



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE BIOTÉCNICAS APLICADAS À
REPRODUÇÃO DO DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO, NO MUNICÍPIO DE
RECIFE - PE, BRASIL**

**AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO DO FOLÍCULO OVULATÓRIO E CORPO
LÚTEO DE FÊMES BUBALINAS POR ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER**

FRANCISCO TIMBÓ FARIAS JÚNIOR

RECIFE, 2024



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE BIOTÉCNICAS APLICADAS À
REPRODUÇÃO DO DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO, NO MUNICÍPIO DE
RECIFE - PE, BRASIL**

**AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO DO FOLÍCULO OVULATÓRIO E CORPO
LÚTEO DE FÊMEAS BUBALINAS POR ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER**

Trabalho de conclusão de curso realizado como exigência parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária concedido pela Universidade Federal Rural de Pernambuco sob orientação do Prof. Dr André Mariano Batista e supervisão do Prof. Dr Cláudio Coutinho Bartolomeu

FRANCISCO TIMBÓ FARIAS JÚNIOR

RECIFE, 2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Suely Manzi – CRB-4 809

J95a Júnior, Francisco Timbó Farias.
Avaliação do fluxo sanguíneo do folículo ovulatório e corpo lúteo de fêmeas bubalinas por ultrassonografia Doppler / Francisco Timbó Farias Júnior. – Recife, 2024.
39 f.

Orientador(a): André Mariano Batista.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2024.

Inclui referências.

1. Búfalos. 2. Corpo lúteo. 3. Inseminação artificial. 4. Circulação sanguínea 5. Reprodução animal. I. Batista, André Mariano, orient. II. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE BIOTÉCNICAS APLICADAS À
REPRODUÇÃO DO DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO, NO MUNICÍPIO DE
RECIFE - PE, BRASIL**

**AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO DO FOLÍCULO OVULATÓRIO E CORPO
LÚTEO DE FÊMEAS BUBALINAS POR ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER**

Relatório elaborado por:

FRANCISCO TIMBÓ FARIAS JÚNIOR

Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr André Mariano Batista

Médica Veterinária Raquel Desenzi Pessoa

Médico Veterinário Luiz Henrique Todescatt Nottar

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado ao meu avô, Levi Ferreira de Vasconcelos, que me ensinou os valores que devem nortear a vida, como honestidade, amor, companheirismo e, acima de tudo, a importância da família como o alicerce fundamental de todas as conquistas, sendo desde sempre minha maior inspiração e a pessoa que mais me proporcionou oportunidades. Muito obrigado, Sr. Levi. Espero que esteja orgulhoso do Caboré.

AGRADECIMENTOS

Com a finalização desta etapa, é impossível olhar para trás sem agradecer às pessoas que foram fundamentais nesse processo. Começo agradecendo a Deus, por ter me abençoado e protegido, me cercado de boas pessoas e diariamente me mostrando o Seu amor.

Agradeço a todos os meus familiares: meus avós, meus pais, meu irmão, meu padrasto Hygor e meus padrinhos. Em especial, agradeço aos meus avós, Levi e Ivone, que desde a minha infância me amaram e me criaram como um filho, proporcionando o melhor de tudo, especialmente no que diz respeito aos ensinamentos sobre a vida e como vivê-la. Serei eternamente grato e nunca esquecerei tudo o que me ensinaram. Agradeço também ao meu irmão, Lucas, pelo contato frequente e todo o suporte, mesmo à distância. Você é meu irmão mais novo, mas sempre foi uma inspiração para mim. Sem dúvida, o vovô está orgulhoso do homem que você se tornou. E, por fim, agradeço à minha mãe, que desde o início me amou e cuidou de mim incondicionalmente, fazendo diversos sacrifícios colocando a mim e ao meu irmão acima de suas próprias necessidades. Mãe, você sempre foi uma estimuladora, amiga e, muitas vezes, desempenhou os papéis de pai e mãe. Mesmo que eu não entendesse isso quando era mais jovem, obrigado por tudo o que fez e continua fazendo.

Deixo um agradecimento especial à minha segunda família: Vasco, Maria Inês, Marina, Aline, Dona Cecília, Stella e Miguel. Obrigado por me receberem tão bem e me tratarem como parte da família desde o início, especialmente durante a pandemia, quando convivemos diariamente.

Gostaria também de agradecer a todos os professores da UFRPE que, de alguma forma, tornaram esse percurso mais fácil. Em especial, agradeço aos professores André e Coutinho. Ao professor André, sou grato por toda a ajuda, amizade e conselhos, por abrir as portas do LBR e me proporcionar diversas oportunidades. Graças ao senhor tive a honra de fazer parte de uma equipe composta por excelentes profissionais e pessoas que levarei para o resto da vida. Ao professor Coutinho, agradeço a didática ímpar, paciência e clareza no ensino. Sua influência foi decisiva para que eu escolhesse a área de reprodução bovina durante a graduação. Vocês dois foram fundamentais para que eu e diversos outros alunos conseguíssemos buscar os nossos objetivos.

Agradeço de coração a todos os membros do LBR com quem tive a honra de conviver, em especial à Raquel, Rafael, Salomon e Luiz. Raquel, sua paciência foi incansável. Cada explicação, mesmo quando eu perguntava pela milésima vez, fez toda a diferença no meu

aprendizado. Rafael, desde o primeiro dia, você não só me ajudou, mas também me acolheu. Sua disposição em esclarecer dúvidas, por mais simples que fossem, e em me permitir acompanhar as atividades práticas, é algo que nunca esquecerei. Sou profundamente grato por sua generosidade. A Salomon e Luiz, minha gratidão é imensa. Sempre que precisei, vocês estiveram lá, prontos para ajudar, sem hesitar ou reclamar. Vocês fizeram muito mais do que ajudar no trabalho.

Aos amigos que fiz durante o curso, meu agradecimento de coração por tornarem essa fase muito mais tranquila e divertida. Ao grupo Medvet Legends: Lucas, Luiz, Hugo, José e Mika, vocês foram fundamentais para que eu passasse por esse período. Nossas maratonas de Mobile Legends, as saídas, e as conversas jogadas fora foram essenciais para aliviar a pressão do dia a dia. Mesmo estando longe da família, vocês foram um grande apoio, e sou profundamente grato por todo o suporte e amizade que criamos.

Agora agradeço ao Topgun, o grupo que começou com uma singela “rolada no feed” e se tornou uma família, agradeço a todos vocês por esses anos incríveis. Ao Gabriel, obrigado por todo o suporte, pelas madrugadas jogando, pelas conversas sobre a vida e por ter me mostrado diversas obras de arte, sendo a melhor de todas o Big Ed. Você é uma pessoa incrível, e tenho muita sorte de poder finalmente chamá-lo de amigo e não só colega. Ao grande Arlan, agradeço por ser sempre esse cara alto-astral, com puberdade tardia, disposto a ajudar, mesmo que sua velocidade de reação não seja das melhores. Você e Gabriel são irmãos que a vida me deu. E à Vivian, obrigado por ser esse apoio diário aqui em Recife, sempre recebendo todos tão bem nas noites de jogos e séries. Agradeço por sua paciência, na medida do possível, e por topar todas as nossas invenções. Que venham muitas viagens e encontros entre todos nós, independente da distância.

Por fim, o maior agradecimento é para a pessoa mais importante da minha vida: minha companheira, com quem compartilho todos os sonhos, Laís. Agradeço a Deus todos os dias por ter te colocado em minha vida. Desde o início, você sempre me incentivou a ser melhor e a fazer mais. Quando me falta sensibilidade, você está lá para ser o equilíbrio e me mostrar que o mundo pode ser mais bonito do que preto e branco. Obrigado por todo o apoio que me deu durante o curso, sem dúvidas eu não estaria aqui se não fosse por você. Obrigado por transformar nossa casa em um lar e por estar ao meu lado todos os dias. Você é a pessoa mais amorosa, carinhosa, honesta e sensível que eu conheço. Você é minha vida, e eu te amo para sempre.

EPÍGRAFE

"A vida é 10% o que acontece com você e
90% como você reage a isso."

