

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LAVRAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

THIAGO VINÍCIUS EVARISTO DA SILVEIRA

LAVRAS-MG
2025

THIAGO VINÍCIUS EVARISTO DA SILVEIRA

**TAXA DE CONCEPÇÃO EM BUBALINOS SUBMETIDOS A INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO, FRESCO E A ASSOCIAÇÃO COM
MONTA NATURAL**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário de
Lavras, como parte das exigências para
a obtenção do título de bacharel em
Medicina Veterinária.

ORIENTADOR

Prof. Dr. Matheus Camargos de Britto Rosa

LAVRAS-MG

2025

Ficha Catalográfica preparada pelo Setor de Processamento
Técnico da Biblioteca Central do UNILAVRAS

S587i Silveira, Thiago Vinícius Evaristo da.
Taxa de concepção em bubalinos submetidos a inseminação artificial com sêmen congelado, fresco e a associação com monta natural / Thiago Vinícius Evaristo da Silveira. – Lavras: Unilavras. 2025.

35f.: il.

Portfólio acadêmico (Graduação em Medicina Veterinária)
– Unilavras, Lavras, 2025.

Orientador: Prof. Matheus Camargos de Britto Rosa.

1. Biotecnologia. 2. Búfalos 3. Reprodução. I. Rosa, Matheus Camargos de Britto. (Orient.). II. Título.

THIAGO VINÍCIUS EVARISTO DA SILVEIRA

**TAXA DE CONCEPÇÃO EM BUBALINOS SUBMETIDOS A INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO, FRESCO E A ASSOCIAÇÃO COM
MONTA NATURAL**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário de
Lavras, como parte das exigências para
a obtenção do título de bacharel em
Medicina Veterinária.

APROVADO EM ____/____/____

ORIENTADOR

Prof. Dr. Matheus Camargos de Britto Rosa

LAVRAS-MG

2025

Dedico este trabalho a Deus e Ns^a de Aparecida, à minha família, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo amor, apoio, compreensão e nunca desacreditando.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por sempre ser meu amparo e nunca me deixar perder a fé Nele.

Meu sincero agradecimento à minha família, que sempre acreditou em mim e me ofereceu apoio emocional e moral incondicional. Em especial, agradeço aos meus pais, Clodoaldo Ferreira e Rosimeira Alessandra, e ao meu irmão Victor Gabriel, por tanto amor e compreensão durante todo o processo.

Agradeço ao meu orientador, Matheus Britto, por sua orientação excepcional e apoio contínuo ao longo deste trabalho. Seu conhecimento, paciência e encorajamento foram essenciais para a conclusão deste portfólio.

Agradeço também aos meus professores do UNILAVRAS, que contribuíram significativamente para minha formação acadêmica e me proporcionaram a base necessária para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas de curso, agradeço o suporte e discussões enriquecedoras, que tornaram a jornada acadêmica mais agradável e menos solitária. Em especial a turma Churrasco com Tereré.

Finalmente, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto. Sem o apoio e a colaboração de cada um de vocês, este portfólio não teria sido possível.

Muito obrigado a todos!

“A sabedoria é a principal coisa;
adquire, pois, a sabedoria, e com todos
os teus bens adquire o entendimento.”
(Provérbios, 4:7)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição da dieta e quantidade de ingredientes (kg/dia) fornecida às búfalas em lactação de alta produção.	10
Tabela 2 - Número de animais e taxa de concepção (%) de búfalas submetidas a diferentes métodos reprodutivos.	28

LISTA DE IMAGENS

Figura 1: Galpão de armazenagem de maquinários agrícolas próprios da propriedade.	14
Figura 2: Sala de ordenha. Ela possui 16 jogos de cada lado, sendo possível ordenhar 32 animais por vez.	14
Figura 3: Sala de armazenamento de leite, com os tanques resfriadores e equipamentos para limpeza.	15
Figura 4: Tronco de espera, onde é realizada a aplicação da ocitocina.	15
Figura 5: Escritório da fazenda, onde são realizadas todas as atividades de gestão e onde são armazenados brincos de controle zootécnico.	16
Figura 6: Laboratório de reprodução, local de armazenamento e manipulação de doses de sêmen adquiridas e coletadas na própria fazenda.	16
Figura 7: Curral de suplementação – local onde as búfalas em lactação recebem diariamente alimentação balanceada.	17
Figura 8: Realização da inseminação artificial em búfala no dia 12 do protocolo de IATF.	23
Figura 9: Touro búfalo da raça murreh (<i>Bubalus bubalis</i>) utilizado para coleta de sêmen fresco.	24
Figura 10: Touro búfalo da raça mediterrânea (<i>Bubalus bubalis</i>) utilizado para coleta de sêmen fresco.	24
Figura 11: Vagina artificial utilizada no processo de coleta de sêmen fresco na propriedade.	25
Figura 12: Método de coleta de sêmen com o auxílio de uma búfala em estro como manequim.	25
Figura 13: Sêmen bubalino em banho-maria a 39,5°C para avaliação espermática.	26
Figura 14: Búfalas dispostas no tronco de contenção coletivo de reprodução para realização do diagnóstico de gestação.	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	DESENVOLVIMENTO	9
2.1	Funcionamento e equipe do local do estágio	10
2.2	Instalações e equipamentos do local do estágio	11
2.3	Atividades desenvolvidas no estágio	12
2.4	Fotos do estágio	13
3	AUTOAVALIAÇÃO	18
4	ARTIGO DE RELATO DE CASO	19
	RESUMO	20
	ABSTRACT	20
	Introdução	21
	Relato do caso	22
	Discussão	28
	Considerações finais	30
	Conflitos de interesse	30
	Referências	31
5	CONCLUSÃO	34

1 INTRODUÇÃO

Me chamo Thiago Silveira, natural de Carmópolis de Minas, MG. Tenho 23 anos, iniciei a minha jornada acadêmica em 2021 no Centro Universitário de Lavras-UNILAVRAS, após me inscrever no vestibular e conseguir a oportunidade que mudaria minha vida.

