIS, E. L.; VANNUCCI, F. S.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Use of Different Progestagens for Ovulation Synchronization and TAI in Buffaloes during the Non Breeding Season. **Buffalo Bulletin**, v.32, p.527-531, 2013b.
- CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J. G.; SOUZA, D. C.; MAIO, J. R. G.; SALES, J. N. S.; MARTINS, B. J. Ovulation synchronization with EB or GnRH in buffalo TAI during the non breeding season. **Animal Reproduction**, v.9, p.523, 2012.

CIRIT, Ü.; AK, K.; ILERI, I. K. New strategies to improve the efficiency of the Ovsynch protocol in primiparous dairy cows. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v.51, p.47-51, 2007.

CLAPPER, J. A.; OTTOBRE, J. S.; OTTOBRE, A. C.; ZARTMAN, D. L. Estrual rise in body temperature in the bovine I. Temporal relationships with serum patterns of reproductive hormones. **Animal Reproduction Science**, v.23, p.89–98, 1990.

COLAK, A.; POLAT, B.; OKUMUS, Z.; KAYA, M.; YANMAZ, L. E.; HAYIRLI, A. Short communication: early detection of mastitis using infrared thermography in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.4244–4248, 2008.

CRAVELLO, B.; FERRI, A. Relationships between skin properties and environmental parameters. **Skin Research Technology**, v.14, p.180–186, 2008.

DADARWAL, D.; MAPLETOFT, R. J.; ADAMS, G. P.; PFEIFER, L. F. M.; CREELMAN, C.; SINGH, J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.79, p.859-866, 2013.

DE RENSIS, F.; RONCI, G.; GUARNERI, P.; NGUYEN, B. X.; PRESICCE, G. A.; HUSZENICZA, G. Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.63, p.1824-1831, 2005.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, Suppl 2, p.260–267, 2008.

DROST, M. Bubaline versus bovine reproduction. **Theriogenology**, v. 68, p. 447–449, 2007.

DROST, M.; CRIPE, W. S.; RICHTER, A. R. Oestrus detection in buffaloes (*Bubalus bubalis*): use of an androgenized female. **Buffalo Bulletin Journal**, v.1, p.159–161, 1985.

FERREIRA, J. C.; FERNANDA SAULES IGNÁCIO, F.C.; MEIRA, C.. Doppler ultrasonography principles and methods of evaluation of the reproductive tract in mares. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, p.105 – 111, 2011.

FISHER, A. D.; MORTON, R.; DEMPSEY, J. M.; HENSHALL, J. M.; HILL, J. R. Evaluation of a new approach for the estimation of the time of the LH surge in dairy cows using vaginal temperature and electrodeless conductivity measurements. **Theriogenology**, v.70, p.1065–1074, 2008.

FITZ, T. A.; MAYAN, M. H.; SAWYER, H. R.; NISWENDER, G. D. Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v.27, p.703, 1982.

FOLMAN, Y.; ROSENBERG, M.; HERZ, Z.; DAVIDSON, M. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.34, p.267–278, 1973.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomy of the female reproductive system**. In: Anatomy and Physiology of Farm Animals, Troy D (Ed.), Lippincott Williams and Wilkins, 2003, pp. 394.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O. Equine preovulatory follicle: blood flow changes, prediction of ovulation and fertility. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** v.35, p.239–252, 2011.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; GINTHER, O. J. Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. **Reproduction**, v.131, p.699–709, 2006.

GAYTAN, F.; MORALES, C.; GARCIA-PARDO, L.; REYMUNDO, C.; BELLIDO, C.; SANCHEZ-CRIADO, J. E. A quantitative study of changes in the human corpus luteum microvasculature during the menstrual cycle. **Biology of Reproduction**, v.60, p.914- 919, 1999.

GEORGE, W. D.; GODFREY, R.W.; KETRING, R. C.; VINSON, M. C.; WILLARD, S. T. Relationship among eye and muzzle temperatures measured using digital infrared thermal imaging and vaginal and rectal temperatures in hair sheep and cattle. **Journal of Animal Science**, v.92, p.4949-4955, 2014.

