

Morfologia do sistema genital, distúrbio reprodutivo e manejo do macho bubalino (*Bubalus bubalis*)

*Morphology of genital system, reproductive disorders and management of male buffalo (*Bubalus bubalis*)*

O.M. Ohashi¹, S.S.D. Santos, M.S. Miranda, M.S. Cordeiro², N.N. Costa, T.V.G. Silva

¹Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Lab. Reprod. Animal, Belém, PA Brasil.

²Instituto Federal do Pará, Campus de Abaetetuba, Cidade, PA, Brasil.

¹Autor para correspondência: ohashi@pq.cnpq.br

Resumo

O objetivo deste trabalho é descrever resumidamente o manejo e os parâmetros normais relativos à reprodução, bem como citar os principais distúrbios reprodutivos do touro bubalino, que ocorrem tanto no rebanho nacional quanto no internacional, embasando o veterinário de campo para que ele possa realizar uma avaliação segura da saúde reprodutiva dos touros bubalinos.

Palavras-chave: búfalo, patologia da reprodução.

Abstract

The objective of this paper is to make a short presentation about the management and the normal reproductive parameters of male buffalo, as well as to describe the mainly reproductive disorders which occur in the national and international buffalo herd in order to give technical support to the veterinarian to make a secure evaluation of the reproductive health of the male buffalo.

Keywords: *buffalo, pathology of reproduction*

Introdução

Com o advento das biotécnicas aplicadas à reprodução animal, a capacidade de difusão do material genético de reprodutores e matrizes foi facilitada exponencialmente, permitindo que, por inseminação artificial (IA), possam ser gerados milhares de filhos de um único reprodutor, o que potencializa a difusão do genoma paterno. Já pelas técnicas de transferência de embrião (TE) e fecundação *in vitro* (FIV), potencializam-se tanto a difusão do genoma materno quanto a do paterno, e, neste último caso, uma única dose de sêmen pode ser usada para fecundar, *in vitro*, ovócitos de várias vacas.

Por este motivo, é necessário que exames criteriosos da higidez clínico-reprodutiva bem como a avaliação da progênie (teste de progênie) sejam realizados nos animais doadores potenciais de sêmen e de óvulo/embrião, evitando-se, com isso, a disseminação de características indesejáveis no rebanho, especialmente no caso do rebanho bubalino brasileiro, em que a consanguinidade é alta (Vale et al., 2002; Vale e Ribeiro, 2009).

Portanto, o objetivo deste trabalho é trazer dados sobre os parâmetros reprodutivos normais do reprodutor bubalino e citar as principais alterações do trato reprodutivo que ocorrem tanto no rebanho nacional quanto no internacional, embasando o profissional de campo para que o mesmo possa realizar uma avaliação segura da saúde reprodutiva dos reprodutores bubalinos. Entretanto, para uma avaliação clínico-andrológica segura, é necessário conhecimento sobre os parâmetros reprodutivos normais, além do conhecimento sobre a ocorrência/prevalência das anomalias que afetam a espécie bubalina.

Morfologia do sistema genital

O conhecimento dos parâmetros morfológicos normais dos órgãos de uma espécie é um dos passos fundamentais para uma avaliação clínica segura de sua normalidade. Portanto, neste tópico, será descrita, resumidamente, a morfologia do sistema genital dos bubalinos.

Morfologicamente, o sistema genital dos búfalos assemelha-se aos dos bovinos, sendo que, proporcionalmente, todas as estruturas que constituem o referido sistema (bainha prepucial, bolsa escrotal, testículos, pênis e glândulas sexuais acessórias) apresentam-se menores que nos bovinos (Battacharia, 1974; Ohashi et al., 1988). A bainha prepucial é aderida ao abdômen, semelhante a dos bovinos taurinos e bem menor que a dos zebuínos, apresentando, entretanto, poucos ou mesmo a ausência de pelos ao redor do óstio prepucial. Já a bolsa escrotal, localizada na região inguinal, apresenta poucos pelos e é menos pendulosa que nos bovinos, devido ao fato de a constrição do colo da bolsa escrotal ser pouco pronunciada.

