



Aspectos Moleculares de Reprodução em Bubalinos

Molecular Aspects of Reproduction in Buffaloes

José R. de S. Torres-Júnior^{1,‡}, Larissa S. dos Santos², Diego L. S. Ribeiro³, Itamara G. de França⁴, Alcina V. de Carvalho-Neta²

¹DMV/CCAA/UFMA, Chapadinha, MA, Brasil.

²DMV/CCA/UEMA, São Luís, MA, Brasil.

³CCA/UEMA.

⁴CCAA/UFMA.

Resumo

Informações recentes sobre a associação de aspectos moleculares e funcionais em bubalinos criaram novas oportunidades para estudar da regulação da reprodução nesta espécie e seu papel na fisiologia e, conseqüentemente, eficiência produtiva. Tem sido apontada interação de um "coquetel molecular" que opera de modo independente ou interdependente às funções celulares, hormonais e maturacionais relacionadas à fertilidade animal, uma vez que há genes cujos padrões de diversidade, mutações e polimorfismos estão diretamente associados às características reprodutivas em bubalinos. Nesta revisão serão evidenciadas algumas pesquisas, em sua maioria realizadas com a espécie bubalina, cujos resultados e considerações representam as ideias e paradigmas de vários autores. Considerando a importância deste tema, objetiva-se com este manuscrito, descrever alguns mecanismos moleculares já conhecidos e especular sobre as perspectivas futuras da pesquisa para encontrar *links* entre a biologia molecular e a eficiência reprodutiva observada no campo.

Palavras-chave: búfalo, reprodução, gene, polimorfismo, biologia molecular.

Abstract

Recent researches on the association of molecular and functional aspects in buffaloes has created new opportunities to study of reproductive regulation and its role in physiology and, consequently, productive efficiency. Have been described a "molecular cocktail" that controls independently or interdependently the cellular, hormonal and maturational functions related to animal fertility, since there are genes whose diversity patterns, mutations and polymorphisms, are directly associated with reproductive traits in buffaloes. In this review, will be emphasized some results and considerations that represent the ideas and paradigms of several authors. The aim of this manuscript is to describe some molecular mechanisms already known and to speculate on the future prospects to find links between molecular biology and reproductive efficiency observed in the field.

Keywords: buffalo, reproduction, gene, polymorphism, molecular biology

Introdução

Os bubalinos têm sido utilizados como fonte de proteína de origem animal e participado tradicionalmente da história da agropecuária em muitas partes do mundo (Cockrill, 1968; Zhang et al., 2016; FAOSTAT, 2007; Yindec, 2010). São animais encontrados praticamente em todos os continentes, com destaque para o Asiático (Índia, Paquistão, Tailândia, China e Vietnã), Africano (Egito), Europeu (Itália) e Sul Americano, sendo explorados na produção de carne, leite, tração animal e produção de esterco (Brasil, Argentina, Venezuela, Peru e Colômbia) (Fao, 2006; Lourenço Júnior e Garcia, 2008; Bernardes, 2011).

Estas características têm produzido crescente interesse no meio agropecuário e contribuído com o aumento do rebanho nacional (média de 5,43% ao ano entre 2006 e 2015) (Brasil, 2016). São animais de alta rusticidade, com precocidade, longevidade, vida útil produtiva e reprodutiva de 15 a 20 anos e taxa de natalidade superior a 80%, com mortalidade inferior a 3% ao ano, além de apresentarem capacidade de adaptação às adversidades do meio ambiente, (Moreira et al., 1994). Porém, em um estudo recente realizado por nosso grupo de pesquisa, foram detectados inúmeros fatores que podem contribuir com variações no desempenho e afetar a cadeia produtiva da bubalinocultura (Santos et al., 2016).

As variações nas características reprodutivas e produtivas são expressões resultantes de fatores genéticos e ambientais. Em geral as causas genéticas têm, individualmente, menor influência em comparação aos fatores ambientais, incluindo-se o clima, manejo, nutrição e doenças.

