

## **PARTICULARIDADES REPRODUCTIVAS DE LAS BÚFALAS DE AGUA (*Bubalus bubalis bubalis*)**

### ***Reproductive particularities of water buffalo cows (*Bubalus bubalis bubalis*)***

Hector Nava-Trujillo<sup>1\*</sup>, Robert Valeris-Chacin<sup>2,3</sup>, Armando Quintero-Moreno<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Producción Animal, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de los Andes, Mérida, Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup> Departamento de Sanidad Animal y Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Zulia, Venezuela;

<sup>3</sup> Department of Veterinary and Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, Saint Paul, Minnesota, USA.

<sup>4</sup> Laboratorio de Andrología Animal, Unidad de Investigación en Producción Animal (UNIPA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Zulia, Venezuela.

\* Corresponding author  
H. Nava-Trujillo. E-mail:  
hectornava00@gmail.com

Recibido: 06/12/19

Aceptado: 20/12/2019

Publicado: 31/12/2019

#### **ABSTRACT**

In this article we review the reproductive characteristics of water buffaloes. One of the most outstanding features is the lower intensity of the signs of estrus and the high proportion of silent estrus, which are related to the smaller size of the follicles and the lower production of estradiol. Another aspect of great interest is the reproductive seasonality, leading to the concentration of calving and estrus during the months of shorter photoperiod, which imposes, alongside a longer gestation, a challenge to the buffalo cow in order to achieve a calving interval of 400 days. The reproductive seasonality causes irregular milk production during the year; therefore, the occurrence of estrus during the time of long photoperiod needs to be induced in some cases. However, since both oocyte and embryo quality and luteal function are compromised during this period, the fertility is lower, which leads to a high proportion of embryonic death during this time of the year. These physiologic characteristics, the sustained increase in the water buffalo population worldwide, and the genetic improvement for milk production achieved in recent years, make it necessary for farmers and professionals to increase their understanding of the reproductive physiology of the species not only in order to maximize reproductive efficiency, but also to achieve a higher effectiveness in the application of reproductive biotechnologies.

**Keywords:** water buffalo cows, reproduction, seasonality, photoperiod, melatonin.

#### **RESUMEN**

En este artículo se hace un repaso sobre las particularidades reproductivas de las búfalas. Una de las características más resaltante es la menor intensidad de los signos de celo y la alta tasa de celos silentes, las cuales están relacionadas con el menor tamaño de los folículos y la menor producción de estradiol. Otro aspecto de gran interés es la estacionalidad reproductiva, la cual conlleva a la concentración de partos y celos durante los meses de menor fotoperiodo, que, junto con una gestación más larga, imponen un reto a la búfala a fin de lograr un intervalo entre partos de 400 días. La estacionalidad reproductiva provoca una producción de leche irregular durante del año, y esto obliga en algunos casos a la necesidad de inducir los celos durante la época de fotoperiodo largo, sin embargo, durante esta la fertilidad es menor dado que tanto la calidad ovocitaria como embrionaria y la función luteal están comprometidas, lo que conlleva a una alta tasa de muerte embrionaria durante esta época del año. Todo esto, más el incremento sostenido de la población bufalina a nivel mundial, y la mejora genética para producción de leche alcanzada en años recientes, hacen necesario que los ganaderos y profesionales aumenten la comprensión de la fisiología reproductiva de la especie no solo a fin de maximizar la eficiencia reproductiva sino también para lograr una mayor eficiencia en la aplicación de biotecnologías reproductivas.

**Palabras clave:** búfalas de agua, reproducción, estacionalidad, fotoperiodo, melatonina.

## INTRODUCCION

La población mundial de búfalos (*Bubalus bubalis*) se ha incrementado de forma sostenida y en la actualidad existen más de 200 millones de cabezas (Borghese et al., 2016). En América se ha dado un incremento del 26,4% entre 2005 y 2016 (Borghese et al., 2016), y encontrándose en 23 países del continente, la población de búfalos asciende a más de 5 millones de cabezas, con la mayoría estando en Brazil, Venezuela, Colombia, Argentina y Cuban (Crudeli et al., 2016).

Este aumento puede ser el resultado de que la especie tiene una productividad comparable a la de los vacunos en condiciones tropicales y a las características de su leche, lo cual la hace muy atractiva para la industria de los quesos, lo que ha conllevado a un mayor precio en comparación con la leche de vaca. Sin embargo, maximizar la rentabilidad de los sistemas bufalinos, además de requerir una alta producción de leche con alto precio de mercado, requiere de una buena eficiencia reproductiva (Sweers et al., 2014), siendo un intervalo entre partos de 400 días, el óptimo desde el punto de vista económico (Shah et al., 1991).

Para lograr el máximo rendimiento, el conocimiento de la fisiología reproductiva es de gran importancia, si bien algunos aspectos coinciden con las vacas, existen particularidades que hacen a los búfalos una especie única, y por tanto es necesario conocerlas, no solo para identificar y controlar factores que pudiesen afectar el desempeño reproductivo sino también para la adecuada aplicación de diferentes biotecnologías reproductivas, cuyo uso se ha incrementado en los últimos años (Berdugo Gutiérrez, 2012; Baruselli et al., 2018). Además el estudio de la fisiología reproductiva de la especie bufalina se hace cada vez más necesario dado que la especie ha sido sometida a programas de mejora genética observándose un incremento en la producción de leche (Ahmad et al., 2009; Foda et al., 2010; Menéndez-Buxadera y Verde, 2014), y algunas investigaciones han reportado una relación negativa entre la producción de leche y la eficiencia reproductiva (Abayawansa et al., 2011; Jamuna y Chakravarty, 2016; Nava-Trujillo et al., 2018; Nava-Trujillo et al., 2019c). Con base en lo anterior, el objetivo de este artículo es revisar el conocimiento actual sobre las particularidades reproductivas de la hembra bufalina haciendo énfasis en la pubertad, el ciclo estral, la gestación, la dinámica folicular y la estacionalidad reproductiva, tratando además de recopilar la información científica producida en el continente americano.

### Pubertad

La pubertad es un evento progresivo y complejo, determinado por la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, como respuesta a hormonas metabólicas y a la secreción de esteroides gonadales, y que determina la liberación de hormonas hipotalámicas (Factor liberador de gonadotropinas, GnRH) e hipofisarias (Hormona folículo-estimulante, FSH; y Hormona luteinizante, LH), que promueven el crecimiento folicular, la ocurrencia de la primera ovulación, la formación del cuerpo lúteo y el incremento de los niveles de progesterona ( $>1\text{ng/ml}$ ) (Haldar y Prakash, 2005; Ingole et al., 2011; Terzano et al., 2012). Si bien las primeras elevaciones en los niveles de progesterona ocurren entre 16 y 14 días antes del momento de la pubertad, estas van adquiriendo los niveles y

el patrón de secreción típicos del ciclo estral con posterioridad, alcanzando niveles que varían entre 3,90 y 5,83 ng/mL (Haldar y Prakash, 2005).

La pubertad ocurre a un peso predeterminado (Patterson et al., 1992), y alcanzar este peso a una corta edad, a fin de maximizar la vida productiva de la hembra, depende en buena parte de la alimentación, la cual debe garantizar una tasa de crecimiento y una adiposidad adecuadas (Amstalden et al., 2011; Carvalho et al., 2013). Algunos estudios, han enfatizado la importancia de la alimentación postdestete como determinante de la edad a la que las hembras alcanzan la pubertad, dado que la ganancia diaria de peso y la edad a la pubertad tienen relación inversa (Wiltbank et al., 1966; Arije y Wiltbank, 1971). En búfalas, es también importante la alimentación postdestete (Campanile et al., 2010b); observándose una correlación negativa entre la ganancia diaria de peso y la edad a la pubertad ( $r = -0,299$ ,  $P < 0,01$ ) y una positiva con el peso a la pubertad ( $r = 0,548$ ,  $P < 0,01$ ) (Sabia et al., 2014).

La pubertad en las búfalas ocurre al alcanzar el 57% del peso adulto (Prajapati y Anand Laxmi, 2015); sin embargo, la edad a la pubertad varía entre los 10 y los 46 meses (Borghese et al., 1994; Vale y Ribeiro, 2005; Kavya et al., 2017). Borghese et al. (1994) evaluando búfalas de raza Mediterránea, reportaron una edad a la pubertad de 575,4 días (18,93 meses) y un peso de 359,1 kg. Haldar y Prakash (2005), para la raza Murrah, observaron una edad a la pubertad de  $31,53 \pm 0,88$  meses, con un peso de  $380,67 \pm 6,42$  kg y una ganancia diaria de peso en los 3 meses previos a la pubertad de  $0,46 \pm 0,02$  kg/día. Prajapati y Anand Laxmi (2015), reportaron que la pubertad ocurrió a los 27,9 meses y a un peso de 344,6 kg para bubillas de raza Murrah. En datos generados desde Latinoamérica, en Brazil se ha reportado una edad a la pubertad de 24 meses y un peso de 350 kg (Bernandes, 2007). En Venezuela, se reportó que la aparición del primer cuerpo lúteo ocurrió entre 9 y 10,5 meses de edad en bubillas bajo amamantamiento continuo y pastoreo (Montiel Urdaneta, 2006); mientras que en Argentina se han reportado edades de 454 días (14,93 meses) y un peso promedio 340,6 kg (Acuña et al., 2013) y de 413 días (13,58 meses) con un peso de 283 kg (Acuña et al., 2016).

La mayoría de las investigaciones sobre los mecanismos que conllevan a la pubertad se han desarrollado en vacunos y ovinos. En general, en la hembra prepuber, la secreción de hormonas hipotalámicas e hipofisarias esta inhibida debido a un feed back negativo ejercido por el estradiol de forma indirecta, ya que las neuronas productoras de GnRH no poseen receptores para estradiol (Lehman et al., 1993). Los receptores para estradiol y también para progesterona se ubican en las neuronas productoras de neuropéptido Y (NPY) y kisseptina, ubicadas en el área preóptica y el núcleo arqueado (Franceschini et al., 2006; Smith et al., 2007; Chaikhun-Marcou et al., 2016). Ambos, el NPY y la kisseptina, actúan directamente sobre las neuronas productoras de GnRH; el NPY media los efectos negativos del estradiol sobre la secreción de esta hormona (Klenke et al., 2010); mientras que la kisseptina, estimula su liberación (Smith et al., 2011). En búfalas, se ha reportado la presencia de neuronas productoras de kisseptina tanto en el núcleo arqueado como en el área preóptica, de manera similar a la reportada en otras especies de rumiantes y esto sugiere un rol similar (Chaikhun et al., 2016; Chaikhun-

Marcou et al., 2016; Chaikhun-Marcou et al., 2018). Así en búfalas prepúberes, la kisleptina incrementó los niveles de LH y el tamaño folicular (Pottapenjera et al., 2018).

Como se mencionó antes, la activación del eje reproductivo parece depender en buena medida de la alimentación y el peso corporal. A medida que las hembras aumentan de peso y acumulan reservas de grasa, el feed back negativo que el estradiol ejerce sobre la secreción de GnRH se atenúa (Schneider, 2004; Gasser et al., 2006). Esto comprende una disminución en la expresión de receptores para estradiol en las neuronas productoras de NPY (Allen et al., 2009; Alves et al., 2011, 2015), y un aumento en la actividad de las neuronas productoras de kisleptina, que estimula la liberación de GnRH y en consecuencia de LH y FSH (Redmond et al., 2011). Haldar y Prakash (2005), midieron los niveles de LH en bubillas y observaron un incremento desde  $0,45 \pm 0,03$  ng/mL seis meses antes de la pubertad a  $0,73 \pm 0,06$  ng/mL durante el mes de la pubertad, para luego disminuir durante los siguientes dos meses, además estos autores observaron una correlación positiva entre el peso corporal y los niveles de LH antes de la pubertad ( $r = 0,61$ ,  $p < 0,05$ ).