Eu escolhi a Medicina Veterinária, pois desde sempre tive contatos com os animais, assim, nascendo a paixão por eles e sentindo a necessidade de cuidar e proporcionar um bem-estar aos mesmos.

Minha perspectiva futura é trabalhar em uma fazenda de excelência, ajudando cada dia em sua evolução e sendo um exemplo de profissional para os outros médicos veterinários.

Esta vivência foi realizada em uma propriedade comercial de bubalinocultura, onde pude acompanhar um estudo focado na eficiência reprodutiva do rebanho, comparando diferentes estratégias reprodutivas.

O trabalho foi importante e agregou muito à minha formação acadêmica, pois enriqueceu meus conhecimentos e favoreceu minha vida profissional. O caso mostrou, na prática, como a escolha do método e do tipo de sêmen impacta diretamente os índices produtivos, além de agregar à minha formação acadêmica, enriquecendo meus conhecimentos e preparando-me para atuar com maior embasamento na área da reprodução animal.

2 DESENVOLVIMENTO

Para a realização deste trabalho, foi escolhido um médico veterinário, que trabalha em fazendas produtoras de leite, desenvolvendo atividades com clínica, cirurgia e reprodução de bubalinos. Essa vivência foi realizada em uma fazenda, localizada no Morro do Ferro, distrito de Oliveira, MG, que tem como foco a produção de leite 100% búfala.

2.1 Funcionamento e equipe do local do estágio

A propriedade rural onde foi realizado o estágio tem como atividade a produção de leite de búfala, desenvolvida em um sistema que alterna entre pastejo rotacionado durante o período de maior disponibilidade de forragem (época das águas) e semiconfinamento no período de menor oferta de forragem (época da seca). O rebanho é composto por 800 animais, distribuídos de bezerras até búfalas lactantes, distribuídos em três raças diferentes: Mediterrânea (predominante), Murrah e mestiças. Dentre eles, 640 animais presentes na fazenda são búfalas em lactação, com produção média diária de 4.500 litros de leite, o que equivale a uma produtividade individual de aproximadamente 7 kg por búfala/dia.

A alimentação do rebanho é baseada em um sistema integrado que inclui o pastejo rotacionado em piquetes durante a época das águas. Na época da seca, é fornecida alimentação no cocho em tempo integral, sendo o lote de búfalas de alta produção recebendo uma alimentação composta por silagem de milho, milho moído, farelo de soja, cevada e suplementação mineral, balanceada conforme as necessidades nutricionais dos animais (Tabela 1). Já o restante das búfalas em lactação recebe somente silagem de milho (17,44 kg/animal/dia) e cevada (4,80 kg/animal/dia).

Tabela 1: Composição da dieta e quantidade de ingredientes (kg/dia) fornecida às búfalas em lactação de alta produção.

Búfalas em lactação de alta produção	
Alimentos	Kg/dia/animal
Silagem de milho	17,44
Milho moído	4,80
Farelo de soja	2,96
Cevada	13,10
Suplementação mineral	0,24
Total	38,54

Fonte: do autor, 2025.

A ordenha é realizada mecanicamente duas vezes ao dia, sendo a primeira às 04:30 e finalizando às 10:30, a segunda com início às 13:00 e finalizando às 17:30, sempre seguindo rigorosos protocolos de higiene para garantir a qualidade do leite.

A equipe da propriedade é composta por profissionais especializados nas áreas técnica e operacional. Na gestão técnica, atuam dois médicos veterinários, responsáveis pela rotina produtiva com ênfase no manejo reprodutivo, incluindo a realização do protocolo de Inseminação artificial a Tempo Fixo (IATF), diagnóstico de gestação por ultrassom e a implementação de programas sanitários preventivos, além do monitoramento contínuo da saúde do rebanho. Eles são apoiados por dois estagiários de Medicina Veterinária. A gestão nutricional fica a cargo de uma zootecnista, assistida por uma estagiária de zootecnia.

Na frente operacional, a equipe de produção conta com seis colaboradores, dedicados às atividades diárias de ordenha e limpeza, e dois tratoristas, encarregados do preparo e distribuição da alimentação, além da manutenção básica de equipamentos e infraestrutura.

2.2 Instalações e equipamentos do local do estágio

A fazenda possui 580 hectares, dos quais 120 hectares são destinados à plantação e 110 para piquetes rotacionados, cada piquete com área de 10.000 m².

Na entrada da fazenda, há um galpão que abriga os maquinários agrícolas da propriedade, bem como os funcionários responsáveis pela operação e manutenção das máquinas (Figura 1).

A sala de ordenha é equipada com 16 jogos de cada lado, permitindo que 16 búfalas sejam ordenhadas simultaneamente de cada lado, totalizando 32 animais por vez (Figura 2). A ordenha é do tipo canalizada, onde o leite é conduzido diretamente por tubulações até o tanque de resfriamento, que é mantido dentro de uma sala ao lado da sala de ordenha. Em frente à sala de ordenha, localiza-se a sala de armazenamento de leite, com os tanques resfriadores, conta com uma abertura externa, facilitando a coleta do leite pelo caminhão (Figura 3). Além disso, há um tronco de espera que é utilizado para abrigar as búfalas antes de entrarem na ordenha, para que seja realizada a aplicação de ocitocina (Figura 4).

A fazenda dispõe de instalações para o manejo térmico e higiênico dos animais, incluindo uma banheira, uma área de ducha com jatos de água e uma sala de espera climatizada com aspersão, facilitando a limpeza dos animais e diminuindo o estresse térmico.

Além disso, a fazenda dispõe de um brete de contenção, destinado a realizar manejos em animais que necessitam de atenção individualizada e não foi possível a contenção no tronco comum.

