

Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*)

A.R. Garcia¹

¹ Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Enéas Pinheiro, s/n, Belém, PA, CEP 66095-100, Brasil.
argarcia@cpatu.embrapa.br

Resumo

O búfalo (*Bubalus bubalis*) se comporta como um animal poliestral sazonal de dias curtos ou como poliestral contínuo, dependendo da proximidade com a linha do Equador. No Brasil, os animais criados nas regiões sudeste e sul (paralelos 14 a 33 Sul) tendem a apresentar parições entre os meses de fevereiro a abril, enquanto na Amazônia, próximo ao Equador, o fator que mais influencia a distribuição de partos é a disponibilidade de forragens, principalmente nos sistemas de integração várzea e terra-firme. Búfalas com escore 2 a 2,5 ao parto apresentam atraso na primeira ovulação pós-parto e requerem mais serviços por concepção, quando comparadas a búfalas de escore 3 a 3,5 (escala 1-5). Altos índices de temperatura e umidade (ITU) são observados em grande parte do território brasileiro, sendo que o ITU de 75 é proposto como limite para bubalinos. Na Amazônia, onde há o maior contingente de bubalinos brasileiro, diversas regiões apresentam ITU próximo ou superior a 80, o que ocasiona desconforto e estresse térmico animal. Os impactos do estresse térmico nas fêmeas podem ser percebidos pelas alterações de comportamento sexual, com menor manifestação estral, além de menores taxas de concepção, maior mortalidade embrionária precoce e reduzida eficiência reprodutiva. Nos machos, o estresse térmico se traduz em redução da qualidade seminal e menor viabilidade dos espermatozoides. Por isso, em boa parte do território brasileiro, em especial na Amazônia, práticas de manejo do ambiente associadas ao manejo animal são fundamentais para a sustentabilidade do sistema produtivo. A incorporação de árvores às áreas de pastagens (sistemas silvipastoris) é altamente recomendada, pois aumenta a biodiversidade local, disponibiliza sombreamento para proteção e descanso aos animais, reduz a incidência de radiação solar direta sobre os mesmos, aumentando o conforto e o bem-estar animal, com conseqüentes impactos positivos sobre a eficiência produtiva e reprodutiva dos rebanhos bubalinos.

Palavras-chave: reprodução animal, ambiente, estresse térmico, búfalo.

Keywords: animal reproduction, environment, thermal stress, buffalo.

Estacionalidade reprodutiva dos bubalinos no mundo e no Brasil

A reprodução é a atividade biológica mais importante para qualquer espécie animal, pois a partir dela são originados os indivíduos da próxima geração, o que garante a sobrevivência da espécie no meio. Nas criações comerciais, a reprodução é atividade multiplicadora dos rebanhos e, na pesquisa, gera uma interface com trabalhos de seleção e melhoramento genético.

Nas regiões mais distantes da linha do Equador, no sentido norte ou sul, o búfalo do rio (*Bubalus bubalis*) se comporta como um animal poliestral sazonal de dias curtos, apresentando interrupção da ciclicidade durante o verão, quando a luminosidade diária é maior. Contudo, nas regiões próximas ao Equador, as fêmeas bubalinas são animais de comportamento poliestral contínuo, ou seja, ciclâm durante todo o ano (Vale e Ribeiro, 2005).

Estudos sobre a distribuição de partos em búfalas demonstram que essa característica depende significativamente de fatores ambientais locais. Em Cuba, país que possui seu território

localizado entre os paralelos 20 e 23 Norte, as búfalas do rio apresentam forte estacionalidade reprodutiva, com 80,31% dos partos ocorrendo entre os meses de junho a setembro (Campo et al., 2005), com concepções entre agosto a novembro. Na Turquia, país localizado entre os paralelos 36 e 42 Norte, a concentração de partos se dá entre os meses de agosto a outubro (Soysal et al., 2005) e, portanto, as concepções ocorrem de outubro a dezembro. Na região norte da Índia, as taxas de concepção são maiores entre outubro e janeiro, fazendo com que a maioria dos partos ocorra entre agosto e novembro, enquanto no sul daquele país as concepções são favorecidas entre os meses de outubro a abril, com concentração de partos de agosto a fevereiro (Gangwar, 1985).

No Brasil, os animais criados na região do Vale do Ribeira, no município de Registro-SP (24°30'07" de Latitude Sul e 47°50'54" de Longitude Oeste), apresentam concentração de partições entre os meses de fevereiro a abril (Baruselli, 1993), sendo 57,93% dos animais nascidos neste período (Reichert et al., 2001). Esses dados indicam que a maioria das concepções ocorre entre abril e junho, época em que a luminosidade diária no Estado de São Paulo vai se tornando cada vez mais restrita, com períodos de escuro mais longos. De modo similar, dados sobre o período de nascimentos de bubalinos no município de Pirassununga-SP (21°56'13" de Latitude Sul e 47°28'24" de Longitude Oeste) indicam que pouco mais de 79% dos partos ocorrem entre os meses de janeiro a março (Mattos et al., 2000), conseqüentemente ao período mais propício para a fecundação das búfalas, que vai de março a maio. Já no nordeste brasileiro, no município de Paracuru, Estado do Ceará, (3°45'59" de Latitude Sul e 39°14'36" de Longitude Oeste), a maior concentração de partos ocorre no primeiro semestre do ano, com 79,3% dos eventos concentrados entre janeiro e junho, época de maior pluviosidade local (Sampaio Neto et al., 2001). As concepções se dão, portanto, sob condições locais, nos meses de março a agosto.