Charles R. Swindoll

RESUMO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) é parte essencial na formação do Médico Veterinário, sendo uma disciplina obrigatória no curso de Medicina Veterinária da UFRPE. Com carga horária de 420 horas, o estágio foi realizado no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR), entre 01/04/2024 e 14/06/2024. O foco foi o aprimoramento em biotecnologias da reprodução, com destaque para a maturação *in vitro* de oócitos e o desenvolvimento de um artigo a partir de uma pesquisa realizada com búfalas da raça Murrah. O estudo avaliou o fluxo sanguíneo do folículo ovulatório e do corpo lúteo utilizando ultrassonografia Doppler, correlacionando esses dados com a eficiência reprodutiva. No laboratório, foram realizadas atividades como a maturação *in vitro* de oócitos (MIV) de bovinos e a avaliação de progressão meiótica por meio da microscopia de epifluorescência. Sob a orientação do Professor Dr. André Mariano Batista e supervisão do Professor Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu, o estágio proporcionou uma visão prática das biotecnologias reprodutivas e seu impacto na eficiência reprodutiva em búfalas.

Palavras-chave: biotecnologias, búfalas, irrigação sanguínea, maturação *in vitro*, reprodução animal.

ABSTRACT

The Mandatory Supervised Internship (ESO) is an essential part of the training of a Veterinary Doctor, being a mandatory requirement in the Veterinary Medicine course at UFRPE. With a workload of 420 hours, the internship was conducted at the Laboratory of Biotechniques Applied to Reproduction (LBR), between 04/01/2024 and 06/14/2024. The focus was on improving reproductive biotechnology, with emphasis on the in vitro maturation of oocytes and the development of an article based on research carried out with Murrah buffaloes. The study evaluated the blood flow of the ovulatory follicle and corpus luteum using Doppler ultrasound, correlating these data with reproductive efficiency. In the laboratory, activities such as in vitro maturation of bovine oocytes (IVM) and evaluation of meiotic progression using epifluorescence microscopy were carried out. Under the guidance of Professor Dr. André Mariano Batista and supervision of Professor Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu, the internship provided a practical insights into reproductive biotechnologies and their impact on reproductive efficiency in buffaloes.

Keywords: animal reproduction, biotechnology, blood irrigation, buffaloes, in vitro maturation.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO	13
2.1 Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução da UFRPE.....	13
3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DO ESO	14
3.1 Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR).....	14
3.2 Atividades Desenvolvidas na Fazenda de Búfalas	15
4. DISCUSSÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	17

CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO DO FOLÍCULO OVULATÓRIO E CORPO LÚTEO DE FÊMES BUBALINAS POR ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER

1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAIS E MÉTODOS	23
2.1 Local e Animais Utilizados	23
2.2 Protocolos de Sincronização para IATF	24
2.3 Avaliação Ultrassonográfica e Processamento de Imagens.....	24
3. RESULTADOS	25
3.1 Grupo 1	25
3.1.1 Correlação entre áreas	26
3.1.2 Correlação entre irrigações	26
3.2 Grupo 2	27
3.2.1 Correlação entre áreas	27
3.2.2 Correlação entre irrigações	29
3.2.3 Análise ANOVA e Correlações de Perfusão	32
3.3 Imagens ilustrativas	33
4. DISCUSSÃO	35
5. CONCLUSÃO	35
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
7. REFERÊNCIAS	37

CAPÍTULO I: DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

1. INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado Obrigatório é uma etapa fundamental para a conclusão do curso de Medicina Veterinária, constituindo-se como uma disciplina obrigatória no currículo de Bacharelado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, com uma carga horária total de 420 horas. Para cumprir esse requisito, foi decidido por realizar todo o estágio no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, campus Sede, situado no município de Recife/PE. A escolha da área de reprodução animal foi motivada por um interesse prévio neste campo, bem como pelo desejo de aprimorar habilidades práticas, com ênfase em produção *in vitro* e *in vivo* de embriões.

Este trabalho tem como principal objetivo relatar as experiências vivenciadas ao longo do Estágio Supervisionado Obrigatório, ocorrido no período de 01/04/2024 a 14/06/2024, sob a orientação do Professor Dr. André Mariano Batista e supervisão do Professor Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu.

2. DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO

2.1 Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução da UFRPE

O Laboratório de Biotécnicas aplicadas à Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, tem como principal foco a produção de embriões *in vivo* e o desenvolvimento de pesquisas na área, sendo coordenado pelos Professores Dr. André Mariano Batista e Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu. Suas instalações incluem área suja, composta pela sala de convivência, sala de esterilização de materiais e sala de aspiração e área limpa, composta pela antessala de paramentação e a Sala de Manipulação de gametas.

Todos os equipamentos necessários para o funcionamento adequado dos processos da Produção *in vitro* de embriões (PIVE) estavam presentes no laboratório, tais como incubadoras de atmosfera controlada, capela de fluxo laminar, estereomicroscópios e pipetas (Figura 1).

Atualmente a equipe é composta por 7 médicos veterinários, sendo dois professores, um pós-doutorando, um doutorando e três mestrandos, além de possuir 2 alunos do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC). O horário de funcionamento do laboratório é compreendido das 08:00h às 18:00h de segunda a sexta-feira.



Figura 1: Estrutura do Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE. Fonte: Arquivo pessoal (2024).

3 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)

3.1 Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR)

No decorrer do estágio no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR), foi possível acompanhar e auxiliar em todas as etapas envolvidas na maturação *in vitro* de oócitos (MIV). Essas atividades incluíram a aspiração folicular dos ovários, o rastreamento, classificação dos oócitos e a maturação propriamente dita.

Os ovários eram coletados em abatedouros regionais localizados nos municípios de Paulista e Paudalho, em Pernambuco, e transportados para o laboratório em garrafas térmicas com água, mantendo uma temperatura aproximada de 38°C. No laboratório, os ovários eram lavados e mantidos submersos em solução salina a 0,9% em banho-maria a 37,5°C. Em seguida, os folículos eram aspirados com solução tamponada Phosphate Buffered Saline (PBS), utilizando-se uma seringa de 10 mL conectada a uma agulha 18G.

O aspirado folicular era transferido para uma placa de Petri de 90 mm e observado sob um estereomicroscópio para rastreamento dos oócitos presumivelmente presentes. As estruturas eram então classificadas de acordo com o número de camadas de células do cúmulus, a cor e aspecto do ooplasma, conforme Gonçalves *et al.* (2008), onde podem ser classificadas em 4 graus, sendo: Grau 1 os oócitos com células do cumulus compactas, com mais de três camadas, com ooplasma granulados e com preenchimento da zona pelúcida; Grau 2 os oócitos com células do cumulus compactas, com menos de três camadas e com ooplasma com granulações distribuídas heterogeneamente; Grau 3 os oócitos com células do cumulus expandidas e o ooplasma contraído com espaço entre a membrana celular e a zona pelúcida; Grau IV os oócitos totalmente ou parcialmente descobertos pelas células do cumulus e o citoplasma com cor e granulações anormais. Os complexos cúmulus-oócitos selecionados eram divididos em grupos e submetidos à maturação por 22 a 24 horas em gotas de meio de maturação *in vitro* (MIV) cobertas com óleo mineral.

Durante parte do estágio, os oócitos maturados foram corados com a sonda fluorescente Hoechst 33342 para a avaliação da maturação nuclear por meio de exposição ao microscópio de epifluorescência. Os oócitos eram lavados em gotas de PBS e incubados com a sonda em câmara escura por 15 minutos. Após esse período, eram novamente lavados em novas gotas de PBS, transferidos para lâminas de microscopia e cobertos com lamínulas posicionadas sobre colunas de silicone, evitando o esmagamento das células. Posteriormente, essas lamínulas eram seladas com verniz para unhas.



Figura 2: Manipulação de complexos cúmulus-oócitos (COCs). **Fonte:** Arquivo pessoal (2024).

3.2 Atividades Desenvolvidas na Fazenda Cruzeiro do Sul.

Durante o estágio no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR), foram realizadas atividades focadas na avaliação do fluxo sanguíneo do folículo ovulatório e do corpo lúteo em fêmeas bubalinas, utilizando ultrassonografia modo B e Doppler colorido. Essas atividades foram parte integrante do Programa de Iniciação Científica (PIBIC) e envolveram desde a preparação dos animais até a coleta e análise dos dados para correlação com a eficiência reprodutiva. O estudo foi conduzido na Fazenda Cruzeiro do Sul, situada no município de Paudalho-PE, utilizando 28 búfalas da raça Murrah (Figura 3).