GERDES, L.; WERNER, J. C.; COLOZZA, M. T.; CARVALHO, D. D. DE; SCHAMMASS, E. A. Avaliação de características agronômicas e morfológicas das gramíneas forrageiras Marandu , Setaria e Tanzânia aos 35 dias de crescimento nas estações do ano 1 evaluation of agronomic and morphologic characteristics of the Grasses Brachiaria brizantha cv. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 947–954, 2000.

GIMENES, L. U., SÁ FILHO, M. F., CARVALHO, N. A. T., VANUCCI, F. S., REICHERT, R. H., SARTORELLI, E. S., BARROS, C. M., BARUSELLI, P. S. Ultrasonographic and endocrine aspects of follicle deviation, and acquisition of ovulatory capacity in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.123, p. 175–179, 2011.

GINTHER, O. J. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. **Theriogenology**, v.81, p.112–125, 2014.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: color- Doppler ultrasonography**, Book 4. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing; 2007.

GINTHER, O. J; SILVA, L. A.; ARAUJO, R. R.; BEG, M. A. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2alpha}, luteal blood flow, and luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, v.76, p.506–513, 2007.

- GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; CHECURA, C. M.; BEG, M. A. Dose response study of intrafollicular injection of insulin-like growth factor-1 on follicular-fluid factors and follicle dominance in mares. **Biology of Reproduction**, v.70, p.1063-1069, 2004.
- GINTHER, O. J.; UTT, M. D. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.24, p.516–526, 2004.
- GLATZEL, P. S.; ALI, A.; GILLES, M.; FIDELAK, C.: Feststellung der Fruchtbarkeit bei 30 Wasserbüffelfrauen. TU 6, 329–332. Ireland JJ, Coulson PB, Murphree RL, 1979: Follicular development during four stages of the oestrous cycle of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.49, p.1261–1269, 2000.
- GRAZUL-BILSKA, A. T.; NAVANUKRA, W. C.; JOHNSON, M. L.; VONNAHME, K. A.; FORD, S. P.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A. Vascularity and expression of angiogenic factors in bovine dominant follicles of the first follicular wave. **Journal of Animal Science**, v.85, p.1914-1922, 2007.
- HAIDER, M.S.; HASSAN, M.; KHAN, A. S.; HUSNAIN, A.; BILAL, M.; PURSLEY, J.R.; AHMAD, N. Effect of timing of insemination after CIDR removal with or without GnRH on pregnancy rates in Nili-Ravi buffalo. **Animal Reproduction Science**, v. 163, p. 24-29, 2015.
- HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Application of doppler ultrasonography in cattle reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, p.51–58, 2007.
- HERZOG, K.; BROCKHAN-LUDDEMAN, M.; KASKE, M.; BEINDORFF, N.; PAUL, V.; NIEMANN, H.; BOLLWEIN, H. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. **Theriogenology**, v.73, p.691–697, 2010.
- HERZOG, K.; VOSSA, C.; KASTELICC, J. P.; BEINDORFFA, N.; PAULD, V.; NIEMANNB, H.; BOLLWEIN, H. Luteal blood flow increases during the first three weeks of pregnancy in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.75, p.549–554, 2011.
- HOCKEY, C. D.; MORTON, J. M.; NORMAN, S. T.; MCGOWAN, M. R. Evaluation of a neck mounted 2-hourly activity meter system for detecting cows about to ovulate in two paddock-based Australian dairy herds. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.107–117, 2010.
- HOFFMANN, G.; SCHMIDT, M.; AMMON, C.; ROSE-MEIERHÖFER, S.; URFEIND, O.; HEUWIESER, W. Monitoring the body temperature of cows and calves using video recordings from an infrared thermography camera. **Veterinary Research Communications**, v.37, p.91–99, 2013.
- HOJO, T.; AL-ZI'ABI, M. O.; SKARZYNSKI, D. J.; ACOSTA, T. J.; OKUDA, K. Changes in the vasculature of bovine corpus luteum during the estrous cycle and prostaglandin F_{2alpha}-induced luteolysis. **Journal of Reproduction and Development**, v.55, p.512–517, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Pecuária Municipal: Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 04 abril 2017.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. **Cattle and buffalo**. In: Hafez ESE, editor. Reproduction in farm animals. 6th ed., Philadelphia: Lea and Febiger; 1993. p. 315–29.