Na Amazônia brasileira, de acordo com a localização geográfica da criação, o padrão de partições se altera. No Estado do Pará, em criações na terra firme, as partições concentram-se no primeiro semestre do ano, com maiores índices nos meses de abril a agosto, enquanto nas áreas de várzeas os partos se concentram de setembro a dezembro (Ribeiro, 2002). Dados oriundos do rebanho experimental da Embrapa, criado na região do baixo Amazonas, no município de Monte Alegre-PA (2°0'30" de Latitude Sul e 54°4'13" de Longitude Oeste), demonstram que aproximadamente 78% dos nascimentos ocorrem entre os meses de julho a dezembro (Cassiano et al., 2003). Nesse local, o rebanho é mantido em sistema de integração entre várzea e terra-firme. Durante os meses de setembro a fevereiro os animais ocupam as áreas de várzea, e de março a agosto são mantidos em áreas de pastagens mais altas, em virtude do ciclo de cheias do rio Amazonas. A sazonalidade dos partos revela que o maior número de concepções ocorre entre os meses setembro e fevereiro, exatamente quando os animais ocupam as áreas de várzea, que começam a ser descobertas pelas águas em virtude da vazante do rio Amazonas. Nesta época, os campos nativos de várzea apresentam excelentes condições para a exploração pecuária, onde é evidenciada a abundância de forrageiras de bom valor nutritivo, às quais os animais passam a ter acesso.

Segundo Marques (1991), em 5.515 observações de partos em búfalas criadas em rebanhos localizados nos Estados do Pará, Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo, houve maior concentração de partições entre março e maio (49,54%), valor que superou os registros dos períodos de dezembro a fevereiro (34,84%), junho a agosto (12,63%) e setembro a novembro (2,99%). Em média, as búfalas apresentaram idade à primeira cria de $37,94 \pm 5,53$ meses, período de serviço de $94,69 \pm 84,19$ dias e intervalo de partos de $404,52 \pm 84,28$ dias. As estimativas de herdabilidade para essas características foram, respectivamente, de $0,249 \pm 0,113$; $0,039 \pm 0,033$ e $0,096 \pm 0,046$. A eficiência reprodutiva obtida foi de $87,86 \pm 3,36\%$, confirmando o bom desempenho dos rebanhos estudados e o grande potencial dos bubalinos para a reprodução, uma vez que todos os rebanhos estudados mantinham seus animais a pasto, e alguns com suplementação de volumoso na época da seca. Os baixos valores de herdabilidade obtidos indicam que o meio ambiente exerce uma importante influência sobre as características reprodutivas dos bubalinos. A precocidade ao

primeiro parto poder ser reduzida através de um trabalho bem orientado de seleção, associado a boas práticas de manejo do rebanho, enquanto o intervalo do parto ao primeiro cio fértil também pode ser reduzido com a adoção de um manejo adequado.

Agentes estressores e importância da nutrição

Independentemente da região onde sejam criados, os bubalinos podem manter a sua atividade reprodutiva em “compasso de espera” mesmo durante sua estação reprodutiva favorável, quando outros fatores do ambiente, que não somente a luminosidade, não lhes sejam favoráveis ou ponham em risco a sua multiplicação. Sempre que um agente estressor agir sobre o organismo do bubalino, uma das conseqüências imediatas é a diminuição da sua atividade reprodutiva. É considerado como “agente estressor” todo elemento cuja ação é capaz de interferir negativamente sobre o estado de equilíbrio de um organismo. Há, portanto, vários fatores ambientais que podem agir como agentes estressores, sendo capazes de influenciar sensivelmente a atividade reprodutiva dos animais. Considerando os sistemas de produção atualmente adotados para a criação de bubalinos, os fatores ambientais que maiores impactos apresentam sobre a reprodução dos animais são a nutrição dos animais, o clima e suas variações e os hábitos de manejo de cada propriedade.

A exposição dos animais a agentes estressores reduz a liberação do GnRH hipotalâmico, determinando diminuição na frequência e na amplitude de liberação do LH pela hipófise. Isso resulta em função ovariana anormal devido à não ocorrência do pico de LH (Dobson et al., 2001), o que impede a divergência folicular e a ovulação. Eventos como longas caminhadas, transporte inadequado, enfermidades infecciosas, processos inflamatórios, estresse calórico, privação alimentar e sede fazem parte da relação de agentes estressores capazes de atuar sobre o eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal e prejudicar seu perfeito funcionamento.

Os fatores nutricionais são importantes tanto para o estabelecimento da puberdade quanto para a manutenção da ciclicidade ovariana, o reinício da ciclicidade no pós-parto e a manutenção da gestação. Por isso, a condição corporal das búfalas no momento do parto é de extrema importância para a eficiência reprodutiva do rebanho. De acordo com Marques (1991), o cuidado no manejo nutricional de fêmeas prenhes nos últimos meses de gestação e, principalmente, no período pós-parto, deve ser redobrado, uma vez que o valor estimado da herdabilidade para o período de serviço em búfalas é baixo ($0,039 \pm 0,033$), o que indica que essa variável é altamente sujeita a variações pelas modificações de manejo. Segundo Hegazy et al. (1994), búfalas consideradas magras no momento do parto (escore 2 a 2,5; escala de 1 a 5), quando comparadas com búfalas de escore moderado (escore 3 a 3,5), apresentam atraso na primeira ovulação pós-parto (62,9 dias versus 47,2 dias; $P < 0,05$), maior intervalo de dias em aberto (95,3 dias versus 81,5 dias; $P < 0,05$) e requerem um número maior de serviços por concepção (1,7 versus 1,25 serviço; $P < 0,05$). Por isso, o máximo desempenho reprodutivo é observado quando os animais se encontram com escore 3,5 ao parto e entre 3 e 3,5 ao momento da inseminação, devendo esses escores ser considerados como metas para se obter a máxima fertilidade em rebanhos bubalinos.

Devido à inter-relação entre a nutrição dos animais e os resultados na reprodução, a suplementação dos animais em períodos mais críticos do ano tem se mostrado uma estratégia interessante para o aumento nos índices reprodutivos de rebanhos bubalinos. Contudo, a suplementação com uréia deve ser usada com algumas restrições. O impacto desse tipo de suplementação na reprodução foi descrita por Campanille et al. (2006), que relacionaram a condição corporal e a taxa sanguínea de uréia de 150 búfalas da raça Mediterrâneo em lactação, alimentadas com dieta contendo 14,8% de proteína bruta e a relação carboidratos não estruturais/proteína bruta 2,14. As búfalas foram inseminadas em tempo fixo e a probabilidade de gestação das fêmeas foi de 46,7%, sendo que esses níveis foram mais baixos para búfalas com escore corporal menor que 6 e maior que 7,5 (em escala de 1 a 9). Isso indica que as fêmeas em estados mais extremos de

condição corporal sofreram mais com os efeitos negativos do desbalanço nutricional. O alto nível de uréia sanguínea das búfalas fez com que a probabilidade de uma búfala se tornar gestante reduzisse para 25%. Esses achados científicos indicam que incrementos nos níveis sanguíneos de uréia em búfalas estão associados com redução na fertilidade.

Efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia reprodutiva das fêmeas

Em virtude das recentes mudanças climáticas e do aquecimento global, a prevenção ao estresse térmico dos animais deve ser considerada também como um dos fatores mais importantes no estabelecimento de novas unidades de produção de bubalinos para leite ou carne. Trabalhos realizados na Tailândia estabeleceram o índice de temperatura e umidade (ITU) para as diferentes regiões do país, o que resultou no mapeamento do território tailandês segundo as isolinhas para ITU. As regiões com ITU maiores ou iguais a 84 foram consideradas como sendo áreas de risco, onde havia possibilidade real de quebra de produtividade dos bubalinos em função do estresse calórico determinado pelo clima local. Em decorrência desse tipo de estudo, o sul da Tailândia, onde se concentram 21% dos bubalinos do país, foi considerado local não recomendado para a exploração da espécie (Somparn et al., 2004), uma vez serem os bubalinos susceptíveis a altas radiações solares em função de sua pele pigmentada e escassez de pêlos.

Os índices de temperatura e umidade observados em certas partes da Amazônia brasileira também suplantam o nível de emergência para bubalinos, principalmente nas áreas de tipo climático Afi (Castro, 2005). Na Amazônia, os locais sob esse tipo climático apresentam temperatura média anual de 26°C, precipitação pluvial anual de 3.000 mm, umidade relativa do ar de 86% e há 2.389 horas de insolação (Bastos, 1982). Esse tipo climático ocorre em 17,35% do território da Amazônia brasileira, em áreas tradicionalmente usadas para a criação de bubalinos, como as mesorregiões do Marajó e Metropolitana de Belém, que compreendem municípios com um rebanho expressivo. Segundo Lourenço Junior et al. (2006a), as médias dos ITU podem se manter constantes e com valores elevados durante todo o ano na Amazônia Oriental, permanecendo próximas ou superiores a 88. Esse índice está bem acima do índice 75, como proposto por Baccari Júnior et al. (1986), limite até o qual os bubalinos ainda mantêm boa tolerância ao calor. Os impactos negativos de altos ITUs na produtividade dos animais mantidos sob estresse térmico são evidentes, havendo correlação negativa entre o ITU e o ganho de peso de bubalinos (Lourenço Junior et al., 2006a). Por isso, na Amazônia, para que os bubalinos alcancem bons índices produtivos e reprodutivos, existe a necessidade, além das práticas convencionais de manejo sanitário e nutricional do rebanho, do uso de práticas de manejo do ambiente físico a fim de conferir maior conforto aos animais.

Visando proteger os bubalinos da incidência de raios solares e minimizar seu estresse térmico, estratégias de manejo do ambiente têm sido desenvolvidas em várias regiões do Brasil, onde são criados, segundo os dados oficiais, 1,2 milhões de animais aproximadamente (IBGE, 2005). Na Amazônia brasileira, os bubalinos para leite ou carne podem ser criados em sistemas silvipastoris, os quais integram a produção animal ao cultivo de árvores. Esses sistemas têm se notabilizado como excelente alternativa para elevar o conforto animal, permitindo também ciclagem de água e nutrientes, captura de CO₂, além de agregar valor à propriedade. Quando búfalas leiteiras são mantidas em pastagens não sombreadas, o índice de conforto térmico de Benezra permanece acima dos níveis de normalidade, diferentemente do que ocorre no sistema sombreado (Lourenço Junior et al., 2006b), o que comprova a importância da sombra na ambiência animal, em climas tropicais, como o da Amazônia brasileira.

No nordeste brasileiro, na região agreste do estado de Pernambuco, onde o tipo climático predominante é o As, quente e úmido, com chuvas concentradas no outono e inverno, o ITU varia de 63,9 a 82,6. O aumento do índice de temperatura e umidade faz com que a frequência respiratória e a temperatura da pele nas fêmeas bubalinas se elevem, enquanto há uma redução da

taxa de sudação (Costa et al., 2006). A redução da sudação nessa situação provavelmente está relacionada à maior umidade relativa do ar, que dificulta a evaporação de água e a transferência de calor da superfície da pele para o meio. Ao ter um de seus mais importantes mecanismos evaporativos de troca de calor diminuído, ocorre acúmulo de calor corpóreo no animal e desconforto. A fim de restabelecer sua troca térmica para com o meio, o animal passa a apresentar alterações comportamentais. A diminuição na ingestão de alimentos, o aumento no consumo de água, o aumento no tempo de repouso e a adoção de posturas corporais atípicas são alguns sinais de que o animal, de algum modo, está buscando aumentar sua dissipação de calor para o ambiente.