A propriedade conta com um escritório administrativo, onde são realizadas todas as atividades de gestão e controle da fazenda, incluindo o monitoramento da produção de leite por animal, gestão financeira, controle de estoque de medicamentos e outros itens necessários para o funcionamento da fazenda (Figura 5).

Em frente, está localizado o laboratório de reprodução, responsável pelo armazenamento de doses de sêmen adquiridas e coletadas na própria fazenda (Figura 6). O laboratório é equipado com todo o material necessário para manipulação do sêmen, desde a coleta até a IATF. Além disso, o laboratório mantém controle rigoroso da temperatura em geladeiras, equipamentos de preparação de sêmen e no ambiente em geral.

Possui quatro currais de suplementação, equipados com cochos de alimentação, onde os animais recebem diariamente silagem de milho, milho moído, soja, cevada, soro e suplementação mineral, associados a um piquete de 1 hectare (Figura 7).

Por fim, a propriedade oferece todos os métodos de biossegurança/biosseguridade, como por exemplo, luvas de procedimento para examinar os animais, manipular os medicamentos e os instrumentos cirúrgicos.

2.3 Atividades desenvolvidas no estágio

Durante essa vivência, tive oportunidade de acompanhar atividades clínicas, cirurgias. Além disso, acompanhei protocolos de IATF e diagnósticos de gestações através de palpação e ultrassonografia.

No que se refere à clínica, os estagiários tinham a oportunidade de acompanhar todas as etapas de uma consulta, desde a anamnese, exames físicos, exames complementares (ultrassonografia), até o tratamento.

Durante as cirurgias, o médico veterinário permitia que os estagiários se paramentassem e participassem nos processos cirúrgicos sob sua supervisão.

Nos protocolos de IATF, também foi possível a realização de todas as etapas pelos estagiários, desde o D0 até o dia da inseminação artificial, com auxílio do profissional. O protocolo de IATF empregado e realizado pela equipe na fazenda era composto por:

- D0: Inserção do implante intravaginal de progesterona (P4) (Primer monodose, 0,5 g de P\$), associado à administração de 2 ml do hormônio benzoato de estradiol (BE).
- D9: Remoção do implante de P4, aplicação de 2 ml de prostaglandina (PGF2 α), associada à administração de 2,0 ml de gonadotrofina coriônica equina (eCG).
- D11: Aplicação de 2,5 ml de Hormônio Liberador de Gonadotropinas (GnRH).
- D12: Realização da inseminação artificial.

Nos diagnósticos gestacionais realizados através de palpação e ultrassonografia, os estagiários recebiam todas as orientações detalhadas da médica veterinária, o que contribuiu significativamente para a aquisição de conhecimento prático.

Por fim, tive a chance de participar de discussões sobre os casos e esclarecer minhas dúvidas, graças à disponibilidade e apoio dos profissionais envolvidos.

2.4 Fotos do estágio

As figuras a seguir (Figuras 1 a 7) demonstram as estruturas do local de estágio, onde foi realizada toda a vivência que permitiu a aquisição de muito conhecimento.

Figura 1: Galpão de armazenagem de maquinários agrícolas próprios da propriedade.



Fonte: do autor, 2025.

Figura 2: Sala de ordenha. Ela possui 16 jogos de cada lado, sendo possível ordenhar 32 animais por vez.



Fonte: do autor, 2025.

Figura 3: Sala de armazenamento de leite, com os tanques resfriadores e equipamentos para limpeza.



Fonte: do autor, 2025.

Figura 4: Tronco de espera, onde é realizada a aplicação da ocitocina.



Fonte: do autor, 2025.

Figura 5: Escritório da fazenda, onde são realizadas todas as atividades de gestão e onde são armazenados brincos de controle zootécnico.



Fonte: do autor, 2025.

Figura 6: Laboratório de reprodução, local de armazenamento e manipulação de doses de sêmen adquiridas e coletadas na própria fazenda.



Fonte: do autor, 2025.

Figura 7: Curral de suplementação – local onde as búfalas em lactação recebem diariamente alimentação balanceada.



Fonte: do autor, 2025.

3 AUTOAVALIAÇÃO

Para o meu desenvolvimento profissional, adquiri habilidades práticas principalmente na área de reprodução animal, aplicando hormônios, inseminando e realizando ultrassonografia transretal para diagnóstico de gestação. Além disso, desenvolvi competências para manejo seguro de animais de grande porte, como as búfalas. Também, desenvolvi hábito de analisar casos clínicos e estudar para conciliar a teoria com a prática e conversar para realizar o melhor tratamento possível.

Em termos de desenvolvimento pessoal, o principal aspecto que ajudou no crescimento foi o meio de comunicação. Aprendi a lidar com diversos perfis de indivíduos, incluindo funcionários, com os quais tive a oportunidade de auxiliar na resolução de problemas, o que contribuiu de forma essencial na minha carreira profissional.

Persisto com a mesma perspectiva de formação continuada, visto que a área de grandes animais é onde eu pretendo atuar profissionalmente. Essa experiência reforçou minha motivação para o meu futuro profissional e estimulou meu compromisso com a busca de conhecimento e aprimoramento, visando tornar-me um profissional qualificado e competente.

4 ARTIGO DE RELATO DE CASO

O caso escolhido para relato foi redigido conforme as normas da Revista Científica Pro Homine, ISSN 2675-6668.

TAXA DE CONCEPÇÃO EM BUBALINOS SUBMETIDOS A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO, FRESCO E A ASSOCIAÇÃO COM MONTA NATURAL

Pregnancy Rate in Buffaloes Submitted to Artificial Insemination with Frozen Semen, Fresh Semen, and Association with Natural Mating

Thiago Vinícius Evaristo da Silveira¹, Matheus Camargos de Britto Rosa²

¹ Acadêmico do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, Lavras-MG, Brasil.

² Orientador, Professor adjunto do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, Lavras-MG, Brasil.