Inicialmente, os animais foram submetidos a protocolos de sincronização do ciclo reprodutivo para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sendo divididos em dois grupos. No grupo 1, composto por 10 búfalas, foi utilizado um protocolo de sincronização de 10 dias, que incluiu a administração de benzoato de estradiol, prostaglandina, gonadotrofina coriônica equina (ECG) e um dispositivo de liberação de progesterona. No grupo 2, composto por 18 fêmeas, foi utilizado o protocolo Ovysinc, com duração de 10 dias e envolvendo a administração de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e prostaglandina (PGF2 α).

No dia programado para a inseminação artificial, os ovários foram avaliados por ultrassonografia modo B para medir o diâmetro do folículo ovulatório (Figura 4). Paralelamente, foi realizada a análise da perfusão vascular por ultrassonografia Doppler colorido, permitindo a avaliação da vascularização dos folículos. As imagens ultrassonográficas obtidas foram processadas utilizando um script específico no software ImageJ, para traduzir as informações sobre os pixels e fornecer dados detalhados das estruturas reprodutivas.

Após a inseminação, foram realizadas avaliações subsequentes para mensurar o diâmetro e a vascularização dos corpos lúteos. Essas análises incluíram a correlação entre a área do folículo ovulatório e a área do corpo lúteo, bem como a avaliação da irrigação sanguínea dessas estruturas. No grupo 1, as correlações foram estabelecidas entre o folículo ovulatório e o corpo lúteo no D7, enquanto no grupo 2 foram realizadas correlações adicionais, incluindo a irrigação do corpo lúteo entre o D5 e o D19.



Figura 3: *Búfalas da Fazenda Cruzeiro do Sul, Paudalho – PE. Fonte: Arquivo pessoal (2024).*



Figura 4: *Realização da ultrassonografia modo B de ovário. Fonte: Arquivo pessoal (2024).*

4. DISCUSSÕES DAS ATIVIDADES DO ESO

O ESO proporcionou uma valiosa oportunidade de imersão nas atividades de biotecnologia aplicada à reprodução animal, oferecendo uma visão ampla sobre o funcionamento laboratorial e os desafios práticos enfrentados no campo da Medicina Veterinária. Durante o estágio no Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR), foi possível vivenciar, na prática, as diversas etapas envolvidas na maturação *in vitro* de oócitos (MIV), desde a coleta dos ovários até o processamento dos oócitos, o que solidificou conhecimentos teóricos adquiridos durante o curso.

A experiência prática foi enriquecida pela oportunidade de participar de um projeto de pesquisa com búfalas da raça Murrah, que envolveu a avaliação do fluxo sanguíneo de folículos ovulatórios e corpos lúteos por meio de ultrassonografia Doppler. Este trabalho permitiu não apenas o desenvolvimento de habilidades técnicas, mas também a compreensão da importância de uma avaliação criteriosa das estruturas reprodutivas para o sucesso dos programas de reprodução assistida.

Ademais, a experiência no campo, na Fazenda Cruzeiro do Sul, trouxe desafios adicionais, como a necessidade de adaptação às condições de contenção e manejo dos animais, aspectos cruciais para o sucesso das avaliações ultrassonográficas. O contato direto com a prática reprodutiva e a aplicação de protocolos de sincronização hormonal demonstraram a complexidade envolvida na melhoria da eficiência reprodutiva de bubalinos, especialmente considerando os desafios impostos pela sazonalidade do ciclo reprodutivo e o comportamento particular dessa espécie.

O estágio, assim, não apenas reforçou os conhecimentos técnicos, mas também proporcionou um aprendizado significativo sobre a importância do manejo adequado e das tecnologias avançadas, como a ultrassonografia Doppler, no contexto da reprodução animal. Esses conhecimentos práticos são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias reprodutivas mais eficazes e para a superação de desafios no campo da medicina veterinária.

**CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO DO FOLÍCULO
OVULATÓRIO E CORPO LÚTEO DE FÊMES BUBALINAS POR
ULTRASSONOGRRAFIA DOPPLER**

RESUMO

Este capítulo aborda a importância dos búfalos (*Bubalus bubalis*) na produção agrícola e as dificuldades enfrentadas na reprodução assistida dessa espécie. Explora-se a introdução dos búfalos no Brasil e os desafios para a produção comercial, como a detecção do estro e as variações nos protocolos hormonais. No contexto da reprodução assistida, destaca-se o uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e da ultrassonografia Doppler, que permite avaliar a vascularização de estruturas reprodutivas, como folículos e corpos lúteos. O estudo foi conduzido em 28 búfalas da raça Murrah, submetidas a protocolos de IATF e avaliadas por ultrassonografia para correlacionar o fluxo sanguíneo com a eficiência reprodutiva. Os resultados indicaram que a perfusão sanguínea do corpo lúteo no dia 19 (D19) é um importante indicativo do sucesso reprodutivo, enquanto a correlação entre as áreas foliculares e luteais não foi conclusiva. A aplicação da ultrassonografia Doppler demonstrou ser uma ferramenta valiosa para otimizar os programas reprodutivos em búfalos, contribuindo para a melhoria da eficiência produtiva.

Palavras-chave: búfalos; corpo lúteo; inseminação artificial; irrigação sanguínea; ovário ;reprodução assistida.

ABSTRACT

This chapter addresses the importance of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in agricultural production and the difficulties faced in assisted reproduction of this species. Explore the introduction of buffaloes in Brazil and the challenges for commercial production, such as estrous detection and variations in hormonal protocols. In the context of assisted reproduction, the use of fixed-time artificial insemination (TAI) and Doppler ultrasound stands out, allowing the assessment of vascularization of reproductive structures, such as follicles and corpus luteum structures. The study was conducted on 28 Murrah buffaloes, subjected to TAI protocols and evaluated by ultrasound to correlate blood flow with reproductive efficiency. The results indicated that blood perfusion of the corpus luteum on day 19 (D19) was an important indicator of reproductive success, while the brightness between the follicular and luteal areas was not conclusive. The application of Doppler ultrasound has proven to be a useful tool for improving reproductive programs in buffaloes, contributing to improved production efficiency.

Keywords: artificial insemination; blood irrigation; buffaloes; corpus luteum; ovarian assisted reproduction.

1 INTRODUÇÃO

A domesticação dos búfalos ocorreu há aproximadamente 3.000 a 6.000 anos, sendo esses animais atualmente distribuídos em diversos países tropicais ao redor do mundo. Eles desempenham um papel fundamental nas economias agrícolas de países em desenvolvimento, fornecendo recursos valiosos, como leite, carne, subprodutos, além de chifres e peles. A população mundial de búfalos é estimada em cerca de 207 milhões de cabeças, contribuindo com 10 a 15% da produção global de leite (FAO, 2020).

A maior parte dos bubalinos está concentrada no continente asiático, com a Índia possuindo o maior rebanho, estimado em aproximadamente 113.330.000 animais, seguida pelo Paquistão, com 37.700.000, e pela China, com 23.469.000 cabeças (FAO, 2017). No Brasil, segundo Matos *et al.* (2020), o rebanho era de mais de 1.300.000 cabeças em 2017, distribuídas por todo o território nacional.

O búfalo do rio (*Bubalus bubalis*) representa uma parcela significativa da produção mundial de leite, sendo o principal produtor de leite em diversos países (FAOSTAT, 2014). A indústria de búfalos leiteiros tem experimentado uma notável expansão em várias regiões, com um crescimento populacional que, surpreendentemente, supera o observado em gado bovino. As búfalas de rio geralmente produzem entre 1.500 e 4.500 litros de leite por lactação e possuem uma vida produtiva mais longa que a do gado, fornecendo bezerros e leite até os 20 anos de idade. No entanto, a produção comercial de leite de búfala é limitada por fatores como a idade tardia ao primeiro parto, a sazonalidade do estro, longos intervalos entre partos e períodos secos (FAOSTAT, 2014).

No Brasil, a introdução de melhorias no manejo e a intensificação dos processos seletivos em alguns rebanhos têm contribuído para a obtenção de níveis produtivos mais elevados. Ramos (2005), ao analisar 4.851 lactações de 865 búfalas, filhas de 145 touros diferentes, constatou que a produção média por lactação evoluiu de 794 kg em 1973 para 2.066 kg em 2003. Desse avanço, 8,5% foram atribuídos ao ganho genético, enquanto 91,5% decorreram de melhorias ambientais e de manejo.