Existem trabalhos em diferentes países (Obi Reddy et al., 1987; Shah et al., 1990; Zicarelli, 1994) demonstrando que a eficiência reprodutiva de bubalinos é mais influenciada por fatores ambientais do que genéticos. Porém, informações recentes sobre a associação de aspectos moleculares e funcionais em bubalinos (Shashikumar et al., 2018) e outros ruminantes (Ferrazza et al., 2017; Kamalludin et al., 2018), criaram oportunidades para estudar

[‡]Correspondência: jose.torres@ufma.br

Recebido: 11 de dezembro de 2018

Aceito: 11 de março de 2019

um nível adicional de regulação da reprodução nestas espécies e seu importante papel na fisiologia e, conseqüentemente, eficiência produtiva. Finalmente, objetiva-se neste manuscrito, descrever alguns mecanismos moleculares já conhecidos e especular sobre as perspectivas futuras da pesquisa para encontrar *links* entre a biologia molecular e a eficiência reprodutiva observada no campo.

Controle endócrino “clássico” da reprodução em bubalinos

Os parâmetros endócrinos reprodutivos para todos os hormônios envolvidos no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal durante a atividade ovariana cíclica em búfalas são muito semelhantes aos dos bovinos (Terzano et al., 2012), além das semelhanças na anatomia e fisiologia geral entre as duas espécies (Drost, 2007).

Vários hormônios controlam o ciclo estral, os quais podem ser hipotalâmicos, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (Roch et al., 2010), hipofisários como hormônio foliculo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (Bergfelt et al., 2000; Luo et al., 2010), ovarianos como progesterona (P4), estradiol (E2) e inibina (Ginther et al., 2000a; b; Forde et al., 2010) e uterinos como a prostaglandina F2 α (PGF2 α) (Arosh et al., 2004).

Inicialmente, o FSH estimula a emergência e o crescimento comum de todos os folículos (Borghese, 2005; Ginther et al. 2000a). A inibina é o supressor primário inicial do FSH, começando quando cada folículo atinge em média 5 mm (Gibbons et al., 1997). Os folículos maiores são selecionados e passam a produzir estradiol a partir de substratos androgênicos provenientes das células da teca (Driancourt, 1991). Literalmente, a seleção inibe os folículos menores (FSH-dependentes), tornando-os subordinados e permitindo ao folículo dominante, LH-dependente, continuar a se desenvolver, enquanto os subordinados diminuem em sua taxa de crescimento (Ginther et al. 2016) devido às concentrações decrescentes de FSH mediadas pela inibina, E2 e LH (Bergfelt et al., 2000; Ginther et al., 1999; 2000a; b). Sob este *status* hormonal, o recrutamento de um novo grupo de folículos antrais é inibido (Hodgen, 1982).

A atresia do folículo dominante ocorre quando há presença de um corpo lúteo ativo no ovário, com ampla produção de progesterona. A progesterona exerce um efeito de retroalimentação (*feedback*) negativo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, reduzindo a amplitude e a frequência dos pulsos de LH, o que inviabiliza os processos de maturação final do folículo e ovulação (Lucy et al., 1992; Savio et al., 1993; Ginther et al., 1996). Quando o crescimento folicular coincide com a luteólise, quantidades crescentes de estradiol são liberadas pelo folículo dominante, exercendo *feedback* positivo sobre o hipotálamo, que altera o padrão de secreção de GnRH. Este hormônio estimula a hipófise a liberar o pico pré-ovulatório de LH e a conseqüente ovulação (Moioli et al., 1998).

Uma peculiaridade dos bubalinos em relação aos bovinos, é que os bubalinos são poliétricos sazonais fotoperiódicos de dias curtos, ou seja, os hormônios sexuais são sintetizados e liberados através do eixo hipotalâmico-hipofisário de acordo com as variações de luminosidade diária ao longo do ano (Bittman et al., 1985; Malpaux et al., 2001; Phogat et al., 2016). A informação fotoperiódica se processa por meio de uma complexa via nervosa e endócrina para modular a atividade reprodutiva. A informação da luz captada na retina é enviada via sensorial nervosa aferente e transformada em sinal endócrino pela glândula pineal que modula a secreção de melatonina (Phogat et al., 2016). Portanto, o hormônio melatonina mostra ter papel fundamental sobre a liberação de GnRH hipotalâmico nesta espécie.