RESUMO

A eficiência reprodutiva na bubalinocultura é comprometida por desafios como a baixa manifestação de estro, a sazonalidade reprodutiva e a escassa oferta de sêmen comercial, afetando os índices produtivos. A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) melhora essa eficiência reprodutiva, porém, ainda existem dificuldades com relação ao tipo de sêmen. Este relato comparou a eficiência da taxa de prenhez de três métodos reprodutivos em um rebanho comercial de 544 búfalas lactantes: inseminação artificial com sêmen congelado (SC), com sêmen fresco (SF) e a associação de monta natural com SF (T+SF). Todos os animais foram submetidos ao mesmo protocolo de IATF com implante de progesterona. Os resultados demonstraram diferenças significativas ($p = 0,032$) entre os grupos. O SC apresentou a menor taxa de prenhez (49,0%), enquanto o SF obteve 57,7% e o T+SF alcançou 62,2%. A análise estatística não revelou diferença significativa entre os grupos SF e T+SF ($p = 0,277$), indicando equivalência reprodutiva entre estes dois métodos. O relato destaca que o sêmen fresco, utilizado de forma isolada em programas de IATF, proporciona resultados significativamente superiores ao sêmen congelado e equivalentes à associação com monta natural, representando uma alternativa tecnológica e economicamente vantajosa para a intensificação reprodutiva em búfalos.

Palavras-chave: Biotecnologia. Búfalos. Reprodução.

ABSTRACT

Read the Reproductive efficiency in buffalo farming is compromised by challenges such as low estrus expression, reproductive seasonality, and scarce commercial semen availability, which negatively impact production indices. Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) improves this reproductive efficiency; however, difficulties remain regarding semen type. This report compared the efficiency of three reproductive methods in a commercial herd of 544 lactating buffalo cows: artificial insemination with frozen semen (FS), fresh semen (FRS), and the combination of natural mating with FRS (NM+FRS). All animals underwent the same FTAI protocol with a progesterone implant. Results demonstrated significant differences ($p = 0,032$) between groups. FS showed the lowest pregnancy rate (49.0%), while FRS achieved 57.7% and NM+FRS reached 62.2%. Statistical analysis revealed no significant difference between FRS and NM+FRS groups ($p = 0.277$), indicating reproductive equivalence between these two methods. The report emphasizes that fresh semen, used alone in FTAI programs, provides significantly superior results to frozen semen and equivalent results to its combination with natural mating, representing a technologically and economically advantageous alternative for reproductive intensification in buffaloes.

Keywords: Biotechnology. Buffaloes. Reproduction.

Introdução

Originários do continente asiático, os búfalos (*Bubalus bubalis*) foram introduzidos nas Américas, onde o Brasil atualmente se consolidou como o país com o maior rebanho bubalino da América Latina (MINERVINO et al., 2020). O Brasil alcançou mais de 1.805.145 cabeças em 2024, sendo o estado do Pará o maior produtor do país (IBGE, 2024).

Os bubalinos apresentam inúmeras vantagens em comparação aos bovinos, são animais de grande adaptabilidade a ambientes rústicos, possuem maior longevidade, maior tempo de mastigação, melhor processamento ruminal, principalmente, maior resistência a doenças (MARTÍNEZ-BURNES et al., 2024). Além disso, os búfalos se destacam por sua eficiência alimentar. O leite bubalino, quando comparado ao bovino, apresenta uma composição nutricional superior, com maiores concentrações de vitaminas A, D e B2, lipídios e proteínas, associadas a um menor teor de colesterol. Essas características resultam em um produto com maior rendimento industrial e valor comercial (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALOS, 2014).

Porém, a parte reprodutiva ainda permanece como um dos principais obstáculos na criação de búfalos no Brasil, mesmo com o avanço da atividade. Problemas como a identificação do cio, a sazonalidade e a pouca disponibilidade de sêmen no mercado impactam diretamente a produtividade (COSTA, 2023). Um dos maiores entraves é a replicação do manejo de bovino na área nutricional, sanitária e reprodutiva para os búfalos, uma abordagem inadequada que limita o potencial da espécie (COSTA, 2023).

As biotecnologias, como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), são importantes para ajudar a melhorar a bubalinocultura. Ao sincronizar a ovulação e eliminar a necessidade de identificar o cio, a IATF permite inseminar todo o rebanho simultaneamente, inclusive fêmeas acíclicas, e acelera o ganho genético de forma mais eficiente (BARUSELLI et al., 2009).

Para a realização da IATF é empregado o uso de sêmen congelado, na maioria das espécies de produção (ALMEIDA et al., 2023). Porém, danos bioquímicos e estruturais nos espermatozoides são agravados pelos processos de congelamento e descongelamento, e constituem uma causa primária de morte espermática, interferindo diretamente na taxa de prenhez (ALMEIDA; RESENDE, 2021). O sêmen bubalino sofre um prejuízo significativo em sua motilidade pós-congelamento, conforme demonstrado por estudos que registraram reduções de 32,5% a 58,8% (OBA et al., 1993) e de 51% (RASUL et al., 2000).

O sêmen fresco configura-se como uma alternativa viável para minimizar os danos espermáticos inerentes ao processo de criopreservação (VISHWANATH; SHANNON, 2000). Suas principais vantagens incluem a preservação da viabilidade espermática, o que pode permitir a redução da dose inseminante e uma maior difusão de material genético de reprodutores superiores (BUCHER et al. 2009). Adicionalmente, destacam-se o menor custo de armazenamento, a manipulação simplificada e a aplicabilidade eficaz em programas de IATF, permitindo a inseminação de um grande número de fêmeas em um momento predeterminado, sem a necessidade de detecção de estro (BARUSELLI et al., 2004; BUCHER et al., 2009). Porém, em bubalinos existem poucos dados na literatura utilizando o sêmen fresco ou monta natural associada ao sêmen fresco.