JANSON, P. O.; DAMBER, J. E.; AXEN, C. Luteal blood flow and progesterone secretion in pseudopregnant rabbits. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.63, p.491–497, 1981.

JIANG, J.; MACCHIARELLI, G.; TSANG, B.; SATO, E. Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. **Reproduction**, v.125, p.211–223, 2003.

JORGE, A. M.; ANDRIGHETTO, C.; MILLIEN, D. C.; CALIXTO, M. G.; VARGAS, A. D. F. Desempenho e eficiência biológica de bubalinos de três grupos genéticos terminados em confinamento e abatidos em diferentes estádios de maturidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 252-257, 2006.

KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; COULTER, G. H.; WALLINS, G. L.; ENTZ, T. Environmental factors affecting measurement of bovine scrotal surface temperature with infrared thermography. **Animal Reproduction Science**, v.41, p.153-159, 1996.

KUMAR, P. R.; SINGH, S. K.; KHARCHE, S. D.; GOVINDARAJU, C. S.; BEHERA, B. K.; SHUKLA, S. N.; KUMAR, H.; AGARWAL, S. K. Anestrus in cattle and buffalo: Indian perspective. **Advance in Animal and Veterinary Science**, v.2, n.3, p.124-138, 2014.

KYLE, B. L.; KENNEDY, A. D.; SMALL, J. A. Measurement of vaginal temperature by radiotelemetry for the prediction of estrus in beef cows. **Theriogenology**, v.49, p.1437–1449, 1998.

LEI, Z. M.; CHEGINI, N.; RAO, C. V. Quantitative cell composition of human and bovine corpora lutea from various reproductive states. **Biology of Reproduction**, v. 44, p.1148–1156, 1991.

MACCHIARELLI, G.; JIANG, J. Y.; NOTTOLA, S. A.; SATO, E. Morphological patterns of angiogenesis in ovarian follicle capillary networks. A scanning electron microscopy study of corrosion cast. **Microscopy Research and Technique**, v.69, p.459-468, 2006.

MALHADO, C. H. M.; RAMOS, A. A.; CARNEIRO, P. L. S.; SOUZA, J. C.; PICCININ, A. Parâmetros e tendências da produção de leite em bubalinos da raça Murrah no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 376-379, 2007.

MARIANTE, A. S.; MCMANUS, C., MENDONÇA, J. F.; Country report on the state of animal genetic resources. **Embrapa/Genetic Resources and Biotechnology**, p. 121, 2003.

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

MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow. **The Veterinary Journal**, v.181, p.232–240, 2009.

MATTIOLI, M.; BARBONI, B.; TURRIANI, M.; GALEATI, G.; ZANNONI, A.; CASTELLANI, G.; BERARDINELLI, P.; SCAPOLI, P. A. Follicle activation involves vascular endothelial growth factor production and increased blood vessel extension. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1014-1019, 2001.

MIRMAHMOUDI, R.; PRAKASH, B. S. The endocrine changes, timing of ovulation and efficacy of the Doublesynch protocol in the Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Gen Comp Endocr.**, v.177, p.153-159, 2012.

MIRMAHMOUDI, R.; SOURI, M.; PRAKASH, B. S. Comparison of endocrine changes, timing of ovulations, ovarian follicular growth, and efficacy associated with Estradoublesynch and Heatsynch protocols in Murrah buffalo cows (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 82, p.1012–1020, 2014.

MIYAMOTO, A.; SHIRASUNA, K.; WIJAYAGUNAWARDANE, M. P.; WATANABE, S.; HAYASHI, M.; YAMAMOTO, D.; MATSUI, M.; ACOSTA, T. J. Blood flow: A key regulatory component of corpus luteum function in the cow. **Domestic Animal Endocrinology**, v.29, p.329–339, 2005.

MOHAN, K.; SARKAR, M.; PRAKASH, B. S. Efficiency of Heatsynch protocol in estrus synchronization, ovulation and conception of dairy buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.22, p.774–780, 2009.