Já a produção de carne de búfalo é influenciada por fatores como condições de manejo, raça e se as mães são também utilizadas para a produção leiteira. Em rebanhos de corte, os machos geralmente atingem o peso de abate entre 430-480 kg aos 18-24 meses, enquanto em sistemas de exploração mista (leite e carne), o abate ocorre entre 30-36 meses. Em regime de confinamento, os bubalinos apresentam ganhos de peso equivalentes ou superiores aos zebuínos

nas mesmas condições, com médias de 1.144 g/dia para búfalos e 1.026 g/dia para zebuínos (Assumpção, 1996).

Os búfalos são animais poliéstricos sazonais de dias curtos, influenciados pela duração da luminosidade dos dias, principalmente em regiões subtropicais e temperadas, distantes da linha do Equador, com uma estação reprodutiva favorável durante os dias curtos (Baruselli *et al.*, 1997). A manifestação do estro em búfalas é difícil de observar devido à estacionalidade e à ausência de homossexualidade em relação à aceitação de monta (Ohashi, 1994; Baruselli, 1997). O início da ciclicidade ovariana está ligado a fatores genéticos, fisiológicos como raça, produção de leite, estágio da lactação, presença do bezerro, além de manejo, nutrição e estação reprodutiva (Roy *et al.*, 2003).

Aprimorar a eficiência reprodutiva e a seleção genética emergem como estratégias fundamentais para o êxito das indústrias relacionadas à criação de búfalos para produção de leite e carne. No contexto atual, com os avanços da reprodução assistida, torna-se viável estabelecer programas eficazes voltados à produção e transferência de embriões em búfalos. A aplicação das técnicas de Aspiração Folicular Ovariana Guiada por Ultrassom (OPU) e Produção *in vitro* de embriões (PIVE) tem demonstrado resultados promissores, emergindo como uma alternativa à superovulação para a obtenção *in vivo* de embriões (Viana & Camargo, 2007). Diversos elementos se revelam cruciais para garantir a eficácia da OPU/PIVE, incluindo o tamanho dos folículos disponíveis para o procedimento de OPU, a sazonalidade reprodutiva, o material genético do reprodutor utilizado na PIVE, a categoria da doadora e as características específicas da fazenda. Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o fluxo sanguíneo do folículo ovulatório e do corpo lúteo em fêmeas bubalinas utilizando a Ultrassonografia Doppler. Através dessa análise, busca-se compreender a dinâmica vascular desses órgãos reprodutivos, o que poderá contribuir para o aprimoramento de técnicas de manejo reprodutivo, bem como para o desenvolvimento de novas estratégias que promovam a eficiência reprodutiva em bubalinos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local e Animais Utilizados

O estudo foi conduzido na Fazenda Cruzeiro do Sul, localizada no município de Paudalho-PE (coordenadas 7°54'37.3"S 35°05'42.2"W). A fazenda possui um regime pluviométrico médio anual de 1.570 mm e condições adequadas para a criação de búfalos em

regime de pastagem. Foram utilizadas 28 búfalas da raça Murrah, cíclicas, primíparas e múltíparas, com peso corporal variando entre 300 e 500 kg. Os animais eram mantidos exclusivamente a pasto, composto por capim *Brachiaria humidicola* e *Panicum Maximum cv. Mombaça*, com livre acesso a água e sal mineral.

2.2 Protocolos de Sincronização para IATF

Para a condução da pesquisa, os animais foram divididos em dois grupos e submetidos a diferentes protocolos de sincronização hormonal com o objetivo de induzir a ovulação e permitir a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), eliminando a necessidade de observação do estro e otimizando o manejo reprodutivo.

O primeiro grupo foi composto por 10 animais. Os búfalos foram submetidos a um protocolo de 10 dias que envolveu a inserção de um dispositivo de liberação de progesterona e a administração de benzoato de estradiol no Dia 0, com a finalidade de suprimir a atividade ovariana e padronizar o ciclo estral. No Dia 8, o dispositivo foi removido e os animais receberam prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) e gonadotrofina coriônica equina (eCG) para induzir a regressão do corpo lúteo e estimular o desenvolvimento folicular, respectivamente. No Dia 9, foi administrado mais uma dose de benzoato de estradiol para desencadear a ovulação. Finalmente, a inseminação artificial foi realizada no Dia 10, aproximadamente 36 horas após a última administração de benzoato de estradiol.

O Grupo 2 foi composto por 18 búfalas, submetidas ao protocolo Ovysinc de 10 dias. No Dia 0, os animais receberam uma dose de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) para promover a ovulação do folículo dominante e sincronizar o desenvolvimento da próxima onda folicular. No Dia 7, foi administrada uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para induzir a luteólise. No Dia 9, uma segunda dose de GnRH foi aplicada para induzir a ovulação do folículo pré-ovulatório. A inseminação artificial foi realizada no Dia 10, cerca de 16 horas após a segunda administração de GnRH.

2.3 Avaliação Ultrassonográfica e Processamento de Imagens

No dia da inseminação, os ovários foram avaliados por ultrassonografia modo B para mensurar o diâmetro do folículo ovulatório. Além disso, foi utilizada a ultrassonografia Doppler colorida para avaliar a vascularização folicular, fornecendo informações sobre a perfusão

sanguínea dessas estruturas. O exame ultrassonográfico foi repetido nos dias subsequentes no D7 (grupo 1) e no D5 e D19 (grupo 2) para avaliação do corpo lúteo, incluindo a mensuração do seu diâmetro e análise da perfusão vascular.

As imagens coletadas foram processadas utilizando um script específico no software ImageJ, que permitiu a análise detalhada da área dos folículos e corpos lúteos, bem como a quantificação da irrigação sanguínea dessas estruturas. Esse procedimento foi essencial para estabelecer as correlações entre o fluxo sanguíneo e os parâmetros reprodutivos avaliados.

3 RESULTADOS

Os resultados deste estudo foram obtidos por meio das análises das áreas dos folículos ovulatórios e dos corpos lúteos, bem como da avaliação da perfusão vascular das estruturas reprodutivas nos diferentes grupos analisados.

3.1 Grupo 1

Neste grupo, os exames ultrassonográficos permitiram a obtenção de imagens claras em 9 dos 10 animais, uma vez que uma das búfalas apresentou imagens inconclusivas. Os dados coletados possibilitaram a mensuração das áreas e das áreas de perfusão dos folículos ovulatórios e dos corpos lúteos no D7, fornecendo subsídios para a investigação da relação entre o diâmetro folicular e o desenvolvimento do corpo lúteo.

3.1.1 Correlação entre áreas

Para cada búfala, foram medidas as áreas do folículo ovulatório no dia da IATF, dia dez do protocolo e do corpo lúteo no D7 pós-ovulação (Tabela 1), seguidas de uma análise para investigar a correlação entre essas variáveis. Com base nesses dados, foi estabelecida a correlação entre a área do folículo e a área do corpo lúteo no D7 (Gráfico 1), onde se pode observar um Coeficiente de Correlação de Pearson de 0,034, observando-se assim uma correlação fraca entre essas duas variáveis.

Tabela 1: Mensuração da área em cm^2 dos folículos ovulatórios e corpos lúteos de cada búfala do Grupo 1 no D0, avaliado na Fazenda Cruzeiro do Sul, Paudalho- PE.

Animais	Área do Foliculo (cm^2)	Área do Corpo Lúteo (cm^2)
1	0,57	0,65
2	1,17	1,44
3	0,85	0,89
4	0,41	0,62
5	0,82	1,37
6	0,48	0,71
7	0,51	3,15
8	0,45	1,33
9	0,43	1,24

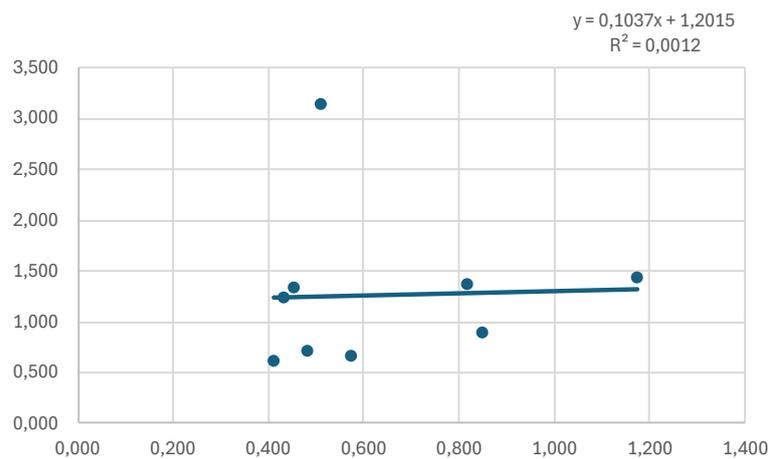


Gráfico 1: Correlação da área folicular e da área do corpo lúteo de búfalas Murrah submetidas a protocolo de IATF.