El rol de la hormona del crecimiento (GH) y las hormonas tiroideas sobre la ocurrencia de la pubertad en bubillas no puede ser descartado. Los niveles de GH aumentan a medida que se acerca la pubertad, alcanzando los niveles más altos el mes en que esta ocurre y estos se correlacionan positivamente con los de LH y el peso corporal, tanto antes como después de alcanzada la pubertad (Haldar y Prakash, 2005). De igual forma, se ha observado un incremento de las hormonas tiroideas al momento de la pubertad (Ingole et al., 2012). Campanile et al. (2010b), reportaron que bubillas con una dieta alta en energía tuvieron mayores niveles de T3 que bubillas bajo restricción alimenticia. Las bubillas que alcanzaron la pubertad tuvieron mayores niveles de Nesfatina-1 y Leptina, así como un mayor consumo de materia seca, mayor ganancia diaria de peso y mayor eficiencia en la conversión alimenticia que las bubillas con retraso en la pubertad (Prajapati y Anand Laxmi, 2015) y los niveles de Nesfatina-1 y de Leptina se correlacionan positivamente con el peso corporal, el consumo de materia seca y los niveles de progesterona (Prajapati et al., 2018).

Se ha reportado que una suplementación energética disminuye la edad a la pubertad. Búfalas alimentadas con una dieta para ganar 450 gr por día alcanzaron la pubertad a los 24 meses, mientras las alimentadas con una dieta para ganar 650 gr/día, alcanzaron la pubertad a los 21 meses ( $P < 0,05$ ) (Terzano et al., 1993). Hussein y Abdel-Raheem (2013) observaron que bubillas mantenidas en un plano de alto consumo (8.63 kg/materia seca/día, 19.2 Mcal EM/día, 1.15 kg PC/día) iniciaron la actividad reproductiva más jóvenes y pesadas y fueron más fértiles que las mantenidas bajo una restricción alimenticia del 50% (4,32 kg/materia seca/día, 9,51 Mcal EM/día y 0,58 kg PC/día) (ver Tabla 1). La mejor alimentación incrementó los niveles séricos de glucosa, colesterol, proteínas totales, albumina, globulina, triglicéridos, calcio y de las enzimas AST y ALT y todo esto conllevó a un incremento de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónada logrando que las hembras con mayor plano alimenticio

alcanzaran la pubertad más joven y fuesen más fértiles (Hussein y Abdel-Raheem, 2013).

Otros factores, como la ubicación geográfica, el sistema de manejo, la duración del fotoperíodo y la bioestimulación, han sido reportados como factores que afectan la edad a la pubertad en búfalas. Hembras de la misma raza presentan diferentes edades a la pubertad en diferentes regiones del mundo y esto se debe a los diferentes climas, manejos y presiones de selección a las que son sometidas (Campanile et al., 2009). En Italia, no se observó una diferencia en la edad a la pubertad entre hembras de raza Mediterránea manejadas a pastoreo o en confinamiento, aunque si una diferencia en el peso de pubertad, siendo mayor para las hembras en confinamiento (462 vs 375 kg,  $P < 0,05$ ) (Terzano et al., 2007) y resultados similares han sido reportados recientemente (Sabia et al., 2014). Sin embargo, Bodla et al., 2017, observaron que la edad a la pubertad en hembras de raza Nili-Ravi, fue menor cuando estas fueron manejadas a pastoreo (32,9 meses) en comparación con aquellas en confinamiento (38,07 meses,  $P < 0,000$ ). Borghese et al., 1994, evaluaron la edad y el peso a la pubertad en cuatro haciendas italianas y observaron diferencias significativas entre estas para ambos parámetros, y tales diferencias se debieron principalmente a los diferentes manejos alimenticios y se relacionaron con la ganancia diaria de peso. La extensión artificial del fotoperíodo por 4 horas durante la época de invierno en India, acertó la edad a la pubertad, probablemente debido a la mayor ganancia diaria de peso observada (Roy et al., 2016). Mientras que bubillas expuestas a toro alcanzaron la pubertad a los 593,6 días; mientras que las no expuestas lo hicieron a los 558,6 días,  $p < 0,05$  (Borghese et al., 1994). Todas estas variables, han sido poco estudiadas y mayores investigaciones en condiciones tropicales son requeridas a fin de verificar los resultados hasta ahora reportados en otras latitudes, de igual forma la identificación de toros cuyas hijas sean más precoces es un aspecto que debe ser atendido, así como también la identificación de marcadores genéticos/genómicos/moleculares/endocrinos relacionados con una menor edad a la pubertad.

### Ciclo estral y gestación

El ciclo estral en la búfala tiene una duración que varía entre 16 y 28 días (Manik et al., 1994; Baruselli et al., 1997a); pudiendo ser más corto (Singh et al., 1984; Baruselli et al., 1997a; Zambrano-Varón y BonDurant, 2007). La duración está relacionada con el número de ondas foliculares que se presenten, que a su vez depende de la duración de la funcionalidad del cuerpo lúteo (Manik et al., 1994; Baruselli et al., 1997a; Awasthi et al., 2006; Neglia et al., 2007; Warriach y Ahmad, 2007; Sánchez et al., 2019). En Venezuela, se ha reportado una duración promedio del ciclo de 21,25 días (Montiel Udaneta, 2006). En Colombia, Ojeda et al., 2014 reportaron una duración de 22 días. En Canadá se observó que el ciclo estral varió entre 20 y 22 días (Dharap, 2016). En Brazil, Carvalho et al. (2016) reportaron en bubillas una duración del ciclo de  $23,6 \pm 1,6$  días, y en Colombia Sánchez et al. 2019 reportaron un intervalo interovulatorio de  $22,7 \pm 1,0$  días, aunque se observaron ciclos de  $28,8 \pm 1,9$  cuando se presentaron tres ondas de crecimiento folicular.

Tabla 1. Efecto del nivel de consumo sobre el desempeño reproductivo de bubillas (Modificada de Hussein y Abdel-Raheem, 2013)

Parámetro	Alto consumo	Bajo consumo	P
Peso inicial	269,6±5,8 kg	270,3±5,1 kg	0,95
Peso al servicio	340,1±3,5 kg	312,4±4,2 kg	0,04
Ganancia de peso acumulada desde el inicio del experimento al servicio	70,5 kg	42,1 kg	
Edad inicial	30,8±1,6 meses	30,4±1,3 meses	0,96
Edad al servicio	32,8±0,8	35,3±1,1	0,03
Intervalo inicio del tratamiento al primer celo	2,1±0,9 meses	4,2±1,2 meses	0,04
Ganancia de peso diaria desde el inicio del experimento al servicio	1,15 kg	0,28 kg	
Porcentaje de bubillas con actividad ovárica	93,3%	20%	0,01
Porcentaje de bubillas ovulando	80%	20%	0,001
Diámetro del folículo dominante	13,6±0,5 mm	11,4±0,7 mm	0,01
Niveles de progesterona	6,6±1,9 ng/ml	0,71±0,22 ng/ml	0,01
Niveles de estrógeno	64,1±4,6 pg/ml	19,4±1,27 pg/ml	0,01
Servicios por concepción	1,83±0,2	2,64±0,1	0,01
Tasa de preñez	87,8%	10%	0,001

El ciclo estral se divide en cuatro fases: estro o celo (día 1), metaestro (días 2 a 5); diestro (días 6 al 18) y proestro (del día 19 al 20) (Qureshi et al., 1999b). El celo, tiene una duración que varía entre 5 y 27 horas (revisado por Perera, 2011), aunque durante la época de menor actividad reproductiva su duración puede variar entre 2 y 72 horas (Campanile et al., 2010a). El celo se presenta entre 2 y 4 días después de la caída de los niveles de progesterona (El-Belely, 1993; Mondal y Prakash, 2003), siendo de poca intensidad y signos más sutiles en comparación con la vaca (revisado por Sánchez Valencia, 2016). La micción frecuente, el enrojecimiento y el edema vulvar y la disminución de la producción de leche son los signos más evidentes (Singh y Adams, 2000; Sánchez Valencia, 2016). La presencia de moco es inconstante, el 52,3% de las hembras no presentó descarga (Moioli et al., 1998) y la frecuencia de comportamiento homosexual es baja (3,4%) (Baruselli y Carvalho, 2002), por lo que el mejor indicador del celo es la monta del toro (Barile, 2005). A la palpación, un día antes y el día del celo, se puede detectar la presencia de un folículo en el 97,22% y 100% de las hembras, respectivamente (Singh et al., 1984). Recientemente se ha observado que algunos parámetros acústicos generados por las búfalas durante el celo, son significativamente diferentes a los generados durante las otras fases del ciclo estral, sugiriéndose que el análisis de los sonidos emitidos por las búfalas podría ser utilizado para detectar hembras en celo con una precisión del 95% (Devi et al., 2019).

Algunos autores señalan una mayor frecuencia de expresión del celo en horas de la noche (Vale et al., 1984) y que entre 10 y 63% de los celos son silentes (Zicarelli et al., 1997; Lohan et al., 2004; Awasthi et al., 2007; Jha et al., 2001; Porto-Filho et al., 2014), ambas situaciones dificultan la detección de las hembras en celo y comprometen el éxito de los programas de inseminación artificial a celo natural. El fenómeno de los celos silentes parece estar relacionado con una menor producción folicular de estradiol, la cual depende del diámetro folicular. Los folículos más grandes producen más estradiol, existiendo una correlación positiva entre el tamaño folicular y la producción de esta hormona (Palta et al., 1998; Pandey et al., 2011; Pandey et al., 2018). Awasthi et al., 2007, observaron que búfalas con celos silentes tuvieron folículos ovulatorios de

menor diámetro (7,7±0,4 mm,  $p<0,05$ ) y con una menor tasa de crecimiento (0,7±0,02 mm/día,  $p<0,05$ ) que las búfalas con comportamiento evidente de celo (11,0±0,7 mm y 1,1±0,1 mm/día, respectivamente).

Los niveles de estradiol sérico fueron máximos durante el proestro (30.73±0.68 pg/ml); disminuyendo a 15,72±0,58 pg/ml durante el celo y a 7,32±0,29 pg/ml durante el metaestro, mientras que en el diestro promediaron 11,51±0,50 pg/ml (Qureshi et al., 1999b). Singh et al., 2001, reportaron niveles de estradiol de 19,5±4,98 pg/ml 16 horas antes de la descarga de LH, la cual alcanzó un nivel de 38,40±9,21 ng/ml; coincidiendo con los menores niveles de progesterona (0,61±0,25 ng/ml). Más recientemente se han reportado niveles de estradiol al celo entre 17,0±4,5 y 39,3±2,4 pg/ml, dependiendo del diámetro del folículo ovulatorio (Pandey et al., 2018).

La ovulación ocurre unas 34 horas (rango 24-48) después del inicio del celo y 14 horas (rango 6-21) luego de finalizado (Kanai et al., 1990; Perera, 1999; Riaz et al., 2018). La descarga de LH, ocurre en promedio 3,6±23,4 horas luego de iniciado el celo, y la ovulación unas 25-26 horas luego de esta (Seren et al., 1993; Moioli et al., 1998). Los niveles de LH, que permanecen bajos en la mayoría del ciclo (1-1,28 ng/ml), solo se incrementan el día del celo cuando ocurre la descarga ovulatoria, alcanzando 21 ng/ml (Kaker et al., 1980). Los niveles de FSH varían entre 0,81±0,17 y 3,89±1,20 ng/ml durante el ciclo estral; incrementándose cuatro días antes del celo desde 1,45±0,60 ng/ml a 3,89±1,20 ng/ml el día del celo y disminuyendo luego a 0,85±0,21 ng/ml al día 5 del ciclo (Mondal et al., 2008). Otros autores reportan niveles superiores de FSH (24,04±4,75 ng/ml al día del celo); y además observaron que esta hormona presentó tres elevaciones significativas a mitad del ciclo, coincidiendo con los menores niveles de inhibina y estradiol (Singh et al., 2001).