A intensidade da radiação solar afeta diretamente o comportamento e a fisiologia dos animais domésticos e determina a sua adaptabilidade ao ambiente físico (Zhengkang et al., 1994). Segundo Titto et al. (1998), os mamíferos ajustam seus processos físicos, bioquímicos e psicológicos na tentativa de conter os efeitos negativos do estresse, o que envolve dissipação do calor para o ambiente e redução da produção do calor metabólico. Como exemplo marcante, podem ser citadas as diferenças no comportamento reprodutivo das fêmeas bubalinas nas diferentes regiões do Brasil, que interferem diretamente na possibilidade de detecção do estro. Segundo Porto Filho (2000), na região sudeste do Brasil, a detecção das montas em búfalas por radiotelemetria mostrou que a distribuição desses eventos é uniforme ao longo dos quatro períodos do dia (manhã = 6h01 às 12h00, tarde = 12h01 às 18h00, noite = 18h01 às 00h00 e madrugada = 0h01 às 6h00). Segundo esse autor, foi constatada uma distribuição praticamente equitativa entre os períodos, uma vez que 25,8% das montas ocorrem durante a manhã, 21,4% durante a tarde, 24,7% durante a noite e 28,1% durante a madrugada. Já na Amazônia, segundo Vale (1988), a frequência de aparecimento de cios em búfalas é de 10,6% durante a manhã (7h00 às 12h00), 5,3% durante a tarde (12h01 às 17h00) e 84% durante a noite (17h01 às 7h00). Na medida em que os ruminantes tendem ao ócio durante os períodos de maior calor do dia, pode-se supor que esse predomínio de manifestações estrais das búfalas durante a noite na região Amazônica se deva ao estresse climático nas horas mais quentes, que força os animais a permanecerem em descanso e prejudica a interação sexual entre os mesmos.

De fato, a observação de estros é um fator que pode dificultar a implementação de programas de inseminação convencionais em bubalinos na Amazônia. Segundo Garcia et al. (2006), a eficiência da detecção visual do estro em fêmeas bubalinas criadas na Amazônia é de 56,52%, quando se considera a presença de muco cristalino e/ou a detecção de monta como sinais patognomônicos do estro. Segundo os mesmos autores, mesmo quando realizada por observadores capacitados, a visualização de montas ocorre em apenas 17,39% das búfalas em estro. Por isso, a utilização de tecnologias que dispensem a detecção do estro, como protocolos de sincronização da ovulação e inseminação artificial em tempo fixo, pode ser útil para auxiliar na elevação da eficiência reprodutiva na espécie bubalina na região Amazônica.

Associada à dificuldade de observação de cios, o estresse térmico pode desencadear reações fisiológicas nas búfalas, levando à baixa fertilidade. A influência do período do dia na concepção foi observada por Baruselli (1994), o qual detectou concepção em 72,22% das inseminações realizadas pela manhã, contra apenas 46,29% de concepção nas inseminações efetuadas à tarde, o que levou à conclusão que o estresse calórico ao qual o animal é submetido durante o dia pode ser responsável pela baixa concepção nos períodos da tarde. Também na Índia a concepção é mais alta (40,1%) em baixas temperaturas do que durante os períodos de temperaturas moderadas (38,1%) e altas (12,6%) (Jain e Tailor, 1995). Esse fato foi confirmado por Srivastava e Sahni (1999), que encontraram percentagens de prenhez de 31,17% na estação chuvosa e 11,11% na estação seca e quente, com a incidência de estro mais alta na estação chuvosa (54,22%) e mais baixa na estação seca e quente (19,20%).

Nas condições de clima tropical quente e úmido da Amazônia Oriental, as variáveis climáticas de precipitação pluvial, umidade relativa do ar, temperaturas mínima, média e máxima e radiação solar global se relacionam à concepção de búfalas das raças Murrah e Mediterrâneo. Segundo Dantas (2001), o efeito dessas variáveis é mais marcante quando se utiliza a inseminação

artificial ao invés de monta natural, principalmente no período mais chuvoso do ano. Essa informação pode indicar a necessidade de cuidados adicionais com o conforto térmico das búfalas ao se implantar um programa de inseminação artificial em propriedades localizadas na Amazônia Oriental.

Efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia reprodutiva dos machos

Não somente as fêmeas sofrem com o estresse térmico. Os machos também têm seu comportamento sexual afetado pelo calor ambiental, exprimindo maior desejo de copular durante as horas mais amenas do dia. Segundo Ohashi et al. (1988), os machos bubalinos manifestam maior libido durante a noite, logo após o pôr do sol, ou ainda de madrugada. Outro fator importante além da libido é a normalidade da espermatogênese. Para os mamíferos que possuem testículos alojados em escrotos pendulares, inclusive touros bubalinos, a espermatogênese normal é dependente da manutenção da temperatura testicular entre 2 e 6°C mais baixa que a temperatura corpórea. Sabe-se que existe um gradiente de temperatura no escroto e nos testículos, que aumenta quanto mais distante estiver a estrutura relativamente à cavidade abdominal. É bem conhecido que um aumento da temperatura testicular diminui a qualidade do sêmen produzido (Waites, 1970).

O ejaculado normal do búfalo tem coloração branco-leitoso a acinzentado, raramente ultrapassa 5 mL e possui uma concentração espermática entre 300 e 1.500 milhões de células por mL (Jainudeen e Hafez, 2004). Segundo Vale (2002), um ejaculado bubalino de boa qualidade apresenta volume que varia de 1,0 a mais de 3,0 mL, concentração espermática de 600 a 1.200 milhões de espermatozoides por mL, turbilhonamento mínimo de 3 (escala de 0 a 5), motilidade espermática entre 60 e 80%, vigor de pelo menos 3 (escala de 0 a 5) e pH entre 6,5 e 7,2. Já Barnabe (1999) cita que os padrões mínimos para a classificação de uma amostra “provavelmente fértil” de sêmen de búfalo são: 500 milhões de espermatozoides por mL, mais de 60% de espermatozoides móveis com progressão retilínea e mais de 70% de espermatozoides com morfologia normal. Em búfalos adultos, existe uma variação da qualidade seminal em função da época do ano, o que pode ser atribuído, principalmente, a um efeito das temperaturas do ambiente sobre o animal e, conseqüentemente, sobre a espermatogênese. Segundo Gangwar (1980), durante os meses de verão, a porcentagem de espermatozoides vivos em ejaculados de búfalos adultos é de $64,6 \pm 4,4\%$, deliberadamente inferior aos dados alcançados no outono, inverno e primavera, quando se obtêm valores de $90,5 \pm 0,8\%$, $84,5 \pm 2,3\%$ e $95,7 \pm 1,5\%$, respectivamente.

