

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**FATORES QUE INFLUENCIAM A IDADE À PUBERDADE EM BÚFALAS
(*BUBALUS BUBALIS*)**

JÚLIA BOPP DE ANDRADE

PORTO ALEGRE

2022/1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**FATORES QUE INFLUENCIAM A IDADE À PUBERDADE EM BÚFALAS
(*BUBALUS BUBALIS*)**

Autora: Júlia Bopp de Andrade

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como
requisito parcial para a obtenção da graduação em
Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Diogo Magnabosco

Coorientadora: Vitória Leite Di Domenico

PORTO ALEGRE

2022/1

JÚLIA BOPP DE ANDRADE

FATORES QUE INFLUENCIAM A IDADE À PUBERDADE EM BÚFALAS (*BUBALUS BUBALIS*)

Aprovado em:

APROVADO POR:

Diogo Magnabosco - Prof. Dr. UFRGS

Orientador

Vitória Leite di Domenico - Mestranda em Microbiologia Agrícola e do Ambiente UFRGS

Co-orientadora

Marcelo Bertolini – Prof. Dr. UFRGS

Membro da banca

Elisa Cristina Modesto – Prof. Dra. UFRRJ

Membro da banca

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à minha família, Maria Amélia Bopp de Andrade, Marcelo Ferst de Andrade e Giovana Bopp de Andrade, pois sem vocês nada disso seria possível. Todo o amor, a dedicação e o apoio que recebi de vocês foram o combustível para que eu pudesse chegar até aqui. Gostaria de agradecer também à minha namorada, Luisa Sigaran Machado, que foi fundamental nesse período de conclusão de curso e de realização deste trabalho. Aos meus tios, Renata Beilke e Marino Andrade, que desde pequena encorajaram e estimularam meu interesse e meu amor pelos animais — quem diria que isso me levaria a escolher a Medicina Veterinária como profissão. Ao restante da minha família, tias, tios, primas e avós, meus mais sinceros agradecimentos por fazerem parte da minha vida e desse momento tão importante.

Também gostaria de agradecer ao meu orientador, Diogo Magnabosco, que topou me orientar nessa etapa tão decisiva da vida acadêmica. Agradeço também à médica veterinária da Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, Verônica Rolim, que incansavelmente, semana após semana, me ensinou e me auxiliou com as avaliações dos animais para o presente estudo. Outro agradecimento importante vai para a minha co-orientadora, Vitória Leite di Domênico, que além de ter se tornado uma grande amiga, me ajudou e me orientou de forma sem igual. Obrigada por todos os momentos que pudemos compartilhar e por encararem esse desafio comigo, desde os dias a campo quanto nos dias de pesquisa e de escrita. Outra importante companheira nesta etapa foi a Franciele Fernandes, colega de curso que se tornou uma grande amiga, sendo uma peça importante para a realização deste trabalho. Gostaria também de agradecer à minha querida amiga e colega, Victoria Severo, que esteve ao meu lado durante todas as etapas da graduação, agradeço a ti e também à Faculdade de Veterinária por ter me proporcionado uma amiga sem igual.

Por fim, gostaria de fazer um agradecimento a todos que fizeram parte da minha trajetória durante esses anos de graduação, guardo todos os momentos com carinho e os levarei comigo, sem vocês não teria sido tão especial. Deixo aqui meus mais sinceros agradecimentos aos professores, aos colegas e principalmente à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por proporcionar um ensino público de qualidade.

RESUMO

O búfalo (*Bubalus bubalis*) é um animal de fácil adaptação, elevada rusticidade, docilidade e alta produção. No entanto, suas características reprodutivas não foram totalmente elucidadas, o que dificulta o aprimoramento de biotécnicas reprodutivas para a espécie. A principal questão a ser estudada neste trabalho é acerca dos fatores que influenciam o início da puberdade em fêmeas bubalinas, através de uma revisão de literatura, e como esses fatores afetam a idade à puberdade no sistema de produção do estado do Rio Grande do Sul. 16 fêmeas bubalinas pré-púberes com idade média de 14 meses foram divididas em 2 grupos: lote A (n=8), composto por fêmeas nascidas no ano de 2020 e desmamadas aos 5 meses; e lote B (n=8), composto por fêmeas nascidas no ano de 2021 e desmamadas aos 9 meses. Foi realizada uma pesquisa descritiva a campo com coleta de dados e com avaliações ultrassonográficas periódicas do sistema reprodutivo dos animais e acompanhamento do crescimento folicular. Aos 16 meses, com média de peso de 367,86 kg, 100% do lote A (n=8) atingiu a puberdade. No lote B, com 16 meses e peso médio de 332,83 kg, nenhuma fêmea atingiu a puberdade até esse período. O maior comprimento médio dos ovários foi de $2,22 \pm 0,14$ cm e o maior diâmetro folicular médio foi de $10,50 \pm 1,87$ mm. A puberdade precoce na búfala pode ser atingida desde que a fêmea receba uma nutrição adequada, do nascimento até o primeiro serviço. O manejo nutricional deve visar não somente o ganho de peso, mas também a estabilidade desse ganho de peso. Animais submetidos a manejo alimentar inadequado nas fases anteriores ao primeiro serviço tiveram um aumento na idade à puberdade. Mostrou-se mais importante um ganho médio diário constante do que ter um GMD crescente, desde que não haja quedas bruscas nem perda de peso.

Palavras-chave: búfalas. Reprodução animal. pré-púberes. desenvolvimento ponderal. crescimento folicular.

ABSTRACT

The buffalo (*Bubalus bubalis*) is an animal of easy adaptation, high rusticity, docility and high production. However, reproductive characteristics have not been fully elucidated, which has made it difficult to improve reproductive biotechnologies for the species. The main question to be studied in this work is about which factors influence the beginning of puberty in buffalo females, through a literature review, and how these factors affect age at puberty in the production system of the state of Rio Grande do Sul. 16 prepubertal buffalo females with an average age of 14 months were divided into 2 groups: group A (n=8), composed of females born in 2020 and weaned at 5 months; and group B (n=8), composed of females born in 2021 and weaned at 9 months. A descriptive field research was carried out with data collection and periodic ultrasound evaluations of the animals' reproductive system and monitoring of follicular dynamics. At 16 months, with an average weight of 367.86 kg, 100% of group A (n=8) reached puberty. In group B, with 16 months and an average weight of 332.83 kg, no female reached puberty until the end of this research. The greatest mean length of the ovaries was 2.22 ± 0.14 cm and the greatest mean follicular diameter was 10.50 ± 1.87 mm. Precocious puberty in the buffalo can be reached as long as the female receives adequate nutrition from birth to the first service. Nutritional management should aim not only at weight gain, but also at the stability of that weight gain. Animals subjected to inadequate food management in the phases prior to the first service had an increase in age at puberty. A constant average daily gain has proved to be more important than having an increasing average daily gain, as long as there are no sudden drops or weight loss.

Keywords: buffaloes. animal reproduction. prepubertal. ponderal development. follicular dynamics.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Bubalinocultura no Brasil.....	15
3.2 Aspectos reprodutivos.....	17
3.2.1 Anatomia do trato reprodutivo de fêmeas bubalinas.....	17
3.2.2 Ciclo estral.....	18
3.2.3 Sazonalidade.....	19
3.2.4 Comportamento.....	20
3.2.5 Bioestimulação.....	21
3.2.6 Fisiologia da reprodução.....	21
3.2.6.1 Puberdade.....	21
3.2.6.2 Dinâmica Folicular.....	23
3.3 Aspectos nutricionais e sanitários.....	25
3.3.1 Nutrição e Escore de Condição Corporal.....	25
3.3.2 Sanidade.....	27
3.4 Estresse térmico.....	28
4 DESENVOLVIMENTO DE AVALIAÇÃO OBSERVACIONAL.....	30
4.1 Contextualização da avaliação.....	30
4.2 Caracterização do Rebanho.....	30
4.3 Manejo Sanitário.....	31
4.4 Avaliações.....	31
4.4.1 Ganho de Peso e Desenvolvimento Corporal.....	31
4.4.2 Ultrassonografia.....	31

4.5 Análise estatística	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 Caracterização dos lotes e seus respectivos manejos.....	33
5.2 Desenvolvimento Ponderal.....	34
5.2.1 Ganho de Peso e Ganho Médio Diário.....	34
5.3 Desenvolvimento do Sistema Reprodutivo	40
5.3.1 Ovários, Folículos e Cornos Uterinos.....	40
6 CONCLUSÃO	45
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS	47

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 — Esquema sobre as alterações endócrinas responsáveis pela ocorrência da puberdade em novilhas	22
Figura 2 — Gráfico de barras para comparativo do peso médio (kg) dos lotes A (20/21) e B (21/22) em diferentes idades (meses)	35
Figura 3 — Gráfico de barras com valores de ganhos médios diários (g) dos lotes A e B durante o período total de observação	38
Figura 4 — Linha temporal para ilustrar os animais dos lotes A e B com mesma idade, mas em estações do ano distintas	39
Figura 5 — Desenvolvimento das estruturas reprodutivas dos animais do lote B ao longo das observações.....	41
Figura 6 — Diâmetro médio (mm) e desvio padrão dos folículos mensurados ao longo das avaliações nas fêmeas bubalinas do lote B	42
Figura 7 — Registro ultrassonográfico de ovário de búfala com presença de corpo lúteo com diâmetro de 10 mm (A) e 13 mm (B) em fêmeas púberes aos 17 meses de idade	43
Figura 8 — Mensurações de cornos uterinos das fêmeas bubalinas pré-púberes do lote B ao longo das avaliações	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Dimensões do sistema reprodutor de fêmeas bubalinas (cm), conforme diferentes autores.....	18
Tabela 2 — Características do estro de fêmeas bubalinas pluríparas cíclicas, identificados por rufião.....	20
Tabela 3 — Idade à puberdade (meses) de fêmeas bubalinas, por autores distintos, em diferentes países.....	23
Tabela 4 — Exemplo de calendário anual de controle e prevenção de doenças nas propriedades bubalinas	27
Tabela 5 — Observação de estro em diferentes períodos do dia.....	28
Tabela 6 — Comparativo de desenvolvimento (kg) entre os lotes A 20/21 e B 21/22 em diferentes idades (meses).....	34
Tabela 7 — Ganho médio diário entre os lotes A 20/21 e B 21/22 em diferentes idades.....	36
Tabela 8 — Relação peso (kg) e idade (meses) das fêmeas bubalinas que atingiram a puberdade.....	37
Tabela 9 — Morfometria do sistema reprodutivo das fêmeas do lote B, dos 14 aos 18 meses.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCB	Associação brasileira de criadores de búfalos
ACTH	Hormônio liberador de corticotrofinas
CL	Corpo lúteo
cm	Centímetros
mm	Milímetros
d	Dias
ECC	Escore de condição corporal
EEA	Estação Experimental Agronômica da UFRGS
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FSH	Hormônio folículo estimulante
g	Gramas
GH	Hormônio do crescimento
GMD	Ganho médio diário
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
h	Horas
HHA	Hipotalâmico-hipofisário-adrenal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGF1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IGF2	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 2
kg	Quilogramas
LH	Hormônio luteinizante
SEAPDR	Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores centros de criação de bubalinos fora da Ásia, concentrando o maior rebanho de búfalo nas Américas e sendo o maior exportador para os países do MERCOSUL, do Caribe e do Oriente Médio (NETO *et al.*, 2020). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), até o ano de 2017, foram contabilizados aproximadamente 2 milhões de bubalinos em território nacional e mais de 50 mil no estado do Rio Grande do Sul.

Existe um conceito precipitado de que a espécie bubalina é um animal tardio ou de baixa performance reprodutiva. Entretanto, alguns autores discordam, preferindo apontar que o fenômeno pelo qual essa espécie apresenta índices de fertilidade inferiores aos bovinos está relacionado com seleção inadequada e/ou manejo deficiente (VALE; RIBEIRO, 2005). A primeira atividade a ser comprometida em consequência de um desequilíbrio nutricional é a reprodução, sendo essa função novamente ativada somente quando as demandas por manutenção, crescimento e reserva de nutrientes forem devidamente atendidas (WARRIACH *et al.*, 2015).

Anatomicamente, o trato reprodutivo da fêmea bubalina é muito similar ao da fêmea bovina, porém suas estruturas são consideradas com dimensões reduzidas — incluindo cérvix, ovários, tubas uterinas, folículos e corpo lúteo. Além disso, os cornos uterinos e a cérvix bubalinos são mais rígidos, tortuosos e possuem tônus mais pronunciado, em relação aos bovinos (VALE, 2011). As fêmeas bubalinas, quando criadas em localidades afastadas do Equador, são consideradas poliéstricas sazonais de dias curtos, apresentando interrupção de ciclicidade durante o verão (VALE *et al.*, 2005). Da mesma forma como se apresenta em bovinos, o ciclo estral da búfala apresenta quatro fases: o proestro, o estro, o metaestro e o diestro (VALE; RIBEIRO, 2005). Segundo Perera (2011), o ciclo estral apresenta uma duração média de 21 dias e o período de estro dura, em média, 18 horas. De acordo com Baruselli (1994), a ovulação pode ocorrer de 24 a 48 horas após o início do estro ou de 6 a 21 horas após o final do estro. Essa variação pode estar relacionada a diversas questões, tais como o manejo, a alimentação, a genética, o clima e a época do ano (BARILE, 2005). Segundo Vale (1983), a observação de cio é difícil devido às manifestações fracas e inespecíficas, sendo a aceitação de monta um dos sinais de estro mais fidedignos. Portanto, a melhor forma de detecção do cio na

búfala é a utilização de rufiões com buçal marcador, visto que as fêmeas normalmente não demonstram comportamento homossexual.