Los niveles de inhibina, que se correlacionan positivamente con los de estradiol, fueron de 0,49±0,04 ng/ml durante el periodo periestrual (días -1 a 1 del ciclo), 0,39±0,03 ng/ml durante la fase luteal temprana (días 2 a 5 del ciclo), 0,34±0,02 ng/ml en la fase luteal media (días 6-14 del ciclo),

y  $0,44 \pm 0,04$  ng/ml durante el diestro tardío (4 a 2 días antes del celo) (Mondal y Prakash, 2003). Mondal et al., 2008, observaron que los niveles de inhibina fueron máximos dos días antes del celo ( $0,52 \pm 0,05$  ng/ml), y los niveles mínimos se detectaron al día 12 ( $0,29 \pm 0,03$  ng/ml), además estos autores observaron que los niveles de inhibina se correlacionaron negativamente con los de FSH ( $r = -0,27$ ,  $p < 0,01$ ), lo que concuerda con el rol de esta hormona como inhibidora de la liberación de FSH (Singh et al., 2001).

Los niveles de progesterona son mínimos al celo, variando entre 0,33 y 0,35 ng/ml (Pandey et al., 2011) y esto coincide con Takkar et al., 1982, quienes reportaron niveles de  $0,360 \pm 0,062$  ng/ml y  $0,334 \pm 0,066$  ng/ml para bubillas y búfalas adultas, respectivamente. La producción de progesterona parece iniciarse unas 80 horas luego de la descarga de LH y se extiende por 18 días (Singh et al., 2001).

Los niveles de progesterona, que están correlacionados positivamente con el diámetro del cuerpo lúteo (Barile et al., 2007), aumentan por encima de 1 ng/ml a partir de los días 6 y 7, alcanzando  $4,888 \pm 0,399$  en bubillas y  $5,119 \pm 0,415$  ng/ml en búfalas adultas al día 15, para luego disminuir progresivamente hasta el día 21 del ciclo a niveles de  $0,321 \pm 0,072$  ng/ml en bubillas y  $0,536 \pm 0,066$  ng/ml en búfalas adultas (Takkar et al., 1982). Durante el diestro temprano los niveles de progesterona varían entre 5-12 ng/ml en búfalas de raza Mediterránea y 4-6 ng/ml en búfalas de raza Murrah; para luego mantenerse entre 1,6 y 3,6 ng/ml entre los días 13 y 17, y en el caso de que no haber preñez disminuir antes del próximo celo (Terzano y col, 2012). En la Figura 1, se presentan los niveles de LH, FSH, estradiol, progesterona e inhibina durante un ciclo estral completo (Singh et al., 2001).

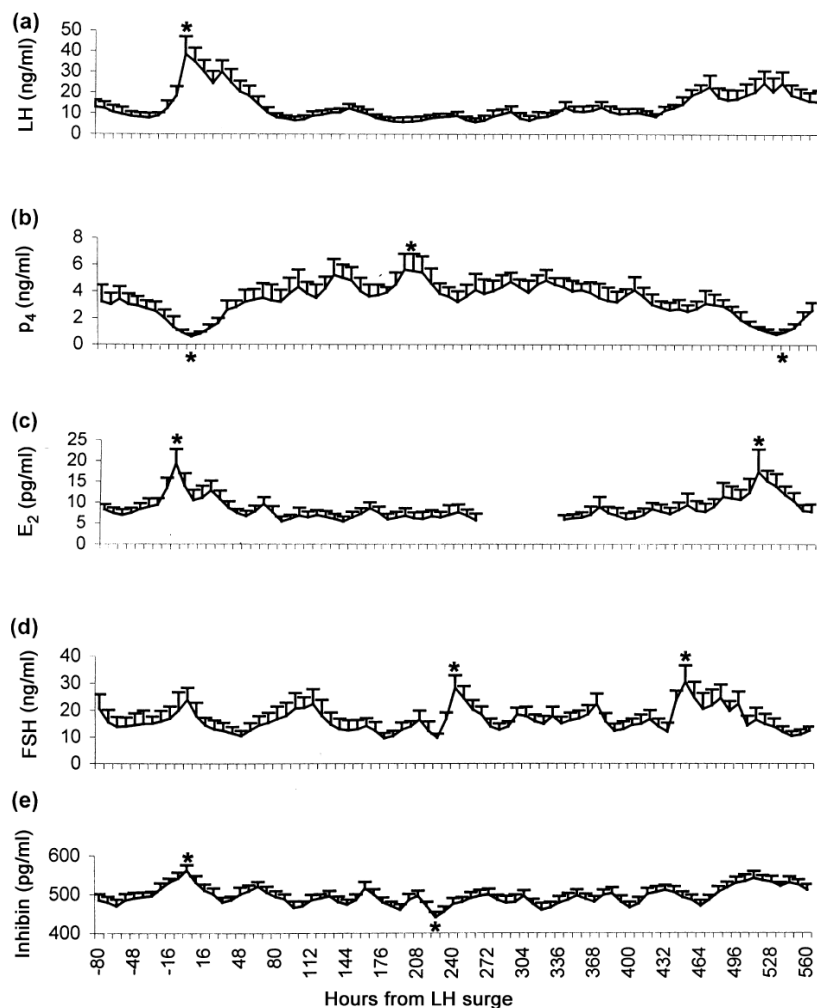


Figura 1. Concentraciones medias de (a) hormona luteinizante (LH); (b) progesterona (P<sub>4</sub>); (c) 17-β estradiol (E<sub>2</sub>); (d) hormona foliculo estimulante (FSH); e inhibina durante un ciclo estral completo en búfalas. Los valores de E<sub>2</sub> durante la fase luteal media estuvieron por debajo de la sensibilidad del método de determinación. \*representa niveles diferentes significativamente con respecto a los valores 80 horas antes de la descarga de LH (Tomada de Singh et al., 2001).

La funcionalidad y tamaño del cuerpo lúteo son determinantes para el establecimiento de la preñez; así pues diferencias en los niveles de progesterona, así como en el diámetro del cuerpo lúteo, entre búfalas preñadas y no preñadas se observan a partir del día 21 postinseminación (Barile et al., 2007). Además, se han reportado diferencias en el diámetro del folículo al momento del celo ( $13,7 \pm 0,31$  vs  $11,2 \pm 0,53$  mm,  $p < 0,05$ ) y en el diámetro del cuerpo lúteo al día 5 ( $15,6 \pm 0,27$  y  $14,3 \pm 0,19$  mm) y 9 ( $11,8 \pm 0,15$  y  $13,6 \pm 0,24$  mm) entre búfalas preñadas y no preñadas, así como también una relación positiva entre el diámetro del folículo ovulatorio, el diámetro del cuerpo lúteo y las tasas de concepción (Rahman et al., 2012).

En el caso de establecerse la preñez, dada la presencia de un conceptus productor de interferón tau (INF-tau), capaz de evitar la lisis del cuerpo lúteo, los niveles de progesterona se mantienen elevados a lo largo de la gestación, promediando  $3,5$  ng/ml ( $1,9-3,8$  ng/ml) durante los primeros dos meses, para disminuir a  $2,9 \pm 0,8$  ng/ml al tercer mes y manteniéndose alrededor de este valor por el resto de la preñez (Eissa et al., 1995). Uno de los eventos reproductivos menos estudiados en la especie bufalina es el reconocimiento materno de la gestación. Este evento, que tiene como finalidad mantener la secreción de progesterona al evitar la lisis del cuerpo lúteo por acción de la prostaglandina  $F2\alpha$  (PGF $2\alpha$ ), ocurre en la mayoría de las especies rumiantes entre los 12 y 19 días de gestación y es orquestado por el IFN-tau, que es secretado por el trofoblasto (Mor et al., 2015). En el caso de los embriones bufalinos, la máxima producción de IFN-tau se da entre los días 14 y 16 (Sarath et al., 2010), y es producto de 13 variantes génicas, la cuales encodan 8 proteínas diferentes (Saugandhika et al., 2016). El IFN-tau bufalino tiene entre 98-100% y 96-100% de homología nucleotídica y aminoacídica respectivamente con el interferón tau caprino; 94-97% y 90-95% con el ovino y 89,6-90,6% y 82-86% con el vacuno (Saugandhika et al., 2016).

La duración de la gestación en la búfala varía entre 305-330 días (Rabidas et al., 2015). En la raza Murrah dura en promedio 315 días, mientras que en búfalas de pantano (*Bubalus bubalis carabanensis*) dura unos 330 días (Dobson y Kamonpatana, 1986). En búfalas de agua varios factores afectan la duración de la gestación, con la raza siendo uno de los que mayor variación genera (Purohit, 2016). Banik y Tomar, 2003, reportaron un promedio de  $309,5 \pm 0,3$  días para la raza Murrah. En la raza Nili-Ravi, la gestación dura  $308,7 \pm 0,4$  y varía entre 275 y 346 días, con el 57,2% de las búfalas teniendo una gestación entre 305 y 314 días y siendo más corta en aquellas búfalas que parieron becerros con menos de 35 kg de peso (Usmani et al., 1987). Recientemente para búfalas de raza Murrah en la India se reportó un promedio de  $308,68 \pm 0,16$  días, con la zona, el número de partos, la condición corporal y la época de servicio afectando esta duración (Bhave et al., 2018). En Venezuela, para búfalas mestizas se ha reportado una duración de  $314,04 \pm 8,30$  días (Montiel Urdaneta, 2006) y más recientemente Rojas, 2016, reportó una duración de  $309,59 \pm 2,84$  días, y observó que ni el número de partos, la época, el año o el predominio racial afectaron esta duración.

Al final de la gestación, unos cuatro días antes del parto, los niveles de progesterona caen a  $0,9 \pm 0,1$  ng/ml y a menos de

$0,5$  ng/ml el día del parto (Eissa et al., 1995). Esta caída es producto de la acción luteolítica de la prostaglandina  $F2\alpha$  (PGF $2\alpha$ ), cuyos niveles empiezan a aumentar los últimos días de la gestación, alcanzando el máximo nivel el día antes del parto, junto con los niveles de 13,14-dihidro-15-ketoPGF $2\alpha$  (PGFM), 17 $\beta$ -estradiol y prolactina (Arora et al., 1982; Batra et al., 1982; Perera et al., 1981), observándose además una correlación negativa entre los niveles de progesterona y los de 17 $\beta$ -estradiol, PGF $2\alpha$  y PGFM, y una correlación positiva entre los niveles de 17 $\beta$ -estradiol y PGF $2\alpha$  (Batra et al., 1982).

### Dinámica folicular durante el ciclo estral

El desarrollo folicular en búfalas se da en ondas, de manera similar al de la vaca, con cada onda compuesta por un grupo de folículos con un desarrollo sincronizado (Baruselli et al., 1997a; Manik et al., 2002). En 1984, Singh et al., evaluando a través de palpación rectal la presencia de folículos, observaron un patrón de crecimiento en ondas continuo, y con un intervalo entre dos folículos de 9 a 13 días en búfalas púberes; además observaron que el folículo presente a mitad del ciclo era de mayor tamaño que el detectado entre 3 y 1 día antes del celo, sugiriendo que el folículo a mitad del ciclo se atresia y que se inicia el crecimiento de nuevos folículos, de los que se originaría el folículo ovulatorio. Manik et al., 1994, identifican las ondas de crecimiento folicular utilizando ultrasonografía, y observaron que cinco búfalas presentaron dos ondas, y una presentó tres ondas de crecimiento folicular. Taneja et al., 1996, observaron solo ciclos con dos (42,85%) y tres ondas (57,14%), mientras que Baruselli et al., 1997a, observaron ciclos con una (3,3%), dos (63,3%) y tres (33,3%) ondas de crecimiento; posteriormente Manik et al., 1998, Warriach y Ahmad, 2007 y Barkawi et al., 2009 observaron solo ciclos con dos y tres ondas de crecimiento folicular. Awasthi et al. (2006) reportaron en búfalas de raza Meshana ciclos con una y dos ondas de crecimiento folicular, con los de una onda siendo más frecuentes (62,5%). Recientemente en Colombia, Ojeda et al. (2014) y Sánchez Valencia (2016), han reportado ciclos con una (5,89% y 9,52% respectivamente), dos (82,4% y 52,4% respectivamente) y tres (11,8% y 19,0% respectivamente) ondas de crecimiento folicular. En bubillas, Carvalho et al. (2016), reportaron hasta cuatro ondas de crecimiento folicular, con la cuarta onda emergiendo el día 15 del ciclo y estando compuesta por 29 folículos y con un diámetro máximo del folículo dominante de 13,8 mm. En la Tabla 2 se muestran algunas de las características de las ondas foliculares en ciclos con una, dos o tres ondas.