MONTEIRO, B. M.; SOUZA, D. C.; VASCONCELLOS, G. S. F. M.; CORRÊA, T. B.; VECCHIO, D.; SÁ FILHO, M. F. Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn–winter). **Animal Science Journal**, v.87, p.13-20, 2016.

MOREIRA, F. C.; ORLANDI, C. A.; RISCO, C. A.; MATTOS, R.; LOPEZ, F.; THATCHER, W. W. Effects of preparturient synchronization and bovine somatotrophin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1646–1659, 2001.

MOSHER, M. D.; OTTOBRE, J. S.; HAIBEL, G. K.; ZARTMAN, D. L. Estrual rise in body temperature in the bovine II. The temporal relationship with ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.23, p.99–107, 1990.

MOURA, A.J.D.R. **Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CID-R®) associado a estrógeno e prostaglandina F_{2α} em búfalas (*Bubalus bubalis*) tratadas em estações reprodutivas distintas.** 2003. 127f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina

Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MURDOCH, W.; PETERSON, T.; VAN KIRK, E.; VINCENT, D.; INSKEEP, E. Interactive roles of progesterone, prostaglandins, and collagenase in the ovulatory mechanism of the ewe. **Biology of Reproduction**, v.35, p.1187–1194, 1986.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotrophin. **Endocrine Reviews**, v. 12, p. 27-44, 1991

MURUGAVEL, K.; ANTOINE, D.; RAJU, M. S.; LÓPEZ-GATIUS, F. The effect of addition of equine chorionic gonadotropin to a progesterone-based estrous synchronization protocol in buffaloes (*Bubalus bubalis*) under tropical conditions. **Theriogenology**, v. 71, n. 7, p. 1120–1126, 2009.

MURUGAVEL, K.; YANIZ, J. L.; SANTOLARIA, P.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; LÓPEZ-GATIUS, F. Luteal activity at the onset of a timed insemination protocol affects reproductive outcome in early postpartum dairy cows, **Theriogenology**, v.60, p.583–593, 2003.

NASEER, Z.; AHMAD, E.; SINGH, J.; AHMAD, N. Fertility following CIDR based synchronization regimens in anoestrous Nili-Ravi buffaloes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.46, p.814–817, 2011.

NEGLIA, G.; NATALE, A.; ESPOSITO, G.; SALZILLO, F.; ADINOLFI, L.; CAMPANILE, G. Effect of prostaglandin F2a at the time of AI on progesterone levels and pregnancy rate in synchronized Italian Mediterranean buffaloes. **Theriogenology**, v.69, p.953-960, 2008.

O'SHEA, J. D.; RODGERS, R. J.; D'OCCHIO, M. J. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 85, p.483–487, 1989.

OBA, E. **Tópicos atualizados ligados à reprodução na espécie bubalina**. In: **Sanidade e Produtividade em Búfalos**. Ed. Por Juan Molero Filho e col. Jaboticabal, FUNEP, p.202, 1993.

OBA, E.; SOUZA. M. I. L. Avanços na reprodução de bovinos e bubalinos. Contribuição ao estudo dos bubalinos: período de 1972-2001: palestras. Botucatu, SP: FMVZ/UNESP, p.541-564, 2003.

OHASHI, O. M. Estrous detection in buffalo cow. **Buffalo Journal**, v.10, p.61-64, 1994.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology**, v. 21, p. 495–504, 1984.

PIETERSE, M. C.; SZENCI, O.; WILLEMS, A. H.; BAJCSY, C. S.; DIELEMAN, S. J.; TAVERNE, M. A. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. **Theriogenology**, v.33, p.697–707, 1990.

PORTO FILHO, R. M. **Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) durante estação reprodutiva desfavorável em fêmeas bubalinas.** Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo. p. 100, 2004.

PORTO-FILHO, R.M.; GIMENES, L.U.; MONTEIRO, B.M.; CARVALHO, N.A.T.; GHUMAN, S.P.S.; MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. Detection of estrous behavior in buffalo heifers by radiotelemetry following PGF2 administration during the early or late luteal phase. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p.90–94, 2014.