De acordo com Sisk e Foster (2004), o desenvolvimento puberal envolve mudanças neuroendócrinas, físicas e comportamentais que estão ligadas à ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal. As búfalas geralmente alcançam a puberdade quando atingem aproximadamente 60% do peso adulto, mas a idade onde ocorre o desencadeamento da puberdade pode ser altamente variável, podendo ocorrer entre os 18 a 46 meses (DROST, 2007). Assim, o desenvolvimento reprodutivo em novilhas e o alcance da puberdade são determinados principalmente pela nutrição desde o desmame (CAMPANILE *et al.*, 2001).

O número de folículos recrutados por onda folicular é menor na espécie bubalina do que na espécie bovina (GIMENES *et al.*, 2009; CAMPANILE *et al.*, 2010). O desenvolvimento folicular em bubalinos ocorre em ondas e o número de ondas foliculares em cada ciclo é relacionado com o comprimento do ciclo, que, por sua vez, é dependente da meia-vida do corpo lúteo (BARUSELLI *et al.*, 1997; MANIK *et al.*, 2002). De acordo com Varughese *et al.* (2014), o diâmetro do folículo dominante e subordinado no momento da divergência folicular é, em média, de $7,2 \pm 0,3$ mm e de $6,4 \pm 0,3$ mm, respectivamente, obtendo capacidade ovulatória a partir de 8,5 mm de diâmetro. O folículo pré-ovulatório possui diâmetro máximo de $15,5 \pm 1,6$ mm em animais com duas ondas foliculares e de $13,4 \pm 1,3$ mm em animais com três ondas foliculares. Após a ovulação, ocorre a formação de uma estrutura denominada corpo lúteo, uma glândula endócrina transitória, que desempenha um papel central na regulação de vários processos reprodutivos (BAITHALU *et al.*, 2013).

A principal questão estudada neste trabalho é referente aos fatores influentes no início da vida reprodutiva de fêmeas bubalinas e como esses afetam a idade à puberdade. Além disso, buscou-se acompanhar o desenvolvimento do trato reprodutivo e o início da ciclicidade em um grupo de novilhas bubalinas para compreender a relação de fatores que levam ao início da vida reprodutiva. Como justificativa, ainda podemos citar o fato de que existem poucos trabalhos sobre os fatores que influenciam a idade ao primeiro cio em fêmeas bubalinas submetidas às condições do estado do Rio Grande do Sul. As referências encontradas na literatura são muito variáveis, tendo valores diferentes de acordo com o modelo de produção e com o ambiente, sendo importante elucidar, através de avaliação de animais a campo e de revisão de literatura, as condições de produção de búfalos no estado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo elucidar os principais fatores que influenciam a puberdade em fêmeas bubalinas, através de uma revisão de literatura e avaliação de animais a campo.

2.2 Objetivos específicos

Mais especificamente, objetiva-se acompanhar o desenvolvimento do trato reprodutivo e o início da ciclicidade de fêmeas bubalinas, através de avaliações periódicas com auxílio de aparelho de ultrassonografia, identificando e mensurando morfológicamente os cornos uterinos, os ovários, os folículos e os corpos lúteos. Esses dados se somarão à obtenção de dados referentes ao manejo nutricional, ao desenvolvimento corporal e ao ganho de peso, a fim de identificar a influência destes fatores no início da puberdade em fêmeas bubalinas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Bubalinocultura no Brasil

Os búfalos são animais de origem asiática, da família Bovidae, subfamília Bovinae, espécie *Bubalus bubalis*. Trata-se de um animal de extrema rusticidade e de alta capacidade de adaptação, podendo sobreviver em diversos ambientes, com grandes variações de clima, relevo e vegetação (BEZERRA, 2016).

A população mundial de búfalos aumenta de forma crescente e atualmente existem mais de 200.000.000 de animais (BORGHESE *et al.*, 2016). São encontrados praticamente em todos os continentes, particularmente na Ásia; na África, principalmente no Egito; na Europa, principalmente na Itália; e na América do Sul. Além disso, o rebanho bubalino mundial destaca-se como uma das espécies com as maiores taxas de crescimento entre os animais domésticos, em torno de 12% ao ano (FAO, 2017).

De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, dentre os bubalinos introduzidos no Brasil, quatro raças são reconhecidas oficialmente: Jafarabadi, Mediterrânea, Murrah e Carabao (ABCB, 2022). De acordo com Perera (2011), as três primeiras são classificadas como búfalo-do-rio, que são as raças mais criadas no Brasil, e a última é classificada como búfalo-do-pântano. Segundo Borghese (2005), ao mesmo tempo em que as raças bovinas zebuínas foram importadas da Índia para o Brasil, principalmente entre os anos 40 e 60, alguns búfalos das raças Murrah e Jafarabadi também foram. No Brasil, esses animais encontram condições ideais, como abundância de pastagens, água e temperatura. Esses efeitos foram aprimorados pela resistência e adaptabilidade dos búfalos.

Os búfalos foram introduzidos no Brasil a partir do final do século XIX, geralmente em pequenos lotes originários da Ásia, Europa (Itália) e Caribe. Atualmente o Brasil concentra o maior rebanho de búfalos do Ocidente, mais de 2.000.000 de animais, o que mostra um grande potencial de mercado. A maior concentração do rebanho está localizada na região Norte do país, reunindo cerca de 66% do rebanho efetivo. Juntos, os estados do Pará e Amapá concentram cerca de 59,09% do rebanho nacional no ano de 2017 (IBGE, 2017). O restante dos animais está distribuído entre as Regiões Sudeste (13%), Nordeste (9%), Sul (8%) e Centro-Oeste (4%).

As Américas registraram um aumento de 26,4% entre os anos de 2005 e 2016 (BORGHESE *et al.*, 2016). De acordo com Bernardes (2007), o crescimento acumulado do rebanho entre os anos de 1961 e 2005 foi de surpreendentes 1.806 % em comparação com a evolução de outras espécies de interesse econômico exploradas no país — destacando ainda que, segundo a FAO, nos períodos de 1961-1980 e 1980-2005 o rebanho bubalino mundial cresceu 38% e 43% respectivamente; enquanto o rebanho bovino cresceu 29% e 11%. Esse aumento pode ser resultado de uma produtividade comparável à do gado em condições tropicais e pela produção de um produto de valor agregado infinitamente superior, o que torna o leite de búfala muito mais atraente para a indústria do queijo em comparação com o leite bovino (SWEERS *et al.*, 2014).

Segundo Bernardes (2007), o maior conhecimento das potencialidades e características produtivas bubalinas associadas a diversas ações promocionais, notadamente a partir do ano de 1980, motivou acentuada expansão e disseminação da espécie para diversas regiões, inicialmente com o objetivo de ocupar os chamados “vazios pecuários”, regiões em que a pecuária bovina não se desenvolve bem, em função de suas características naturais. De acordo com Oliveira (2005), em função de sua rusticidade, esses são animais bastante adaptados a solos de baixa fertilidade e terrenos alagadiços, sendo capazes de converter com eficiência alimentos fibrosos em proteínas de alto valor (carne e leite), apresentando longevidade e possibilidade de ocupar áreas geográficas não adequadas às demais espécies ruminantes.

Segundo Vale e Ribeiro (2005), o fato das commodities produzidas pelo búfalo agregarem valor econômico que chega a ser três vezes maior que o de bovinos, faz com que a mozzarella, um produto de alto valor, tenha uma alta demanda. Aliado a esse aspecto, também a carne dessa espécie apresenta grande procura devido às suas características nutritivas.

Nos anos 70, os criadores brasileiros de búfalos começaram a usá-los com duplo propósito: produção de leite e carne. Concomitantemente, começaram as pesquisas sobre nutrição, produção e reprodução, dando origem a várias associações regionais de criadores de búfalos (RAMOS *et al.*, 2004).

No entanto, para maximizar a rentabilidade da bubalinocultura exige-se, além de uma alta produção de leite com alto preço de mercado, uma boa eficiência reprodutiva destes animais (SWEERS *et al.*, 2014). Existe na literatura internacional um conceito precipitado de que a espécie bubalina é um animal tardio ou de baixa performance reprodutiva. Entretanto, alguns

autores discordam, relacionando os índices de baixa performance reprodutiva da espécie com seleção inadequada e/ou manejo deficiente (VALE; RIBEIRO, 2005). Segundo Perera (2011), a baixa eficiência reprodutiva manifesta-se principalmente como maturidade sexual tardia, intervalos entre partos elevados, grande período de anestro pós-parto, fraca expressão de estro e taxas de concepção baixas. No entanto, estudos no Sri Lanka (PERERA *et al.*, 1987), no Paquistão (USMANI *et al.*, 1990) e no Brasil (VALE, 1996) mostraram que a fertilidade pode ser satisfatória, desde que os animais sejam manejados e alimentados adequadamente e os genótipos sejam adaptados às condições de meio que os animais estão inseridos.

3.2 Aspectos reprodutivos

3.2.1 Anatomia do trato reprodutivo de fêmeas bubalinas

Segundo Carvalho *et al.* (2014), o sistema genital feminino inclui os ovários, que produzem gametas e hormônios; os ovidutos, que são extensões do útero e fornecem funções de transporte para oócitos, espermatozóides e secreções; o útero, que é o sítio de desenvolvimento embrionário e fetal; a vagina, que é o canal para a passagem da cópula e do feto; e a genitália externa. Os genitais internos são mantidos pelo ligamento largo, compreendendo o mesovário que sustenta o ovário, o mesossalpinge que sustenta os ovidutos e o mesométrio que sustenta o útero.

De acordo com o que descreve Vale (2011), o trato reprodutivo da fêmea bubalina é anatomicamente similar ao da fêmea bovina, porém as estruturas são consideradas com dimensões reduzidas, incluindo ovários, tubas uterinas, cérvix, folículos e corpo lúteo. Além disso, os cornos uterinos e a cérvix são mais rígidos, tortuosos e possuem tônus mais pronunciado. Segundo Drost (2007), o trato reprodutivo é geralmente mais musculoso e mais firme, e os cornos uterinos são mais enrolados do que os da fêmea bovina. O corpo do útero é mais curto (1-2 cm), a cérvix é menor (comprimento 3-10 cm, diâmetro 1,5–6,0 cm) e seu canal é mais tortuoso, responsável por uma menor dilatação durante o estro. O número médio de anéis cervicais é três, podendo chegar até cinco.

De forma macroscópica, as características dos ovários diferem amplamente das fêmeas bovinas. O ovário da búfala foi descrito anteriormente por Lutkuke e Rao (1962), como de

forma arredondada, com cerca de 2,5 cm de comprimento e pesando 3,9 g. O corpo lúteo na espécie bubalina é de menor diâmetro do que nos bovinos, normalmente não se projetando na superfície ovariana e de forma menos evidente (PERERA, 2011). Segundo Borghese (2005), o corpo lúteo da búfala localiza-se profundamente embebido no interior do ovário, sendo de difícil proeminência e de coloração acinzentada. Na Tabela 1 podemos observar as dimensões de algumas estruturas reprodutivas de acordo com diferentes autores.

Tabela 1 — Dimensões do sistema reprodutor de fêmeas bubalinas (cm), conforme diferentes autores

Autor	Estrutura (cm)		
	Ovário direito	Ovário esquerdo	Diâmetro corno uterino
El-sheikh e Abdelhadi (1970)	.	.	5,88
Fadle et al. (1974)	2,40	2,20	.
Luktuke e Rao (1962)	2,53	2,60	2,45
Sane et al. (1964)	2,91	2,97	2,81
Sane et al. (1965)	3,12	3,13	2,73
Vale et. al (1982)	2,54	2,47	.
Danell (1987)	2,28	2,27	.

Adaptado de Carvalho (2006).

3.2.2 Ciclo estral

O ciclo estral pode ser dividido em duas fases: a fase folicular e a fase luteínica. A fase folicular, compreendida pelo proestro e o estro, é caracterizada pelo desenvolvimento do folículo, estrutura no ovário que contém o óvulo (VALLE, 1991). A fase folicular está sob efeito hormonal do estrogênio (BALL; PETERS, 2006). Segundo Baruselli (1994), a ovulação, ruptura do folículo e liberação do óvulo, ocorre de 6 a 21 horas após o final do estro.

A fase luteínica, compreendida pelo metaestro e o diestro, é caracterizada pelo desenvolvimento do corpo lúteo. O corpo lúteo é formado após a ruptura do folículo e produz progesterona, o hormônio predominante nessa fase do ciclo e responsável pela manutenção da gestação. Se o óvulo for fecundado, o corpo lúteo se mantém. Caso contrário, ocorrerá a regressão do corpo lúteo e será iniciada uma nova fase folicular (VALLE, 1991).

De acordo com Perera (2011), o ciclo estral apresenta uma duração média de 21 dias, podendo apresentar um intervalo de 16 a 33 dias; e o período de estro dura, em média, 18 horas, podendo variar de 5 a 36 horas. Segundo Baruselli (1994), a ovulação pode ocorrer de 24 a 48

horas após o início do estro ou de 6 a 21 horas após o final do estro. A variação observada na duração do ciclo estral pode ser relacionada a diversos fatores, como o manejo, a alimentação, a genética, o clima e a época do ano (BARILE, 2005). Além disso, segundo Baruselli *et al.* (1997), a duração do ciclo está relacionada ao número de ondas foliculares que ocorrem, que por sua vez depende da duração da funcionalidade do corpo lúteo.

3.2.3 Sazonalidade

Quando criadas em localidades afastadas da linha do Equador, as fêmeas bubalinas são influenciadas positivamente pela redução das horas de luz, sendo consideradas nessas regiões, animais poliéstricos sazonais de dias curtos, pois apresentam interrupção de ciclicidade durante o verão. Em regiões equatoriais, sem variações significativas de luminosidade, a búfala é considerada poliéstrica contínua, o que permite sua reprodução durante todo o ano (VALE *et al.*, 2005).