Como se mencionó antes, una onda de crecimiento folicular comprende varios folículos que inician su crecimiento de forma sincronizada, sin embargo, la mayoría de estos se atresia, hasta que solo uno continúa la trayectoria de crecimiento y se convierte en el folículo dominante de la onda, que puede o no, ser el folículo ovulatorio (Baruselli et al., 1997a). En el caso de los ciclos con una sola onda de crecimiento folicular, el folículo dominante, será el folículo ovulatorio, mientras que, en el caso de los ciclos con dos y tres ondas, los folículos ovulatorios serán los folículos dominantes de la segunda, y la tercera onda respectivamente (Baruselli et al., 1997a; Sánchez Valencia, 2016). La capacidad ovulatoria de los folículos en la especie bufalina es adquirida a un diámetro de 8,5 mm (Gimenes et al., 2011).

Tabla 2. Características de las ondas foliculares en el ciclo estral de la búfala según el número de ondas por ciclo

Ondas por ciclo	Referencia	Día de la emergencia			Numero de folículos			Diámetro del folículo dominante (mm)/ovulatorio		
		1era onda	2da onda	3era onda	1era onda	2da onda	3era onda	1era onda	2da onda	3era onda
1 onda	Taneja et al., 1996	1,3±0,7			65,7±9,0			15,7±0,3		
	Baruselli et al., 1997a	1,0						15,7		
	Awasthi et al., 2006	1,40±0,24						12,94±0,59		
	Neglia et al., 2007;	1						16		
	Sánchez et al., 2019	0,0±2,3			6,5			12±4		
2 ondas	Taneja et al., 1996	1,8±0,6	7,8±2,0		29,5±11,9	36±9,3		14,5±0,0	15,5±0,9	
	Baruselli et al., 1997a	1,16±0,5	10,83±1,09		7,72±4,64	6,66±3,12		15,1±2,4	15,5±1,6	
	Manik et al., 1998	0,2±0,19	9,2±1,06		11,8±1,74	9,00±2,81		12,4±0,81	13,80±0,37	
	Awasthi et al., 2006	0,66±0,33	11,66±1,33					13,50±0,69	16,03±3,30	
	Neglia et al., 2007	1,29±0,46	14,5±2,4					14,9±2,7	16,9±1,6	
	Barkawi et al., 2009;	1,10±0,3	11,0±0,4		6,3±0,3	5,3±0,4		13±0,6	15±5	
	Sánchez et al., 2019	2,27±1	10,5±1		6,2	6,6		10±2	13±2	
3 ondas	Baruselli et al., 1997a	1,10±0,32	9,30±1,25	16,80±1,22	7,50±2,75	6,50±2,36	5,11±1,37	13,3±1,8	11,1±2,1	13,4±1,3
	Manik et al., 1998	1	10	19	6	4	12	11	13	13
	Neglia et al., 2007;	1,30±0,48	11,8±2,3	20,4±1,9				14,2±3,5	14,9±2,5	16,9±1,7
	Barkawi et al., 2009;	0,7±0,3	8,4±0,4	16,3±0,5	7,8±0,4	7,0±0,4	5,5±0,4	11±0,6	10±0,4	14±0,3
	Satheshkumar et al., 2011	1,80±0,26	8,60±0,2	15,40±0,72				10,0±0,30	10,40±0,70	10,90±0,71
	Ojeda et al., 2014	1	11,00±2,00	16,21±3,10	8,33±2,06	8,37±2,26	6,50±0,70			17,00±4,60
	Sánchez et al., 2019	1,3±1,6	8±1,9	20,8±1,6	9,5	1,7	4,3	12±3	13±3	12±3

El folículo destinado a ser el folículo dominante de la onda (al menos de la primera onda del ciclo), fue de mayor tamaño que el subordinado desde el día de la ovulación (día 0) ( $4,0 \pm 0,2$  mm vs  $3,4 \pm 0,1$  mm,  $p = 0,007$ ), y la desviación folicular ocurrió  $2,6 \pm 0,2$  días luego de la ovulación, con un diámetro del folículo dominante de  $7,2 \pm 0,2$  mm, mientras que el folículo subordinado más grande tuvo un diámetro de  $6,4 \pm 0,2$  mm y tuvo un crecimiento negativo luego de la desviación ( $-0,47 \pm 0,08$  mm/8 horas), mientras que el folículo dominante continuó creciendo a razón de  $0,43 \pm 0,07$  mm/8 horas (Gimenes et al., 2011). Ojeda et al., 2014, observaron que la desviación folicular en la primera onda del ciclo ocurrió a los  $4,29 \pm 1,89$  días postemergencia y a un diámetro de  $9,56 \pm 1,58$  mm; en la segunda onda, la desviación ocurrió  $3,29 \pm 2,17$  días postemergencia a un diámetro de  $9,75 \pm 1,67$  mm; mientras que en la tercera onda, ocurrió a los  $2,88 \pm 1,30$  días postemergencia a un diámetro de  $9,89 \pm 0,72$  mm.

Luego de la desviación, el folículo seleccionado para ser el dominante, ovulatorio o no, seguirá creciendo; en el caso de los ciclos de una sola onda folicular a una tasa de  $0,32 \pm 0,01$  mm/día (Awasthi et al., 2006). Se ha observado además que el folículo dominante de esta onda única, presenta una fase de regresión entre los días  $11,6 \pm 0,50$  y  $14,0 \pm 0,44$  postovulación y durante la cual tiene un crecimiento negativo, a razón de  $-0,41 \pm 0,13$  mm/día, sin embargo, luego de esta fase el folículo presenta una nueva fase de crecimiento que se inicia al día  $15,0 \pm 0,44$  y que continúa hasta la ovulación a razón de  $0,19 \pm 0,13$  mm/día (Awasthi et al., 2006). En el caso de los ciclos con dos ondas, se ha observado que la fase de crecimiento del primer folículo dominante (anovulatorio) tiene una duración de  $9,3 \pm 0,33$  días, seguida por una fase estática de  $5,0 \pm 1,52$  días, en la que el folículo tiene un diámetro de  $13,5 \pm 0,69$  mm y luego de la cual se inicia una fase de crecimiento negativo a razón de  $-0,70 \pm 0,20$  mm/día; en el caso de la segunda onda, el folículo dominante, el folículo ovulatorio, tiene una fase de crecimiento que se extiende por  $10,7 \pm 0,66$  días a razón de  $1,17 \pm 0,33$  mm/día para alcanzar un diámetro máximo de  $16,0 \pm 3,30$  mm. En ciclos con tres ondas, el folículo dominante de la tercera onda (el folículo ovulatorio), tuvo una tasa de crecimiento de  $1,1 \pm 0,1$  mm/día y alcanzó un diámetro de  $14 \pm 0,3$  mm. Riaz et al., (2018), sin haber determinado el número de ondas de crecimiento folicular, observaron en búfalas Nili-Ravi, que el folículo ovulatorio creció a una tasa de  $1,9 \pm 0,06$  mm/día desde el inicio del celo a la ovulación, alcanzando un diámetro de  $14,09 \pm 0,24$  mm justo antes de esta.

### Estacionalidad reproductiva

La estacionalidad reproductiva es un comportamiento que tiene como propósito hacer coincidir los partos y los destetes con la época del año más beneficiosa para las crías, en la que se garantice la mayor oferta de alimentos y una baja carga o presencia de agentes patógenos (Zicarelli, 1995, 2010). El momento del año en el que se concentran los celos y en consecuencia los partos dependen en buena medida de la duración de la gestación, el lugar y el fotoperiodo (Zicarelli, 2010).

El fotoperiodo, activa el ritmo circadiano endógeno de la reproducción y ejerce su acción a través de dos vías diferentes que son complementarias y dependientes: 1) ajusta el desarrollo gonadal con las condiciones externas y 2) sincroniza

el periodo reproductivo entre individuos de la misma especie (Chemineau et al., 2008). La especie bufalina, tiene una alta tendencia a concentrar la actividad reproductiva en los meses en los que disminuyen las horas luz del día, es una especie de días cortos o fotoperiodo negativo (Zicarelli, 2010, Gunwant et al., 2018a, Nava Trujillo et al., 2019a, b); Figura 2 (Zicarelli, 2010). Algunos investigadores sugieren que la duración del fotoperiodo es el principal factor regulador de la estacionalidad reproductiva de la especie y descartan una influencia nutricional, ya que en países como Italia donde la oferta alimenticia es constante a lo largo del año, las búfalas concentran los partos y la actividad ovárica en los meses con fotoperiodo corto (Zicarelli, 2010). Sin embargo otros, afirman que es la oferta de forraje el principal factor determinante (Sertu et al., 2012).

En Venezuela se ha reportado que 82,77% de los partos ocurren entre septiembre y diciembre (Montiel-Urdaneta et al., 1997) o 70,98% entre septiembre y febrero (Montiel Urdaneta, 2006), mientras que Colmenares et al. (2007) reportaron que 83,3% de los partos ocurrieron entre agosto y noviembre. En Colombia, Sánchez et al. (2017) observaron que el 61,9% de los partos ocurrieron entre septiembre y febrero, y que esta concentración estuvo asociada con una baja temperatura y alta pluviosidad. En India, (región de Bundelkhand) 69,6% de los partos de búfalas de raza Murrah, ocurrieron entre septiembre y febrero (Kushwaha et al., 2011). Más recientemente, en Venezuela se observó que el 63,7% de los partos ocurrieron entre septiembre-febrero, cuando el fotoperiodo es más corto (Nava-Trujillo et al., 2019a) y además durante estos meses se observó una concentración del 70,57% de las montas (Nava-Trujillo et al., 2019b). El efecto del fotoperiodo sobre la estacionalidad reproductiva de las búfalas se confirma por el hecho de que en el hemisferio sur los partos se concentran entre los meses de febrero y mayo, cuando el fotoperiodo es corto (Zicarelli 2010, 2017). En Argentina, los partos se concentran entre febrero y abril, y los servicios entre abril y Junio (Sampedro y Crudeli, 2016). Al sur y al sudeste de Brasil, la mayoría de los partos (61,5%) ocurren entre febrero y abril (Lamberson et al., 2007); mientras que en la región de Ceará al norte del país, Sampaio Neto et al., 2001 reportaron un 79,3% de partos entre Enero y Junio. Mientras que Baruselli et al., 2001 con datos también de Brasil, observaron que la estacionalidad está influenciada por la latitud, aumentando desde el norte ( $0-8^\circ$  de latitud) al sur ( $24-32^\circ$  de latitud).

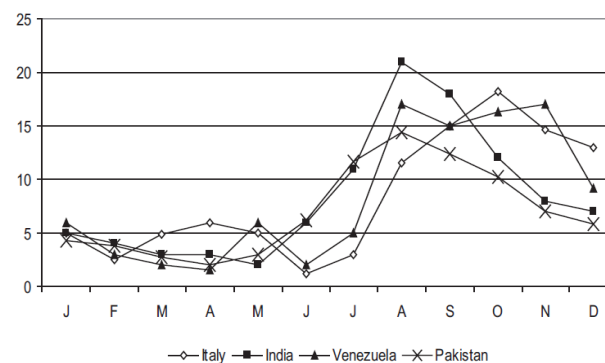


Figura 2. Porcentaje mensual de partos. Tomada de Zicarelli, 2010



El patrón reproductivo estacional depende de la duración e intensidad de la fuente de luz, la cual es capturada por la retina (fotoneuronas) y subsecuentemente pasa a través de diferentes conexiones neuronales al núcleo supraquiasmático y luego al ganglio cervical superior y a la glándula pineal, la cual es el principal órgano regulador de la estacionalidad reproductiva, ejerciendo su acción a través de la secreción de melatonina, ya que no posee proyecciones eferentes (Cardinali, 1998). La melatonina es producida y secretada durante la noche (Parmeggeani et al., 1992), así a medida que las horas de luz del día disminuyen, la secreción de melatonina aumenta (ver Figura 3; Kassim et al., 2008), estimulando el eje hipotálamo-hipófisis-gónada y promoviendo la aparición del celo al estimular la secreción hipotalámica de GnRH (Lincoln, 1985).