As vesículas seminais, por sua vez, são menores que as dos bovinos, com cerca da metade de seu tamanho e com as lobulações também menores, com comprimento e largura média de $5,3 \pm 2,2$ x $1,9 \pm 0,9$ e $4,9 \pm 2,4$ x $1,8 \pm 0,8$ cm para os lados direito e esquerdo, respectivamente, sendo que as ampolas dos condutos deferentes apresentam comprimento médio de $9,3 \pm 3,7$ e $9,3 \pm 3,9$ cm para os lados direito e esquerdo, respectivamente (Vale et al., 1981).

Biometria testicular

Na avaliação andrológica de um reprodutor, é fundamental o conhecimento dos parâmetros biométricos normais dos testículos, especialmente a circunferência escrotal, que é uma das medidas biométricas mais utilizadas na avaliação tanto do desenvolvimento reprodutivo quanto do testicular, por ser de fácil obtenção e alta repetibilidade, além de apresentar alta correlação com o peso corporal, com a capacidade reprodutiva do animal (Melo, 1991; Ohashi, 1993; Chacur, 1999; Vale et al., 2001; Viana, 2006), bem como com a produção espermática (Pant et al., 2003; Brito et al., 2004; Ahmad et al., 2010).

Em bubalinos, dados sobre a biometria testicular são poucos e com grande variação entre eles, tendo em vista a diferença racial e de manejo nutricional, dificultando, assim, a obtenção de uma padronização do tamanho testicular para a referida espécie. Entretanto, trabalhos mais atuais apresentam uniformidade de seus dados, em que a média da circunferência escrotal (CE) de animais adultos (>36 meses de idade), mantidos em condições semelhantes de manejo em pastagens de boa qualidade, foi de $32,1 \pm 1,5$ cm para a raça Murrah (Pant et al., 2003) e de $32,7 \pm 2,7$ cm (Ohashi, 1993), 32,4 cm (Crudelli et al., 2001) e $32,4 \pm 2,1$ cm para animais mestiços (Quirino, 2002).

Deve ser ressaltado, entretanto, que fatores relacionados ao manejo nutricional influenciam tanto o desenvolvimento corporal quanto o testicular, o que indica que estudos dessa natureza precisam ser realizados com bubalinos, por meio dos quais poderão ser avaliados com confiabilidade o potencial produtivo e o reprodutivo da referida espécie.

Os dados biométricos relacionados à CE da Tab. 1 (Ohashi, 1993), Tab. 2 (Crudelli et al., 2001) e Tab. 3 (Pant et al., 2003) de diferentes países (Brasil, Argentina e Índia, respectivamente) proporcionam uma indicação segura para a definição dos parâmetros relacionados à CE para a espécie bubalina em diferentes faixas etárias. No entanto, é importante ressaltar que a CE não deve ser usada como o único parâmetro para a seleção de reprodutores, pois há a necessidade do exame clínico-andrológico completo, incluindo a análise do sêmen e espermiograma para que seja certificada a capacidade reprodutiva do touro.

Tabela 1. Média do peso corporal (kg) e da circunferência escrotal (cm) de bubalinos mestiços (Mediterrâneo x Murrah) de diferentes faixas etárias (meses), criados em manejo extensivo (Brasil).

Grupos (m)	RN (n = 10)	2-5 m (n = 10)	6-8 m (n = 10)	9-11 m (n = 10)	13-14 m (n = 10)	16m (n = 10)	18-24 m (n = 10)	>36m (n = 10)
Peso corporal	$34,4^a \pm 4,7$	$126,2^b \pm 19,9$	$151,1^b \pm 24,2$	$229,5^c \pm 43,4$	$328,9^d \pm 51,6$	$352,6^d \pm 27,6$	$458,9^e \pm 71,9$	$735,9^f \pm 115,9$
CE	$8,8^a \pm 0,5$	$12,6^b \pm 0,7$	$14,1^b \pm 1,1$	$19,3^c \pm 2,1$	$23,7^d \pm 1,0$	$24,4^d \pm 1,1$	$28,2^e \pm 1,6$	$32,7^f \pm 2,7$

Sobrescritos diferentes na mesma linha diferem significativamente ($p < 0,05$); RN = recém-nascidos; m = meses; CE = circunferência escrotal.