A composição química do sêmen bubalino também sofre variações ao longo do ano. Mohan et al. (1994) detectaram concentrações de 568,53 mg% de frutose, 5,27 g% de proteínas totais, 74,13 g% de colesterol total, 13,59% de fosfato inorgânico, 115,87 mg% q/L de sódio e 22,7 mg% q/L de potássio na composição química do sêmen de búfalos adultos criados na Índia, e, portanto, mantidos em ambiente tropical. A congelabilidade média do sêmen desses búfalos, representada pela porcentagem de espermatozoides vivos após a descongelação, foi de $38,39 \pm 1,42\%$, e apresentou correlação positiva com o valor de proteínas totais no sêmen. Na região sudeste do Brasil, segundo Oba et al. (1994), o perfil bioquímico do sêmen de bubalinos varia ao longo do ano todo. No final do outono local (maio), quando as temperaturas são mais amenas, o sêmen bubalino apresenta concentrações de frutose e ácido cítrico (526,51 mg% e 549,22 mg%, respectivamente) maiores que a média anual, sendo esses elementos importantes para o metabolismo espermático e para o processo de criopreservação. Em maio, as concentrações de sódio e potássio (122,54 mEq/L e 16,23 mEq/L, respectivamente) ficam abaixo da média do ano (Oba et al., 1994).

O sêmen de búfalos adultos mostra também variação sazonal quando submetido ao teste hiposmótico (HOS), um teste desenvolvido para avaliar a integridade funcional da membrana plasmática e que pode indicar a potencial fertilidade de um touro. Esse teste pode ser empregado tanto no sêmen bubalino a fresco (Mandal et al., 2003) quanto congelado (Romitto et al., 2001;). No

teste hiposmótico, um maior número de espermatozóides positivos ao HOS indica mais espermatozóides com membranas fisicamente intactas e bioquimicamente ativas, o que é desejável. Segundo Mandal et al. (2003), a porcentagem de células positivas ao HOS nos bubalinos é maior no sêmen produzido no inverno do que no verão (65.0 ± 0.05 versus 54.5 ± 0.06 ; $P < 0,01$), indicando que o calor veranal prejudica a funcionalidade dos espermatozóides. Nos bubalinos, a maioria dos parâmetros importantes de motilidade espermática avaliados por CASA (análise computadorizada de sêmen) também varia significativamente durante as estações do ano. Os espermatozóides produzidos e coletados durante o inverno apresentam menor velocidade curvilínea, menor amplitude lateral de cabeça durante o batimento da cauda e maior linearidade da trajetória, quando comparados aos espermatozóides produzidos no verão (Mandal et al., 2003). Se essas características se mantiverem após a inseminação, podem indicar uma economia de energia celular durante o deslocamento espermático e uma maior objetividade de trajetória das células produzidas durante os períodos de temperatura ambiente menos intensa.

O efeito negativo da temperatura ambiente sobre a qualidade seminal pode ser resultante da indução de degeneração testicular. Essa patologia é ocasionada, entre muitos fatores, por qualquer processo que determine a elevação da temperatura dos testículos, como, por exemplo, a dermatite escrotal, o excesso de gordura escrotal, edema, periorquite e elevação da temperatura ambiente com conseqüente estresse térmico (Nascimento e Santos, 2003). Segundo Skinner e Louw (1966), a temperatura ambiente crítica para prejuízo da espermatogênese está entre 27°C e 32°C , e exposições contínuas a temperaturas excedendo os 30°C podem determinar marcante efeito negativo sobre a produção espermática.

Os ejaculados de machos com degeneração testicular de média intensidade apresentam baixa concentração espermática, baixa motilidade e número moderado de células com defeitos morfológicos, como gotas protoplasmáticas proximais, diadema, vacúolos e outros defeitos nucleares (Wenkoff, 1988). Em casos mais severos, além da oligozoospermia e da astenozoospermia, pode ser detectado também aumento no número de espermatozóides com anomalias morfológicas, especialmente com defeitos de peça intermediária e de cabeça. A presença de células primordiais da linhagem espermatogênica, células gigantes, medusas ou células germinativas multinucleadas no ejaculado indica danos severos ao epitélio seminífero (Nascimento e Santos, 2003; Van Camp, 1997). A presença de espermatozóides com formas teratológicas em grande quantidade no ejaculado é um indicativo de espermatogênese severamente prejudicada (Johnson, 1997).

Apesar da termorregulação escrotal ser um fenômeno complexo que depende, entre outros fatores, da temperatura e umidade ambiental, da temperatura corporal, da postura do animal, da variação anatômica escrotal e da condição corporal do animal, o escroto tem alguns importantes mecanismos que facilitam sua termorregulação. Sua posição extracavitária e pendular facilita a dissipação do calor e permite que os testículos sejam afastados da cavidade abdominal. Sabe-se que machos que passaram por estresse térmico testicular com conseqüente quadro de degeneração testicular leve a moderada, mesmo após o retorno da espermatogênese à normalidade produzem espermatozóides com baixo potencial fertilizante e maior incidência de mortalidade embrionária (Burfening e Ulberg, 1968). Nos bovinos, animais que sofrem estresse térmico testicular por apenas 48 horas apresentam posteriormente cromatina espermática mais susceptível à desnaturação (Karabinus et al., 1997). Touros cujos espermatozóides têm maior instabilidade de cromatina, segundo Waberski et al. (2004), apresentam taxas de formação de blastocistos significativamente menores que os touros de cromatina não fragmentada ($P < 0,05$).

Apesar do declínio da qualidade seminal decorrentes de altas temperaturas serem bem descritas na literatura, essas variações não foram reproduzidas em testes de câmara climática por Chacur et al. (2001). Os autores descreveram que touros bubalinos, quando mantidos em câmara climática com temperatura do ar em 39°C por 9 horas diárias, durante 54 dias, não apresentaram diferenças significativas dos animais controle em relação a cor, motilidade, concentração e

porcentagem de patologias espermáticas. Seu trabalho indicou diferença apenas no volume do ejaculado, sendo este menor para os animais que sofreram estresse térmico ($1,58 \pm 0,07$ mL versus $2,48 \pm 0,21$ mL). Os autores concluíram que a alta temperatura aplicada durante os 54 dias de estudo não afetou a espermatogênese dos animais.