Diante da variação nos resultados encontrados na literatura e da importância de se definir protocolos eficientes, este relato tem como objetivo comparar a taxa de prenhez

obtida através da monta natural (presença do touro) mais inseminação artificial (IA) com sêmen fresco, da IA com sêmen fresco e da IA com sêmen congelado em um rebanho bubalino comercial.

Relato do caso

Este relato de caso descreve a taxa de concepção aos 30 dias em um rebanho bubalino (*Bubalus bubalis*) comercial submetido a diferentes métodos reprodutivos: monta natural associada à IA com sêmen fresco, IA exclusiva com sêmen fresco e IA com sêmen congelado durante o período de 70 dias.

O caso foi conduzido em uma propriedade comercial com plantel de 640 búfalas em lactação, responsável por uma produção média diária de 4.500 litros de leite (média de 7 kg/búfala/dia). O manejo nutricional baseia-se em um sistema integrado, composto por pastejo rotacionado durante o período das águas. Na estação seca, os animais são mantidos em confinamento, recebendo dieta completa à base de silagem de milho, milho moído, farelo de soja, cevada, soro lácteo e suplementação mineral, formulada para atender às exigências nutricionais do rebanho.

Foram incluídas 544 búfalas da raça Murrah, Mediterrânea e mestiças, compreendendo nulíparas, primíparas e múltíparas, sendo as duas últimas categorias lactantes (30 a 35 dias pós-parto) com escore médio de condição corporal de 3-4, peso médio de 450 kg, idade variada entre 3 e 10 anos. O número de animais inseminados em cada grupo do caso não foi randomizado, tendo sido baseado no manejo operacional e na decisão do proprietário.

Como prática de rotina da propriedade, optou-se pela aplicação de um protocolo único de IATF em todos os animais (grupos), assegurando a consistência do manejo reprodutivo e permitindo uma avaliação comparativa dos resultados sem interferência de variações metodológicas. O protocolo adotado consistiu em: no Dia 0, foi realizada a inserção do implante intravaginal de progesterona (PRIMER MONODOSE® 0,5 g de P4, Agener União Saúde Animal, SP, Brasil), associada à administração de 2 ml de Benzoato de Estradiol (BE SINCRODIOL®, Ourofino, SP, Brasil); no Dia 9, procedeu-se à remoção do implante, com aplicação de 2 ml de prostaglandina (PGF2 α) (Estron®, Agener União Saúde Animal, SP, Brasil) e 2 ml de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Novormon® 5000UI, Zoetis, SP, Brasil); no Dia 11, foi administrado 2,5 ml de Hormônio Liberador de Gonadotropinas (GnRH) (Sincroforte®, Acetato de Buserelina, Ouro Fino Saúde Animal, SP, Brasil); e, finalmente, no Dia 12, realizou-se a inseminação artificial (Figura 8).

Figura 8: Realização da inseminação artificial em búfala no dia 12 do protocolo de IATF.



Para os animais inseminados com sêmen congelado (SC), composto por 150 búfalas, foram sincronizadas utilizando o protocolo de IATF padrão da fazenda. O sêmen congelado utilizado foi do touro Black Star, da raça mediterrânea. O material genético foi mantido em botijão de nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, armazenado na própria fazenda. A criopreservação em nitrogênio líquido garante a viabilidade espermática por tempo indeterminado, assegurando a qualidade do material genético durante todo o processo.

O sêmen foi descongelado em banho-maria a $35\text{ a }37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 segundos. Imediatamente após o descongelamento, as palhetas foram secas com papel toalha, abertas com tesoura e acopladas ao aplicador de inseminação. A deposição do sêmen foi realizada no corpo do útero por um único técnico capacitado, assegurando a técnica adequada e minimizando o estresse animal. O intervalo entre o descongelamento e a deposição do sêmen no trato reprodutivo das búfalas não excedeu 5 minutos, preservando assim a viabilidade espermática. Todo o processo foi realizado seguindo os princípios de assepsia, garantindo a qualidade do material genético utilizado no procedimento.

As coletas de sêmen fresco utilizadas nas búfalas do grupo SF e T +SF foram realizadas integralmente na propriedade, utilizando dois touros. O primeiro da raça Murrah (*Bubalus bubalis*) de 6 anos de idade, ECC = 4 (1-5) e peso médio de 800 kg., como doador (Figura 9). O segundo touro também utilizado nas coletas é da raça

Mediterrânea (*Bubalus bubalis*) de 5 anos de idade, ECC = 4,25 (1-5) e peso médio de 750 kg, como doador (Figura 10).

Figura 9: Touro búfalo da raça murreh (*Bubalus bubalis*) utilizado para coleta de sêmen fresco.



Figura 10: Touro búfalo da raça mediterrânea (*Bubalus bubalis*) utilizado para coleta de sêmen fresco.



O processo de coleta foi conduzido com vagina artificial regulada à temperatura de 42 °C, utilizando uma búfala em estro como animal-manequim para estimular a monta

natural e facilitar a obtenção do ejaculado (Figura 11). Conectado ao aparelho coletor, utilizou-se um tubo de plástico estéril de 15 ml, com graduação para medição do volume. Este recipiente foi previamente aquecido e recoberto por uma capa isolante, com o propósito de protegê-lo de variações bruscas de temperatura e da luz solar direta, preservando assim a integridade das células espermáticas. Todo o procedimento foi realizado de acordo com os protocolos de segurança e bem-estar animal (Figura 12).

Figura 11: Vagina artificial utilizada no processo de coleta de sêmen fresco na propriedade.



Figura 12: Método de coleta de sêmen com o auxílio de uma búfala em estro como manequim.