Fonte: Ohashi (1993).

Tabela 2. Média da circunferência escrotal (cm) e peso corporal (kg) de bubalinos mestiços (Murrah x Mediterrânea x Jafarabadi) de diferentes idades, criados em manejo extensivo (Argentina).

Idade (anos)	Até 1 (n = 36)	>1 (n = 38)	>2 (n = 43)	>3 (n = 18)	>4 (n = 5)	>5 (n = 9)	>6 (n = 30)
Peso corporal	299,15	329,69	474	508,66	623,33	631,11	670,94
CE	20,31	23,0	26,5	29,5	31	31,7	32,4

Fonte: Crudelli et al. (2001).

Tabela 3. Média do peso corporal (kg) e circunferência escrotal (cm) de búfalos Murrah em diferentes idades (Índia).

Idade (m)	18-24 (n = 31)	25-36 (n = 51)	37-48 (n = 23)	49-60 (n = 17)	>60 (n = 11)
Peso corporal	$334,2 \pm 21,9$	$408,6 \pm 53,4$	$548,2 \pm 80,6$	$639,4 \pm 44,5$	$680,4 \pm 57,1$
CE	$19,4 \pm 2,0$	$24,5 \pm 2,8$	$28,1 \pm 2,8$	$30,0 \pm 2,0$	$32,1 \pm 1,5$

Fonte: Pant et al. (2003).

Sêmen

A análise do sêmen é uma das principais etapas no processo de avaliação da saúde reprodutiva de um animal, entretanto problemas técnicos durante a colheita podem induzir a erros no diagnóstico. Em búfalos, o método indicado para a colheita de sêmen é o da vagina artificial, cujo modelo é o mesmo utilizado para bovinos, sendo que um pouco mais curta, com cerca de 30-35 cm de comprimento. Além disso, não há a necessidade de lubrificar a vagina artificial, pois a lubrificação natural do pênis é suficiente, porém a temperatura interna da vagina deve estar ao redor de 42-44°C.

Em búfalos, deve-se evitar colocar dois touros adultos (acima de cinco anos) no mesmo recinto da colheita, sem um condicionamento prévio, pois não é raro ocorrer briga entre eles, visto que o touro búfalo tem o comportamento marcante de demarcação do seu território. Por este mesmo motivo, também não é aconselhado o uso de manequim macho para a colheita de sêmen.

Para condicionar os animais à colheita por vagina artificial, é aconselhado o uso, como manequim, de uma fêmea em cio, o qual pode ser induzido por hormônio. Após o condicionamento dos animais, não há mais a necessidade de a fêmea estar no cio para a realização da colheita do sêmen.

O uso do método de eletroejaculação para a colheita do sêmen de bubalinos é possível para animais jovens entre dois e quatro anos, desde que tenha uma boa contenção física. Entretanto, em touros adultos acima de cinco anos, é desaconselhável a utilização deste método, mesmo sob contenção física, pois pode ocorrer reação violenta dos animais, inclusive com risco de lesão deles, uma vez que o búfalo é extremamente sensível ao estímulo elétrico.

Assim como nos bovinos, é possível a colheita de sêmen pela massagem das ampolas dos dutos deferentes, porém deve-se ter cuidado na avaliação da amostra seminal, tendo em vista que os espermatozoides que serão analisados estão armazenados em uma temperatura inadequada (temperatura da cavidade abdominal), a qual está acima da temperatura da cauda do epidídimos, onde eles fisiologicamente são estocados. Este fato pode levar a alterações no metabolismo e na morfologia espermática, induzindo a uma interpretação errônea dos resultados, principalmente se os animais ejacularem dentro da bainha prepucial, o que compromete ainda mais a qualidade seminal, especialmente do ponto de vista microbiológico.