O manejo diferenciado de touros bubalinos pode ser uma estratégia interessante para preservar a produção e a qualidade seminal de búfalos criados na Amazônia, principalmente para animais considerados de elite. Trabalho de Coimbra (2002) avaliou as características seminais doadores de sêmen zebuínos, taurinos e bubalinos, mantidos em central de inseminação artificial no Estado do Pará, no trópico úmido brasileiro. A fim de realizar a comparação, foram agrupados os dados de seis anos consecutivos sobre os ejaculados coletados durante a estação mais chuvosa do ano (janeiro a junho) e durante a estação menos chuvosa (julho a dezembro). Os touros bubalinos apresentaram diferenças na qualidade seminal, sempre favorável aos ejaculados produzidos no período mais chuvoso do ano. A motilidade espermática foi o atributo que apresentou diferenças, tanto no sêmen *in natura* ($74,20 \pm 9,87\%$ versus $70,17 \pm 9,89\%$), quanto após a diluição ($75,62 \pm 6,95\%$ versus $73,12 \pm 8,17\%$) e após a descongelação ($54,50 \pm 9,68\%$ versus $49,30 \pm 10,74\%$). Não foram observadas diferenças entre estações para as características de volume seminal, concentração espermática, turbilhonamento, vigor e defeitos espermáticos (maiores, menores e total). Os dados anuais indicaram que bubalinos doadores de sêmen na Amazônia apresentam o seguinte perfil seminal médio durante o ano: volume = $3,00 \pm 1,53$ mL; concentração = $1.046,56 \pm 516,98$ espermatozoides/mL; turbilhonamento = 3; motilidade espermática = $72,73 \pm 9,88\%$; vigor = 3; motilidade espermática após a diluição = $74,71 \pm 7,56\%$; motilidade espermática após a descongelação = $52,60 \pm 10,21\%$; defeitos maiores = $12,40 \pm 6,42\%$; defeitos menores = $6,59 \pm 4,63\%$ e defeitos totais = $18,99 \pm 5,52\%$. É importante ressaltar que os dados obtidos com animais alojados em centrais de inseminação artificial não devem ser extrapolados para animais mantidos a campo, em virtude das evidentes diferenças de manejo às quais estes estão sujeitos, e porque os animais a campo permanecem expostos ao ambiente de modo mais intenso.

Por fim, os embriões

Mesmo que a cópula aconteça, se a fecundação ocorrer em condições de baixo conforto térmico para a mãe, as altas temperaturas são capazes de influenciar negativamente na manutenção da gestação. As perdas embrionárias precoces devido ao estresse térmico materno têm sido relatadas como uma das causas não-infecciosas mais importantes no decréscimo de fertilidade de grandes ruminantes (Nascimento e Santos, 2003). Além dos embriões, os ovócitos coletados para fertilização *in vitro* também têm se mostrado sensíveis a elevações de temperatura. Segundo Mishra et al. (2006), embriões bubalinos produzidos a partir de ovócitos coletados em dias em que a temperatura máxima ambiente era menor ou igual a 40°C apresentaram maior taxa de clivagem que aqueles coletados em dias de temperatura a 40°C ou mais ($33,6\%$ versus $17,6\%$; $P < 0,05$). A taxa de clivagem também foi diferente quando os embriões atingiram os estágios de 4 a 8 células ($87,3\%$ versus $46,6\%$; $P < 0,05$), 16 células ($36,6\%$ versus $0,0\%$; $P < 0,05$) e blastocisto ($9,8\%$ versus $0,0\%$; $P < 0,05$), o que sugere que temperatura influencia a competência dos ovócitos para clivar e se desenvolver após a fertilização, mesmo que o processo seja realizado *in vitro*.

Conclusão

Os búfalos podem se comportar como animais poliéstrais estacionais ou poliéstrais anuais, dependendo de quão distantes são criados em relação à linha do Equador. Quanto menores as latitudes, maior sua tendência à sazonalidade. Além do fotoperíodo, outros fatores ambientais

exercem importante influência sobre as atividades reprodutivas dos bubalinos. A nutrição é um elemento importante e, sempre que deficitária, reduz a condição corporal dos animais, com impactos negativos sobre a idade à puberdade, a idade ao primeiro parto e o intervalo de partos. O estresse calórico, em geral é determinado pela conjugação de altas temperaturas ambientais, alta radiação solar incidente sobre os animais e alta umidade, o que reduz a capacidade do animal de perder calor para o meio. Por isso, o estresse calórico é capaz de afetar negativamente a fisiologia reprodutiva dos bubalinos. Fêmeas em estresse térmico apresentam alteração de comportamento reprodutivo, redução na manifestação de estros, diminuição das taxas de concepção e declínio na capacidade de manutenção da gestação, o que reduz a fertilidade. Por sua vez, os machos em estresse pelo calor apresentam redução na qualidade seminal e alterações na composição do sêmen. Ovócitos e embriões também são muito sensíveis ao aumento de temperatura do ambiente, e apresentam redução de sua viabilidade à medida que a temperatura do meio se eleva. Por isso, em regiões em que alta temperatura e alta umidade do ar coexistem, como em boa parte do território brasileiro e em especial na Amazônia, práticas de manejo do ambiente associadas às práticas de manejo animal são fundamentais para a sustentabilidade de um sistema produtivo. A incorporação de árvores às áreas de pastagens, por exemplo, em sistemas denominados silvipastoris, é altamente recomendada. Os sistemas silvipastoris aumentam a biodiversidade local, disponibilizam áreas de sombra para proteção e descanso aos animais, reduzem a incidência de radiação solar direta sobre os mesmos, aumentando o conforto e o bem-estar animal. Em virtude do conforto térmico que conferem aos animais, sua implantação resulta em impactos positivos sobre a eficiência produtiva e reprodutiva dos rebanhos bubalinos.