De acordo com Perera (2011), em muitas regiões ocorre um padrão sazonal da atividade ovariana. Isto é atribuído, em regiões tropicais, às mudanças na precipitação pluviométrica, resultando em diferentes disponibilidades de forrageiras; ou ao estresse calórico, em função de temperaturas elevadas, ocasionando aumento da secreção de prolactina. Em regiões temperadas, a secreção de melatonina sofre interferência direta das mudanças no fotoperíodo. Segundo Zicarelli (1994; 1997), a melatonina está envolvida no processo de sinalização da alternância claro/escuro, sendo responsável pela regulação do início e/ou final da atividade ovariana, atuando na liberação de GnRH e na secreção das gonadotrofinas e, conseqüentemente, na regulação sazonal da atividade dos ovários nesta espécie.

Uma correlação positiva foi observada entre a estação do ano e o início da puberdade, visto que as estações tem grande influência no peso corporal dos animais. Durante os primeiros seis meses de vida, o período de outono e inverno tem um efeito positivo para o ganho de peso e a puberdade precoce (Plansky; Dimitroy, 2020). Segundo Gupta *et al.* (2016), o efeito da estação do ano está relacionado com aspectos práticos de manejo e de nutrição. De acordo com Shalash (1985), em um estudo com novilhas búfalas pré-púberes no Egito, a puberdade ocorreu, em média, aos 431 dias de idade no período do inverno e em 506 dias de idade no período do verão, mostrando que mesmo dentro do peso médio mínimo descrito na literatura o fator sazonal pode atrasar a chegada da puberdade.

3.2.4 Comportamento

De acordo com Baruselli *et al.* (1997), as bubalinas não apresentam manifestação dos sinais de estro de forma evidente, sendo que o comportamento homossexual entre as bubalinas é raro, diferentemente das fêmeas bovinas. Segundo Perera (2011), os principais sinais comportamentais são inquietação, berros e micção frequente de pequenas quantidades de urina, mas estes não são exibidos de forma inconsistente. A secreção de muco uterino, comumente observada durante o estro em bovinas, não é tão intensa e tende a se acumular no assoalho vaginal, sendo eliminado quando o animal se deita ou através da urina (PERERA, 2008).

Segundo Vale (1983), a observação de cio é difícil devido às manifestações fracas e inespecíficas, sendo a aceitação de monta um dos sinais de estro mais fidedignos. Portanto, a melhor forma de detecção do cio na búfala é a utilização de rufiões com buçal marcador. Na tabela 3 são apresentadas as principais manifestações de estro em fêmeas bubalinas.

Tabela 2 — Características e manifestação do estro de fêmeas bubalinas múltiparas cíclicas, identificados por rufião, em porcentagem.

Sinais	Evidente (%)	Pouco evidente (%)	Ausente (%)
Aceitação de monta pelo rufião	100	-	-
Aceitação de monta por outras fêmeas	19,3	8,6	72,1
Mugidos frequentes	59,5	8,6	31,9
Urinar frequente	54,0	18,7	27,3
Movimentos com a cauda	50,0	15,3	34,7
Cérvix aberta	77,3	18,7	4,0
Aumento de tônus uterino	73,3	24,0	2,7
Exteriorização de muco pela vulva	60,6	18,6	20,8
Edema de vulva	42,0	7,3	50,7

Adaptado de VALE *et al.* (1984).

Em temperaturas elevadas, principalmente durante o verão, a fêmea bubalina tem tendência a apresentar sinais de estro fracos ou à noite, quando a temperatura está mais amena (VALE *et al.*, 1984). Segundo Oba (2003), a ocorrência de cios silenciosos e anovulatórios é frequente, principalmente em animais submetidos à alimentação deficiente ou expostos a estresse térmico. De acordo com Awasthi *et al.* (2007), o cio silencioso parece estar relacionado a uma menor produção de estradiol, que é dependente do diâmetro folicular. Quanto maior o

foliculo, maior é a produção de estradiol, tendo uma correlação positiva entre o diâmetro folicular e a produção desse hormônio.

A exteriorização do muco uterino não é uma característica constante e depende, em muito, da observação do estro, sendo, na maioria das vezes, transparente e pegajoso no início, mudando para turvo até opaco (OBA, 2003). Segundo Devi et al. (2019), alguns parâmetros acústicos emitidos por búfalas durante o estro são característicos, sendo significativamente diferentes daqueles gerados durante outras fases do ciclo estral, sugerindo que a análise dos sons emitidos por búfalas poderia ser usada para detectar fêmeas em estro com precisão de 95%.

3.2.5 Bioestimulação

Tiwari *et al.* (2014) definiram a bioestimulação, ou efeito macho, como o estímulo provocado pela presença de machos que induz o estro e a ovulação através da estimulação genital, feromônios ou outros sinais externos. Feromônios na urina, fezes ou de glândulas cutâneas podem ser percebidos através do sistema olfativo (ARCHUNAN *et al.*, 2014) e afetam a atividade hipotalâmica pituitária-gonadal nas fêmeas (TAUK *et al.*, 2007). O primeiro trabalho que investigou a natureza dos estímulos envolvidos no efeito macho foi desenvolvido por Watson e Radford (1960). Retwot et al. (2001) relatam que novilhas expostas a touros atingem a puberdade mais cedo do que novilhas não expostas e que a presença de um macho vasectomizado tem sido relatada para acelerar o início da puberdade em novilhas. Roberson et al. (1991) relataram que um maior número de novilhas expostas a touros atingiu a puberdade mais cedo do que as novilhas não expostas, com valores de 61,8 % e 45,4%, respectivamente. Zaidi e Anwar (2017) relatam que a bioestimulação pela exposição a um touro representa uma das possíveis ferramentas de manejo para melhorar a eficiência reprodutiva na espécie bubalina.

3.2.6 Fisiologia da reprodução

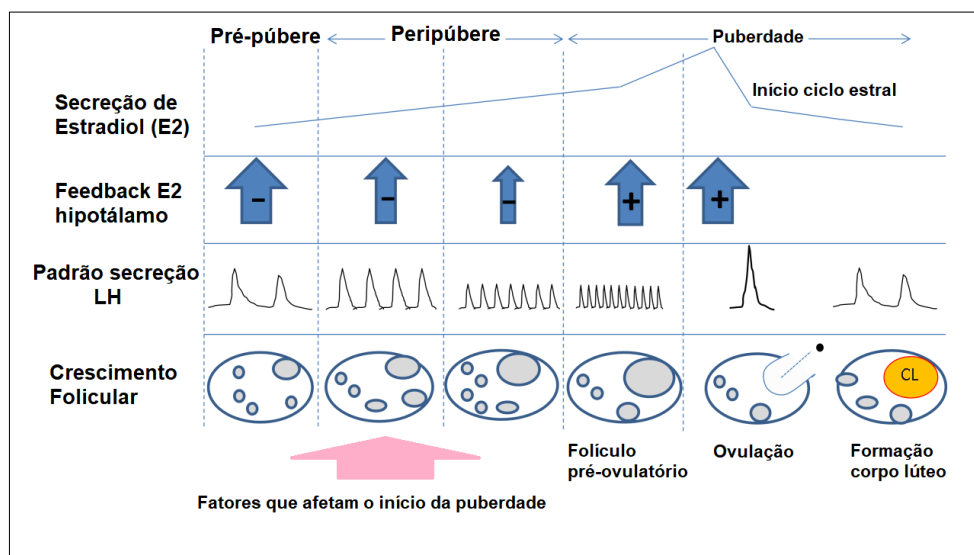
3.2.6.1 Puberdade

Segundo Vale e Ribeiro (2005), a puberdade na fêmea pode ser definida como o período em que se estabelece a primeira ovulação, com a formação de um corpo lúteo funcional. A idade em que a fêmea bubalina atinge a puberdade é altamente variável, e deve-se levar em consideração não somente os aspectos ligados ao manejo e alimentação, mas as variações entre búfalos-do-rio e do búfalo-do-pântano, sendo este último mais tardio. Variações entre 10 e 36 meses são citadas na literatura, conforme expresso na Tabela 3.

Segundo Terzano, Barile e Borghese (2012), a puberdade é um fenômeno fisiológico complexo, cujas origens são mecanismos neuroendócrinos que determinam a primeira ovulação e as alterações nos caracteres sexuais primários e secundários. De acordo com Drost (2007), a transição para a puberdade envolve não só mudanças endócrinas, mas também metabólicas, que conduzem à completa preparação fisiológica para a maturação sexual. As búfalas geralmente alcançam a puberdade quando atingem aproximadamente 60% do peso adulto, mas a idade na qual ocorre o desencadeamento da puberdade pode ser altamente variável.

O desenvolvimento puberal envolve mudanças neuroendócrinas, físicas e comportamentais ligadas à ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal (SISK; FOSTER, 2004). Fêmeas pré-púberes apresentam-se sexualmente imaturas, pois o estradiol atua como hormônio inibitório do início da puberdade, exercendo efeito retrógrado sobre o hipotálamo, regulando a síntese e secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Quando próximo da ocorrência da puberdade, há uma inversão do efeito negativo para positivo, através da redução de receptores de estradiol no hipotálamo e aumento na frequência dos pulsos dos hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH) na adeno-hipófise, os quais exercem efeito positivo no ovário, promovendo o crescimento folicular e atividades hormonais, resultando no desencadeamento da puberdade (TERZANO; BARILE; BORGHESE, 2012). Como podemos observar na Figura 1.

Figura 1 — Esquema sobre as alterações endócrinas responsáveis pela ocorrência da puberdade em novilhas



Esquema representando as alterações hormonais responsáveis pela ocorrência da puberdade em novilhas. O sinal dentro das setas representa o feedback de estradiol negativo (-) ou positivo (+) sobre a secreção de LH; já a largura

das setas indica a intensidade. Em decorrência do declínio progressivo do feedback negativo do estradiol e do aumento da secreção de LH durante o período peripuberal, a concentração de estradiol atinge níveis suficientes para induzir o pico puberal de LH.

Adaptado e modificado de DAY; ANDERSON (1998).

De acordo com Borghese et al. (1994), é o neuro-hormônio hipotalâmico GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) que estimula a secreção de hormônios gonadotróficos na adeno hipófise como o FSH e o LH — hormônios que promovem a maturação dos folículos ovarianos até uma alta e pulsátil produção de LH que determina a deiscência do folículo maduro e a liberação do primeiro óvulo, marcando o início da fase púbere na fêmea.

Na Tabela 3, podemos observar a grande variação na idade à puberdade de fêmeas bubalinas de acordo com autores de diferentes países.

Tabela 3 — Idade à puberdade (meses) de fêmeas bubalinas, por autores distintos, em diferentes países

Idade à puberdade (meses)	País	Autor
26,5 ± 6,5	Brasil	Vale et al. (1990)
14,2 (12,8 - 16,3)	Brasil	Damé; Pimentel (1994)
17,6 (13,5 – 20)	Brasil	Vale (2000)
37	Paquistão	Bashir (2006)
27,3 (23,9 - 32,6)	Paquistão	Rafiq et al. (2008)
23	Paquistão	Jabbar (2004)
19,8	Itália	Terzano et al. (2007)
15,6 (13,2 – 17,8)	Bulgária	Plansky; Dimitrov (2020)
20-24	Bulgária	Ivanov; Zachariev (1960)
26-36	Índia	Bodhipaksha (1987); Sharma (1987)
26,5 ± 6,5	Índia	Roychoudhury (1967/1969)
20-22	Índia	De Franciscis (1979)

Adaptado de VALE; RIBEIRO (2005).

3.2.6.2 Dinâmica Folicular

A dinâmica folicular é o processo contínuo de crescimento e regressão de um grupo de folículos antrais, um destes se desenvolverá até atingir o estado de folículo pré-ovulatório (NEGLIA *et al.*, 2007). As características de recrutamento, seleção, dominância e atresia folicular durante uma onda folicular em búfalos são semelhantes às descritas para bovinos (BARUSELLI *et al.*, 1997; MANIK *et al.*, 2002). De acordo com Campanile *et al.* (2010), a

fêmea bubalina apresenta número de folículos recrutados por onda folicular inferior à espécie bovina. Essa diferença parece estar associada a uma menor reserva de folículos primordiais em búfalas comparado aos das fêmeas bovinas.

Conforme Baruselli *et al.* (1997), o desenvolvimento folicular em bubalinos ocorre em ondas, de forma semelhante ao da fêmea bovina, com cada onda composta por um grupo de folículos com desenvolvimento sincronizado. O número de ondas foliculares em cada ciclo é correlacionado com o comprimento do ciclo, que, por sua vez, é dependente da meia-vida do corpo lúteo. Presicce *et al.* (2003), também observaram esse padrão de desenvolvimento folicular em ondas em búfalas pré-púberes.

Desta forma, ciclos estrais de uma onda estão associados com uma fase luteal mais curta e caracterizados por uma duração menor do ciclo estral (BARUSELLI *et al.*, 1997). Embora o ciclo de duas ondas seja o mais comum em búfalas, ciclos de três e de uma onda também foram relatados por Neglia *et al.* (2007) e Baruselli *et al.* (2013). Nas búfalas com ciclos estrais que apresentam três ondas de recrutamento foliculares, a fase lútea é mais longa e o intervalo entre ovulações é maior em comparação com ciclos que tem duas ondas foliculares (CAMPANILE *et al.*, 2010). Segundo Gimenes *et al.* (2011), a primeira onda tem início no primeiro dia após a ovulação e é chamado de dia 0, a segunda surge no dia 10 e para os animais com 3 ondas por ciclo, a primeira onda ocorre também no dia 0, a segunda no dia 9 e a terceira no dia 16 do ciclo.