O volume do sêmen de búfalos varia de 2 a 3 ml para animais jovens na faixa etária de dois a três anos e de 4 a 6 ml para animais acima de quatro anos, com concentração variando de 0,8 a 1,5 x 10⁹ espermatozoides/ml e motilidade de 70-80% (Ohashi et al., 1988; Vale, 1994, 2002; Javed et al., 2000; Pant et al., 2003; Viana, 2006; Ohashi e Baruselli, 2008).

Tendo em vista a espécie bubalina apresentar estacionalidade reprodutiva, a variação na qualidade seminal pode ocorrer em função da estação do ano (Chaudhary e Gangwar, 1977; Dixit et al., 1985; Mandal et al., 2003; Ramadan et al., 2009), com maior atividade reprodutiva nas estações de outono/inverno, que apresentam os dias curtos (hora x luz). Essa variação ocorre inclusive em relação à testosterona, a qual surpreendentemente, na literatura consultada, apresenta menor concentração sanguínea no outono e no inverno, que são as estações da reprodução dos búfalos, do que na primavera e no verão (Dixit et al., 1985; Borghese et al., 2001; Malfatti et al., 2006). Portanto, nas regiões onde há bem definidas as estações do ano, deve ser considerado se não há a influência da estação sobre a qualidade seminal.

Manejo reprodutivo a campo

A monta natural é o tipo de manejo reprodutivo mais comum nas criações de búfalos, especialmente em criações extensivas. Neste tipo de manejo, o reprodutor desempenha um papel fundamental com relação à fertilidade do rebanho, portanto é importante que, antes da estação de monta, todos os reprodutores sejam submetidos a um exame andrológico criterioso para se eliminar os animais com problemas de fertilidade, especialmente os de caráter hereditário.

Um dos itens a ser observado neste tipo de manejo é a proporção touro/vaca, que, segundo Baruselli (1993), para a espécie bubalina é: animais jovens: 2 anos (1 touro/15 a 25 vacas); 3 anos (1 touro/25 a 35 vacas); 4 anos (1 touro/35 a 45 vacas); animais adultos: >5 anos (1 touro/45 a 60 vacas). É importante salientar que reprodutores jovens, logo após serem introduzidos no rebanho, especialmente se oriundos de outras propriedades, algumas vezes são enfrentados pela fêmea dominante do rebanho local, a qual normalmente é uma vaca de porte corporal maior que as demais e acima de cinco anos de idade, impedindo a aproximação do reprodutor. Entretanto, após alguns dias, essa rivalidade cessa e o reprodutor passa a ter sua atividade reprodutiva normal.

Outra característica que o touro bubalino com mais de cinco anos apresenta é a dominância que ele exerce sobre as fêmeas e o rebanho em geral, não permitindo a presença de outro macho, o que provoca sérias brigas com o “opONENTE”, levando à sua expulsão do rebanho ou mesmo à morte de um dos animais. Isso dificulta o manejo de grandes rebanhos sob condições de monta natural, sendo tal característica pouco observada em animais jovens (abaixo de quatro anos). Sob condições de monta controlada, segundo Baruselli (1993), um touro bubalino pode cobrir até 120 búfalas em uma estação de monta.

Problemas reprodutivos

Em função de sua ocorrência no rebanho brasileiro, os problemas reprodutivos dos bubalinos foram classificados em dois grupos: os de origem genética e/ou congênita e os de origem adquirida/infecciosa, os quais serão descritos a seguir.

Anomalias reprodutivas de origem genética e/ou congênita

Um dos principais fatores que levam ao aparecimento das anomalias de origem hereditária, especialmente as de caráter recessivo, é a consanguinidade, fato que está ocorrendo no rebanho brasileiro em função do pequeno número de animais que deu origem a ele (Vale e Ribeiro, 2009).

Abaixo, foram listadas as anomalias de possível caráter hereditário que acometem o sistema genital e que foram descritas tanto no rebanho nacional e internacional para que os profissionais de campo possam identificar mais facilmente a ocorrência delas.