3.1.2 Correlação entre áreas de irrigação

Em relação à irrigação, foi feita a avaliação da área de perfusão utilizando-se da técnica de Doppler colorido, onde observou a área de perfusão do folículo ovulatório no D0 e do corpo lúteo no D7 (Tabela 2). Com esses dados, foi avaliada a correlação entre o folículo ovulatório e o corpo lúteo no Dia 7 (D7). Com base nesses dados, foi estabelecido o Coeficiente de Correlação de Pearson de 0,13 e uma correlação negativa no grupo 1 entre a área com irrigação do folículo e a área com irrigação do corpo lúteo no D7 (Gráfico 2).

Tabela 2: Mensuração em centímetros da área irrigada do folículo ovulatório de cada indivíduo no D0 e do corpo lúteo no D7 do Grupo 1, avaliado na Fazenda Cruzeiro do Sul, Paudalho- PE.

Animais	Área Irrigada do Folículo (cm ²)	Área Irrigada do Corpo Lúteo (cm ²)
1	0,22	0,27
2	0,56	0,34
3	0,28	0,56
4	0,50	0,27
5	0,26	0,23
6	0,36	0,73
7	0,18	0,74
8	0,17	0,71
9	0,20	0,67

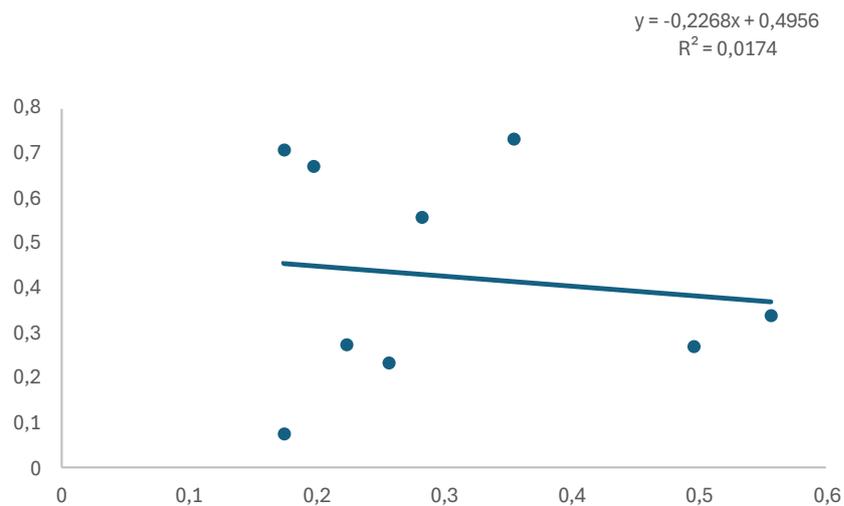


Gráfico 2: Correlação da área com irrigação folicular e da área com irrigação do corpo lúteo no D7 de búfalas Murrah submetidas a protocolo de IATF.

3.2 Grupo 2

3.2.1 Correlação entre as áreas

Para o grupo 2, foram realizadas as medições da área folículo no D0, do corpo lúteo no D5 e do corpo lúteo no D19 (Tabela 3). Nesse grupo, dois animais tiveram imagens comprometidas, sendo um referente à área do folículo no D0 e um à área do corpo lúteo no D5. Portanto, esses foram excluídos das avaliações específicas em que a ausência dessas imagens poderia comprometer a qualidade do estudo. Assim, o total de animais que participaram das três correlações foi de 16 indivíduos. No entanto, para as correlações entre corpos lúteos nos dias D5 e D19, consideradas de maior relevância para o estudo, foram avaliados 16 animais. Dessa

forma, foram feitas três correlações entre folículos ovulatórios e corpos lúteos: entre folículo ovulatório e corpo lúteo no D5 (Gráfico 3), entre folículo ovulatório e corpo lúteo no D19 (Gráfico 5), e entre o corpo lúteo no D5 e no D19 (Gráfico 4).

Com base nesses dados, foi estabelecida uma correlação positiva entre a área do folículo e a área do corpo lúteo no D5 (Gráfico 3), Coeficiente de Correlação de Pearson 0,24 e correlações negativas entre a área do folículo e a área do corpo lúteo do D19 (Gráfico 5) e a área do corpo lúteo do D5 e a área do corpo lúteo no D19 (Gráfico 4), Coeficiente de Correlação de Pearson de 0,043.

Tabela 3: Mensuração em centímetros da área dos folículos ovulatórios no D0, área do Corpo Lúteo no D5 e área do Corpo Lúteo no D19 de cada indivíduo do Grupo 2, avaliado na Fazenda Cruzeiro do Sul, Paudalho-PE.

Animais	Área do Folículo (cm ²)	Área do CL no D5 (cm ²)	Área do CLno D 19(cm ²)
1	1,445	1,425	0,787
2	0,773	1,425	2,753
3	0,960	0,526	2,045
4	1,177	2,318	1,866
5	1,068	2,136	0,469
6	0,826	0,906	1,557
7	0,594	1,444	0,61
8	0,417	0,503	2,181
9	0,717	0,731	3,051
10	0,354	1,273	1,71
11	1,644	1,65	1,95
12	0,845	2,077	2,604
13	0,932	2,872	3,378
14	0,821	1,657	2,096
15	1,646	1,761	0,735
16	0,550	2,218	2,327

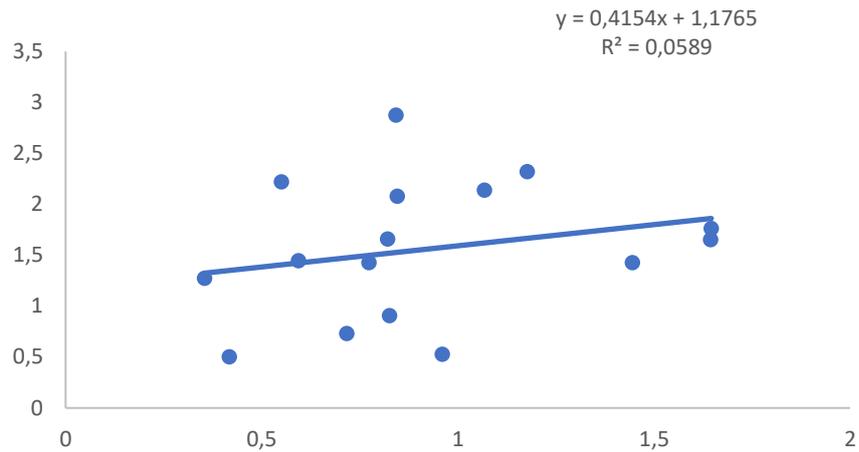


Gráfico 3: Correlação da área folicular e da área do corpo lúteo no D5 de búfalas Murrah do grupo 2 submetidas a protocolo de IATF.

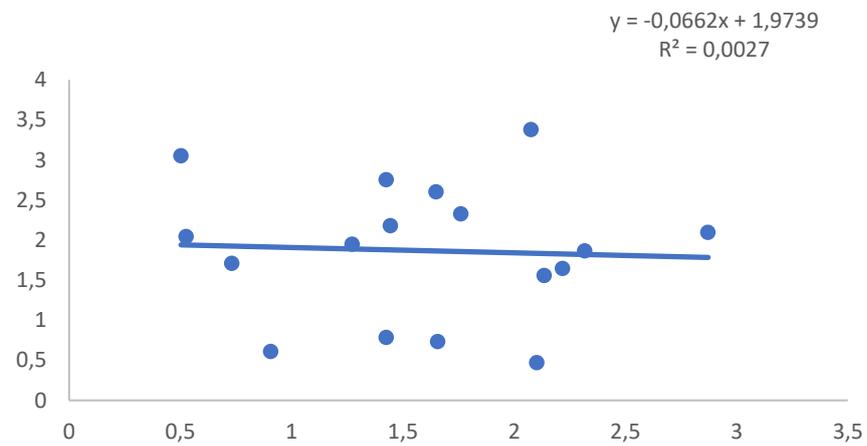


Gráfico 4: Correlação da área do corpo lúteo no D5 com a área do corpo lúteo no D19 de búfalas Murrah do Grupo 2 submetidas a protocolo de IATF.