O diâmetro do folículo dominante e subordinado no momento da divergência folicular é em média de $7,2 \pm 0,3$ mm e de $6,4 \pm 0,3$ mm, respectivamente, obtendo capacidade ovulatória a partir de 8,5 mm de diâmetro. O folículo pré-ovulatório possui diâmetro máximo de $15,5 \pm 1,6$ mm em animais com duas ondas foliculares e de $13,4 \pm 1,3$ mm em animais com três ondas foliculares (VARUGHESE *et al.*, 2014). Em estudos com fêmeas bubalinas em ciclos estrais regulares, Baruselli *et al.* (1997) e Neglia *et al.* (2007) observaram que os folículos dominantes atingiram um tamanho de 13 mm a 15 mm antes da ovulação, sugerindo-se ainda que, em condições normais, seus folículos adquiriram a capacidade de ovular em torno de 5 a 8mm de diâmetro, mas que estes deveriam sofrer um maior desenvolvimento, a fim de secretar estradiol suficiente para produzir um feedback positivo e induzir o pico pré-ovulatório de LH.

De acordo com Baithalu *et al.* (2013), após a ovulação ocorre a formação de uma estrutura denominada corpo lúteo, uma glândula endócrina transitória, que desempenha papel

central na regulação de vários processos reprodutivos, como o controle do ciclo estral, desenvolvimento embrionário, implantação e a manutenção da gestação. Chouhan *et al.* (2014), relatam que, durante o curso do ciclo estral, os tecidos luteais exibem mudanças estruturais e funcionais drásticas, incluindo um impressionante crescimento tecidual, seguido por regressão e por mudanças na densidade do leito vascular e na secreção de progesterona. Segundo Perera (2011), o corpo lúteo na espécie bubalina é de menor diâmetro do que o dos bovinos, muitas vezes não se projetando na superfície ovariana e comumente apresenta-se menos evidente. Imagens ultrassonográficas indicam corpos lúteos maduros de 12 a 17mm de diâmetro.

3.3 Aspectos nutricionais e sanitários

3.3.1 Nutrição e Escore de Condição Corporal

A idade em que a fêmea atinge a puberdade é particularmente influenciada pelo nível de energia da dieta, que aumenta o crescimento e possibilita a maturidade sexual (BORGHESE, 2005). Os fatores nutricionais são importantes tanto para o estabelecimento da puberdade quanto para a manutenção da ciclicidade ovariana, para o reinício da ciclicidade no pós-parto e para a manutenção da gestação (GARCIA, 2006). As novilhas bubalinas geralmente atingem a puberdade quando obtêm aproximadamente 55-60% do peso corporal adulto, mas a idade em que isso ocorre pode ser altamente variável, sendo influenciada pelo genótipo, nutrição, manejo, entre outros fatores (BHATTACHARYA, 1974).

De acordo com Campanile *et al.* (2010), os búfalos têm a capacidade de reduzir suas necessidades de energia quando a energia da dieta é limitante, permitindo que os búfalos mantenham sua condição corporal e, muitas vezes, a função reprodutiva. Esta capacidade adaptativa explica por que os búfalos permanecem produtivos em ambientes que são limitantes para outros ruminantes. Apesar da eficiência alimentar dos búfalos, a nutrição, quando muito deficiente, pode ter uma grande influência sobre a função reprodutiva. Em um estudo Garcia (2006), concluiu que, devido à correlação entre a nutrição dos animais e os resultados na reprodução, a suplementação dos animais em períodos mais críticos do ano é uma estratégia interessante para o aumento nos índices reprodutivos de rebanhos bubalinos. Assim, o

desenvolvimento reprodutivo em novilhas e o alcance da puberdade são determinados principalmente pela nutrição desde o desmame (CAMPANILE *et al.*, 2001).

Borghese (2005) concluiu que é de grande importância um bom planejamento para os períodos de pré-desmame e desmame, pois são importantes para promover o crescimento e atingir a puberdade. O manejo precisa começar desde o nascimento para garantir um correto aumento de peso. Segundo Short *et al.* (1990), quando a ingestão alimentar é maior que os requerimentos de manutenção e produção, o excedente de energia é estocado como gordura corporal, que pode ser estimado pela avaliação do escore da condição corporal (ECC), considerada uma ferramenta útil na predição do desempenho reprodutivo futuro. Em um estudo, Garcia (2006) concluiu que o máximo desempenho reprodutivo é observado quando os animais se encontram com escore 3,5 (escala de 1 a 5) no momento da inseminação e na fase peripúbere: esse escore, portanto, deve ser considerado como meta para se obter a máxima eficiência reprodutiva em rebanhos bubalinos.

Diskin *et al.* (2003) destacam que, possivelmente, a ação da nutrição sobre a reprodução inclui efeitos sistêmicos, da seguinte forma: 1) no hipotálamo, via síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH); 2) na adeno-hipófise, pela síntese e liberação de FSH, LH e hormônio do crescimento (GH); e 3) nos ovários, por meio da regulação do crescimento folicular e da síntese de esteróides sexuais. Segundo Souza *et al.* (2009), os hormônios metabólicos, como o hormônio do crescimento (GH), a insulina, o IGF-I e II e a leptina, têm importante papel no controle da função ovariana dos mamíferos, sinalizando os efeitos da ingestão de alimento e do balanço energético e atuando diretamente no controle do desenvolvimento folicular.

Barb e Kraeling (2004) relataram que a leptina, hormônio protéico secretado pelos adipócitos, está envolvida na regulação da ingestão de alimentos, no balanço energético e no eixo neuroendócrino de ruminantes e de outras espécies animais. Seus receptores foram identificados em muitas áreas do cérebro e em vários outros tecidos, incluindo os ovários. (ZIEBA *et al.*, 2005). Segundo Amstalden *et al.* (2002), a leptina sinaliza ao cérebro que os estoques de metabólitos estão adequados para iniciar o processo reprodutivo, além de estimular a liberação do GnRH produzido no hipotálamo, atuando diretamente sobre a hipófise, estimulando a liberação de FSH e LH.

D'occhio, Baruselli e Campanile (2018) concluíram que a nutrição estabelece o equilíbrio dos hormônios metabólicos que atuam no cérebro para exercer o controle do sistema

endócrino reprodutivo, influenciando as quantidades de substratos metabólicos que atuam diretamente nos folículos ovarianos, oócitos e embriões.

3.3.2 Sanidade

De acordo com Correa (2011), a rusticidade anatômica e fisiológica dos bubalinos confere certa resistência e permite que muitas doenças não ocorram ou cursem de forma subclínica. No entanto, os búfalos possuem hábito gregário, propício à disseminação de vetores de agentes etiológicos que, associados a práticas de manejo inadequadas, podem favorecer a evidenciação de sintomas. Segundo Giraldo *et al.* (2014), a produção de bovinos e de bubalinos é afetada por uma ampla variedade de doenças que influenciam negativamente a reprodução, expressas em menor número de bezerros nascidos vivos, menor produção de leite, dias abertos, intervalos de partos prolongados e prole fraca, além de causar perdas de gestação por abortos e morte embrionária, que alteram os parâmetros zootécnicos e reprodutivos. A fim de prevenir o aparecimento de doenças no rebanho, pode ser adotado um calendário sanitário, como podemos ver na Tabela 4.

Tabela 4 — Exemplo de calendário anual de controle e prevenção de doenças nas propriedades bubalinas

Doenças	Recomendações	Período
Ectoparasitas	Inseticidas em todo o rebanho, de forma que haja o controle dos agentes.	Período de maior ocorrência, principalmente no período chuvoso.
Endoparasitas	Bezerros: vermifugar desde o nascimento. Repetir com 30, 60, 80 e 180 dias. Adultos: quadrimestral.	Após 180d realizar controle estratégico.
Pneumoenterite	Bezerros: vacinar aos 15d de idade, reforço 30d após. Fêmeas Adultas: 9º mês de gestação.	Fevereiro, maio, outubro ou realizar controle estratégico.
Febre aftosa	Vacinar o rebanho todo em regiões que haja recomendação.	Calendário das agências de defesa agropecuária.
Clostridioses	Bezerros: vacinar aos 90d e reforço 30d após.	Ano todo.
Raiva	A partir do 4º mês de vida. Repetir Anualmente.	Anual.

Tuberculose	Realizar exames em todo rebanho a partir de 2 meses.	Junho a dezembro.
Tripanossomíase	Tratar os animais infectados.	Ano todo.
Doenças carenciais	Suplementação mineral.	Ano todo.
Plantas tóxicas	Limpeza e retirada das plantas da propriedade.	Principalmente nos meses de clima seco.
Brucelose	Vacinar fêmeas de 3-8 meses.	Maió a novembro.
Leptospirose	Vacinar animais em reprodução, semestralmente, com variantes de ocorrência na região.	Maió e novembro.
IBR/BVD	Vacinar animais em reprodução anualmente.	Setembro.
Neosporose	Evitar contato de cães com bubalinos.	Quando ocorrer.
Tricomoníase	Descanso sexual por 4-5 meses.	Quando ocorrer.
Campilobacteriose	Descanso sexual por 6 meses nas fêmeas e tratamento no macho.	Quando ocorrer.

Adaptado de ADLAKHA; SHARMA (2012).

3.4 Estresse térmico

Segundo Perera (2011), os cios são, na maioria das vezes, concentrados à noite — visto que a temperatura é mais amena durante esse período. Essa concentração de estro durante a noite pode ser observada na Tabela 5.

Tabela 5 — Observação de estro em diferentes períodos do dia

Número de animais	76
Número de estros observados	150
Manhã (entre 7-12h)	16 (10,6%)
Tarde (entre 12-17h)	8 (5,3%)
Noite (entre 17-7h do dia seguinte)	126 (84,0%)

Adaptado de VALE et al. (1984).

Segundo Perera (1988), à medida em que os ruminantes tendem ao ócio durante os períodos de maior calor do dia, supõe-se que esse predomínio de manifestações estrais das

búfalas se deva ao estresse, que força os animais a permanecerem em descanso e prejudica a manifestação dos sinais. De acordo com Zhengkang *et al.* (1994) apud Garcia (2006), a intensidade da radiação solar afeta diretamente o comportamento e a fisiologia dos animais domésticos e determina a sua adaptabilidade ao ambiente físico.

De acordo com Garcia (2013), a temperatura corpórea é regulada por ação do sistema nervoso autônomo, sendo que o hipotálamo funciona como um termostato e controla o sistema hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA). Sob condição de estresse, o hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotrofinas, promovendo a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Segundo Tilbrook *et al.* (2000), a ativação do eixo HHA pode afetar diretamente o hipotálamo, a hipófise e as gônadas, com reflexos diretos na reprodução animal: reduzindo a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e das próprias gonadotrofinas, principalmente do hormônio luteinizante (LH); além de diminuir a função dos folículos ovarianos e do corpo lúteo, acarretando uma redução nos níveis circulantes de estradiol, atribuída à menor capacidade esteroidogênica de folículos sob estresse térmico (MEGAHED *et al.*, 2008). Além disso, de acordo com Roy e Prakash (2007) apud Garcia (2013), durante o estresse térmico, a alta secreção de prolactina contribui para reduzir a secreção de hormônios gonadais, como a progesterona, diminuindo a fertilidade.

4 DESENVOLVIMENTO DE AVALIAÇÃO OBSERVACIONAL

4.1 Contextualização da avaliação

A definição do tema proposto para este Trabalho de Conclusão de Curso é fruto de dúvidas que surgiram ao longo do período de estágio com o rebanho de bubalinos da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, onde foi possível acompanhar, a campo, manejos reprodutivos e determinação de avaliações que objetivam identificar os principais fatores que influenciam a manifestação da puberdade. Para tanto, serão descritas e discutidas as formas e resultados obtidos até o dia 2 de setembro de 2022, prazo anterior à apresentação deste documento.

4.2 Caracterização do Rebanho

Foram avaliadas dezesseis fêmeas bubalinas pré-púberes das raças Murrah, Mediterrânea e seus respectivos cruzamentos. Os animais foram divididos em dois grupos: lote A, composto por oito fêmeas (n=8) nascidas no ano de 2020 – as avaliações e informações referentes ao lote A foram obtidas do banco de dados do Setor de Bubalinos da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; e lote B, composto por oito fêmeas (n=8) nascidas no ano de 2021, cuja obtenção de dados foi realizada ao decorrer deste trabalho.

Os animais são pertencentes à Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no município de Eldorado do Sul, no estado do Rio Grande do Sul, com as coordenadas geográficas 30°05'31"S e 51°40'18"W. As fêmeas são criadas para aptidão leiteira em sistema extensivo, com pastagem de campo nativo, sal mineral e água *ad libitum*. Ao longo do ano, além do acesso ao campo nativo, os animais têm acesso a uma pastagem cultivada de aveia e azevém para o período do inverno, e *Panicum maximum* cv MG12 Paredão para o período do verão.

4.3 Manejo Sanitário

Todos os animais obedeceram ao protocolo de vacinas obrigatórias, estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e contavam com calendário de vermifugação atualizado. O manejo sanitário é realizado anualmente de acordo com o calendário sanitário da Estação Experimental Agronômica da UFRGS. São aplicadas vacinas contra brucelose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose, clostridiose, campilobacteriose e anualmente a antirrábica. Além disso, os animais foram testados para brucelose e tuberculose conforme o Plano Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCETB).

4.4 Avaliações

As avaliações ultrassonográficas do trato reprodutivo foram realizadas durante os meses de inverno, época reprodutiva favorável à espécie bubalina. As mensurações de desenvolvimento dos animais, bem como as informações de manejo de cada lote, foram coletadas no período compreendido entre o nascimento e a primeira ovulação, entre a primavera e o inverno.

4.4.1 Ganho de Peso e Desenvolvimento Corporal

Foram coletados dados (lotes A e B) referentes às pesagens no nascimento, aos 205 dias (desmame corrigido), aos 14, 16 e 18 meses (realizadas com balança Tru-Test modelo 5000), para acompanhamento do desenvolvimento dos animais e obtenção dos ganhos médios diários (GMD). As informações referentes aos animais do lote A foram obtidas por meio de um banco de dados do rebanho.