Hipoplasia testicular

A hipoplasia gonadal é uma anomalia de caráter hereditário e está bem descrita em bovinos, mas ocorre em todas as espécies de mamíferos e acomete tanto a fêmea quanto o macho, indistintamente (Roberts, 1986; McEntee, 1990). Tendo em vista o caráter hereditário, é de fundamental importância que seja realizado o correto diagnóstico para se evitar que animais portadores desta anomalia sejam utilizados como reprodutores ou matrizes.

Assim como nos bovinos, a hipoplasia testicular se caracteriza, clinicamente, pelo menor tamanho testicular, podendo afetar um único testículo (unilateral) ou os dois testículos (bilateral) de maneira parcial ou total.

A ocorrência dessa anomalia no rebanho bubalino nacional foi descrita por Ohashi et al. (1988, 1995, 1997); Vale e Ribeiro (2009); Barbosa et al. (2010), bem como em outros países (Kaikini e Patil, 1978; Kodagali et al., 1980; Khan et al., 1991). Ainda são necessários estudos mais abrangentes para definição da frequência dessa anomalia no rebanho, entretanto, em um estudo das ocorrências de anomalias testiculares de bubalinos mestiços abatidos em matadouro, foram observados dois casos (0,62%) de hipoplasia testicular de 319 animais examinados (Ohashi et al., 1995). Em rebanho puro da raça Murrah, Vale e Ribeiro (2009) examinaram 123 touros e encontraram 11 (8,94%) animais com a hipoplasia testicular, salientando que esta alta incidência deve-se à reprodução consanguínea à qual o rebanho era submetido. Em um estudo da prevalência das anormalidades reprodutivas de búfalos da região amazônica, Barbosa et al. (2010) examinaram 305 reprodutores e encontraram 74 com problemas testiculares, sendo que, destes, 12 (3,93%) eram de hipoplasia testicular.

Aplasia testicular

Esta anomalia testicular é caracterizada pela ausência completa do desenvolvimento do parênquima testicular, cujo testículo apresenta-se como uma minúscula estrutura rudimentar alongada e enrugada. Entretanto, ao contrário do testículo, o epidídimos apresenta-se aumentado de tamanho, dando a impressão de que só existe epidídimos (Ohashi et al., 1995; Ohashi, 1997). Esta anomalia foi descrita por Kaikini e Patil (1978) e Chaudhuri et al. (1982), que a denominaram de “aplasia segmentar da gônada” e “ausência de testículo”, respectivamente. No Brasil, Ohashi et al. (1995) observaram essa anomalia em material de matadouro e em um touro da raça Murrah utilizado como reprodutor em um rebanho. Tal alteração não foi descrita em bovinos, mas McEntee (1990) relata a ocorrência dela em gatos, a qual denominou de “anorquidia”.

Disfunção do epidídimos e DAG “defect”

A disfunção do epidídimos é uma anomalia caracterizada por baixa motilidade dos espermatozoides causada por alta incidência de defeitos de cauda, e é considerada de caráter hereditário, sendo descrita pela primeira vez em bovinos *Bos taurus* por Gustafsson (1966) e em zebuínos por Vale Filho (1974). O diagnóstico dessa anomalia é dado pelo teste de exaustão, procedimento por meio do qual, após sucessivas colheitas de sêmen, em um curto intervalo de tempo, vai ocorrendo melhora na motilidade espermática, ao mesmo tempo em que o nível de defeito de cauda diminui. Em bubalinos, essa anomalia foi descrita por Ohashi et al. (1984), em cujo trabalho, para confirmação do diagnóstico foram realizados dois testes de exaustão, obtendo-se, no período de 90 minutos, cinco e seis ejaculados, respectivamente. Em ambos os testes, houve melhora na taxa de motilidade e queda no nível de anomalia de cauda espermática, quadro característico de disfunção do epidídimos.

A anomalia denominada de DAG “defect” foi descrita por Blom (1966) em referência a um touro da raça Jersey, denominado de DAG, e seu irmão, os quais apresentavam altos níveis de anomalia espermática, especialmente cauda fortemente dobrada e enrolada, sendo esta anomalia descrita em búfalos por Ribeiro e Vale

(2007). Entretanto, deve-se ter cuidado no diagnóstico dessa alteração, que pode ser confundida com degeneração testicular, pois, nestes animais, o quadro degenerativo é também caracterizado por elevado nível de alteração de cauda dos espermatozoides (Ohashi et al., 1988; Solano, 2009).