PUROHIT, R. C.; HUDSON, R. S.; RIDDELL, M. G.; CARSON, R. L.; WOLFE, D. F.; WALKER, D. F. Thermography of the bovine scrotum. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, p.2388–2392, 1985.

REDDEN, K. D.; KENNEDY, A. D.; INGALL, S. J. R.; GILSON, T. L. Detection of estrus by radiotelemetric monitoring of vaginal and ear skin temperature and pedometer measurements of activity. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.713–721, 1993.

RHODES, F. M.; BURKE, C. R.; CLARK, B. A.; DAY, M. L.; MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproducion Science**, v.69, p.139-150, 2002.

RICARTE, A. R. F.; FAÇANHA, D. A. E.; COSTA, L. L. M. Possibilidades na utilização da termografia infravermelha no diagnóstico reprodutivo de caprinos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, Supl. 2, p. 380-384, 2014.

ROBINSON, R. S.; WOAD, K. J.; HAMMOND, A. J.; LAIRD, M.; HUNTER, M. G.; MANN, G. E. Angiogenesis and vascular function in the ovary. **Reproduction**, v.138, p.869-881, 2009.

ROCHE, J. F.; MIHM, M.; DISKIN, M.; IRELAND, J. J. A review of regulation of follicle growth in cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.16–29, 1998.

ROELOFS, J. B.; VAN EERDENBURG, F. J.; SOEDE, N. M.; KEMP, B. Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 64, p. 1690–1703, 2005.

ROSSI, P.; VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; DI PALO, R.; GASPARRINI, B.; D'OCCHIO, M. J. Seasonal fluctuations in the response of Italian Mediterranean buffaloes to synchronization of ovulation and timed artificial insemination. **Theriogenology**, v.82, p.132-137, 2014.

ROY, K. S.; PRAKASH, B. S. Plasma progesterone, oestradiol-17 and total oestrogen profiles in relation to oestrous behaviour during induced ovulation in Murrah buffalo heifers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.93, p.486–495, 2009.

RUEDIGER, F. R.; CHACUR, M. G. M.; ALVES, F. C. P. E.; OBA, E.; RAMOS, A. A. Digital infrared thermography of the scrotum, semen quality, serum

testosterone levels in Nellore bulls (*Bos taurus indicus*) and their correlation with climatic factors. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, p. 221-232, 2016.

RUSSO, M.; VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; PACELLI, C.; PRANDI, A.; GASPARINI, B. Corpus luteum function and pregnancy outcome in buffaloes during the transition period from breeding to non-breeding season. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.988-991, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nellore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p.651-658, 2010.

SALES, J. N.; CARVALHO, J. B.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, p.510–516, 2012.

SALES, J. N.; CREPALDI, G. A.; GIROTTA, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.12-18, 2011.

SANTIAGO, C. A.; VOGE, J. L.; AAD, P. Y.; ALLEN, D. T.; STEIN, D. R.; MALAYER, J. R.; SPICER, L. J. Pregnancy associated plasma-protein A and insulin like growth factor binding protein mRNA's in granulosa cells of dominant and subordinate follicles of preovulatory cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.28, p.46–63, 2005.

SAVIO, J. D., KEENAN, L., BOLAND, M. P., ROCHE, J. F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, p. 663-671, 1988.

SCHAMS, D.; BERISHA, B. Regulation of corpus luteum function in cattle an overview. **Reproduction in Domestic Animals**, New, v.39, p.241-251, 2004.

SCOLARI, S. C.; CLARK, S. G.; KNOX, R. V. Vulvar skin temperature changes significantly during estrus in swine as determined by digital infrared thermography. **Journal of Swine Health and Production**, Iowa, v.19, p.151–155, 2011.

SENATORE, E.; SANTIS G.; BARILE V. L.; STECCO, R.; DE MAURO, G. J.; TERZANO, G. M.; PRESICCE, G. A. Corpus luteum measurement, echotexture and plasma progesterone in adult and pre-puberal mediterranean italian buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.57, p.792, 2002.