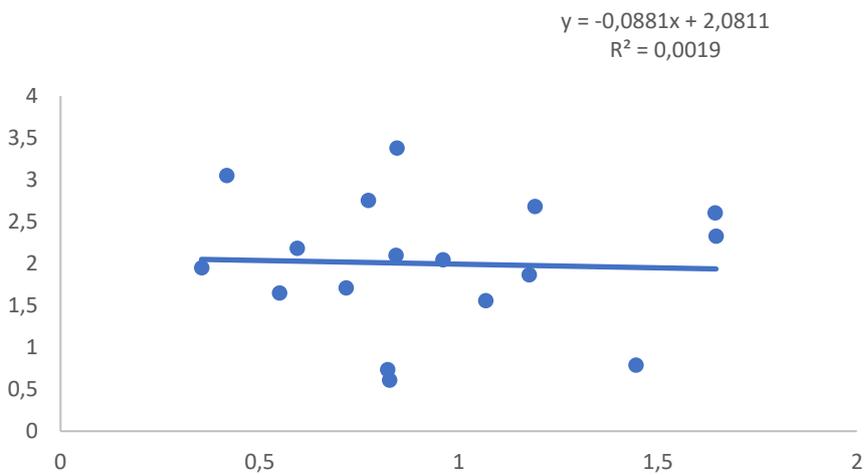


Gráfico 5: Correlação da área folicular e da área do corpo lúteo no D19 de búfalas Murrah do Grupo 2 submetidas a protocolo de IATF.

3.2.2 Correlação entre irrigações

Em relação à irrigação, foi feita a avaliação da área de perfusão utilizando-se da técnica de Doppler colorido, onde observou a área de perfusão do folículo ovulatório no D0, do corpo lúteo no D5 e do corpo lúteo no D19 (Tabela 4). A partir dessas informações foram realizadas três correlações entre folículos ovulatórios e corpos lúteos, sendo a área irrigada do folículo ovulatório com a área irrigada do corpo lúteo no Dia 5 (D5), a área irrigada do folículo ovulatório com a área irrigada do corpo lúteo no Dia 19 (D19) e a área irrigada do corpo lúteo entre o D5 e o D19.

Com base nesses dados, foi estabelecido que existe uma correlação positiva entre área de irrigação folicular e área de irrigação do corpo lúteo no D5 (Gráfico 6), Coeficiente de Correlação de Pearson 0,034, área de irrigação folicular e área de irrigação do corpo lúteo no D19 (Gráfico 8), Coeficiente de Correlação de Pearson 0,22 e área de irrigação no corpo lúteo no D5 e no D19 (Gráfico 7), Coeficiente de Correlação de Pearson 0,08. A análise entre os corpos lúteos nos dias D5 e D19 foi a que teve uma correlação mais forte.

Tabela 4: Mensuração em centímetros da área irrigada do folículo ovulatório, do corpo lúteo no D5 e corpo lúteo no D19 de cada indivíduo do Grupo 2 avaliado na Fazenda Cruzeiro do Sul, Paudalho- PE.

Animais	Área Irrigada do Folículo (cm ²)	Área Irrigada do CL no D5 (cm ²)	Área Irrigada do CL no D19(cm ²)
1	-	0,535	0,108
2	0,086	0,241	0,294
3	0,135	0,392	1,151
4	0,173	0,153	0,67
5	-	0,483	-
6	0,248	0,556	0,704
7	0,203	0,257	0,058
8	0,086	0,446	0,997
9	0,197	0,523	1,062
10	-	0,155	0,02
11	-	0,555	1,123
12	0,197	0,468	0,676
13	0,202	0,670	0,627
14	0,364	0,54	0,905
15	0,253	0,598	-
16	0,297	0,556	0,383

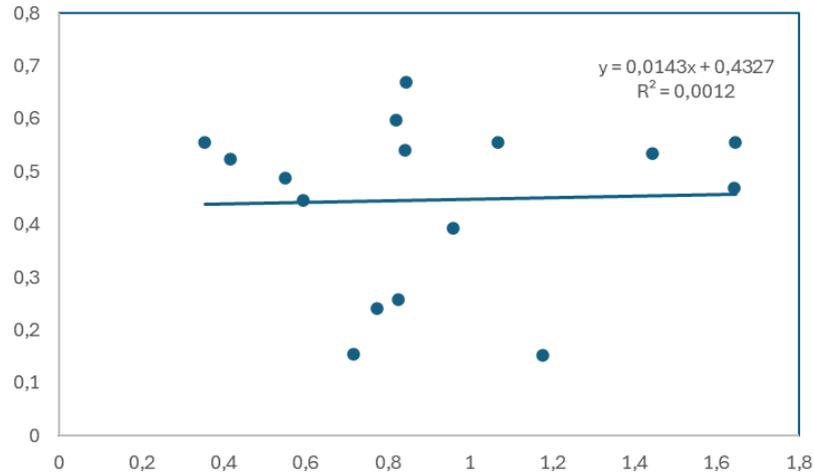


Gráfico 6: Correlação da área com irrigação folicular e da área com irrigação do corpo lúteo no D5 de búfalas Murrah submetidas a protocolo de IATF.

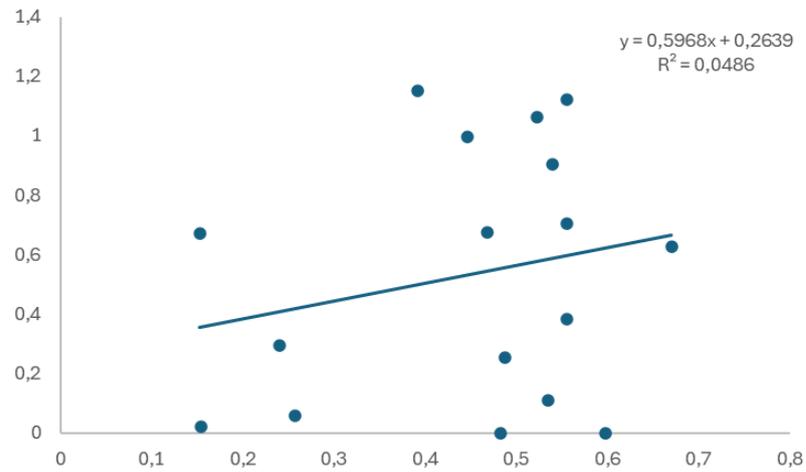


Gráfico 7: Correlação da área com irrigação do corpo lúteo no D5 e da área com irrigação do corpo lúteo no D19 de búfalas Murrah submetidas a protocolo de IATF.

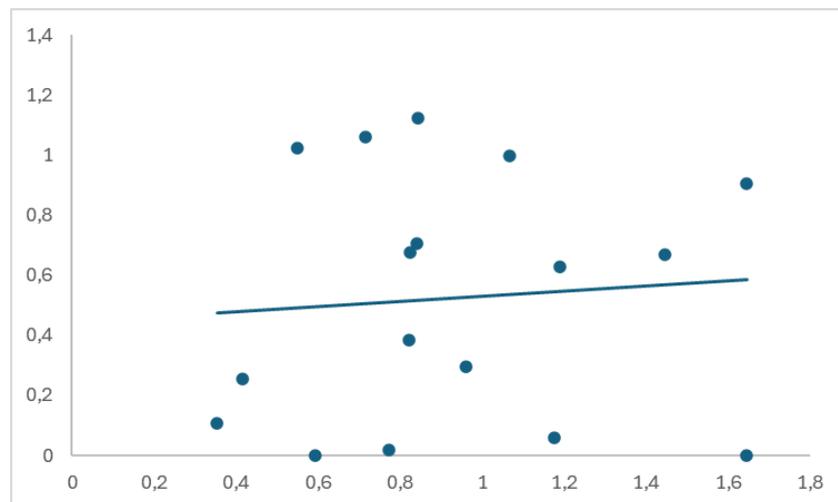


Gráfico 8: Correlação da área com irrigação folicular e da área com irrigação do corpo lúteo no D19 de búfalas Murrah submetidas a protocolo de IATF.