Aplasia segmentar dos dutos mesonéfricos

Esta anomalia caracteriza-se pela ausência de um segmento da via espermática, quase sempre do duto deferente, levando ao acúmulo de espermatozoides na cauda do epidídimo, o que pode promover a formação de um granuloma espermático caso ocorra extravasamento do conteúdo espermático em função do rompimento do duto epididimário. Tal distúrbio foi descrito em animais Murrah de alta linhagem do rebanho nacional por Ohashi (1997) e Vale et al. (2002).

Anomalias de posição da bolsa escrotal

A bolsa escrotal desempenha uma função fundamental para o processo espermogênico, que é a termorregulação testicular, mecanismo por meio do qual a temperatura dos testículos é mantida cerca de 3°C abaixo da temperatura abdominal. Portanto, alterações que prejudiquem a função termorreguladora, afetarão a atividade espermogênica testicular, levando à infertilidade do animal. Mudanças dessa natureza foram descritas em bubalinos por Vale et al. (2009), os quais relataram a ocorrência de anomalias de conformação e posição da bolsa escrotal/testículos em animais da raça Murrah, inclusive com alguns animais apresentando testículo na posição horizontal, semelhante aos equinos. Ainda, segundo os referidos autores, o fator predisponente, destes casos em particular, é a alta consanguinidade do rebanho Murrah nacional, tendo em vista considerarem ser estas alterações da posição da bolsa escrotal de caráter hereditário. A bolsa escrotal bifida foi a anomalia de maior ocorrência ($n = 24$, 7,86%) dentre os 40 (13,11%) casos de anomalias da bolsa escrotal descritos em 305 bubalino examinados por Barbosa et al. (2010).

Anomalias reprodutivas de origem adquirida / infecciosa

Degeneração testicular

A degeneração testicular é um dos distúrbios reprodutivos de maior prevalência, especialmente em bovinos (McEntee, 1990), e pode ser causada por inúmeros fatores, sendo que em regiões de clima tropical, uma das principais causas é a alta temperatura associada à alta umidade (Ohashi et al., 1988).

O quadro seminal do bubalino com degeneração testicular caracteriza-se por alta porcentagem de patologia de cauda espermática (Ohashi et al., 1988; Solano, 2009), o que difere do bovino, no qual a predominância são as patologias da cabeça e da gota citoplasmática proximal (Ohashi e Nur, 1985). O conhecimento desta diferença no quadro espermático da degeneração testicular em bubalinos, especialmente em relação à alta incidência de anomalias da cauda espermática, é importante para o diagnóstico diferencial com relação à disfunção do epidídimo e o DAG “defect”.

Outras alterações

Em áreas em que a tuberculose e a brucelose são endêmicas, a ocorrência de orquite e epididimite é frequente (Ohashi et al., 1984; Ribeiro et al., 1987; Barbosa et al., 2010), entretanto, nessas mesmas áreas, não foi relatada a ocorrência de inflamação das glândulas vesiculares, anomalia que é frequente em bovinos de áreas endêmicas em relação às referidas doenças (McEntee, 1990).

Conclusão

O conhecimento dos parâmetros reprodutivos normais, bem como da ocorrência de problemas relacionados à reprodução, é fundamental para um diagnóstico seguro sobre a fertilidade do touro bubalino, evitando, com isso, que animais com distúrbios reprodutivos, principalmente os de origem genética, sejam mantidos como reprodutores, prevenindo, assim, a difusão dessas alterações no rebanho bubalino.

Referências bibliográficas

Ahmad N, Umair S, Shahab M, Arslan M. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Nili-Ravi buffalo bulls. *Theriogenology*, v.73, p.20-25, 2010.

Barbosa EM, Ribeiro HFL, Rolim Filho ST, Ferreira RN, Garcia OS, Ayala HDM, Vale WG. Prevalence of reproductive abnormalities in the buffalo genital tract in Amazon Region, Brazil. *Rev Vet*, v.21, suppl.1, p.955-957, 2010.