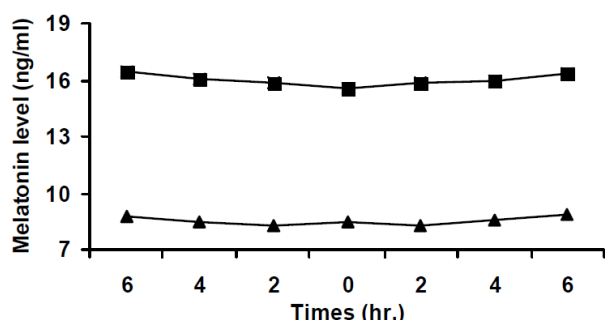


Figura 3. Niveles de melatonina durante el período periovulatorio en búfalas mantenidas bajo fotoperíodo corto (■) y largo (▲). Tomada de Kassim et al., 2008

Si bien el fotoperíodo es un factor determinante de la estacionalidad reproductiva de la especie, otros factores pueden modular este comportamiento estacional. En búfalas Nili-Ravi en Pakistán, con partos entre los meses de agosto y enero, se observó que el inicio de la estación reproductiva estuvo asociado con un incremento en el consumo de energía metabolizable, zinc y calcio, así como con una disminución en el consumo de proteína cruda, magnesio, fósforo y cobre (Qureshi et al., 1999a).

El número de partos es otro factor a considerar. Las búfalas son menos sensibles al fotoperíodo y en consecuencia tienen menos tendencia a la estacionalidad, y esto puede deberse a que secretan más melatonina durante las horas de luz del día que las búfalas adultas (Zicarelli, 1995; Borghese et al., 1995); mientras que las búfalas con mayor tendencia a la estacionalidad secretan mayores niveles de melatonina durante las horas de oscuridad (Parmeggiani et al., 1994). Nava-Trujillo et al. (2019a) observaron que el porcentaje de partos en la época de fotoperíodo corto (Septiembre-Febrero) aumentó significativamente a medida que se incrementó el número de partos de las búfalas, desde 60,6% para el primer parto a 67,2% para el cuarto; mientras que en la época de fotoperíodo largo (marzo-agosto) sucedía lo contrario, el porcentaje de partos disminuyó significativamente a medida que aumentaba el número de partos, desde 39,4% para el primer parto a 32,8% para el cuarto parto. Estos hallazgos indican que la estacionalidad fue menor en las búfalas y mayor en las búfalas maduras lo que coincide con lo observado por Cerón-Muñoz et al. (2017). Adicionalmente, una predisposición genética para presentar actividad ovárica y en consecuencia partos durante la época de fotoperíodo largo

podría existir. Carcangiu et al. (2011), Luridiana et al. (2012) y Gunwant et al. (2018b) observaron que las búfalas con el genotipo TT en el gen para el receptor de melatonina 1A, fueron capaces de aparearse y parir durante la época de fotoperíodo largo, siendo además este comportamiento repetitivo en los años siguientes (Carcangiu et al., 2011). Recientemente, Nava-Trujillo et al., 2019a, reportaron que el 8% de las búfalas tuvieron todos sus partos durante la época de fotoperíodo largo.

Una de las consecuencias más importantes de la época sobre la actividad reproductiva de las búfalas, además de la baja actividad estrual durante los meses de fotoperíodo largo (Chaudhari et al., 2015; Nava-Trujillo et al., 2019b), es la baja tasa de preñez obtenida en este período (Qayyum et al., 2017). En Canadá se ha observado que bajo condiciones de celo natural la tasa de preñez fue de  $81,67 \pm 10,67\%$  ( $p < 0,01$ ) en otoño/invierno, mientras que durante la primavera/verano fue de  $6,67 \pm 6,67\%$  (Dharap, 2016). En Egipto, la tasa de preñez en verano fue 13,5 puntos menor ( $P = 0,0004$ ) a la registrada en invierno (Ali, 2015) y más recientemente en Pakistán, se observó que las búfalas apareadas durante la época de menor actividad reproductiva (Mayo-Julio) tuvieron menor tasa de preñez y requirieron más servicios por preñez que las apareadas en la época de mayor actividad reproductiva (Septiembre-Diciembre) (Qayyum et al., 2017). Estas fallas reproductivas coinciden con el alargamiento del intervalo entre partos y la menor probabilidad de lograr un intervalo entre partos menor a 400 días, observados en búfalas que paren durante los meses de fotoperíodo largo (Nava-Trujillo et al., 2019c).

Las bajas tasas de preñez observadas en la época de fotoperíodo largo se deben a altas tasas de muerte embrionaria tardía (MET) y muerte fetal (Campanile et al., 2005). En Italia, Di Francesco et al. (2012a) observaron un 7,3% de MET durante el otoño (octubre-diciembre), mientras que durante los meses de transición hacia el fotoperíodo largo (enero-marzo) esta se incrementó a 23% ( $p < 0,05$ ). Durante la estación reproductiva, en Italia Vecchio et al. (2012) reportaron solo un 5,3% de MET y en Brasil un 7% durante la fase de transición hacia el fotoperíodo corto (Baruselli et al., 1997b). En Italia, Neglia et al. (2012) y Balestrieri et al. (2013) reportaron 12,9% y 13,8% de MET durante los meses de transición hacia la época de fotoperíodo largo, respectivamente; mientras que en Pakistán, Qayyum et al. (2017), reportaron que la tasa de pérdida de preñeces entre los días 31 y 90 postservicio fue significativamente mayor entre mayo-julio en comparación con la observada entre septiembre-diciembre (60% vs 33%,  $P = 0,04$ ).

La principal causa de la MET es la incapacidad del cuerpo lúteo para producir la cantidad de progesterona requerida. En un estudio realizado en Italia con búfalas de raza Mediterránea inseminadas durante la época de baja actividad reproductiva (fotoperíodo largo), se observó un 45% de MET entre los días 26 y 40 de gestación, lo que estuvo relacionado con bajos niveles de progesterona entre los días 10 y 20 (Campanile et al., 2005) y estos hallazgos fueron corroborados posteriormente (Di Francesco et al., 2012a; Neglia et al., 2012; Balestrieri et al., 2013; Salzano et al., 2017). La menor capacidad del cuerpo lúteo para producir progesterona durante los meses de fotoperíodo largo parece

estar relacionada con alteraciones tempranas en el flujo sanguíneo luteal (Russo et al., 2010).

Los bajos niveles de progesterona retrasan el crecimiento embrionario y los embriones con menor tamaño tienen menor probabilidad de sufrir MET. Las búfalas que al día 25 de gestación portaban un embrión con un ancho menor a 2,7 mm, que a su vez resultaron ser más cortos en comparación con los embriones con un ancho mayor a 2,7 mm ( $5,6 \pm 0,4$  mm vs  $9,0 \pm 0,5$  mm,  $P < 0,01$ ), tuvieron menores niveles de progesterona al día 20 (Balestrieri et al., 2013). Además, las búfalas que sufrieron MET al día 45 tuvieron embriones más pequeños al día 25 en comparación con aquellas que permanecieron preñadas (Neglia et al., 2012; Balestrieri et al., 2013). Este retraso en el crecimiento embrionario se ve acompañado de alteraciones en la expresión de diferentes genes y todo este panorama puede afectar la capacidad de los embriones para unirse firmemente al endometrio y mantener la gestación (Balestrieri et al., 2013; Strazzullo et al., 2014). Adicionalmente, se ha reportado una menor capacidad de desarrollo de los oocitos colectados mediante aspiración folicular transvaginal durante los meses de fotoperiodo largo (Enero-Marzo/Mayo-Julio) en comparación con los colectados en otoño (Septiembre-Noviembre) (Di Francesco et al., 2012b). Para una mayor comprensión de los efectos de la época sobre la calidad oocitaria y embrionaria, la función luteal y sobre la muerte embrionaria en la especie bufalina remitimos a los lectores a dos exhaustivas revisiones sobre estos aspectos (Campanile et al., 2016; Gasparrini, 2019). Un tema clave es la necesidad de idear alternativas para disminuir la MET en la época de fotoperiodo largo, especialmente en aquellos rebaños en los que con la finalidad de lograr una producción de leche más uniforme a lo largo del año, las búfalas son forzadas a salir en celo durante esa época; además, en Latinoamérica ha sido poca la atención dada a este tema y por tanto existe la necesidad de realizar estudios a fin establecer si la MET resulta ser un factor limitante de la eficiencia reproductiva.

## CONCLUSIONES

El incremento sostenido de la población mundial de búfalos como consecuencia de la acogida que los ganaderos han dado a la especie, dada su capacidad de adaptarse a condiciones adversas y producir eficientemente, obliga a los productores y profesionales a avanzar en el conocimiento de la fisiología reproductiva de la especie y reconocer sus particularidades, en especial las relacionadas con la estacionalidad reproductiva, que determina en buena medida las posibilidades de lograr un intervalo entre partos menor a 400 días a fin de maximizar la rentabilidad de los sistemas bufalinos; y por otro lado, las relacionadas con el comportamiento estrual y la dinámica folicular, que son el punto de partida para la aplicación adecuada, masiva y exitosa no solo de tratamientos para el control del ciclo estral y la inseminación artificial, indistintamente de la época del año, sino también para la aplicación de diferentes tecnologías como la aspiración folicular transvaginal y la producción in vitro de embriones que permitirán junto con la incorporación de genética superior, acelerar el progreso genético de los rebaños.

## REFERENCIAS

- Abayawansa WD, Prabhakar S, Singh AK, Brar PS. Effect of climatic changes on reproductive performance of Murrah buffaloes in Punjab: a retrospective analysis. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2011; 81:334-339.
- Acuña MB, Montoya C, Garrido MJ, Konrad JL, Velázquez R, Crudeli, G. Datos preliminares de edad a la pubertad en bubillas en el nordeste argentino. XXXIV Sesión de Comunicaciones Científicas. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. Corrientes, Argentina. 2013.
- Acuña MB, Pibernus L, De la Sota L, Lirón JP, Crudeli G. Puberty age in mediterranean buffalo heifers in Corrientes, Argentina. *Memorias 11th World Buffalo Congress, Rev. CES Med. Vet. y Zootec.* 2016; Septiembre-Diciembre:162.
- Ahmad M, Azhar MS, Aziz MM. Performance of buffalo population using test day milk yield in progeny testing program areas of district Gujranwala. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 2009; 19(1):10-12.
- Ali A. Seasonal variations of the ovarian activity and pregnancy rate in the Egyptian buffalo cows (*Bubalus bubalis*). *Trop. Anim. Health Prod.* 2015; 47(5):815-818. doi 10.1007/s11250-015-0793-8
- Allen CC, Li X, Tedeschi LO, Zhou H, Paschal JA, Spencer TE, Braga-Neto UM, Keisler DH, Amstalden M, Williams GL. Dietary treatments that facilitate early onset of puberty in heifers alter gene expression in the arcuate nucleus. *Proc. Soc. Study Reprod.* 2009; 81(Suppl 1):489
- Almaguer Pérez Y. El búfalo, una opción de la ganadería. *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria*. 2007; VIII(8):1-23.
- Almaguer PY, Font PH, Quirino CR, Montes I, Rosell R, Barzaga R, Da Silva S. Estacionalidad de los partos en hembras bubalinas, tipo Buffalipso, de la empresa agropecuaria Bayamo. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. 2013; 3:78-83.
- Alves BRC, Liu S, Stevenson E, Thorson JF, Cardoso RD, Tedeschi LO, Keisler DH, Williams GL, Amstalden M. Accelerated body weight gain during the juvenile period reduces neuropeptide Y close contacts with GnRH neurons in heifers. *Proc. Soc. Study Reprod.* 2011; 85(Suppl 1):191.
- Alves BR, Cardoso RC, Prezotto LD, Thorson JF, Bedenbaugh M, Sharpton SM, Caraty A, Keisler DH, Tedeschi LO, Williams GL, Amstalden M. Elevated body weight gain during the juvenile period alters neuropeptide Y gonadotropin-releasing hormone circuitry in prepubertal heifers. *Biol Reprod.* 2015; 92(2):46.
- Amstalden M, Alves BRC, Liu S, Cardoso RC, Williams GL. Neuroendocrine pathways mediating nutritional acceleration of puberty: insights from ruminant models. *Front. Endocrin.* 2011; 2:109. doi: 10.3389/fendo.2011.00109
- Angulo RA, Noguera RR, Berdugo JA. El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) un eficiente utilizador de nutrientes: aspectos sobre fermentación y digestión ruminal. *Livest Res Rural Dev.* 2005; 17: Art. #67. <http://www.lrrd.org/lrrd17/6/angu17067.htm>