4.4.2 Ultrassonografia

As avaliações referentes às fêmeas do lote A foram realizadas no ano de 2021, realizadas pela Médica Veterinária da EEA em regime de manejo padrão, sendo obtidas através do banco de dados do rebanho. As ultrassonografias foram realizadas aos 12 e 15 meses de idade,

totalizando 2 avaliações ultrassonográficas, como manejo de rotina, para acompanhamento e planejamento do manejo reprodutivo, durante o período de abril até agosto de 2021.

Para as fêmeas do lote B, foram determinados protocolos de avaliação ultrassonográfica: quinzenal, entre o período de 14 aos 16 meses; e semanal, dos 16 aos 18 meses. Ao total, 11 avaliações foram realizadas durante o período de maio até setembro de 2022.

Foi realizada a avaliação, por um único operador, do trato reprodutivo por via transretal com auxílio de aparelho de ultrassonografia Aloka SSD-500 equipado com um transdutor linear de 5.0 MHz em modo B e tempo real. Os materiais fecais do reto foram removidos antes de inserir o transdutor. Para a medição dos órgãos a imagem obtida foi congelada na tela e o tamanho das estruturas foi determinado e registrado. O útero foi avaliado transversalmente e longitudinalmente e seus cornos mensurados em centímetros de forma transversal. Cada ovário foi avaliado em vários planos e mensurado em centímetros de forma longitudinal. Quando presente e mensurável, o maior folículo de cada ovário foi mensurado para obtenção do diâmetro folicular. Os folículos foram mensurados em milímetros e os que obtiveram diâmetro menor que 3 mm não foram considerados. O início da ciclicidade foi determinado pelo acompanhamento do crescimento folicular e posterior detecção de um corpo lúteo. Os corpos lúteos, quando presentes, foram mensurados em milímetros. Através dessas mensurações, foi avaliado o desenvolvimento do trato reprodutivo dos 14 aos 18 meses.

4.5 Análise estatística

Os dados referentes às avaliações de trato reprodutivo e desenvolvimento, com as devidas identificações de animal e lote, foram transferidos e organizados em planilhas do programa Microsoft Excel 2013 para a obtenção de médias, desvio padrão, elaboração de tabelas e de gráficos para análise descritiva. Os resultados foram submetidos à avaliação no Software RStudio 3.4 por análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância para comparação entre os resultados obtidos nos lotes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos lotes e seus respectivos manejos

O lote A foi composto por 8 fêmeas nascidas no início do outono, com média de nascimentos concentrada em abril de 2020. Os animais permaneceram como lactentes até os 5 meses de idade, em pastagem de campo nativo e *Panicum maximum* cv MG12 Paredão durante o verão e em pastagem de aveia e azevém durante o inverno. Foram desmamadas em setembro, no início da primavera, sendo separadas das mães e alocadas em pastagem de aveia e azevém, permanecendo até janeiro de 2021. Os animais foram desmamados na troca de estação, do inverno para a primavera, época de vazio forrageiro, com média de peso de $175,25 \pm 14,05$ kg.

Durante o verão, os animais ficaram em pastagem de *Panicum maximum* cv MG12 Paredão, em sistema rotatínuo, permanecendo de fevereiro até maio. Próximo dos 14 meses, no outono, época favorável para a reprodução da espécie, foi introduzido no rebanho um macho sexualmente maduro para detecção de cio e realização da estação de monta através de monta natural. O touro foi inserido no rebanho no mês de junho de 2021 e a proporção foi de um touro para 13 fêmeas, 8 fêmeas pré-púberes (lote A) mais 5 fêmeas múltiparas cíclicas. O touro permaneceu com o rebanho até o final do ano de 2021.

O lote B foi composto por 8 fêmeas nascidas no verão, com média de nascimentos concentrada em março de 2021. Os animais permaneceram lactentes até os 9 meses de idade, em pastagem de campo nativo e *Panicum maximum* cv MG12 Paredão durante o verão e em pastagem de aveia e azevém durante o inverno. Foram desmamados mais tardiamente, com média de peso de $251,50 \pm 38,63$ kg em dezembro de 2021, no verão, com o uso de tabuleta e permaneceram junto com o rebanho em pastagem de campo nativo até janeiro, quando tiveram acesso à pastagem cultivada de *Panicum maximum* cv MG12 Paredão duas vezes ao mês, além do acesso ao campo nativo. O período foi marcado por forte estiagem, a maior dos últimos 60 anos segundo a Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural (2021), que durou de agosto de 2021 até março de 2022. A redução do volume pluviométrico diminuiu em 60% a disponibilidade de forragem naquela estação (desmame) e na estação seguinte (12 aos 16 meses). Próximo dos 14 meses, no outono, foi introduzido no rebanho um macho sexualmente maduro para detecção de cio e realização da estação de monta através de monta natural. A

proporção foi de um touro para 21 fêmeas, 8 fêmeas pré-púberes (lote B) e 13 fêmeas multíparas cíclicas. O touro foi inserido no rebanho no mês de junho de 2022, época reprodutiva favorável para a espécie, e permaneceu com o rebanho até a conclusão do presente trabalho.

5.2 Desenvolvimento Ponderal

5.2.1 Ganho de Peso e Ganho Médio Diário

Na Tabela 6 estão descritos os resultados das médias de peso das fêmeas que compõem os lotes A e B, desde o nascimento até os 18 meses.

Tabela 6 — Comparativo de desenvolvimento (kg) entre os lotes A 20/21 e B 21/22 em diferentes idades (meses)

Lote	Pesos (kg)				
	Nascimento	205 dias*	12 meses	16 meses	18 meses
Lote A	38,56 ^a	218,30 ^b	349,79 ^a	367,86 ^a	415,94 ^a
Lote B	40,87 ^a	242,26 ^a	334,39 ^a	332,83 ^b	371,96 ^b

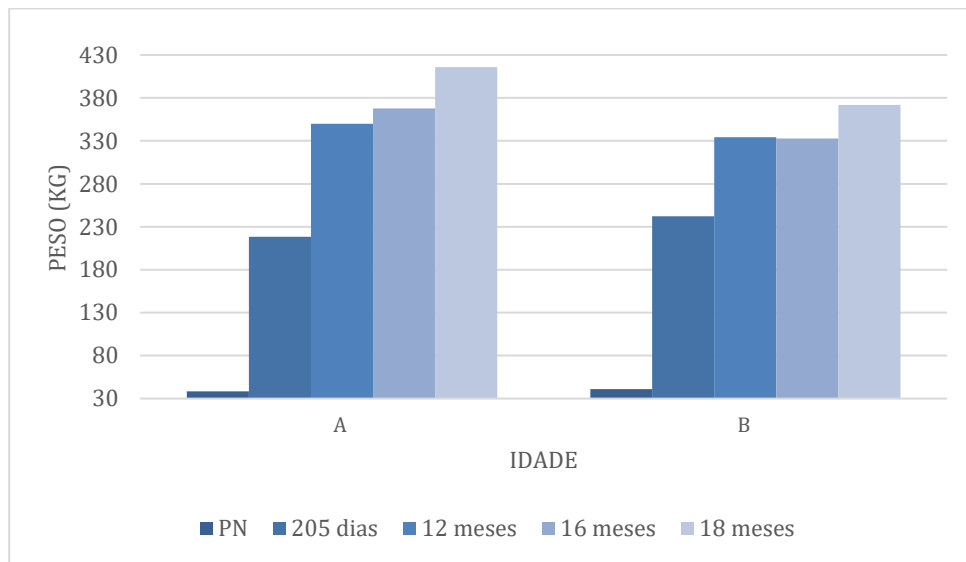
Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0.05$).

* Peso de desmame ajustado para 205 dias.

Fonte: a própria autora.

É possível observar que não houve diferença estatística para peso médio ao nascimento, bem como para peso médio aos 12 meses. No entanto, os resultados de peso aos 16 meses mostraram diferença estatística entre os lotes A e B diferindo o desenvolvimento dos animais de anos distintos. Os valores médios de peso aos 16 meses do lote B foram 9,52% inferiores ao lote A, apresentando diferença estatística no peso médio aos 18 meses, com diferença de 10,57%, caracterizando o menor ritmo de crescimento, possivelmente associado à baixa oferta de alimento, ilustrado na Figura 2.

Figura 2 — Gráfico de barras para comparativo do peso médio (kg) dos lotes A (20/21) e B (21/22) em diferentes idades (meses)



Fonte: a própria autora.

Os animais do lote B foram desmamados com idade mais alta, tendo o leite como fonte de energia, além de forrageiras. Possivelmente esse fator influenciou diretamente no peso médio superior do lote B, em comparação com o lote A, aos 205 dias (desmame ajustado). Corroborando, os resultados obtidos para GMD (Tabela 7) no período compreendido entre o nascimento e os 205 dias de idade foram 877 g/d no lote A e 982 g/d no lote B. Permanecendo um período mais longo em lactação, os animais do lote B puderam ganhar mais peso à medida que iam se adaptando à ingestão de forragem, enquanto os animais do lote A tiveram que depender apenas de uma fonte de energia. Sendo desmamado aos 5 meses, o lote A sofreu muito mais estresse, por se tratar de animais mais jovens, e pela condição do desmame, sendo separados das mães e levados para outro campo da fazenda; enquanto o lote B, com o uso de tabuleta, permaneceu junto ao rebanho. Levando em consideração os fatores relatados, os resultados obtidos para peso médio aos 205 dias e GMD aos 205 dias foi inferior no lote A. Estes resultados estão de acordo com os descritos por Kumar *et al.* (2017), que trabalhando com bezerros búfalos, concluíram que o peso corporal e o ganho médio diário foram significativamente maiores nos bezerros búfalos amamentados por um maior período do que em comparação com os desmamados precocemente. Na média de peso, aos 12 meses houve uma grande eficiência do lote A em manter e ganhar peso, ultrapassando o peso do lote B no período compreendido entre os 205 dias e os 12 meses no período do verão. Nos resultados

obtidos para GMD, dos 205 dias aos 12 meses foram obtidos os valores de 822 g/d e 575 g/d, para os lotes A e B, respectivamente

Tabela 7 — Ganho médio diário entre os lotes A 20/21 e B 21/22 em diferentes idades

Lote	Ganho Médio Diário (kg)			
	N-205d	205d-12m	12m-16m	16m-18m
Lote A	0,877	0,822	0,150	0,740
Lote B	0,982	0,576	-0,013	0,602

Fonte: a própria autora.

Importante salientar que ambos os lotes apresentaram valores extremamente baixos de GMD no período, que foi compreendido pelo início do outono, época de troca de estação, muito desafiadora, visto que a qualidade das forrageiras de verão estava criticamente baixa e as forrageiras de inverno ainda não haviam se estabelecido. O balanço energético negativo fica evidenciado com a perda de peso total dos animais do lote B de 1,56 kg durante o período dos 12 aos 16 meses. Neste período o lote A obteve GMD de 150 g/d, quase atingindo o limite para manutenção, já o lote B obteve valor negativo no GMD, perdendo 13 g/dia.

O fator crucial para valores tão baixos de GMD no lote B foi certamente as condições adversas de clima: a estiagem já se estendia desde o ano anterior, comprometendo o volume (60% abaixo do esperado) e a qualidade das forrageiras utilizadas para pastoreio. Estes resultados corroboram com Magalhães *et al.* (2012), que afirma que na época seca ocorre uma redução no ganho de peso, e até mesmo perda de peso dos animais devido à redução no valor nutricional do alimento volumoso disponível para pastejo, tornando-se a época crítica de produção.

No período dos 16 aos 18 meses os lotes voltaram a apresentar GMD de melhores valores, o lote A obteve o valor de GMD de 739g/d e o lote B obteve o valor de GMD de 602g/d. Tal recuperação se deve à maior oferta de volume de forrageiras com qualidade e o fim do período de estiagem no estado do RS. Esses resultados corroboram com os encontrados por Ranjhan (1980), que sugeriu que uma taxa de crescimento de 700 g/d pode ser alcançada com uma disponibilidade de forragem de qualidade.

Foi observado que os animais do lote A e B obtiveram cerca de 55-60% do peso adulto médio do rebanho (550 kg) aos 16 meses. Tal peso é relatado por Bhattacharya (1974), como

sendo o valor mínimo para que fêmeas atinjam a puberdade, discordando dos resultados observados no atual estudo – visto que apenas o lote A atingiu a puberdade com prenhez aos 16 meses, quando apresentou 68% do peso adulto médio do rebanho, sendo que, os animais de ambos os lotes obtiveram o peso mínimo esperado (60%), mas no lote B não se tornaram púberes. Isso sugere que o peso, de forma isolada, não é suficiente para prever a idade a puberdade. Na Tabela 8 podemos perceber que houve uma diferença entre os lotes no número de animais que se tornaram púberes.