Baruselli PS. *Manejo reprodutivo de bubalinos*. Registro, SP: Instituto de Zootecnia do Vale do Ribeira, 1993. 46p.

Battacharya P. Reproduction. In: Cockrill R. *The husbandry and health of the domestic buffalo*. Rome: FAO, 1974. p.105-166.

Blom E. A new sterilizing and hereditary defect. (the Dag defect) located in the tail of epididymis. *Nature*, v.12, p.739-740, 1966.

Borghese A, Malfatti A, Barbato O, Mancini, L, Terzano GM, Debenedetti A. Annual trend of the testosterone blood level in buffalo Bull bred in centralItaly. In: World Buffalo Congress, 6, 2001, Maracaibo, Venezuela. Maracaibo: WBC, 2001. v.2, p276-282.

Brito LF, Silva AE, Unanian MM, Dode MA, Barbosa RT, Kastelic JP. Sexual development in early- and late-maturing Bos indicus and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. *Theriogenology*, v.62, p.1198-217, 2004.

Chacur MGM. *Estresse térmico em touros bufalinos bubalus bubalis, avaliações das características fisiológicas da reprodução*. 1999. 126f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 1999.

Chaudhary KC, Gangwar PC. Seasonal variations in physico-biochemical determinants of buffalo (*Bos bubalis*) semen and their relation to fertility. *J Agric Sci*, v.89, p.273-277, 1977.

Chaudhuri N, Pursey LN, Pahihar NS. Studies on testicular abnormalities in non-descript buffaloes. *Indian J Anim Health*, v.21, p.83-87, 1982.

Crudelli GA, Maldonado VP, Barbaran SMF, Jiménez GT, Pellerano G. Evaluación de machos bubalinos na Argentine. In: World Buffalo Congress, 6, 2001, Maracaibo, Venezuela. Maracaibo: WBC, 2001. v.2, p118-122.

Dixit NK, Agarwal SP, Agarwal VK, Dwarakanath PK. Seasonal variation in serum levels of steroid hormones and their relation with seminal quality and libido in buffalo bulls. *Theriogenology*, v.24, p.293-303, 1985.

Gustafsson B. Luminal content of the bovine epididymis under conditions of reduced spermatogenesis, luminal blockage and certain sperm abnormalities. *Acta Vet Scand Suppl*, n.17, p.1-80, 1966.

Javed MT, Khan A, Kausar R. Effect of age and season on some semen parameters of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls. *Vet Arh*, v.70, p.83-94, 2000.

Kakini AS, Patil RK. Studies on genital malformation berari (Nagpuri) buffalo bulls. *Indian J Anim Sci*, v.48, p.411-413, 1978.

Khan IH, Chaundhry RA, Anzar M, Bajwa MA. Studies on causes of infertility in male Nili-ravi Buffalo. *Buffalo Bull*, v.10, p.51-57, 1991.

Kodagali SB, Bhavsar BK, Kavani FS. Age and reasons for disposal of A.I. buffalo bulls. *Indian J Anim Health*, v.19, p.31-34, 1980.

Malfatti A, Barbato O, Todini L, Terzano GM, Debenedetti A, Borghese A. Blood testosterone levels in Italian Mediterranean buffalo bulls managed in two different breeding conditions. *Theriogenology*, v.65:1137-1144, 2006.

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

McEntee K. *Reproductive pathology of domestic animals*. London: Academic Press, 1990. 401p.

Melo MIV. *Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade*. 1991. 66f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, 1991.

Ohashi OM. Anomalias de origem genética observadas no rebanho bubalino nacional. In: Simpósio Brasileiro de Bubalinocultura, 1996, Cruz das Almas, BA. *O búfalo no Brasil*. Cruz das Almas: UFBA/Escola de Agronomia, 1997. p.155-164.

Ohashi OM. *Estudo morfológico do testículo de búfalos mestiços (Bubalus bubalis) em diferentes idades*. 1993. 111f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, 1993.