- Arije GF, Wiltbank JN. Age and weight at puberty in Hereford heifers. *J. Anim. Sci.* 1971; 33:401-406.
- Arora RC, Pandey RS. Changes in peripheral plasma concentrations of progesterone, estradiol-17 $\beta$ , and luteinizing hormone during pregnancy and around parturition in the buffalo (*Bubalus bubalis*). *General and Comparative Endocrinology.* 1982; 48(3):403-410.
- Awasthi MK, Kavani FS, Siddiquee GM, Sarvaiya NP, Derashri HJ. Is slow follicular growth the cause of silent estrus in water buffaloes? *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 99(3-4):258-68.
- Awasthi MK, Khare A, Kavani FS, Siddiquee GM, Panchal MT, Shah RR. In one-wave follicular growth during the estrous cycle a usual phenomenon in water buffaloes (*Bubalus bubalis*)?. *Anim. Reprod. Sci.* 2006; 92:241-253.
- Balestrieri ML, Gasparrini B, Neglia G, Vecchio D, Strazzullo M, Giovane A, Servillo L, Zicarelli L, D'Occhio MJ, Campanile G. Proteomic profiles of the embryonic chorioamnion and uterine caruncles in buffaloes (*Bubalus bubalis*) with normal and retarded embryonic development. *Biol. Reprod.* 2013; 88(5):119. doi: 10.1095/biolreprod.113.108696.
- Banik S, Tomar SS. Total determination of calving interval by path analysis in Murrah buffaloes. *Indian J. Anim. Res.* 2003; 37(1):19-23.
- Bartocci S, Terramocia S, Puppo S. 2005. New acquisitions on the digestive physiology of the Mediterranean buffalo. En: Borghese, A. Ed. Buffalo production and research. Rev. Technical Series. 67. FAO. p. 161.
- Barile VL. Improving reproductive efficiency in female buffaloes. *Livest. Prod. Sci.* 2005; 92:183-194.
- Barile VL, Terzano GM, Allegrini S, Maschio M, Razzano M, Neglia G, Pacelli C. Relationship among preovulatory follicle, corpus luteum and progesterone in oestrus synchronized buffaloes. *Ital. J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl 2): 663-666.
- Barkawi AH, Hafez YM, Ibrahim SA, Ashour G, El-Asheeri AK, Ghanem N. Characteristics of ovarian follicular dynamics throughout the estrous cycle of Egyptian buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 2009; 110:326-334.
- Baruselli P, Mucciolo RG, Visintin JA, Viana WG, Arruda RP, Madureira EH, Oliveira CA, Molero-Filho JR. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo *Bubalus bubalis*. *Theriogenology.* 1997a; 47:1531-1547.
- Baruselli PS, Visintin JA, Barnabe VH, Barnabe RC, Amaral R, Souza AC. Early pregnancy ultrasonography and embryonic mortality occurrence in buffalo. *Proceedings of the V World Buffalo Congress, Caserta, Italia, 1997b*; p 776-778.
- Baruselli PS, Bernades O, Panty DPAF, Araujo H, Tonihati H. Calving distributions throughout the year in buffaloes raised all over Brazil. In: *Proceedings 6th World Buffalo Congress, Maracaibo, Venezuela.* 2001; p. 234-240.
- Baruselli PS, Carvalho NAT. Reproduction Management and artificial insemination in buffalo. In: *1st Buffalo Symposium of Americas, Belém, PA. Proceedings.* 2002; p.119-143.
- Baruselli PS, Soares JG, Bayeux BM, Silva JCB, Mingoti RD, Carvalho NAT. Assisted reproduction technologies ART in water buffaloes. *Anim. Reprod.* 2018; 15(Suppl.1):971-983.
- Berdugo Gutiérrez JA. Historia de la aplicación de biotecnologías reproductivas en la cría del búfalo en Colombia. *Uni-pluri/versidad.* 2012; 12(3):87-91.
- Bernardes O. Buffaloes breeding in Brasil, Ital. *J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl 2):162-167, DOI: 10.4081/ijas.2007.s2.162
- Bhawe KG, Khadse JR, Mangurkar BR, Gaundare YS, Phadke NL, Potdar VV. Effect of genetic and environmental factors on gestation length of graded Murrah buffaloes in field condition. *Int. J. Pure App. Biosci.* 2018; 6(6):449-454.
- Bodla MT, Anwar M, Ahmad E, Naseer Z, Ahsam U. Effect of two management systems and mineral feeding on age at puberty in Nili-Ravi buffalo heifers. *Buffalo Bulletin.* 2017; 36(1):27-33.
- Borghese A, Boselli C, Terzano GM. Planetary impacts of dairy buffalo. In: *Proceedings of 11th World Buffalo Congress, Cartagena de Indias, Colombia.* 2016; pp 1-5.
- Borghese A, Barile VL, Terzano GM, Pilla AM, Parmeggiani A. Melatonin trend during season in heifers and buffalo cows. *Bubalus Bubalis.* 1995; 1:61-65
- Borghese A, Terzano GM, Barile VL, Annicchiaric G, Allegrini S, Zicarelli L, Montemurro N, Pacelli C, Campanile G, Esposito L, Di Palo R, Boni R, Seren E, Parmeggiani A. Puberta e mantenimento dell'attività ciclica ovarica nella bufala. *Agricoltura Ricerca.* 1994; 153:5-16.
- Campanile G, Baruselli PS, Neglia G, Vecchio D, Gasparrini B, Gimenes LU, Zicarelli L, D'Occhio MJ. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. *Anim Reprod Sci.* 2010a; 121(1-2):1-11.
- Campanile G, Baruselli PS, Vecchio D, Prandi A, Neglia G, Carvalho NAT, Sales JNS, Gasparrini B, D'Occhio M.J. Growth, metabolic status and ovarian function in buffalo *Bubalus bubalis* heifers fed a low energy or high energy diet. *Anim. Reprod. Sci.* 2010b; 122(1-2):74-81.
- Campanile G, Neglia G, Gasparrini B, Galiero G, Prandi A, Di Palo R, Michael JD, Zicarelli L. Embryonic mortality in buffaloes synchronized and mated by AI during the seasonal decline in reproductive function. *Theriogenology.* 2005; 63(8):2334-2340.
- Campanile G, Vecchio D, Baruselli PS, Di Palo R, Neglia G, D'Occhio MJ, Zicarelli L. 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.* 2009; 4(2):1-8.
- Campanile G, Neglia G, D'Occhio MJ. Embryonic and fetal mortality in river buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 2016; 86(1):207-213.
- Carcangiu V, Mura MC, Pazzola M, Vacca GM, Paludo M, Marchi B, Daga C, Bua S, Luridiana S. Characterization of the Mediterranean Italian buffaloes melatonin receptor 1A MTNR1A gene and its association with reproductive seasonality. *Theriogenology.* 2011; 76:419-426.
- Cardinali DP, Peve P. Basic aspects of melatonin action. *Sleep Med. Rev.* 1998; 2:175-190.

- Carvalho MV, Diniz-Magalhães J, Pereira ASC, Santos MV, Silva LFP. Effect of chronic infusion of leptin and nutrition on sexual maturation of zebu heifers. *J. Anim. Sci.* 2013; 91:1207-1215 doi:10.2527/jas2012-5918.
- Carvalho NAT, Soares LG, Souza DC, Sales JNS, Baruselli PS. Follicular and luteal dynamics of buffalo heifers. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia.* 2016; Septiembre-Diciembre:204.
- Cerón-Muñoz MF, Agudelo-Gómez DA, Ramírez-Arias JP. Estacionalidad de partos de búfalas en Colombia. *Livestock Research for Rural Development.* 2017; 29: Article 38. <http://www.lrrd.org/lrrd29/2/cero29038.html>
- Chaikhun-Marcou T, Sotthibandhu P, Yanprapasiri C, Pavasutthipaisit S, Suadsong S. Kiss1 mRNA and its protein distribution in preoptic and arcuate hypothalamic nuclei in pre-pubertal female swamp buffaloes. *Pak. Vet. J.* 2018; 38(2):137-142
- Chaikhun-Marcou T, Sotthibandhu P, Kyle V, Hwa Yeo S, Henry College W, Suadsong S. Evidence of kisspeptin receptor expression in GnRH neurons in the preoptic area and arcuate hypothalamic nuclei in cycling buffaloes. *Thai J Vet Med.* 2016; 46:10.
- Chaikhun T, Yanprapasiri C, Sotthibandhu P and Suadsong S. Kiss-1 mRNA/kisspeptin distribution in preoptic and arcuate nuclei of cycling buffalo (*Bubalus bubalis*) hypothalamus. *Pak Vet J.* 2016; 36(1): 93-97.
- Chemineau P, Guillaume D, Migaud M, Thiéry JC, Pellicer-Rubio MT, Malpaux B. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reprod. Domest. Anim.* 2008; 43(Suppl 2):40-47.
- Chaudhari RK, Mehotra S, Narayanan K, Ajevar G, Chaudhary JK, Kumar A. Effect of Season on the Incidence of Estrus and Calving in Cattle and Buffaloes. *Indian Vet. J.* 2015; 92(4):24-26.
- Colmenares O, Bello R, Herrera P, Birbe B, Martínez N. Non-genetic factors affecting calving interval and weaning weight in a buffalo herd located in well drained savannas, Guárico state, Venezuela. *Ital. J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl 2):1354-1356.
- Crudelli GA, Konrad JL, Patiño EM. Situación de la bubalinocultura en países americanos. In: *Reproducción en Búfalas.* 1era edición. Crudelli GA, Konrad JL, Patiño EM (editores). Moglia Ediciones, Corrientes, Argentina. 2016; p. 235.
- Devi I, Singh P, Lathwal SS, Dudi K, Singh Y, Ruhil AP, Kumar A, Dash S, Malhotra, R. Threshold values of acoustic features to assess estrous cycle phases in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Applied Animal Behaviour Science.* 2019; 219: 104838 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.104838>
- Dharap A. Effect of season on pregnancy rates, milk progesterone, and milk melatonin profiles in water buffalo reared in Canada. Master thesis. The University of Guelph. Guelph, Ontario, Canada. 2016; 94 pp.
- Di Francesco S, Neglia G, Vecchio D, Rossi P, Russo M, Zicarelli L, D'Occhio MJ, Campanile G. Influence of season on corpus luteum structure and function and AI outcome in the Italian Mediterranean buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 2012a; 78:1839-1845.
- Di Francesco S, Novoa MV, Vecchio D, Neglia G, Boccia L, Campanile G, Zicarelli L, Gasparrini B. Ovum pick-up and in vitro embryo production (OPU-IVEP) in Mediterranean Italian buffalo performed in different seasons. *Theriogenology.* 2012b; 77(1):148-154. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.07.028
- Dobson H, Kamonpatana M. A review of female cattle reproduction with special reference to a comparison between buffaloes, cows and zebu. *J. Reprod. Fertil.* 1986; 77:1-36.
- Eissa HM, El-Belely MS, Ghoneim IM, Ezzo O.H. Plasma progesterone, oestradiol-17 beta, oestrone sulphate, corticosteroids and a metabolite of PGF2 alpha: evolution throughout pregnancy, before, during and after parturition in buffalo cows. *Vet. Res.* 1995; 26:310-318.
- El-Belely NS. Progesterone, estrogen and selected biochemical constituents in plasma and uterine flushings of normal and repeat breeder buffalo cows. *J. Agric. Sci.* 1993; 120:241-250.
- Foda TA, Kawthar AM, Gebeel IA. Phenotypic and genetic trends for milk production in Egyptian buffaloes. *Journal of American Science.* 2010; 6(11): 143-147.
- Franceschini I, Lomet D, Catea M, Delsol G, Tillet Y, Caraty A. Kisspeptin immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha. *Neurosci Lett.* 2006; 401(3):225-230.
- Gasparrini B. Effect of reproductive season on embryo development in the buffalo. *Reprod Fert Dev.* 2019; 31:68-81.
- Gasser CL, Behlke EJ, Grum DE, Day M.L. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early weaned heifers. *J. Anim. Sci.* 2006; 84:3118
- Gimenes LU, Carvalho NA, Sá Filho MF, Vannucci FS, Torres-Júnior JR, Ayres H, Ferreira RM, Trinca LA, Sartorelli ES, Barros CM, Beltran MP, Nogueira GP, Mapletoft RJ, Baruselli PS. Ultrasonographic and endocrine aspects of follicle deviation, and acquisition of ovulatory capacity in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 2011; 123(3-4):175-179
- Gunwant P, Pandey AK, Singh I, Phogat JB, Kumar S, Kumar S. Seasonal variation of calving in Murrah buffalo at organized dairy farm. *Int. J. Pure App. Biosci.* 2018a; 6(1):1283-1287 doi.org/10.18782/2320-7051.5814
- Gunwant P, Pandey AK, Kumar A, Singh I, Kumar S, Phogat JB, Kumar V, Patil CS, Tomar P, Kumar S, Magotra A. Polymorphism of melatonin receptor MTNR1A gene and its association with seasonal reproduction in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci.* 2018b. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.10.006
- Haldar A, Prakash BS. Peripheral patterns of growth hormone, luteinizing hormone, and progesterone before, at, and after puberty in buffalo heifer. *Endocr. Res.* 2005. 31(4):295-306.
- Hussein HA, Abdel-Raheem SM. Effect of feed intake restriction on reproductive performance and pregnancy