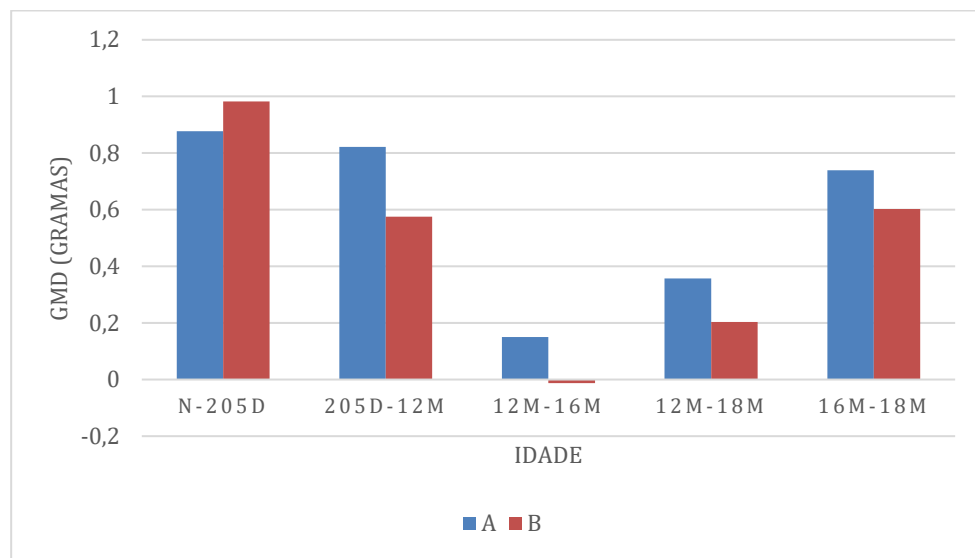
Tabela 8 — Relação peso (kg) e idade (meses) das fêmeas bubalinas que atingiram a puberdade

	Idade (meses)	Média de peso (kg)	Nº de animais púberes (presença de corpo lúteo)	Porcentagem de animais púberes
Lote A	16	367,86	8 (n=8)	100,00%
Lote B	16	332,83	0 (n=8)	0,00%

Fonte: a própria autora.

Observando a tabela acima, podemos perceber que 100% do lote A atingiu com êxito a puberdade com peso semelhante ao descrito por Drost (2007), que relata que as fêmeas devem obter 60% do peso vivo adulto para atingir a puberdade. Ainda podemos observar que as fêmeas do lote A atingiram a puberdade com idade inferior ao relatado por alguns autores, como observado anteriormente (Tabela 3). Na literatura consta que a entrada em puberdade depende principalmente de um bom desenvolvimento corporal. Podemos perceber que o lote A atendeu a esse requisito, obtendo um bom GMD as fêmeas puderam apresentar puberdade mais precoce. Enquanto o lote A estava acima do ponto de corte de 60% de peso adulto médio, 368 kg, sendo 68% do peso adulto do rebanho (550 kg), o lote B com a mesma idade, estava no limite mínimo do ponto de corte para peso à puberdade (60%), com 330 kg, valor de GMD inferior e diferença de 40 kg para o lote A. Isso mostra uma realidade geral dos rebanhos bubalinos no estado, que depende da oferta de alimentos, muitas vezes escassa e variável, ficando refém de um baixo desenvolvimento, gerando atraso na idade à puberdade e comprometendo a reprodução. Com isso, podemos observar a Figura 3, referente aos ganhos médios diários de cada lote em barras.

Figura 3 — Gráfico de barras com valores de ganhos médios diários (g) dos lotes A e B durante o período total de observação



Fonte: a própria autora.

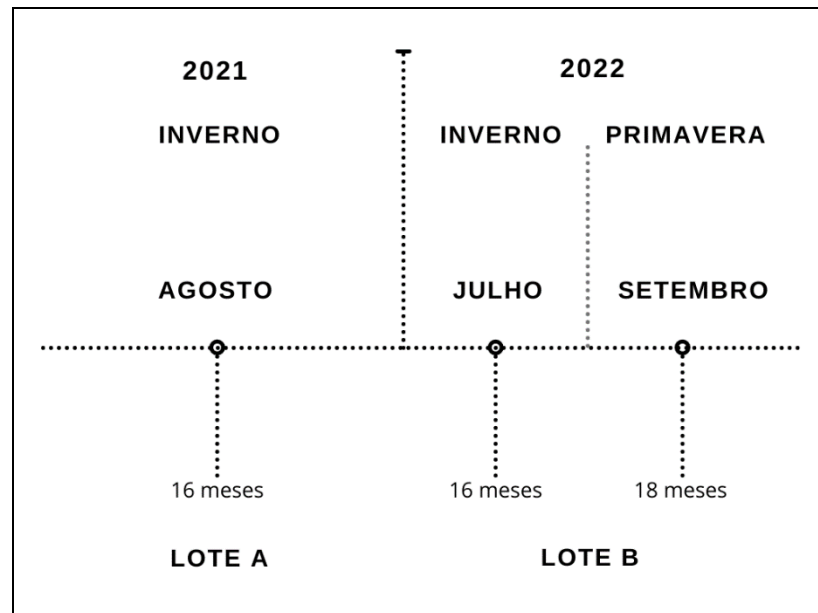
Observando a Figura 3, fica evidente a diferença nos ganhos médios diários dos lotes ao longo do período avaliado. Esse parâmetro foi diretamente afetado pelas condições climáticas, conforme comentado anteriormente, mas serviu para mostrar que os valores de GMD são essenciais para que fêmeas pré-púberes atinjam a puberdade. Esses resultados concordam com os encontrados por Barile (2005), que concluiu que os animais que apresentaram maior ganho diário antes dos ensaios atingiram a puberdade em menor tempo. Portanto, mesmo com idades iguais, as fêmeas tiveram pesos diferentes. O fato de que as novilhas do lote A estavam em balanço energético positivo, isto é, ganhando peso, como evidenciado no GMD entre 12 e 16 meses, foi fundamental para a entrada em puberdade. Enquanto as fêmeas do lote B, pela menor oferta de alimentos, não apresentaram a mesma condição e, anterior aos 16 meses, tiveram balanço energético negativo, o que possivelmente interferiu na prorrogação da manifestação da puberdade.

Ambos os lotes tiveram um período de escassez de alimento, no entanto, o lote que se manteve melhor ao longo da maioria dos períodos demonstrou precocidade quando comparado ao lote que perdeu peso. Tais resultados corroboram com Diskin et al. (2003) que demonstraram que a interrupção no crescimento, mesmo que sutil, em novilhas bubalinas em 22 dias já conduziu ao anestro. Haldar e Prakash (2005), em um estudo com fêmeas bubalinas pré-púberes, relataram que, para proporcionar GMD de 400 g/d, novilhas bubalinas foram

suplementadas e atingiram a puberdade com peso de 380,67 kg, semelhante ao observado no presente estudo, mas com uma idade muito superior: 31,5 meses.

Outro fator, somado aos anteriores, também pode ter interferido na precocidade dos animais: o fotoperíodo. Concomitantemente, aos 16 meses do lote A, tínhamos o período de inverno, fotoperíodo favorável à reprodução na espécie bubalina. Já no período dos 16-18 meses do lote B, os animais já se encontravam numa situação mais desfavorável de fotoperíodo, o final do inverno, podendo perceber a chegada da primavera com o aumento gradativo das horas de luz do dia. No desenho esquemático a seguir, Figura 4, podemos observar essa diferença nos períodos em que os lotes atingiram 16 meses de idade.

Figura 4 — Linha temporal para ilustrar os animais dos lotes A e B com mesma idade, mas em estações do ano distintas



Fonte: a própria autora.

Anjum et al. (2012) observaram que apenas 20% de novilhas bubalinas atingiram a puberdade na estação reprodutiva favorável, com peso mínimo de 60% do peso vivo adulto. Nos meses seguintes, o restante das fêmeas atingiu a puberdade, com 60% do peso vivo adulto, independentemente da estação reprodutiva desfavorável (fotoperíodo positivo). Portanto, é provável que tal fator isoladamente não seja o responsável pelo atraso da puberdade nas novilhas do lote B, sendo o peso o fator de maior impacto.

5.3 Desenvolvimento do Sistema Reprodutivo

5.3.1 Ovários, Folículos e Cornos Uterinos

Na Tabela 9 estão descritos os resultados de desenvolvimento das estruturas reprodutivas das fêmeas que compõem o lote B ao longo das avaliações.

Tabela 9 — Morfometria do sistema reprodutivo das fêmeas do lote B, dos 14 aos 18 meses

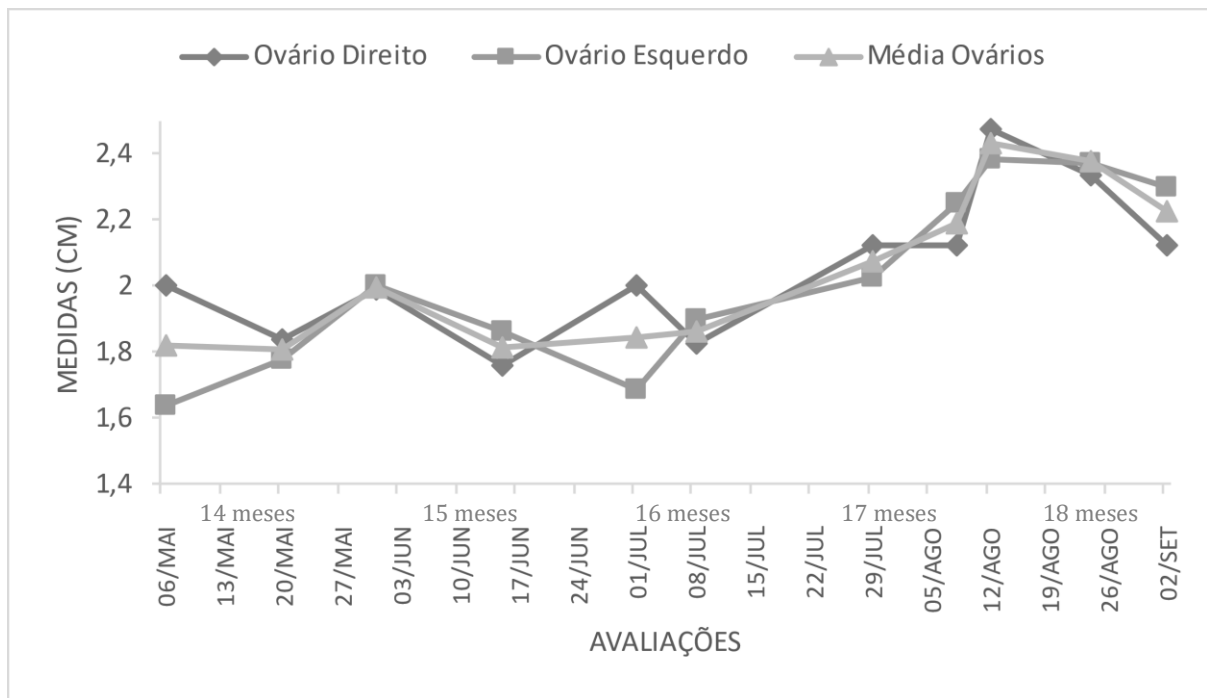
Avaliação	Folículos (mm)	Ovário direito (cm)	Ovário Esquerdo (cm)	Média dos Ovários (cm)	Cornos uterinos (cm)
06/05/2022	5,30 ^b ± 1,36	2,00 ^{abc} ± 0,52	1,63 ^c ± 0,24	1,81 ^e ± 0,33	1,18 ^a ± 0,24
20/05/2022	6,50 ^{ab} ± 2,07	1,83 ^{bc} ± 0,24	1,77 ^c ± 0,39	1,80 ^e ± 0,23	1,02 ^{ab} ± 0,25
31/05/2022	5,57 ^b ± 2,15	1,98 ^{abc} ± 0,37	2,00 ^{abc} ± 0,33	1,99 ^{cde} ± 0,24	1,06 ^{ab} ± 0,07
15/06/2022	5,83 ^b ± 1,72	1,76 ^c ± 0,39	1,86 ^{bc} ± 0,29	1,81 ^e ± 0,22	0,96 ^{ab} ± 0,13
01/07/2022	6,25 ^{ab} ± 1,70	2,00 ^{abc} ± 0,39	1,68 ^c ± 0,30	1,84 ^{de} ± 0,27	1,02 ^{ab} ± 0,10
08/07/2022	6,83 ^{ab} ± 2,64	1,82 ^{bc} ± 0,18	1,90 ^{bc} ± 0,22	1,86 ^{de} ± 0,14	1,02 ^{ab} ± 0,17
29/07/2022	8,37 ^{ab} ± 1,92	2,12 ^{abc} ± 0,20	2,02 ^{abc} ± 0,30	2,07 ^{bcd} ± 0,16	1,02 ^{ab} ± 0,10
08/08/2022	7,14 ^{ab} ± 1,35	2,12 ^{abc} ± 0,31	2,25 ^{ab} ± 0,20	2,18 ^{abcd} ± 0,23	0,92 ^{ab} ± 0,08
12/08/2022	8,30 ^{ab} ± 2,80	2,47 ^a ± 0,17	2,38 ^a ± 0,17	2,43 ^a ± 0,11	0,86 ^b ± 0,07
24/08/2022	9,00 ^{ab} ± 2,58	2,33 ^{ab} ± 0,27	2,37 ^a ± 0,13	2,38 ^{ab} ± 0,11	1,02 ^{ab} ± 0,09
02/09/2022	10,50 ^a ± 1,87	2,12 ^{abc} ± 0,22	2,30 ^{ab} ± 0,17	2,22 ^{abc} ± 0,14	1,12 ^{ab} ± 0,24

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Fonte: a própria autora.

Os resultados nas avaliações para tamanho de ovários e tamanho de folículos evidenciam diferença entre as avaliações com 14 meses e as avaliações aos 18 meses, i.e., conforme a idade e o peso dos animais aumentaram foi possível observar um desenvolvimento das estruturas que compõem o sistema reprodutivo, com exceção dos cornos uterinos. Terzano et al. (2007), em um estudo com fêmeas bubalinas pré-púberes, concluíram que o tamanho dos ovários aumentou conforme a idade e o peso dos animais. Podemos observar um aumento gradativo no tamanho dos ovários ao longo do tempo na Figura 5.