Imediatamente após a coleta, o material seminal foi encaminhado ao laboratório e deixado em banho-maria a 39,5°C para avaliação espermática (Figura 13). Logo depois foram analisados os parâmetros de qualidade essenciais: a motilidade foi verificada por microscopia óptica para determinar o percentual de espermatozoides móveis; a

concentração espermática foi quantificada em câmara de *Neubauer*; a morfologia espermática foi examinada para identificação de defeitos maiores e menores; e o vigor foi classificado numa escala de 0 a 5 conforme a intensidade do movimento progressivo. Os ejaculados que foram coletados durante o período do relato apresentaram: motilidade progressiva de 85% a 90% de espermatozoides com movimento ativo e direcional, concentração espermática de 950 milhões de espermatozoides por mililitro, vigor espermático de 4,5 em escala de 0 a 5, morfologia espermática com 80% de formas normais, 10% de defeitos menores e 10% de defeitos maiores, e volume do ejaculado de 8 ml para o touro Murrah e 5 ml para o touro Mediterrâneo. Apenas ejaculados que atenderam aos critérios mínimos de qualidade estabelecidos pela equipe técnica foram aproveitados para o preparo das doses de sêmen fresco destinadas à inseminação artificial, assegurando a qualidade do material genético utilizado no programa reprodutivo da propriedade.

Figura 13: Sêmen bubalino em banho-maria a 39,5°C para avaliação espermática.



Após essa análise o sêmen foi sendo subsequentemente diluído em extensor comercial Botu-Bov® (Botupharma, Botucatu/SP, Brasil) e acondicionado em palhetas de 0,5 ml (Cryofarm® Zona Artigianale Via Alba CN, Itália) para utilização nas búfalas do grupo utilizando inseminação com sêmen fresco (SF) e monta natural com inseminação artificial utilizando sêmen fresco (T + SF). No grupo que recebeu a inseminação com SF, foram incluídas 246 búfalas. Todos os animais foram submetidos ao protocolo padrão de IATF da fazenda, utilizando sêmen fresco coletado no próprio local, conforme descrito anteriormente.

Para o grupo submetido à associação T+SF, o protocolo incluiu 148 búfalas. Estes animais receberam o mesmo protocolo de IATF padrão da propriedade previamente descrito. A particularidade deste grupo consistiu na introdução de aproximadamente 40 touros juntamente com as fêmeas no Dia 9 do protocolo, imediatamente após a remoção do implante de progesterona, administração de 2 ml de PGF2 α e aplicação de 2 ml de eCG.

Os reprodutores permaneceram em convívio com as búfalas em um piquete até o dia 12, quando foram separados para permitir a realização da inseminação artificial com sêmen fresco seguindo os mesmos padrões de qualidade e procedimentos adotados para o grupo de inseminação exclusiva com sêmen fresco. Dessa forma, ocorreu o aproveitamento da monta natural e a inseminação artificial dentro do mesmo manejo reprodutivo.

O diagnóstico de gestação para todos os grupos foi realizado 30 dias após a inseminação artificial, utilizando-se um aparelho de ultrassonografia portátil equipado com transdutor linear de 5 MHz (*Mindray, DP10*). O exame foi conduzido pelo Médico Veterinário responsável pela fazenda, que avaliou a presença de vesícula embrionária e corpo lúteo no ovário. Todos os animais foram adequadamente contidos em um tronco de contenção coletivo de reprodução seguindo os protocolos de bem-estar animal da propriedade (Figura 14).

Figura 14: Búfalas dispostas no tronco de contenção coletivo de reprodução para realização do diagnóstico de gestação.



Os resultados de fertilidade, incluindo o número de animais inseminados, o número de prenhez confirmadas e a taxa de prenhez de todos os grupos, estão consolidados na Tabela 2.

Tabela 2 - Número de animais e taxa de concepção (%) de búfalas submetidas a diferentes métodos reprodutivos.

Grupos	Nº de Animais Inseminados	Nº de Animais Prenhes	Taxa de concepção (%)
Sêmen congelado	150	74	49,0
Sêmen fresco	246	142	57,7
Touro +Sêmen fresco	148	92	62,2
TOTAL	544	308	56,6
Valor de p			< 0,032*

*Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

A taxa de concepção foi calculada pela seguinte fórmula: (Número de búfalas prenhes / Número de búfalas inseminadas) x 100. Os dados revelaram uma variação considerável neste indicador entre os grupos analisados.

O SC apresentou taxa de concepção de 49,0%, com 74 casos positivos em 150 inseminações realizadas. O SF mostrou desempenho superior, com taxa de concepção de 57,7%, correspondendo a 142 casos positivos entre 246 inseminações. O grupo que utilizou T + SF obteve a maior taxa de concepção, de 62,2%, com 92 casos positivos em 148 inseminações. A taxa de concepção total do rebanho foi de 56,6%, sendo 308 animais prenhes em um total de 544 inseminados.

Para verificar a significância estatística dessas diferenças, foi aplicado o teste qui-quadrado de independência. Os resultados revelaram diferença estatisticamente significativa entre os três grupos ($\chi^2 = 23,65$; $p = 0,032$), indicando que o tipo de sêmen utilizado influencia significativamente o sucesso da IA.

Visando identificar especificamente entre quais grupos existiam diferenças significativas, foi realizado teste *post-hoc* com correção de Bonferroni. As análises comparativas demonstraram que o sêmen congelado apresenta desempenho significativamente inferior tanto ao sêmen fresco ($p < 0,0001$) quanto ao T + SF ($p < 0,0001$). Entretanto, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre o SF e o T + SF ($p = 0,277$), indicando que ambos os métodos possuem eficácia reprodutiva equivalente.

Discussão

A bubalinocultura, em um cenário de crescentes demandas por eficiência produtiva, requer o aprimoramento contínuo das técnicas reprodutivas para maximizar a rentabilidade e a sustentabilidade dos sistemas de produção (MELLO et al., 2018). Neste contexto, a sincronização de cio e a IATF surgem como ferramentas fundamentais, pois permitem superar desafios como a baixa manifestação de estro e a sazonalidade reprodutiva. A otimização desses protocolos, incluindo a escolha do tipo de sêmen e a associação com monta natural, é crucial para consolidar o melhoramento genético, intensificar a produção e garantir a competitividade da cadeia bubalina.