- rate in Egyptian buffalo heifers. *Trop. Anim. Health Prod.* 2013; 45:1001-1006. doi 10.1007/s11250-012-0324-9
- Ingole SD, Deshmukh BT, Nagvekar AS, Bharucha SV. Endocrine profile from birth to puberty in buffalo calves and heifers. *Indian Journal of Animal Sciences.* 2011; 81(6):563-569.
  - Jamuna V, Chakravarty A.K. Evaluation of fertility in relation to milk production and productivity of Murrah buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 2016; 171:72-80.
  - Jha SS. Ovarian responses of buffalo treated with PGF2 alpha. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research.* 2011; 4:377-379.
  - Kaker ML, Razdan MN, Galhotra MM. Serum LH concentrations in cyclic buffalo *Bubalus bubalis*. *J. Reprod. Fertil.* 1980; 60:419-424.
  - Kanai Y, Abdul-Latif T, Ishikawa N, Shimizu H. Behavioral and hormonal aspects of the oestrous cycle in swamp buffaloes reared under temperate conditions. In: *Domestic buffalo production in Asia*. Vienna: International Atomic Energy Agency. 1990; p. 113-120.
  - Kassim NSI, Afify AA, Hassan HZ. Effect of photoperiod length on some reproductive traits and hormonal profiles in buffalo heifers. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences.* 2008; 3:646-655.
  - Kavaya KM, Sharma RK, Jerome A, Phulia SK, Singh I. Anti-Müllerian hormone and antral follicular count in early and delayed pubertal Murrah buffalo heifers. *Livestock Science.* 2017; 198:89-92.
  - Klenke U, Constantin SS, Wray S. Neuropeptide Y directly inhibits neuronal activity in a subpopulation of gonadotropin-releasing hormone-1 neurons via Y1 receptors. *Endocrinology.* 2010; 151:2736.
  - Kushwaha BP, Singh S, Maity SB. Seasonality of calving in Bhadawari and Murrah buffaloes in Bundelkhand, India. *Buffalo Bulletin.* 2011; 30(4):256-261.
  - Lamberson WR, Ramos AA, Malhado, CHM, Jorge AM, Ferraz Filho PB, DeFreitas JA, De Souza J.C. Parturition intervals and distributions of parturitions by months of buffalo in Southern and South-eastern Brazil. *Ital. J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl. 2):593-596.
  - Lehman MN, Karsch FJ. Do gonadotropin-releasing hormone, tyrosine hydroxylase, and b-endorphin-immunoreactive neurons contain estrogen receptors? A double-label immunocytochemical study in the Suffolk ewe. *Endocrinology.* 1993; 133: 887-895.
  - Lincoln GA, Ebling FJP. Effect of constant-release implants of melatonin on the onset of ovarian activity in adult and prepubertal ewes. *Reprod. Fert.* 1985; 73:241.
  - Lohan IS, Malik RK, Kaker ML. Uterine involution and ovarian follicular growth during early postpartum period of Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2004; 17(3):313-316
  - Luridiana S, Mura MC, Pazzola M, Paludo M, Cosso G, Dettori ML, Bua S, Vacca GM, Carcangiu, V. Association between melatonin receptor 1A *MTNR1A* gene polymorphism and the reproductive performance of Mediterranean Italian buffaloes. *Reprod. Fertil. Dev.* 2012; 24(7):983-987
  - Manik RS, Madan ML, Singla SK. Ovarian follicular dynamics in water buffaloes *Bubalus bubalis*: ultrasonically monitoring individual follicles for wave hypothesis. *Theriogenology.* 1994; 41:247abstr.
  - Manik RS, Singla SK, Palta P, Madan ML. Ovarian follicular dynamics monitored by real-time ultrasonography during oestrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 1998; 11:480-485.
  - Manik RS, Palta P, Singla SK, Sharma V. Folliculogenesis in buffalo (*Bubalus bubalis*): a review. *Reprod. Fertil. Dev.* 2002; 14:315-325.
  - Menéndez-Buxadera A, Verde O. Componentes de covarianza de la producción de leche de un rebaño bufalino venezolano estimados con modelos de lactancia completa o del día de control. *Zootecnia Tropical.* 2014; 32:63-75.
  - Moiola BM, Napolitano F, Puppo S, Barile VL, Terzano GM, Borghese A, Malfatti A, Catalano, A, Pilla AM. Patterns of oestrus, time of LH release and ovulation and effects of time of artificial insemination in Mediterranean buffalo cows. *Anim. Sci.* 1998; 66(1): 87-91.
  - Mondal S, Prakash BS. Peripheral plasma progesterone concentration in relation to estrus expression in Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*). *Ind. J. Anim. Sci.* 2003; 73(2): 292-293.
  - Mondal S, Prakash BS, Palta P. Relationship between peripheral plasma inhibin and FSH concentrations in Sahiwal cows (*Bos indicus*) and Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during estrous cycle. *Trop Anim Health Prod.* 2008; 40:403-406
  - Montiel Urdaneta NS. Algunos aspectos reproductivos e inseminación artificial en búfalas. En: *Proceedings X Seminario de Pastos y Forrajes.* 2006; pp. 174-186. Maracaibo, Venezuela.
  - Montiel-Urdaneta N, Rojas N, Angulo F, Hernández A, Zuleta J, Cahua N, Torres I. Efecto de algunos factores ambientales sobre la estacionalidad en los partos en búfalas. *Arch Latinoam de Producción Animal.* 1997; 5(Supl. 1):423-425.
  - Mor A, Mondal S, Reddy IJ, Soumya NP. Genes regulating maternal recognition of pregnancy in domestic animals: an update. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 2015; 58(6):854-863.
  - Nava-Trujillo H, Escalona-Muñoz J, Carrillo-Fernández F, Parra-Olivero A. Effect of parity on productive performance and calving interval in water buffaloes. *Journal of Buffalo Science.* 2018; 7:13-16.
  - Nava-Trujillo H, Valeris-Chacin R, Hernandez J, Duran Nuñez M, Morgado-Osorio A, Caamaño J, Quintero-Moreno A. Effect of season and parity on water buffalo calving distribution throughout the year in Venezuela. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.* 2019a; 17:e17013. 10.7213/1981-4178.2019.17013
  - Nava-Trujillo H, Valeris-Chacin R, Morgado-Osorio A, Valero-Guerra J. Effect of parity and season of calving on the postpartum reproductive activity of water buffalo cows. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry (Zhivotnovadni Nauki).* 2019b; 56(4):3-12.

- Nava-Trujillo H, Valeris-Chacin R, Quintero-Moreno, A, Escalona-Muñoz J. Milk yield at first lactation, parity, and season of calving affect the reproductive performance of water buffalo cows. *Anim Prod Sci.* 2019c; in press
- Neglia G, Natale A, Esposito G, Salzillo F, Adinolfi L, Zicarelli L, Francillo M. Follicular dynamics in synchronized Italian Mediterranean buffalo cows. *Ital. J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl. 2):611-614.
- Neglia G, Vecchio D, Di Palo R, Pacelli C, Comin C, Gasparri B, Campanile G. Efficacy of PGF2 $\alpha$  on pre-ovulatory follicle and corpus luteum blood flow. *Reprod. Dom. Anim.* 2012; 47:26-31.
- Ojeda RA, Londoño R, Gutiérrez C, Gonella-Diaz AA. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in multiparous buffalo cows and buffalo heifers. *Revista MVZ Cordoba.* 2014; 19(2):4130-4140.
- Palta P, Bansal N, Manik RS, Prakash BS, Madan ML. Interrelationship between follicular size and follicular fluid estradiol 17 $\beta$ , progesterone and testosterone concentrations in individual buffalo ovarian follicles. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.* 1998; 11:293-299.
- Pandey AK, Dhaliwal GS, Ghuman SPS, Agarwal SK. Impact of pre-ovulatory follicle diameter on plasma estradiol, subsequent luteal profiles and conception rate in buffalo (Bubalus bubalis). *Anim. Reprod. Sci.* 2011; 123:169-174.
- Pandey AK, Ghuman SPS, Dhaliwa GS, Honparkhe M, Phogat JB, Kumar S. Effects of preovulatory follicle size on estradiol concentrations, corpus luteum diameter, progesterone concentrations and subsequent pregnancy rate in buffalo cows (Bubalus bubalis). *Theriogenology.* 2018; 107:57-62.
- Parmeggiani A, Seren E, Esposito L, Borghese A, Di Palo R, Terzano GM. Plasma levels of melatonin in buffalo cows. *Proceedings of the International Symposium Prospects of buffalo production in the Mediterranean and the Middle East, Doki Cairo, 9–12 November, EAPP Publication no. 62.* 1992; pp. 401-403
- Parmeggiani A, Di Palo R, Zicarelli L, Campanile G, Esposito L, Seren E, Accorsi PA. Melatonin e stagionalità riproduttiva nella bufala. *Agricoltura Ricerca.* 1994; 153:41-48.
- Patterson DJ, Perry RC, Kiracofe GH, Bellows RA, Staigmiller RB, Corah LR. Management considerations in heifer development and puberty. *J Anim Sci.* 1992; 70(12):4018-4035.
- Perera BMAO, Abeygunawardena H, Thamocharan A, Kindahl H, Edqvist, LE. Periparturient changes of estrone, progesterone and prostaglandin in the water buffalo. *Theriogenology.* 1981; 15(5):463-467
- Perera BMAO. Reproduction in water buffalo: comparative aspects and implications for management. *J. Reprod. Fertil.* 1999; 54:157-168.
- Perera BM. Reproductive cycles of buffalo. *Anim Reprod Sci.* 2011; 124(3-4):194-199.
- Prajapati GN, Anand Laxmi N. Plasma Nesfatin-1 and leptin in pubertal and non-pubertal Murrah buffalo heifers (Bubalus bubalis). *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2015; 24:396-403.
- Prajapati GN, Kumar A, Anand Laxmi N, Singh NK, Mathur AK. Parallelism of nesfatin-1, Ghrelin and leptin with metabolic parameters and progesterone at puberty in Murrah buffalo heifers. *Journal of Animal Research.* 2018; 7(6):1-6.
- Porto-Filho RM, Gimenes LU, Monteiro BM, Carvalho NAT, Chuman SPS, Madureira EH, Baruselli P.S. Detection of estrous behavior in buffalo heifers by radiotelemetry following PGF2 $\alpha$  administration during the early or late luteal phase. *Anim. Reprod. Sci.* 2014; 144:90-94.
- Pottapenjara V, Rajanala SR, Reddy Ch, Gangineni A, Avula K, Bejjanki SK, Sathagopam S, Kesharwani S, Velmurugan S. Kisspeptin modulates luteinizing hormone release and ovarian follicular dynamics in pre-pubertal and adult murrah buffaloes. *Front Vet Sci.* 2018; 5:149. doi: 10.3389/fvets.2018.00149.
- Purohit GN. Gestation and fetal development in the buffalo. In: *Bubaline Theriogenology*, Purohit G.N. Ed.. International Veterinary Information Service, Ithaca NY www.ivis.org. 2016; A5707.0316.
- Qayyum A, Arshad U, Yousuf MR, Ahmad N. Effect of breeding method and season on pregnancy rate and embryonic and fetal losses in lactating Nili-Ravi buffaloes. *Trop. Anim. Health Prod.* 2017; doi.org/10.1007/s11250-017-1468-4.
- Qureshi MS, Samad HA, Habib G, Usmani RH, Siddiqui MM. Study on factors leading to seasonality of reproduction in dairy buffaloes. I. Nutritional factors. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 1999a; 12(7):1019-1024.
- Qureshi ZI, Lodhi LA, Bajwa MA, Muhammad G, Ahmad I. Estradiol-17 $\beta$  concentration in different biological fluids during the oestrous cycle in buffalo. *Pak. J. Agri. Sci.* 1999b; 36(3-4): 106-108.
- Rabidas SK, Gofur MR, Juyena NS, Alam MGS. Controlled induction of parturition in the dairy buffaloes: An approach of success of buffalo breeding farm in Bangladesh. *Asian Journal of Animal Sciences.* 2015; 9(5):241-247.
- Rahman MDS, Shohag AS, Kamal MDM, Bari FY, Shamsuddin M. Preovulatory follicular and subsequent luteal size influence pregnancy success in water buffaloes. *J. Reprod. Dev.* 2012; 58:219–22
- Redmond JS, Baez-Sandoval GM, Spell KM, Spencer TE, Lents CA, Williams GL, Amstalden M. Developmental changes in hypothalamic Kiss1 expression during activation of the pulsatile release of luteinizing hormone in maturing ewe lambs. *J. Neuroendocrinol.* 2011; 23:815–822
- Riaz U, Hassan M, Husnain A, Navee MI, Singh J, Ahmad N. Effect of timing of artificial insemination in relation to onset of standing estrus on pregnancy per AI in Nili-Ravi buffalo. *Anim. Reprod.* 2018; 15(4):1231-1235. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2017-0015.
- Rojas NJ. Comportamiento productivo y reproductivo de búfalas lecheras en un sistema semiintensivo bajo condiciones de bosque húmedo tropical. Trabajo de Ascenso. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Producción Animal.