Referências Bibliográficas

Baccari Júnior, F, Polastre, R, Fré, CA, Assis, PS. Um novo índice de tolerância ao calor para bubalinos. Correlação com ganho de peso. In: Anais da 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1986, Campo Grande, Brasil. Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia. pp. 274.

Barnabe VH. Colheita e avaliação o sêmen de búfalos. In: Anais do 1º Simpósio Paulista de Bubalinocultura, 1999, Jaboticabal, Brasil. Jaboticabal: Funep. pp. 122-125.

Baruselli PS. Reprodução em búfalos, 1993. Disponível em: <http://www.fmvz.usp.br/menu/sitebra11.html>. Acesso em 08 fev 2005.

Baruselli, PS. Sexual behavior in buffaloes. In: Proceedings do 4º World Buffalo Congress, 1994, São Paulo, Brasil. São Paulo: ABCB. pp. 158-173.

Bastos, TX. 1982. O clima da Amazônia brasileira segundo Köppen (Boletim de Pesquisa). 1.ed. Belém, PA, Brasil: Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido-Embrapa. pp. 4.

Burfening, PJ, Ulberg LC. 1968. Embryonic survival subsequent to culture of rabbit spermatozoa at 38° and 40° C. *Journal of Reproduction and Fertility*, 15:87-92.

Campanile, G, Neglia, G, Di Palo, R, Gasparrini, B, Pacelli, C, D'occhio, MJ, Zicarelli, L. 2006. Relationship of body condition score and blood urea and ammonia to pregnancy in Italian Mediterranean buffaloes. *Reproduction Nutrition and Development*, 46:57-62.

Campo, E, Herrera, P, Hincapié, JJ, Quesada, MS, Fundora, O. 2005. Estacionalidad de los partos, reproducción y producción láctea en búfalas de río y mestizas. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, 4:1-6.

Cassiano, LAP, Mariante AS, McManus, C, Marques, JRF, Costa, NA. 2003. Caracterização fenotípica de raças bubalinas nacionais e do tipo Baio. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 38:1337-1342.

Castro, AC. 2005. Avaliação de sistema silvipastoril através do desempenho produtivo de búfalos manejados nas condições climáticas de Belém, Pará [em português]. Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará. Dissertação de Mestrado.

Chacur, MGM, Oba, E, Ramos, AA. Effect of heat-stress on spermatogenesis in buffaloes (*Bubalus bubalis*). In: Proceedings do 6° World Buffalo Congress, 2001, Maracaibo, Venezuela. Maracaibo:[s.n.]. pp. 289-294.

Coimbra, AS. 2002. Características seminais de touros bovinos zebuínos (*Bos taurus indicus*), taurinos (*Bos taurus taurus*) e bubalinos (*Bubalus bubalis*), doadores de sêmen em condições de trópico úmido amazônico. Belém, Pará [em português]. Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará. Dissertação de Mestrado.

Costa, LAB, Azevedo, M, Lana, AMQ, Modesto, EC, Ferreira, MA, Albuquerque, DB, Melo, AAS. Índices de conforto térmico para bubalinos. In: Anais do 4° Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 2006, Ribeirão Preto, Brasil. Ribeirão Preto: [s.n.]. Resumo 65.

Dantas, JAS. 2001. Influência de variáveis climáticas na fertilidade de búfalas Murrah e Mediterrâneo na Amazônia Oriental. Belém, Pará [em português]. Belém, Brasil: Universidade Federal do Pará. Dissertação de Mestrado.

Dobson H, Tebble, JE, Smith, RF, Ward, WR. 2001. Is stress really all that important? Theriogenology, 55:65-73.

Gangwar, PC. 1980. Climate and reproduction in buffaloes – a review. The Indian Journal of Dairy Science, 33:419-426.

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

Garcia, AR, Gonçalves, KS, Nahúm, BS, Matos, LB, Barbosa, DLM, Simões, AR, Monteiro, PJC. Eficiência da detecção de estros em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) criadas na Amazônia. In: Anais do 17° Congresso Estadual de Medicina Veterinária, 2006, Gramado, Brasil. Gramado: SOVERGS. pp. 3051-3056.

Hegazy, MA, Essawy, AS, Teleb, HM, El-Wishy, AA, Youssef, AH. Effect of body condition score on reproductive performance of buffaloes. In: Proceedings do 4° World Buffalo Congress, 1994, São Paulo, Brasil. São Paulo: ABCB. pp. 630-631.

IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação e Agropecuária. 2005. Pesquisa da Pecuária Municipal 2005. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acesso em 26 jan 2007.

Jain, LS, Tailor, SP. 1995. Effect of atmospheric temperature and humidity on oestrous and conception in Surti buffaloes. *Indian Journal of Dairy Science*, 48:18-20.

Jainudeen, MR, Hafez, ESE. 2004. Bovinos e Bubalinos. In: Hafez, ESE, Hafez, B. *Reprodução Animal*. Barueri, Brasil: Manole. pp. 159-171.

Johnson, WH. 1997. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 13:255-270.

Karabinus DS, Vogler CJ, Saacke RG, Evenson DP. 1997. Chromatin structural changes in sperm after scrotal insulation of Holstein bulls. *Journal of Andrology*, 18:549-55.

Lourenço Júnior, JB, Castro, AC, Dantas, JAS, Santos, NFA, Alves, OS, Monteiro, EM. Efeito dos índices de temperatura - umidade (ITU) sobre bubalinos criados em sistema silvipastoril, em Belém, Pará. In: *Anais do 4º Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 2006a*, Ribeirão Preto, Brasil. Ribeirão Preto: [s.n.]. Resumo 132.

Lourenço Júnior, JB, Costa, NA, Garcia, AR, Nahúm, BS, Araújo, CV, Dutra, S, Matos, JCS, Brandão, LM. Sistema silvipastoril e pastejo rotacionado intensivo na produção leiteira de búfalas na pequena propriedade da Amazônia Oriental. In: *Anais do 4º Congresso Latinoamericano de Agroforesteria para la Producción Pecuaria Sostenible, 2006b*, Varadero, Cuba. Varadero: [s.n.].