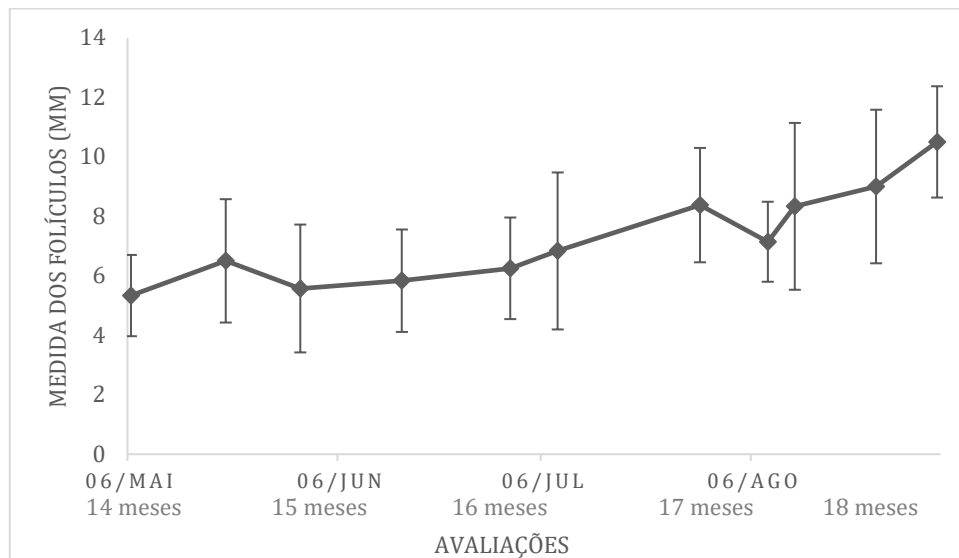
Figura 5 — Desenvolvimento das estruturas reprodutivas dos animais do lote B ao longo das observações



Fonte: a própria autora.

Conforme os folículos foram aumentando de diâmetro, os ovários também começaram a se desenvolver e aumentar de tamanho. Podemos observar, na Figura 5, a tendência de crescimento ao longo dos meses avaliados, com valor médio de ovários de $1,81 \pm 0,33$ cm ao início das observações, quando os animais estavam com média de idade de 14 meses. Já no final das observações, aos 18 meses, podemos perceber um aumento significativo no tamanho médio dos ovários. Com comprimento de $2,22 \pm 0,14$ cm, o resultado é semelhante ao descrito por Vale e Ribeiro (2005), Fadle et al. (1974) e Danell (1987) que registraram valores para média de ovários D/E de 2,5 – 3,0 cm, 2,3 cm e 2,27, respectivamente. Ao início das avaliações, nenhum animal havia manifestado qualquer sinal de puberdade e os folículos presentes nos ovários eram inferiores a 4 mm, sendo este ovário classificado como polifolicular, sem a presença de um folículo dominante. Para a obtenção da média dos folículos só foram mensurados os diâmetros de folículos ≥ 4 mm.

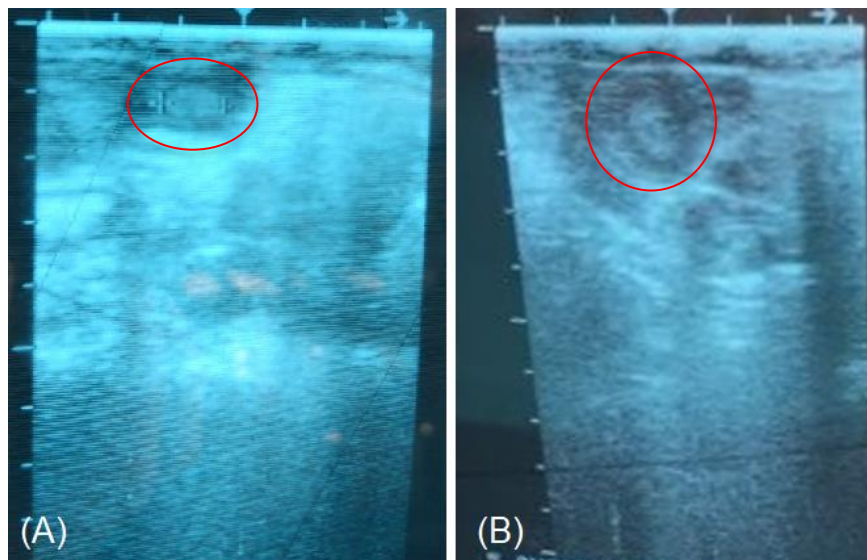
Figura 6 — Diâmetro médio (mm) e desvio padrão dos folículos mensurados ao longo das avaliações nas fêmeas bubalinas do lote B



Fonte: a própria autora.

As médias obtidas em cada avaliação indicam que houve diferença estatística no tamanho dos folículos entre as observações, demonstrando um aumento do tamanho dos folículos conforme o peso e a idade dos animais avançavam. Como pode ser observado (Tabela 9), a média dos folículos na primeira avaliação, aos 14 meses, foi de $5,30 \pm 1,36$ mm. Esse resultado é inferior ao encontrado por Sanchez (2018), que registrou em búfalas cíclicas folículos dominantes com diâmetro de 12 mm. Podemos perceber que o diâmetro médio dos folículos na última avaliação, aos 18 meses, mostrou-se expressivamente maior às anteriores, com $10,50 \pm 1,87$ mm. Este resultado é superior aos resultados encontrados por Abulaiti et al. (2022) e Presicce (2002), que encontraram folículos dominantes com diâmetro médio de $9,2 \pm 2,0$ mm e $8,4$ mm, respectivamente. Os animais foram considerados púberes quando foi detectado no ovário um corpo lúteo por imagem ultrassonográfica, semelhante ao registrado na Figura 7.

Figura 7 — Registro ultrassonográfico de ovário de búfala com presença de corpo lúteo com diâmetro de 10 mm (A) e 13 mm (B) em fêmeas púberes aos 17 meses de idade



Fonte: a própria autora.

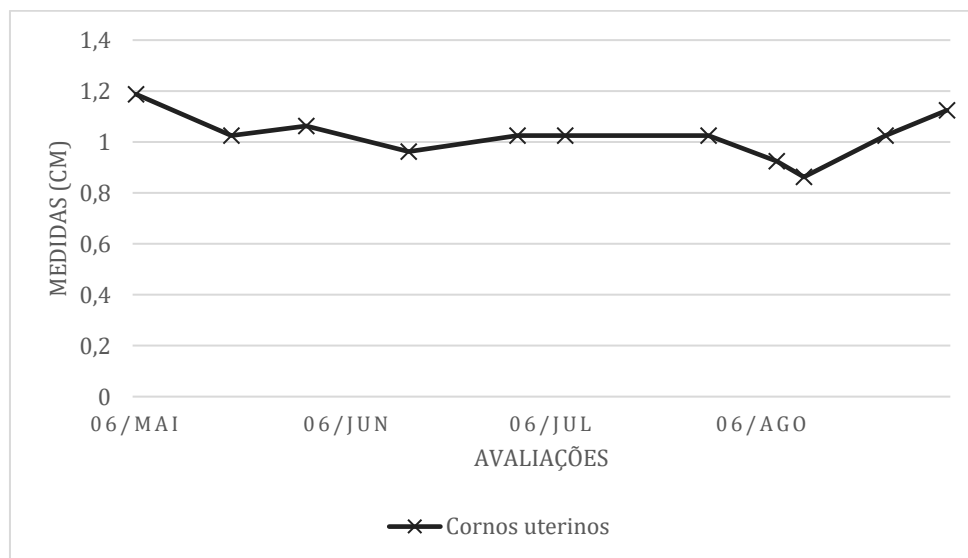
A partir das avaliações ultrassonográficas dos 17 meses, no dia 12 de agosto, foi detectado o primeiro corpo lúteo. A fêmea que atingiu a puberdade antes das demais tinha o maior peso do lote (380 kg) e apresentou um corpo lúteo com diâmetro de 13 mm. Tal resultado está de acordo com o observado por Perera (2011), que registrou corpos lúteos de 12 a 17 mm de diâmetro e com Leal (2008), que reportou em búfalas cíclicas CL com diâmetro médio de $12,7 \pm 5,7$ mm. Com o avanço da idade dos animais e incremento no peso corporal, as mudanças fisiológicas começaram a ser percebidas. Neste período, os animais do lote B já haviam atingido o valor mínimo descrito na literatura para aquisição da puberdade (60% do peso vivo adulto), no entanto, ainda estavam no limite do ponto de corte, tendo fêmeas com pesos mais baixos e outras com pesos mais altos. Desta forma, conforme os animais foram tendo um maior desenvolvimento corporal, as mudanças fisiológicas foram sendo percebidas. Este resultado corroborou com o observado por Baychev (2007), que relatou novilhas bubalinas atingindo a puberdade com peso corporal de 380 kg, mesmo peso da primeira fêmea do lote B que se tornou púbere, mas com idade inferior, de 14 meses. Com isso podemos perceber que o desenvolvimento corporal dos animais, principalmente o peso, é o fator mais relevante para a entrada em puberdade.

Na avaliação posterior a essa, no dia 24 de agosto, outras 3 fêmeas também possuíam corpo lúteo no ovário e o diâmetro médio foi de 11 mm, demonstrando que pode haver uma correlação positiva entre o tamanho de ovários e folículos e a chegada na puberdade. Esse

resultado foi inferior ao reportado por Barile et al. (2007), que em búfalas cíclicas registraram CL com diâmetro médio de $16,6 \pm 1,0$ mm. O lote B, ao final das observações, no dia 2 de setembro, obteve taxa de 50% de fêmeas que atingiram a puberdade ($n=4$). Em função dos prazos de entrega deste trabalho, as avaliações ficaram limitadas devido aos prazos estipulados, sendo encerradas aos 17 meses das fêmeas do lote B.

Nos resultados de tamanho de cornos uterinos não houve diferenças estatísticas ao longo do período observado, como podemos ver na Figura 8, mesmo quando comparados às observações com idade mais jovem e as observações com idade e peso mais avançados. E esses resultados são inferiores aos reportados por Luktuke e Rao (1962), Sane *et al.* (1964; 1965) e El-sheikh e Abdelhadi (1970).

Figura 8 — Mensurações de cornos uterinos das fêmeas bubalinas pré-púberes do lote B ao longo das avaliações



Fonte: a própria autora.

6 CONCLUSÃO

A idade em que novilhas bubalinas atingem a puberdade pode ser variável, sendo diretamente influenciada por fatores ambientais e, principalmente, nutricionais. O manejo nutricional deve visar não somente o peso, mas uma estabilidade de ganho de peso, para que se mantenha constante. O animal que for submetido a manejo alimentar inadequado nas fases anteriores ao primeiro serviço, poderá ter um aumento na idade à puberdade, principalmente se houver períodos de balanço energético negativo. Se mostrou mais importante um ganho médio diário constante do que ter um GMD crescente, desde que não haja quedas bruscas nem perda de peso. Também ficou evidente no atual estudo que o peso ideal para que fêmeas atinjam a puberdade está mais próximo de 65% do peso vivo adulto. Além disso, pode-se concluir que o desenvolvimento das estruturas reprodutivas se dá gradativamente, conforme o desenvolvimento corporal e o ganho de peso. Dessa forma, percebe-se que pode haver uma correlação positiva entre o tamanho dessas estruturas e a chegada na puberdade.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A puberdade não é um evento isolado, para tanto é dependente de diversos fatores. A puberdade precoce na búfala, com 16 meses, pode ser atingida desde que a fêmea receba uma nutrição adequada desde o nascimento até o primeiro serviço. Ao final do estudo ficou evidente a importância de um bom planejamento forrageiro, visto que a disponibilidade de forragens, em quantidade e qualidade, é um fator crucial para os sistemas de criação a pasto. A suplementação dos animais em períodos mais críticos do ano se mostra uma estratégia interessante para o aumento nos índices reprodutivos de rebanhos bubalinos, evitando que os animais tenham seu desenvolvimento prejudicado em períodos desafiadores, como as épocas de vazão forrageiro, ou no caso de condições adversas, como a estiagem

REFERÊNCIAS

ABBAS, W. et al. Effect of Weaning Age and Milk Feeding Volume on Growth Performance of Nili-Ravi Buffalo Calves. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 3, p. 490–499, 22 fev. 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.1080/1828051x.2017.1291282>. Acesso em: 10 ago. 2022.

ABULAITI, A. et al. Follicular Dynamics during Estrous Cycle of Pubertal, Mature and Postpartum Crossbred (Nili Ravi x Jianghan) Buffaloes. **Animals**, v. 12, n. 9, p. 1208, 7 maio 2022. Disponível em: <http://doi.org/10.3390/ani12091208>. Acesso em: 10 ago. 2022.

AGUDELO-GÓMEZ, D.; HURTADO-LUGO, N.; CERÓN-MUÑOZ, M. F. Growth Curves and Genetic Parameters in Colombian Buffaloes (*Bubalus Bubalis Artiodactyla*, Bovidae). **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 22, n. 2, p. 178–188, 1 jun. 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/40374>. Acesso em: 17 ago. 2022.

ALAPATI, A. et al. Development of the Body Condition Score System in Murrah buffaloes: Validation through Ultrasonic Assessment of Body Fat Reserves. **Journal of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 1, 2010. Disponível em: <http://doi.org/10.4142/jvs.2010.11.1.1>. Acesso em: 14 ago. 2022.

ALVES, T. C.; FRANZOLIN, R. Growth Curve of Buffalo Grazing on a Grass Pasture. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 9, p. 321–326, set. 2015. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/s1806-92902015000900003>. Acesso em: 29 ago. 2022.

BARILE, V. L. Improving Reproductive Efficiency in Female Buffaloes. **Livestock Production Science**, v. 92, n. 3, p. 183–194, mar. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.06.014>. Acesso em: 18 ago. 2022.

BARUSELLI, P. S. et al. Ovarian Follicular Dynamics during the Estrous Cycle in Buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1531–1547, 1 jun. 1997. Disponível em: [http://doi.org/10.1016/s0093-691x\(97\)00159-3](http://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00159-3). Acesso em: 21 ago. 2022.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 293-298, 2007.

BERNARDES, O. Buffaloes breeding in Brasil. **Italian Journal Of Animal Science**, v. 6, n. 2, p. 162-167, jan. 2007.