SEVEGNANI, K. B.; FERNANDES, D. P. B.; SILVA, S. H. M. G. Evaluation of thermoregulatory capacity of dairy buffaloes using infrared thermography. **Engenharia Agrícola**, v.36, n.1, p.1-12, 2016

- SHIRASUNA, K.; ASAHI, T.; SASAKI, M.; SHIMIZU, T.; MIYAMOTO, A. Distribution of arteriovenous vessels, capillaries and eNOS expression in the bovine corpus luteum during the estrous cycle: a possible implication of different sensitivity by luteal phase to PGF(2alpha) in the increase of luteal blood flow. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p.124–130, 2010.
- SHIRASUNA, K.; WIJAYAGUNAWARDANE, M. P. B.; WATANABE, S.; YAMAMOTO, D.; MATSUI, M.; OHTANI, M. A blood flow in the corpus luteum acutely increases together with endothelin-1 mRNA expression at early stage of regression during spontaneous luteolysis in the cow. **Biology of Reproduction**, v.71, p.137, 2004.
- SIDDIQUI, M. A. R.; ALMAMUN, M.; GINTHER, O. J. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.113, p.287–292, 2009.
- SIDDIQUI, M. A.; FERREIRA, J. C.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; COOPER, D. A.; GINTHER, O. J. Temporal relationships of the LH surge and ovulation to echotexture and power Doppler signals of blood flow in the wall of the preovulatory follicle in heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v.22, p.1110-1117, 2010.
- SILVA, L. A.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares. **Animal Reproduction Science**, Philadelphia, p. 339–346, 2006:
- SIMÕES, V. G.; LYAZRHI, F.; PICARD-HAGEN, N.; GAYRARD, V.; MARTINEAU, G. P.; WARET-SZKUTA, A. Variations in the vulvar temperature of sows during proestrus and estrus as determined by infrared thermography and its relation to ovulation. **Theriogenology**, v.82, p.1080-1085, 2014.
- SINGH, I.; BALHARA, A. K. New approaches in buffalo artificial insemination programs with special reference to India. **Theriogenology**, 2016; v.86, p.194–199, 2016.
- SINGH, J.; NANDA, A. S.; ADAMS, G. P. The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. **Animal Reproduction Science**, v.60/61, p.593–604, 2000.
- SOUZA, A. H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, p.10-21, 2009.
- SPEAKMAN, J. R.; WARD, S. Infrared thermography: principles and applications. **Zoology**, v.101, p.224-232, 1998.
- STEWART, M.; WEBSTER, J. R.; STAFFORD, K. J.; SCHAEFER, A. L.; VERKERK, G. A. Technical note: Effects of an epinephrine infusion on eye temperature and heart rate variability in bull calves. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.5252-5257, 2010.