Ohashi OM, Vale WG, Sousa JS, Ribeiro HFL. Orquite brucélica em búfalo. Relato de um caso. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Belém, PA. *Anais...* Belém: CRMV, 1984. p.19.

Ohashi OM Baruselli PS. Biotécnicas da reprodução animal aplicadas em bubalinos. In: Biotécnica aplicadas à Reprodução Animal. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. p.105-123.

Ohashi OM, Nur HM. Experimental testicular degeneration in bulls. In: Swedish International Postgraduate Course on Animal Reproduction, 16, 1985, Uppsala, Sweden. *Proceedings...* Uppsala: College of Veterinary Medicine, 1985. V.3.

Ohashi OM, Sousa J, Ribeiro HFL, Vale WG. Distúrbios reprodutivos em touros *Bos indicus*, *Bos taurus* e mestiços, criados em clima amazônico. *Pesq Vet Bras*, v.8, p.31-35, 1988.

Ohashi OM, Vale WG, Sousa JS, Silva AOA. Disturbance of testicular development n buffaloes (*Bubalus bubalis*): Hypoplasia and aplasia. *Buffalo. Journal*, v.1, p.97-101, 1995.

Pant HC, Sharma RK, Patel SH, Shukla HR, Mittal AK, Kasiraj R, Misra AK, Prabhakar JH. Testicular

development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls. *Theriogenology*, v.60, p.27-34, 2003.

Quirino CR. Observation on testicular size and sexual behavior in crossbred buffaloes. In: Buffalo Symposium of Americas, 1, 2002, Belém, PA. Belém: BSA, 2002. p.460-462.

Ramadan TA, Taha TA, Samak MA, Hassan A. Seasonal and monthly variations in semen characteristics of Egyptian buffalo bulls. *Alexandria J Agric Res*, v.54, p.13-23, 2009.

Ribeiro HFL, Vale WG. DAG defect. in Murrah buffalo bulls in Brazil. *Ital J Anim Sci*, v.6, suppl. 2, p.667-670, 2007.

Ribeiro HFL, Vale WG, Sousa JS. Orquite tuberculósica em búfalo. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 7, 1987, Belo Horizonte. *Anais*. Belo Horizonte: CBRA, 1987. p.200.

Roberts JS. *Veterinary obstetric and genital diseases (Theriogenology)*. Ann Arbor; Edwards Brothers, 1986. 981p.

Solano OG. *Estudo experimental da insulação testicular em bubalinos*. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2009.

Vale WG. Collection, processing and deep freezing of buffalo semen. *Buffalo J*, suppl. 2, p.65-81, 1994.

Vale WG. Reproductive management of buffalo male aiming semen production for artificial insemination. In: Buffalo Symposium of Americas, 1, 2002, Belém, PA, 2002. *Proceedings* ... Belém: BSA, 2002. CD-ROM.

Vale WG, Gastal DW, Snel-Oliveira MV, Mondadori RG. Relationship of age, bodyweight and scrotal circumference in Murrah buffalo bulls. In: World Buffalo Congress, 6, 2001, Maracaibo, Venezuela. *Proceedings*... Maracaibo: WBC, 2001. v.2, p.256-262.

Vale WG, Ribeiro HFL. Inheritance causes of buffalo bulls infertility in Brazil. *Buffalo Newslett*, n.24, p.3-9, 2009.

Vale WG, Silva AOA, Sousa JS, Pereira WLA, Magalhães AN, Oliveira CM, Ribeiro HFL. Arrested development of the mesonephric ducts in a Murrah buffalo bull. In: Buffalo Symposium of Americas, 1, 2002, Belém, PA, 2002. *Proceedings*... Belém: BSA, 2002. CD-ROM.

Vale WG, Sousa JS, Ohashi OM, Ribeiro FHL. Biometria do sistema genital de búfalos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.4, p.66-74, 1981.

Vale Filho VR. *Disfunção epididimária em touros Bos taurus e Bos indicus, criados no Brasil*. 1974. 82f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, MG, 1974.

Viana RB. *Influência da suplementação mineral sobre o desenvolvimento reprodutivo de búfalos do desmame aos 24 meses de idade*. 2006. 201f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP, 2006.