Mandal, DK, Nagpaul, PK, Gupta, AK. 2003. Motion characteristics of Murrah buffalo bull spermatozoa in various seasons and its relationship with functional integrity of the plasmallema. *Theriogenology*, 60:349-358.

Marques, JRF. 1991. Avaliação genético-quantitativa de algumas características do desempenho produtivo de grupos genéticos de búfalos (*Bubalus bubalis* L.). Botucatu, São Paulo [em português]. Botucatu, Brasil: Universidade Estadual Paulista. Tese de Doutorado.

Mattos, PSR, Franzolin, R, Nonaka, KO. 2000. Concentração plasmática de melatonina em novilhas bubalinas (*Bubalus bubalis*) ao longo do ano. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 52:475-478.

Mishra, V, Misra, AK, Sharma, R. 2006. Effect of ambient temperature on in vitro fertilization of bubaline oocyte. *Animal Reproduction Science*, doi:10.1016/j.anireprosci.2006.10.020.

Mohan, G, Tripathi, RP, Dhamp, AJ, Sahni, KL. 1994. Certain biochemical constituents and freezability of semen of Holstein-Friesians, crossbred and Murrah bulls under tropics. *The Indian Journal of Animal Science*, 64:704-707.

Nascimento, EF, Santos, RL. 2003. *Patologia da reprodução dos animais domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan. 137p.

Oba, E, Amstalden, M, Santos, JEP, Bonfim, SRM, Emílio, S. Seasonal variations of chemical attributes in buffalo semen. In: *Proceedings do 4º World Buffalo Congress, 1994*, São Paulo, Brasil. São Paulo: ABCB. pp. 576-578.

Ohashi, OM, Sousa, JS, Vale, WG. 1988. Aspecto reprodutivo do macho bubalino. In: Vale, WG. (Coord.). Bubalinos: fisiologia e patologia da reprodução. Campinas, Brasil: Fundação Cargill. pp. 69-86.

Porto Filho, RM. 2000. Emprego da radiotelemetria na detecção do estro em fêmeas bubalinas: luteólise durante duas fases do ciclo estral, ultra-sonografia da ovulação e perfis hormonais [em português]. São Paulo, Brasil: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. Dissertação de Mestrado.

Reichert, RH, Pires, RML, Martinez, AC, Baruselli, PS. Desempenho reprodutivo de búfalos da raça Murrah. In: Anais do 4º Congresso Brasileiro de Buiatria, 2001, Campo Grande, Brasil. Campo Grande: [s.n.]. pp.104.

Ribeiro, HFL. Característica do manejo reprodutivo em búfalos na Amazônia. In: Anais do 1º Congresso Brasileiro de Especialidades em Medicina Veterinária, 2002, Curitiba, Brasil. Curitiba: [s.n.]. pp.101-104.

Romitto, GC, Züge, RM, Barnabe, RC, Barnabe, VH. Standardization of the hypoosmotic swelling test as a method to evaluate frozen-thawed buffalo semen in a yolk-glicine extender. In: Proceedings do 6º World Buffalo Congress, 2001, Maracaibo, Venezuela. Maracaibo:[s.n.]. pp. 210-215.

Sampaio Neto, JC, Martins Filho, R, Lobo, RNB, Tonhati, H. 2001. Avaliação dos desempenhos produtivo e reprodutivo de um rebanho bubalino no Estado do Ceará. Revista Brasileira de Zootecnia, 30:368-373.

Skinner, JD, Louw, GN. 1966. Heat stress and spermatogenesis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. Journal of Applied Physiology, 21:1784-1790.

Somporn, P, Gibb, MJ, Markvichitr, K, Chaiyabutr, N, Thummabood, S, Vajrabukka, C. 2004. Analysis of climatic risk for cattle and buffalo production in northeast Thailand. International Journal of Biometeorology, 49:59-64.

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

Srivastava, SK, Sahni, KL. 1999. Effect of season on oestrus and conception in village cows and buffaloes. Indian Veterinary Journal, 76:385-387.

Titto, EAL, Velloso, L, Zanetti, MA, Cresta, A, Toledo, LRA, Martins, JH. 1998. Teste da tolerância ao calor em novilhos Nelore e Marchigiana. Revista Portuguesa de Zootecnia, 5:67-70.

Vale, WG. 1988. Fisiologia da reprodução na búfala (*Bubalus bubalis* Lin). In: Vale, WG. (Coord.). Bubalinos: fisiologia e patologia da reprodução. Campinas, Brasil: Fundação Cargill. pp. 1-38.

Vale, WG. Reproductive management of buffalo male aiming semen production for artificial insemination. In: Proceedings do 1º Buffalo Symposium of Americas, 2002, Belém, Brasil. Belém:APCB. pp. 156-171.

Vale, WG, Ribeiro, HFL. 2005. Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 29:63-73.

Van Camp, SD. 1997. Common causes of infertility in the bull. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 13:203-231.

Waberski, D, Khalil, AYY, Ardon, F, Magnus, F, Helms, D, Wrenzycki, AM, Petrunkina, E, Töpfer-Petersen, E. Sperm-oviduct binding in bull and boar and its relation to chromatin stability, sperm volume regulation and fertility. In: *Workshops Communications do 15° International Congress on Animal Reproduction, 2004, Porto Seguro, Brasil*. Belo Horizonte: CBRA. p. 470.

Waites, GMH. 1970. Temperature regulation and the testis. In: Johnson, AD, Gomes, WR, Vandermark, NL. (Ed.). *The testis*. Nova Iorque, EUA: Nova Iorque Academic Press. pp. 241-279.

Wenkoff, MS. 1988. The evaluation of bulls for breeding soundness. Ontário, Canadá: Canadian Veterinarian Medical Association, pp. 48.

Zhengkang, H, Zhenzhong, C, Shaohua, Z. Rumen metabolism, blood cortisol and T₃ e T₄ levels and other physiological parameters of swamp buffalo subject to solar radiation. In: *Proceedings do 4° World Buffalo Congress, 1994, São Paulo, Brasil*. São Paulo: ABCB. pp. 39-40.