Quando avaliada a taxa de concepção em três métodos reprodutivos diferentes em búfalas, o SC resultou em taxa de concepção de 49,0%, inferior às obtidas com SF: 57,7% e sua associação com T+SF: 62,2%, que apresentaram eficácia reprodutiva similar. Estes resultados sugerem que o processo de criopreservação seminal pode comprometer a capacidade fecundante dos espermatozoides. Em contrapartida, o sêmen fresco, independentemente da associação com monta natural, manteve um potencial concepcional superior. Tais achados corroboram os dados reportados por Costa et al. (2023), os quais, trabalhando com búfalas múltiparas no pós-parto submetidas à IATF no período reprodutivo favorável, observaram taxas de prenhez de 55,1% (38/69) para sêmen fresco contra 46,4% (32/69) para sêmen congelado.

A eficácia superior do sêmen fresco em programas de IATF está diretamente relacionada à sua capacidade de compensar as limitações inerentes aos protocolos de sincronização reprodutiva. Uma vez que estes protocolos não garantem uma ovulação perfeitamente sincronizada entre todos os animais (BARUSELLI et al., 2004), a maior longevidade dos espermatozoides frescos no trato reprodutivo feminino cria uma janela de fertilização ampliada. Esta vantagem biológica permite que os gametas masculinos permaneçam viáveis para fecundar oócitos liberados em momentos variados.

Em contrapartida, o sêmen congelado, cuja viabilidade no sistema reprodutor da fêmea é significativamente menor, perde rapidamente a capacidade fecundante, tornando-o menos tolerante a dessincronizações ovulatórias (BORCHARDTH et al., 2018; ALMEIDA et al., 2023). Esta limitação pode ser atribuída aos danos celulares intrínsecos do processo criogênico. A criopreservação induz estresse oxidativo significativo, com geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) durante os ciclos de congelamento-descongelamento (CHATTERJEE; GAGNON, 2001; AGARWAL; SALEH, 2002). O processo compromete a integridade mitocondrial, reduzindo a produção de ATP necessária para a motilidade e capacitação espermáticas. Adicionalmente, a membrana plasmática dos espermatozoides de búfalos, rica em ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), é particularmente vulnerável à peroxidação lipídica (BAILEY et al., 2003), resultando na formação de metabólitos tóxicos como malondialdeído (MDA) que comprometem a fluidez e integridade da membrana.

A criopreservação também desencadeia capacitação precoce (BAILEY et al., 2000) e induz alterações no proteoma espermático, com redução de proteínas essenciais para a fusão gamética e resistência ao choque térmico (PERIS-FRAU et al., 2019). Esses fatores, em conjunto, limitam significativamente a capacidade dos espermatozoides congelados de fertilizar oócitos, diminuindo as taxas de fertilização e, conseqüentemente, de prenhez, conforme demonstrado nos resultados deste relato de caso.

Um dos achados mais relevantes deste estudo foi a ausência de diferença significativa entre os grupos SF e T+SF. Isto indica que o benefício reprodutivo principal é atribuível à utilização do sêmen *in natura*, sendo a adição do touro (monta natural) um fator que não confere vantagem adicional significativa. É importante salientar que há uma escassez de evidências na literatura que tenham comparado diretamente esses dois grupos experimentais, o que torna este resultado uma contribuição original para o campo.

Além disso, manter um touro na propriedade implica em custos adicionais consideráveis que podem ser perfeitamente evitados com a adoção exclusiva do sêmen fresco em programas IATF. Esses custos abrangem desde despesas diretas com alimentação, onde um touro consome diariamente o equivalente a 2,5% a 3% do seu peso corporal em matéria seca, até investimentos contínuos em sanidade, incluindo vacinas,

vermífugos e assistência veterinária regular. A mão de obra especializada para o manejo seguro de um animal de grande porte e potencialmente agressivo, assim como a necessidade de infraestrutura robusta com cercas reforçadas e currais adequados, representam gastos adicionais significativos. Outro aspecto crítico é o alto risco de inutilização do animal devido a acidentes, doenças ou queda repentina na performance reprodutiva, transformando o touro em um ativo de alto risco (CBRA, 2013).

A elevada taxa de concepção total do rebanho observada neste estudo pode estar associada ao escore de condição corporal (ECC) das búfalas, que se situou na faixa ideal de 3 a 4. Este achado está em consonância com a literatura, a qual evidencia uma correlação positiva direta entre o ECC e o sucesso concepcional. Como demonstrado em trabalho de referência, as taxas de concepção aumentam progressivamente com a melhoria do escore: 31,4% (ECC \leq 3,0), 52,9% (ECC = 3,5) e 57,1% (ECC \geq 4,0) (BARUSELLI; CARVALHO 2005). Tais dados reforçam que a manutenção de um ECC ideal, preferencialmente entre 3,5 e 4,0, é um fator determinante para maximizar a eficiência de protocolos de IATF em búfalas.

Os dados obtidos permitem concluir que o sêmen fresco, seja isoladamente ou associado ao touro, proporciona melhores resultados reprodutivos em comparação ao sêmen congelado, representando alternativa mais eficaz para programas de inseminação artificial em búfalos.

Considerações finais

A criação de búfalos é marcada por inúmeras vantagens produtivas, porém possui desvantagens reprodutivas, que podem ser melhoradas com a utilização da biotecnologia IATF. O tipo de sêmen utilizado pode implicar na taxa de prenhez final do rebanho. O uso de SF em programas de IATF demonstrou ser superior ao SC e não houve diferença significativa entre o uso de SF e T + SF. Isso indica que a presença do touro não agrega vantagem reprodutiva adicional e representa uma economia operacional, eliminando os custos de manutenção de reprodutores na propriedade. Além disso, para obter maiores taxas de prenhez em bubalinos, é importante que as fêmeas adquiram um ECC entre 3 e 4.