BORGHESE, A.; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Buffalo Production and Research**. Rome: Fao, 2005.

CAMPANILE, G. Understanding the Function of the Corpus Luteum and the Onset of Puberty in buffalo. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 4, n. 2, 1 abr. 2009. Disponível em: <http://doi.org/10.1079/pavsnr20094002>. Acesso em: 13 ago. 2022.

CAMPANILE, G. et al. Ovarian Function in the Buffalo and Implications for Embryo Development and Assisted Reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 121, n. 1-2, p. 1–11, ago. 2010a. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.03.012>. Acesso em: 13 ago. 2022.

CAMPANILE, G. et al. Growth, Metabolic Status and Ovarian Function in Buffalo (*Bubalus bubalis*) Heifers Fed a Low Energy or High Energy Diet. **Animal Reproduction Science**, v. 122, n. 1-2, p. 74–81, out. 2010b. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.07.005>. Acesso em: 13 ago. 2022.

CARVALHO, N. et al. Biometry of Genital System from Buffalo (Murrah) and Bovine (Nelore) females. **Revista Veterinaria**, v. 21, n. 1, 2010.

DAY, M L; ANDERSON, L H. Current Concepts on the Control of Puberty in Cattle. **Journal Of Animal Science**, v. 76, n. 3, p. 1, 1998. Oxford University Press (OUP). Disponível em: http://doi.org/10.2527/1998.76suppl_31x. Acesso em: 26 set. 2022.

DESJARDINS, C.; HAFS, H. D. Maturation of Bovine Female Genitalia from Birth through Puberty. **Journal of Animal Science**, v. 28, n. 4, p. 502–507, 1 abr. 1969. Disponível em: <http://doi.org/10.2527/jas1969.284502x>. Acesso em: 10 ago. 2022.

DIAZ, J. D. S. et al. Diagnóstico ultra-sonográfico do momento ovulatório em búfalas (*Bubalus bubalis*) inseminadas no estro espontâneo e induzido. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 657–662, ago. 2001. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/s0103-84782001000400016>. Acesso em: 20 ago. 2022.

DROST, M. Bubaline versus Bovine Reproduction. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 447–449, ago. 2007. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.012>. Acesso em: 22 ago. 2022.

ENCONTRO INTERNACIONAL DE ATUALIZAÇÃO EM NUTRIÇÃO, MELHORAMENTO E REPRODUÇÃO EM BUBALINOS, 2007, Belém, Pará. **Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*)**. Belém: A.R. Garcia, 2006. 13 p. Disponível em: <http://www.bioclimatologia.ufc.br/garcia.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2022.

GANDRA, J. R. et al. Productive performance, Nutrient Digestion and Metabolism of Holstein (*Bos taurus*) and Nellore (*Bos Taurus indicus*) Cattle and Mediterranean Buffaloes (*Bubalis bubalis*) Fed with corn-silage Based Diets. **Livestock Science**, v. 140, n. 1-3, p. 283–291, set. 2011. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.04.005>. Acesso em: 18 ago. 2022.

GARCIA, A. R. Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 121–130, 2013. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-brasileira-de-reproducao-animal/37-\(2013\)-2/conforto-termico-na-reproducao-de-bubalinos-criados-em-condicoes-tropi](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-brasileira-de-reproducao-animal/37-(2013)-2/conforto-termico-na-reproducao-de-bubalinos-criados-em-condicoes-tropi). Acesso em: 11 ago. 2022.

GASSER, C. L. et al. Effect of Timing of Feeding a high-concentrate Diet on Growth and Attainment of Puberty in early-weaned heifers1. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 11, p. 3118–3122, 1 nov. 2006. Disponível em: <http://doi.org/10.2527/jas.2005-676>. Acesso em: 14 ago. 2022.

GIMENES, L. U. et al. Follicle Selection by Ultrasonography and Plasmatic Characteristics and Ovulatory Capacity in Buffaloes. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. 2, p. 629–631, jan. 2007. Disponível em: <http://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.629>. Acesso em: 15 ago. 2022.

GIMENES, L. U. et al. Ultrasonographic and Endocrine Aspects of Follicle deviation, and Acquisition of Ovulatory Capacity in Buffalo (*Bubalus bubalis*) Heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 123, n. 3-4, p. 175–179, fev. 2011. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.004>. Acesso em: 28 ago. 2022.

GUPTA, S. K. et al. Strategies for Attaining Early Puberty in Cattle and buffalo: a Review.

Agricultural Reviews, v. 37, n. 2, 7 jun. 2016. Disponível em: <http://doi.org/10.18805/ar.v37i2.10741>. Acesso em: 27 ago. 2022.

HONPARKHE, M.; GANDOTRA, V. K.; NANDA, A. S. Ultrasonographic Measurements in Comparison with the Rectal Palpation and Echotexture of Reproductive Organs of Buffaloes (*Bubalus bubalis*) during Different Stages of the Estrous Cycle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 17, n. 7, p. 919–923, 1 jan. 2004. Disponível em: <http://doi.org/10.5713/ajas.2004.919>. Acesso em: 27 ago. 2022.

INGOLE, S. D. et al. Endocrine Profile from Birth to Puberty in Buffalo Calves and Heifers. **The Indian Journal of Animal Sciences**, v. 81, n. 6, 2011. Disponível em: <https://epubs.icar.org.in/index.php/IJAnS/article/view/6232>. Acesso em: 18 ago. 2022.

IQBAL, Z. M. et al. Effect of Varying Levels of Concentrate on Growth Performance and Feed Economics in Nili-Ravi Buffalo Heifer Calves. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 41, n. 41, p. 775–780, jan. 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.3906/vet-1702-1>. Acesso em: 19 ago. 2022.

JAVED, K. et al. Nutritional Requirements of Dairy Buffalo. **Brazilian Journal of Science**, v. 1, n. 9, p. 1–8, 1 jul. 2022. Disponível em: <http://doi.org/10.14295/bjs.v1i9.86>. Acesso em: 23 ago. 2022.

K. SARJAN RAO, P. A.; Y. RAVINDRA REDDY, S. J. R.; J. V. RAMANA, P. R. S. M. Effect of Body Condition Score (BCSc) at Calving on Subsequent Reproductive Performance in Murrah and Grade Murrah Buffaloes under Field Conditions. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 10, n. 8, p. 531–544, 10 ago. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2021.1008.063>. Acesso em: 28 ago. 2022.

KHANUM, S. et al. Effect of Concentrate Supplementation on Age at Maturity in Growing Buffalo Heifers. **The Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 22, n. 3, p. 329–331, 2012.

KUMAR, A. et al. Performance of Murrah Buffalo and Their Calves under Weaning and Suckling System. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 7, p. 2452–2459, 10 jun. 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.348>. Acesso em: 28 ago. 2022.

KUMAR, V. Factors Affecting Performance of Indian Murrah Buffalo: a Review. **Journal of Buffalo Science**, v. 4, n. 1, p. 21–27, 2 abr. 2015. Disponível em: <http://doi.org/10.6000/1927-520x.2015.04.01.4>. Acesso em: 17 ago. 2022.

MARQUES, L. C. et al. Productive characteristics in dairy buffalo (*Bubalus bubalis*) in the Eastern Amazon. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 3, p. 947–954, 6 jul. 2020.

MELLO, R. R. C. et al. Biotécnicas da reprodução aplicada aos bubalinos (*Bubalus Bubalis*). **Pubvet**, v. 12, n. 10, p. 1–16, out. 2018. Disponível em: <http://doi.org/10.31533/pubvet.v12n10a185.1-16>. Acesso em: 14 ago. 2022.

NAEEM, M. J. Effect of Different Management Systems and Mineral Feeding on Age at Puberty Onset in NILI RAVI BUFFALO HEIFER. **Journal of Plant Biology and Agriculture Sciences**, v. 36, n. 1, 31 ago. 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/315845694_Effect_of_Two_Management_Systems_and_Mineral_Feeding_on_on_Age_at_Puberty_in_Nili-Ravi_Bufflo_Heifers. Acesso em: 16 ago. 2022.

NANDA, A.; BRAR, P.; PRABHAKAR, S. Enhancing Reproductive Performance in Dairy buffalo: Major Constraints and Achievements. **Bioscientifica Proceedings**, v. 61, 5 abr. 2019. Disponível em: <http://doi.org/10.1530/biosciprocs.5.003>. Acesso em: 14 ago. 2022.

NAQVI, A. N.; SHAMI, S. A. Comparative Performance of Early and Late Maturing Nili Ravi Buffalo Heifers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 12, n. 3, p. 336–340, 1 maio 1999. Disponível em: <http://doi.org/10.5713/ajas.1999.336>. Acesso em: 17 ago. 2022.

NAVA-TRUJILLO, H.; VALERIS-CHACIN, R.; QUINTERO-MORENO, A. Particularidades reproductivas de las búfalas De Agua (*Bubalus bubalis bubalis*). **Spermova**, v. 9, n. 2, p. 53–68, 31 dez. 2019. Disponível em: <http://doi.org/10.18548/aspe/0007.08>. Acesso em: 09 set. 2022.

NOGUEIRA, J. R. et al. Aspectos da eficiência reprodutiva de Bubalinos das raças Mediterrâneo e Jafarabadi. **Boletim de Indústria Animal**, v. 46, n. 1, p. 45–53, 1989. Disponível em: <http://www.iz.sp.gov.br/bia/index.php/bia/article/view/775>. Acesso em: 22 set. 2022.

OLIVEIRA, C. A. DE et al. Pelvimetria e pelvilogia em búfalas mestiças (*Bubalus bubalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 3, 2001. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/s1413-95962001000300004>. Acesso em: 18 ago. 2022.

OSWIN, P. B. Reproduction in Water buffalo: Comparative Aspects and Implications for Management. **Bioscientifica Proceedings**, v. 54, p. 157–168, 5 abr. 2019. Disponível em: <http://doi.org/10.1530/biosciprocs.4.012>. Acesso em: 24 ago. 2022.

PERERA, B. M. A. O. Reproduction in Domestic Buffalo. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 2, p. 200–206, 9 jul. 2008. Disponível em: <http://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01162.x>. Acesso em: 16 set. 2022.

PERERA, B. M. A. O. Reproductive Cycles of Buffalo. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3-4, p. 194–199, abr. 2011. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.022>. Acesso em: 28 ago. 2022.

PLANSKY, V.; DIMITROV, D. Puberty Age and Body Weight of the Water Buffalo Heifers. **Tradition and Modernity in Veterinary Medicine**, v. 5, n. 1, p. 25–28, 2020. Disponível em: <http://doi.org/10.5281/zenodo.3675083>. Acesso em: 02 set. 2022.

PRESICCE, G. A. et al. Hormonal Dynamics and Follicular Turnover in Prepuberal Mediterranean Italian Buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 60, n. 3, p. 485–493, 1 ago. 2003. Disponível em: [http://doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00034-7](http://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00034-7). Acesso em: 07 set. 2022.

SANCHEZ VALENCIA, J. A.; HELLEN ROMER, M. O; FERNANDO MENESES, A. Dinámica folicular durante el ciclo estral natural en búfalas (*Bubalus bubalis*). **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 30, n. 1, p. 299–308, 4 mar. 2019. Disponível em: <http://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.14610>. Acesso em: 26 ago. 2022.

SHARMA, R. K. et al. Ovarian Response of Prepubertal Murrah Heifers to Exogenous GnRH. **Animal Reproduction Science**, v. 133, n. 3-4, p. 153–158, ago. 2012. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.07.004>. Acesso em: 18 ago. 2022.

SINGH, G.; SINGH, G. B. Studies on Maturation of Genitalia in Murrah buffalo-heifers. **Theriogenology**, v. 23, n. 6, p. 857–862, jun. 1985. Disponível em:

[http://doi.org/10.1016/0093-691x\(85\)90003-2](http://doi.org/10.1016/0093-691x(85)90003-2). Acesso em: 18 set. 2022.

SIQUEIRA, J. B.; LEAL, L. S.; OBA, E. Dinâmica folicular ovariana na espécie bubalina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 3, p. 139–148, set. 2009. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/pag139-148.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2022.

TARIQ BODLA, M. et al. Effect of Two Management Systems and Mineral Feeding on Age at Puberty in Nili-Ravi Buffalo Heifers. **Buffalo Bulletin**, v. 36, n. 1, p. 27–33, abr. 2017.

TERZANO. Ultrasonography and Reproduction in Buffalo. **Journal of Buffalo Science**, v. 1, n. 2, p. 163–173, 1 set. 2012. Disponível em: <http://doi.org/10.6000/1927-520x.2012.01.02.06>. Acesso em: 20 ago. 2022.

TERZANO, G. M. et al. Effect of Intensive or Extensive Systems on Buffalo Heifers performances: Onset of Puberty and Ovarian Size. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. sup2, p. 1273–1276, jan. 2007. Disponível em: <http://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.1273>. Acesso em: 20 ago. 2022.

TILBROOK, A. Effects of Stress on Reproduction in non-rodent mammals: the Role of Glucocorticoids and Sex Differences. **Reviews of Reproduction**, v. 5, n. 2, p. 105–113, 1 maio 2000. Disponível em: <http://doi.org/10.1530/ror.0.0050105>. Acesso em: 27 ago. 2022.

VALE, W.; RIBEIRO, H. Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 63–73, jun. 2005. Disponível em: <http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RE026.pdf>. Acesso em: 8 ago. 2022.

ZAIID, N.-S. Effect of Biostimulation on Estrus Expression, Resumption of Ovarian Activity and Conception Rate in Postpartum Anestrus Nili-Ravi Buffaloes during Low Breeding Season. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 38, n. 01, p. 35–38, 1 mar. 2018. Disponível em: <http://doi.org/10.29261/pakvetj/2018.007>. Acesso em: 11 ago. 2022.