3.2.3 Análise ANOVA e Correlações de Perfusão

Foi realizada uma avaliação da perfusão sanguínea entre os animais possivelmente gestantes e não gestantes utilizando o teste estatístico ANOVA, considerando apenas o grupo 2. O grupo 1 foi excluído desta análise devido à contaminação do sêmen utilizado durante a inseminação artificial, a concepção das búfalas e conseqüentemente o reconhecimento materno da gestação e manutenção dos corpos lúteos, não podendo assim se proceder as análises.

A análise ANOVA foi conduzida com a divisão dos animais em dois grupos: possivelmente gestantes e não gestantes, correlacionando a vascularização do corpo lúteo entre os grupos nos dias D5 (Tabela 6) e D19 (Tabela 5). Os resultados indicaram forte significância ($p < 0,05$) nas avaliações dos corpos lúteos no D19, evidenciando uma relação direta entre elevada irrigação sanguínea e sucesso na concepção (Gráfico 9). No entanto, para as avaliações dos corpos lúteos no D5, não foi observada uma correlação significativa (Gráfico 10).

Tabela 5: Análise de Variância (ANOVA) comparando a perfusão do corpo lúteo no dia D19 entre gestantes e não gestantes.

RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Gestantes D19	8	7,25	0,90625	0,039817
Não Gestantes D19	10	2,806	0,2806	0,116298

ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,739724	1	1,739724	21,00168	0,000306	4,493998
Dentro dos grupos	1,325398	16	0,082837			
Total	3,065122	17				

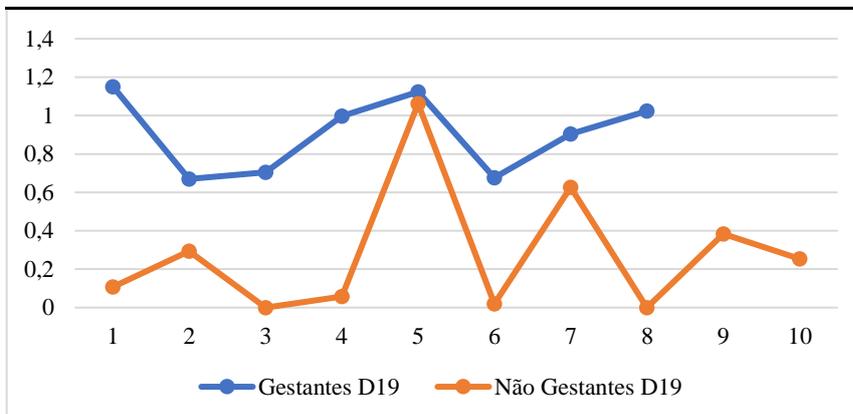


Gráfico 9: Correlação entre a perfusão sanguínea do folículo em búfalas

Tabela 6: Análise de Variância (ANOVA) comparando a perfusão do corpo lúteo no dia D19 entre gestantes e não gestantes.

RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Gestantes D5	7	3,11	0,444286	0,020341
Não Gestantes D5	9	3,983	0,442556	0,032344

ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,18E-05	1	1,18E-05	0,000433	0,983686	4,60011
Dentro dos grupos	0,3808	14	0,0272			
Total	0,380811	15				

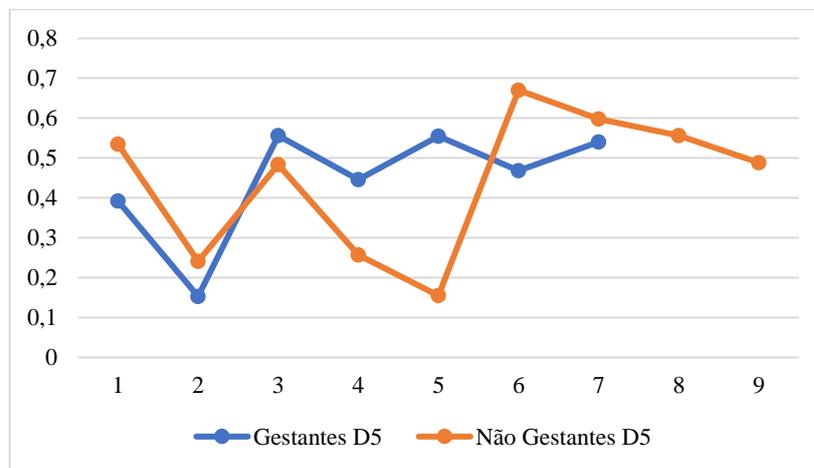


Gráfico 10: Correlação entre a perfusão sanguínea do folículo em búfalas gestantes e não gestantes avaliada por Doppler no dia D5.

3.3 Imagens ilustrativas

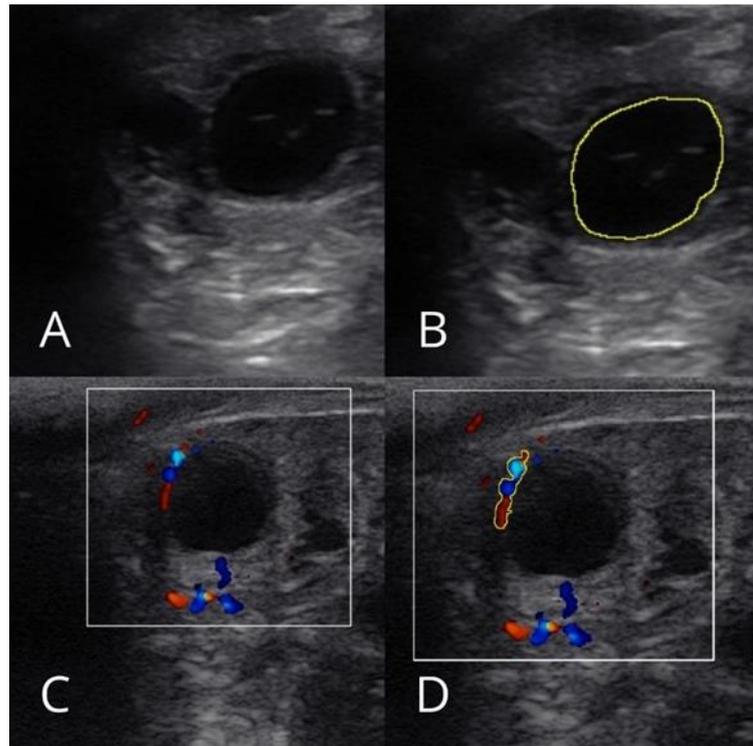


Figura 5: *A, B-* Ultrassonografia modo B com mensuração da área folicular; *C, D-* Ultrassonografia modo Doppler com visualização da perfusão folicular. **Fonte:** Arquivo pessoal (2024).

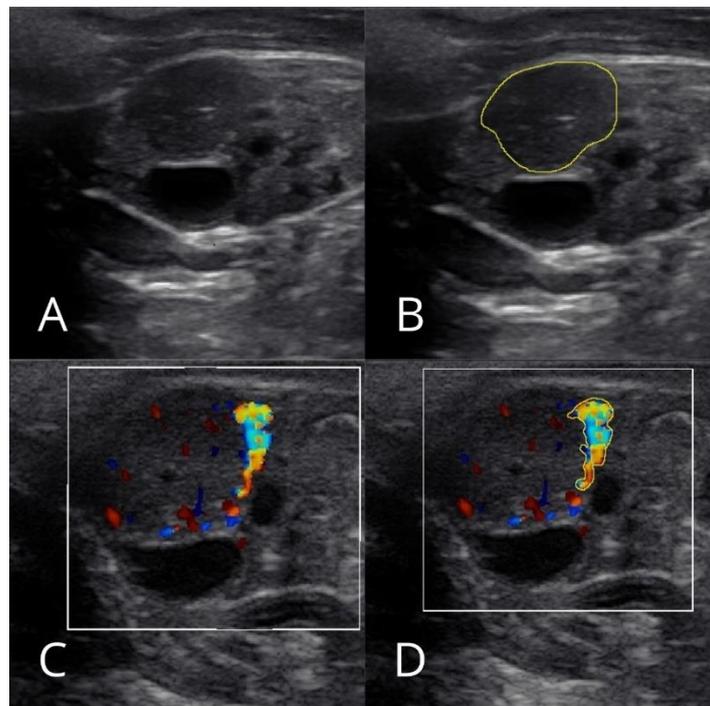


Figura 6: *A, B-* Ultrassonografia modo B com mensuração da área luteal; *C, D-* Ultrassonografia modo Doppler com visualização da perfusão do corpo lúteo. **Fonte:** Arquivo pessoal (2024).