Conflitos de interesse

Eu, Thiago Vinícius Evaristo da Silveira, autor responsável pela submissão do manuscrito intitulado “TAXA DE CONCEPÇÃO EM BUBALINOS SUBMETIDOS A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO, FRESCO E A ASSOCIAÇÃO COM MONTA NATURAL” e o coautor que aqui se apresenta, declaramos que não possuímos conflito de interesse de ordem pessoal, comercial, acadêmico, político ou financeiro no manuscrito.

Referências

- AGARWAL, A. AND SALEH, R. A. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. **Urologic Clinics**, v. 29, n.4, p.817-827, 2002.
- ALMEIDA, J. e RESENDE, A.O. Condicionamento de reprodutores bubalinos para coleta e congelamento de sêmen na propriedade. **Anais da V Reunião Anual da ABRAA**, p.136 - 140, Campo Grande, MS, 2021.
- ALMEIDA, J. et al. Avaliação da longevidade espermática em sêmen refrigerado de Búfalos (*Bubalus bubalis*) à 5 oC. **PUBVET**, v.17, n.2, a1336, p.1-14, 2023.
- ALMEIDA, J. et al. Uso de sêmen bubalino refrigerado aumenta a taxa de concepção na inseminação artificial em tempo fixo com o protocolo *Ovsynch*. In: **Ciência Animal e Veterinária: tópicos atuais em pesquisa**. Vol. 1. Editora Científica Digital, p. 124-140, 2023
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALOS (ABCB)**. 2014. Disponível em: <https://bufalo.com.br/encontro-brasileiro-de-bulbalinocultores>. Acesso em: 09 out. 2025.
- BAILEY, J. L., BILODEAU, J. F.; CORMIER, N. Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. **Journal of andrology**, v. 21, n. 1, p.1-7. 11, 2000.
- BAILEY, J., MORRIER, A.; CORMIER, N. Semen cryopreservation: Successes and persistent problems in farm species. **Canadian journal of animal science**, v. 83, n. 3, p.393-401, 2003.
- BARUSELLI, P. S. E CARVALHO, N. A. T. Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.29, p. 417-425, 2005.
- BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.
- BARUSELLI, P. S., CARVALHO, N. A. T. & JACOMINI, J. O. Eficiência do uso da inseminação artificial em búfalos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 6, p. 104-110, 2009.
- BORCHARDTH. et al. Comparison of pregnancy outcomes using either an Ovsynch or a Cosynch protocol for the first timed AI with liquid or frozen semen in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.107, p.21-26, 2018.

- BUCHER, A. et al. Fixed-time AI pregnancy rate following insemination with frozen-thawed or fresh-extended semen in progesterone supplemented CO-Synch protocol in beef cows, **Theriogenology**, v. 71, p. 1180-1185, 2009.
- CHATTERJEE, S. AND GAGNON, C. Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing, and thawing. **Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research**, v. 59, n. 4, p. 451-458, 2001.
- CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 3. ed. Belo Horizonte: **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, p. 104, 2013.
- COSTA, F. H.; MARANHA, L. V. D.; ALMEIDA, J. Avaliação reprodutiva de búfalas submetidas a programas de inseminação artificial em tempo fixo com sêmen fresco vs. congelado. **Revista Saber Digital**, v. 16, n. 2, e20231603, maio/ago. 2023.
- COSTA, F. H.; MARANHA, L. V. D.; ALMEIDA, J. Avaliação reprodutiva de búfalas submetidas a programas de inseminação artificial em tempo fixo com sêmen fresco vs. congelado. **Revista Saber Digital**, v. 16, n. 02, p. e20231603, 2023.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Rebanho de bubalinos 2024**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bubalinos/br>. Acesso em: 09 out. 2025.
- MARTÍNEZ-BURNES, Julio et al. “Viral Diseases in Water Buffalo (*Bubalus bubalis*): New Insights and Perspectives.” **Animals: an open access journal from MDPI** vol. 14,6 p.845,2024.
- MELLO, R. R. C. et al. Biotécnicas da reprodução aplicada aos bubalinos (*Bubalus bubalis*). **PUBVET**, v. 12, n. 10, p. 1-16, 2018.
- MINERVINO, Antonio Humberto Hamad, et al. “*Bubalus bubalis*: A Short Story.” **Frontiers in veterinary Science**, vol. 7, p.570–413, 2020.
- OBA. et al. Estudo preliminar de diferentes meios para congelação de sêmen de búfalo. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Belo Horizonte. Anais...Belo Horizonte: CBRA, 337, 1993.
- PERIS-FRAU, P. et al. Freezing–thawing procedures remodel the proteome of ram sperm before and after in vitro capacitation. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 18, p. 4596, 2019.
- RASUL. et al. Effect of buffering systems on post-thaw motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology of buffalo spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v.59, p.31-41, 2000.
- VISHWANATH, R, AND P SHANNON. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. **Animal reproduction Science**, v. 62, n.1-3, p.23-53, 2000.

Recebido em 00/00/00.
Revisado em 00/00/00.
Aceito em 00/00/00.

Endereço para correspondência: Thiago Vinícius Evaristo da Silveira, Avenida N^a S^a de Fátima, 667, Bairro de Fátima, Carmópolis de Minas, Mg, Brasil. email: silveirath@gmail.com

5 CONCLUSÃO

Este estágio constituiu uma experiência extremamente enriquecedora para toda minha carreira, proporcionando um aprimoramento significativo dos meus conhecimentos teóricos e práticos na bubalinocultura. Durante esse período, tive oportunidade de acompanhar manejos reprodutivos, clínicos e cirúrgicos, o que contribuiu para o fortalecimento das minhas habilidades cognitivas e tomadas de decisão. Essa experiência reforçou minha paixão pela área de produção de grandes animais, onde o conhecimento do manejo e bem-estar é fundamental. Deixo meus agradecimentos a todos que acreditaram na minha trajetória e contribuíram para meu desenvolvimento como futuro médico veterinário.