- Cátedra de Sistemas de Producción de Rumiantes. Maracaibo, Venezuela. 2016; 88 p.
- Roy AK, Singh M, Kumar P, Bharath, Kumar BS. Effect of extended photoperiod during winter on growth and onset of puberty in Murrah buffalo heifers. *Veterinary World*. 2007; 9(2):216-221.
  - Russo M, Vecchio D, Neglia G, Pacelli C, Prandi A, Gasparrini B, Zicarelli L, D'Occhio MJ, Campanile G. Corpus luteum function and pregnancy outcome in buffaloes during the transition period from breeding to non-breeding season. *Reprod. Dom. Anim.* 2010; 45:988-991.
  - Sabia E, Napolitano F, De Rosa G, Terzano GM, Barile VL, Braghieri A, Pacelli C. Efficiency to reach age of puberty and behaviour of buffalo heifers (*Bubalus bubalis*) kept on pasture or in confinement. *Animal* 2014; doi:10.1017/S1751731114001876
  - Salzano A, Spagnuolo MS, Lombardi P, Vecchio D, Limone A, Censi SB, Balestrieri A, Pelagalli A, Neglia G. Influences of different space allowance on reproductive performances in buffalo. *Anim. Reprod.* 2017; 14(2):429-436
  - Sampaio Neto JC, Martins Filho R, Braga Lobo RN, Tonhati H. Avaliação dos desempenhos produtivo e reprodutivo de um rebanho bubalino no Estado do Ceará. *Rev. Bras. Zootec.* 2001; 30(2):368-373.
  - Sampedro D, Crudeli G. Condición corporal y preñez en búfalas. In: *Reproducción en Búfalas*. 1era edición. Crudeli GA, Konrad JL, Patiño EM (editors). Moglia Ediciones, Corrientes, Argentina. 2016; p. 167-173.
  - Sánchez Valencia J. Aspectos reproductivos y endocrinos del ciclo estral de la hembra bufalina (*Bubalus bubalis*). Tesis Doctoral, Universidad de Caldas, Colombia. 2016; pp 140.
  - Sánchez JA, Romero MH, Meneses AF. Dinámica folicular durante el ciclo estral natural en búfalas (*Bubalus bubalis*). *Rev Inv Vet Perú*. 2019; 30(1):299-308.
  - Sánchez JA, Romero MH, Suarez Vela YJ. Estacionalidad reproductiva de la hembra bufalina (*Bubalus bubalis*). *Rev Inv Vet Perú*. 2017; 28(3):606-618.
  - Sarath T. Studies on expression profile of interferon-t and embryonic development with reference to maternal recognition of pregnancy in buffalo. PhD Thesis. Indian Veterinary Research Institute, Deemed University, 2010; 143 pp.
  - Satheskumar S, Palanisamy A, Rangasamy S, Kathiresan D, Kumanan K. Comparative analysis of follicular and luteal dynamics in oestrous cycles of buffaloes and crossbred cattle. *Buffalo Bulletin* 2011; 30(2):148-56.
  - Saugandhika S, Sharma V, Malik H, Mohapatra SK, Bondre VP, Kumar S., Mohanty AK, Malakar D. Molecular characterization of IFN-T expressed in buffalo embryonic trophoblasts and expression of recombinant BulFN-T1 $\alpha$ 2 and BulFN-T8 isoforms in E.coli. *Protein Expr Purif.* 2016; 122:8-14.
  - Schneider JE. Energy balance and reproduction. *Physiology and Behavior*. 2004; 81(2):289-317.
  - Seren E, Parmeggiani A. Oestrous cycle in Italian buffalo. *Bubalus bubalis* 1997; 4:21-28.
  - Seren E, Parmeggiani A, Zicarelli L, Montemurro N, Pacelli C, Terzano, GM. 1993. Periestrus endocrine changes in Italian buffaloes. In: *Prospects of Buffalo Production in the Mediterranean and the Middle East: Proceedings of the joint ESAP, EAAP, FAO, ICAMS and OIE Symposium, Cairo, Egypt*. Wageningen, Netherlands: PUDOC. 1992; pp. 393-396. EAAP Publication, 62.
  - Sertu S, Voiculescu M, Pop A, Bota A, Grigorie F, Paraschivescu M. Research concerning the reproduction seasonality in Carpathian buffalo. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2012; 45(1);253-258.
  - Shah SNH, Dijkhuizen AA, Willemsse AH, Van der Wiel DFM. Economic aspects of reproductive failure in dairy buffaloes of Pakistan. *Prev. Vet. Med.* 1991; 11:147-155
  - Singh G, Adams G. The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 60-61:593-604.
  - Singh B, Dixit VD, Singh P, Georgie GC, Dixit VP. Plasma inhibin levels in relation to steroids and gonadotrophins during the oestrus cycle in buffalo. *Reprod. Dom. Anim.* 2001; 36(3-4):163-167.
  - Singh G, Singh GB, Sharma SS. Studies on follicular patterns in buffalo heifers. *Theriogenology*. 1984; 22:453-462.
  - Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ. KiSS-1 messenger bionucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology*. 2007; 148:1150-1157.
  - Smith JT, Li Q, Yap KS, Shahab M, Roseweir AK, Millar RP, Clarke, IJ. Kisspeptin is essential for the full preovulatory LH surge and stimulates GnRH release from the isolated ovine median eminence. *Endocrinology*. 2011; 152(3):1001-1012.
  - Strazzullo M, Gasparrini B, Neglia G, Balestrieri ML, Francioso R, Rossetti C, Nassa G, De Filippo MR, Weisz A, Di Francesco S, Vecchio D, D'Esposito M, D'Occhio MJ, Zicarelli L, Campanile G. Global transcriptome profiles of Italian Mediterranean buffalo embryos with normal and retarded growth. *PLoS One*. 2014; 9(2):e90027. doi: 10.1371/journal.pone.0090027.
  - Sweers W, Mohring T, Muller J. The economics of water buffalo *Bubalus bubalis* breeding, rearing and direct marketing. *Archiv fur Tierzucht*. 2014; 57:1-11
  - Takkar OP, Singh M, Varman PN. Progesterone profile in buffaloes during various stages of oestrous cycle using radioimmunoassay technique. *Theriogenology*. 1982; 17(5):565-569.
  - Taneja M, Ali A, Singh G. Ovarian follicular dynamics in water buffalo. *Theriogenology*. 1996; 46:121-130.
  - Terzano GM, Barile VL, Mongiorgi S, Borghese A. Effeto di diversi livelli alimentari sulla pubertà in bufale di razza Mediterranea. *Atti 47o Conv. S.I.S. Vet.* 1993; Riccione:1803-1807
  - Terzano GM, Barile VL, Borghese A. Overview on reproductive endocrine aspects in buffalo. *Journal of Buffalo Science*. 2012; 1:126-138.
  - Terzano GM, Neglia G, Maschio M, Barile VL, Razzano M, Martiniello P, Cannone I, Borghese A. Effect of intensive or extensive systems on buffalo heifers performances: onset of

- puberty and ovarian size. *Ital. J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl. 2):1273-1276.
- Usmani RH, Lewis G, Naz NA. Factors affecting length of gestation and birth weight of Nili-Ravi buffaloes. *Anim Reprod Sci.* 1987; 14:195-203.
  - Vale WG, Ribeiro HFL. Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2005; 29:63-73.
  - Vale WG, Weitze KF, Grunert E. Estrous behaviour and ovarian function in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) under Amazon conditions. In: *Proceedings 10th International Congress on Animal Reproduction and AI (ICAR)*. Urbana, IL. 1984; 2:154-156.
  - Vecchio D, Neglia G, Gasparrini B, Russo M, Pacelli C, Prandi A, D'Occhio MJ, Campanile G. Corpus luteum development and function and relationship to pregnancy during the breeding season in the Mediterranean buffalo. *Theriogenology.* 2012; 77(9):1811-5. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.12.025.
  - Warriach HM, Ahmad N. Follicular waves during the oestrous cycle in Nili Ravi buffaloes undergoing spontaneous and PGF2 $\alpha$ -induced luteolysis. *Anim. Reprod. Sci.* 2007; 101:332-337
  - Wiltbank JN, Gregory KE, Swiger LA, Ingalls JE, Rothlisberger JA, Koch RM. Effects of heterosis on age and weight at puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 1966; 25:744-751.
  - Zambrano-Varón JL, Bondurant RH. Reproductive endocrine profiles and follicular growth after estrus induction in the riverine water buffalo (*Bubalus bubalis*, 2n=50) and riverine-swamp hybrid buffalo (2n = 49). *Ital. J. Anim. Sci.* 2007; 6(Suppl 2):622-625.
  - Zicarelli L. Management under different environmental conditions. *Buff J.* 1995; 2:17-38.
  - Zicarelli L. Enhancing reproductive performance in domestic dairy water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Soc Reprod Fertil Suppl.* 2010; 67:443-455.
  - Zicarelli L, Esposito L, Campanile G, Di Palo R, Armstrong DT. Effects of using vasectomized bulls in artificial insemination practice on the reproductive efficiency of Italian buffalo cows. *Anim. Reprod. Sci.* 1997; 47:171-180.