- SYKES, D. J.; COUVILLION, J. S.; CROMIAK, A.; BOWERS, S.; SCHENCK, E.; CRENSHAW, M. The use of digital infrared thermal imaging to detect estrus in gilts. ***Theriogenology***, v.78, p.147–152, 2012.
- TALUKDER, S.; KERRISK, K. L.; INGENHOFF, L.; THOMSON, P. C.; GARCIA, S. C.; CELIA, P. Infrared technology for estrus detection and as a predictor of time of ovulation in dairy cows in a pasture-based system. ***Theriogenology***, v.81, p.925–935, 2014.
- TANEJA, M.; ALI, A.; SINGH, G. Ovarian follicular dynamics in water buffalo. ***Theriogenology***, v.46, p.121–130, 1996.
- TARSO S. G. S.; GASTAL, G. D. A.; BASHIR, S. T.; GASTAL, M. O.; APGAR, G. A.; GASTAL, E. L. Follicle vascularity coordinates corpus luteum blood flow and progesterone production. ***Reproduction, Fertility and Development***, v. 29, p. 448-457, 2015.
- TARSO, S. G. S.; APGAR, G.A.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L. Relationships between follicle and corpus luteum diameter, blood flow, and progesterone production in beef cows and heifers: preliminary results. ***Animal Reproduction***, v.13, p.81 -92, 2016.
- VALE, W. G. Bubalinos: fisiologia e patologia da reprodução. Campinas, Fundação Cargil. 86p., 1988.
- VALE, W. G. Reproducción en hembras bufalinas: inseminación artificial y reproducción asistida ***Tecnología en Marcha***, vol.24, p.5-18, 2011.
- VARGA, B.; HORVATH, E.; FOLLY, G.; STARK, E. Study of the luteinizing hormone-induced increase of ovarian blood flow during the estrous cycle in the rat. ***Biology of Reproduction***, v.32, p.480–488. 1985.
- VARUGHESE, E. E.; BRAR, P. S.; HONPARKHE, M.; GHUMAN, S. P. S. Correlation of Blood Flow of the Preovulatory Follicle to its Diameter and Endocrine Profile in Dairy Buffalo ***Reproduction in Domesic Animals***, v.49, p.140–144, 2014.
- VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUENTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. ***Theriogenology***, v.56, p.307–314, 2001.
- VECCHIO, D.; ROSSI, P.; NEGLIA, G.; LONGOBARDI, V.; SALZANO, A.; BIFULCO, G. Comparison of two synchronization protocols for timed artificial insemination in acyclic Italian Mediterranean Buffalo cows out of the breeding season. ***Proceedings of the 10th World Buffalo Congress***, Phuket Thailand. May 6–8, p. 42, 2013.
- WILLIAMSON CORP (2008). Infrared energy, emissivity, reflection & transmission. Disponível em: <<http://www.deltat.com/pdf/Infrared%20Energy,%20Emissivity,%20Reflection%20%26%20Transmission.pdf>> Acesso em: Março, 30, 2016.

WILTBANK, M. C.; DYSKO, R. C.; GALLAGHER, K. P.; KEYES, P. L. Relationship between blood flow and steroidogenesis in the rabbit corpus luteum. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, p.513-520, 1988.

ZAABEL, S. M.; HEGA, A. O.; MONTASSER, A. E.; EL-SHEIKH, H. Reproductive performance of anestrous buffaloes treated with CIDR. **Animal Reproduction**, v.6, p.460-464, 2009.

ZICARELLI, L. Reproductive seasonality in buffalo. In: **Proceedings, Third Course on Biotechnology of Reproduction in Buffaloes**, Caserta, Italy. October 6–10, p. 29–52, 1997.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o protocolo hormonal para sincronização da ovulação à base de progesterona, estrogênio e GnRH, com ou sem a adição de eCG o desenvolvimento do diâmetro e da irrigação do folículo ocorreu de forma progressiva entre o dia da retirada do presário vaginal de progesterona e o dia da ovulação, sendo que o aumento da irrigação foi mais evidente próximo a ovulação. O desenvolvimento luteíntico ocorreu de forma progressiva, tanto em seu diâmetro quanto em sua irrigação, ocorrendo uma queda de sua irrigação devido a luteólise, previamente a diminuição do seu diâmetro. Essas alterações foram acompanhadas pela concentração plasmática de progesterona. O grupo em que foi administrada a eCG apresentou uma maior concentração de progesterona durante a fase luteínica, sendo este acompanhado por melhor aporte sanguíneo do corpo lúteo e do folículo pré-ovulatório.

A termografia digital superficial por infravermelho mostrou-se eficaz na mensuração das alterações de temperaturas em diferentes regiões do corpo causadas por eventos fisiológicos. Utilizando a termografia digital superficial foi possível observar que as temperaturas vulvares sofrem uma redução após a ovulação, devido ao aumento da concentração plasmática de progesterona e as temperaturas da mufla e olho apresentam potencial para auxiliar na avaliação de bem-estar animal.

Dessa maneira, a termografia digital superficial e a ultrassonografia doppler podem ser utilizadas no estudo dos eventos fisiológicos inerentes a reprodução de fêmeas bubalinas, auxiliando na compreensão destes em pesquisas. A utilização de protocolo hormonal com eCG é recomendado em búfalas, podendo colaborar com a taxa de prenhez, e a termografia mostrou potencial para auxiliar no diagnóstico do cio em programas de IATF, sendo necessários novos estudos para a padronização da técnica.