4. DISCUSSÃO

A taxa de concepção em programas de IATF é influenciada por uma variedade de fatores, incluindo o ambiente, o manejo, e, principalmente, as características individuais dos animais. Entre os fatores que exercem influência direta no sucesso reprodutivo, a vascularização do corpo lúteo destaca-se como um dos principais parâmetros, pois reflete a funcionalidade dessa estrutura na produção de progesterona, hormônio essencial para a manutenção da gestação.

Os resultados deste estudo evidenciaram que as búfalas com maiores áreas de perfusão sanguínea do corpo lúteo no D19 apresentaram uma maior taxa de concepção. Isso está em concordância com estudos anteriores, como o de Acosta et al. (2009), que relataram uma relação positiva entre o aumento da perfusão luteal e a produção adequada de progesterona. A presença de uma vascularização robusta no corpo lúteo é indicativa de uma maior capacidade de suporte à gestação, pois garante um adequado fornecimento de nutrientes e hormônios ao embrião em desenvolvimento.

No entanto, as correlações observadas entre as áreas foliculares e luteais nos animais do grupo 2 não foram conclusivas, sugerindo que o número limitado de animais avaliados pode ter influenciado os resultados. Em estudos prévios, como o de Machado et al. (2008), verificou-se que folículos pré-ovulatórios maiores tendem a resultar em corpos lúteos mais volumosos, o que se traduz em maior produção de progesterona. A variabilidade encontrada neste estudo reforça a necessidade de pesquisas adicionais com um maior contingente de animais para elucidar a relação entre o desenvolvimento folicular e a formação do corpo lúteo.

A aplicação da ultrassonografia Doppler revelou-se uma ferramenta valiosa para a avaliação reprodutiva em bubalinos, possibilitando não apenas o diagnóstico precoce da gestação, mas também a identificação de falhas reprodutivas, permitindo intervenções como a resincronização dos animais (Pinaffi et al., 2015). Essa abordagem contribui para a otimização dos programas de IATF e, conseqüentemente, para o aumento da produtividade dos rebanhos bubalinos.

5. CONCLUSÃO

O estudo evidenciou a importância da avaliação da vascularização do corpo lúteo por meio da ultrassonografia Doppler como ferramenta eficaz no diagnóstico precoce da gestação em búfalas submetidas a protocolos de IATF. A maior perfusão sanguínea observada nos corpos

lúteos de fêmeas gestantes no D19 está associada a maiores taxas de sucesso reprodutivo, destacando a relevância desse parâmetro para a eficiência dos programas de reprodução assistida. A utilização dessa ferramenta mostrou-se um recurso valioso para a reprodução bubalina, facilitando a identificação de falhas reprodutivas e possibilitando ajustes nos programas de manejo, como ressincronizações mais assertivas.

Apesar das limitações do número de animais avaliados, os resultados indicam que a ultrassonografia Doppler é uma técnica promissora para aprimorar o manejo reprodutivo em bubalinos. A correlação entre o desenvolvimento folicular e a funcionalidade do corpo lúteo requer investigação adicional, especialmente com um maior número de amostras, para consolidar o entendimento das relações fisiológicas que afetam o sucesso reprodutivo. Dessa forma, o aprimoramento contínuo das estratégias reprodutivas pode contribuir para o aumento da produtividade e da eficiência da criação de búfalos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Supervisionado Obrigatório é essencial para a formação do médico veterinário, proporcionando uma imersão prática na área de maior interesse. O período inserido na rotina do Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução (LBR) foi fundamental para aprender e aprofundar conhecimentos e habilidades na produção *in vitro* de embriões (PIVE), desde a coleta e preparação dos ovários até o cultivo dos embriões.

O estágio permitiu observar e auxiliar em técnicas avançadas, promovendo uma compreensão detalhada e prática das etapas envolvidas. Além disso, a utilização da ultrassonografia Doppler durante a realização do Programa de Iniciação Científica (PIBIC) proporcionou uma experiência prática bastante importante na rotina do veterinário à campo. Embora o número de amostras avaliadas tenha sido limitado, os resultados indicam que a ultrassonografia Doppler pode aprimorar o manejo reprodutivo e a produtividade na criação de búfalos. O estágio, portanto, foi uma oportunidade significativa para aplicar conhecimentos teóricos, desenvolver habilidades práticas e fortalecer a rede profissional na área de Medicina Veterinária.

Além das atividades de coleta de dados e análises, o estágio também incluiu o enfrentamento de desafios práticos, como a contenção dos animais durante os exames ultrassonográficos. A falta de um brete adequado na propriedade e o comportamento agitado de alguns animais exigiram adaptação nas técnicas de contenção e coleta de imagens, o que

resultou em um aprendizado significativo sobre as dificuldades práticas inerentes à aplicação de protocolos reprodutivos à campo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, T. J. et al. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*, v. 137, n. 6, p. 987-993, 2009.

ASSUMPTÃO JC. *Bufalando sério*. São Paulo: Liv Agropecuária, 1996

BARUSELLI, P. S.; MUCCIOLO, R. G.; VISINTIN, J. A.; VIANA, W. G.; ARRUDA, R. P.; MADUREIRA, E. H.; MOLERO-FILHO, J. R. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.47, p.1531-47, 1997.

BARUSELLI, P. S.; SOARES, J. G.; BAYEUX, B. M.; SILVA, J. C.; MINGOTI, R. D.; CARVALHO, N. A. Assisted reproductive technologies (ART) in water buffaloes. *Animal Reproduction*, v.15(Supplement 1), p. 971-983, 2018.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 31, p. 293-298, 2007.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 78, n. 3-4, p. 307-326, 2003.

DUBEIBE MARIN DF, DE SOUZA EB, DE BRITO VC, NASCIMENTO CV, RAMOS AS, ROLIM ST, DA COSTA NN, CORDEIRO MS, SANTOS SSD, OHASHI OM. In vitro embryo production in buffaloes: from the laboratory to the farm. *Animal Reproduction*. v.16, p. 260–266, 2019.

FAO. World buffalo population; 2017. Available: <http://www.fao.org/fd8ce742-c531-4111-9ff0-dae56ac3de1>. 2019 Narayan G. Hegde. Acessado em set. 2024.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division). 2014. Compare data. Acesso Jun. 2023. <http://faostat3.fao.org/compare/en>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT: Statistical Database. Rome: FAO, 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em set. 2024.

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT: Statistical Database. Rome: FAO, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: set. 2024.
- GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal; transferência e criopreservação de embriões bovinos. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2008. P. 201-239.
- HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction Domestic Animal*. v.42, p. 51-58, 2007.
- MACHADO, R. et al. Efeito do tamanho do folículo pré-ovulatório sobre o desenvolvimento do corpo lúteo e a produção de progesterona em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 2008.
- MATOS, A. S.; DE ARAÚJO, C. V.; PIMENTEL, C. M. M.; LAUREANO, M. M. M.; MARQUES, L. C.; SALES, R. L.; SILVA, C. S.; SILVA FILHO, E.; MARQUES, J. R. F. Production of buffalo milk (*Bubalus bubalis*) in Brazil. *Buffalo Bull*; v. 39, p. 323–329, 2020.
- OHASHI, O. M. Estrous detection in buffalo cow. *Buffalo Journal*. v. 2, p. 61-64, 1994.
- OHASHI OM, NOGUEIRA N, CORDEIRO S, FILHO TR, FRANCISCO H, RIBEIRO L, SANTOS AX, MANRIQUE H, AYALA D, BRITO VC, RAMOS ADS, GUIMARÃES TV. Produção in vitro de embrião (PIVE) na espécie bubalina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. v.14, p. 195–200, 2017.
- PEEVA, T.; ILIEVA, Y. Longevity of buffalo cows and reasons for their culling. *Italian. Journal. Animal. Science*. v. 6, p.378–380, 2007.
- PINAFFI, R. M.; MARTINS, A. L.; MORAES, C.; MOREIRA, R. C.; BARUSSELLI, P. S. Aplicações da ultrassonografia Doppler na reprodução de ruminantes. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, n. 4, p. 976-988, 2015.
- ROY, B.; MEHLA, R. K.; SIROHI, S. K. Influence of milk yield, parity, stage of lactation and body weight on urea and protein concentration in milk of Murrah buffaloes, *Asian-Australian Journal of Animal Science*, v. 16, p. 1285–1290, 2003.
- VIANA, J. H. M.; CAMARGO, L. S. A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 3, p. 915-924, 2007.