A rota pela qual a melatonina atua na ativação do eixo reprodutivo em mamíferos é mais recentemente conhecida como “via retrógrada”, na qual, a duração do sinal de melatonina de origem pineal codifica a duração da noite e regula a secreção de tireotrofina (TSH) pela *pars tuberalis* da hipófise anterior. Por sua vez, o TSH se liga em receptores nas células endimárias que revestem a região do hipotálamo responsável pela síntese e liberação de GnRH, regulando a expressão de desidrase e codificando a enzima ativadora do hormônio tireoidiano que converte a tiroxina (T4) para triiodotironina (T3) bioativo que, subsequentemente, afeta a secreção do GnRH dos terminais axonais (Ikegami e Yoshimura, 2012; 2016; Yoshimura, 2013; Shinomiya et al., 2014; Korf, 2018), bem como a secreção das gonadotrofinas e a regulação sazonal da atividade ovariana de búfalas (Zicarelli, 1997).

Controle molecular da reprodução em bubalinos

Segundo Yindee (2010), além de revelar a história genética dos bubalinos, os estudos em nível molecular também produzem implicações diretas no manejo genético. Para Sosa et al. (2016a,b; 2017), o estudo dos polimorfismos em genes de interesse na reprodução revela sua importância como genes candidatos a marcadores para fertilidade em populações bubalinas. Contudo, para muitos autores, aparentemente ainda não há evidências substanciais de que determinados genes possam atuar isoladamente na determinação da fertilidade, mas sim em conjunto, apoiados por pesquisas que apontam a interação de um “coquetel molecular” que opera tanto localmente quanto em outras áreas e sistemas do organismo (Korf, 2018; Pfeffer et al., 2018; Shashikumar et al., 2018).

Seguindo este preceito, evidenciaremos algumas pesquisas, em sua maioria realizadas com a espécie bubalina, cujos resultados e considerações representam as ideias e paradigmas de vários outros autores, em diferentes espécies.

Um estudo realizado na Índia com fêmeas bubalinas da raça Murrah (*Bubalus bubalis*) em diferentes fases do ciclo estral revelou, a partir de um universo de 1.515 proteínas detectadas na saliva, que somente 74 foram comuns a todas as fases do ciclo estral, enquanto outras 31, 62, 32 e 104 foram encontradas especificamente no



proestro, estro, metaestro e diestro, respectivamente. Ao realizar agrupamentos por ontologia gênica e categorizar proteínas específicas com base na (i) função molecular, (ii) influência sobre os processos biológicos e (iii) local em que se expressou dentro da célula, os autores demonstraram claramente que, na fase de estro, foi expresso um número maior de proteínas ligadoras ou catalíticas, em comparação com outros estágios do ciclo estral. Estas proteínas podem estar envolvidas no apoio ao crescimento folicular, maturação do oócito e processo de ovulação (Shashikumar et al., 2018).

A maioria dos *clusters* gênicos possui perfis funcionais que os separam claramente dos demais *clusters*, indicando que pode haver homologia funcional. Após a administração de E2, P4 ou E2+P4 em fêmeas bovinas ovariectomizadas, os *clusters* responsivos ao E2 mostraram uma clara dominância de funções relacionadas ao ciclo celular, morfogênese e diferenciação (Shimizu et al., 2010). Neste mesmo estudo, o agrupamento de genes diferencialmente expressos permitiu a identificação e separação em padrões distintos de resposta hormonal, que puderam ser classificados em ações hormonais independentes e interdependentes. As inter-relações coordenadas, “proteína a proteína”, fundamentam a ideia de que a reprodução, bem como outras funções no organismo, está sob o controle conjunto de um “coquetel molecular” expresso sob diferentes aspectos, tanto genéticos quanto fisiológicos e ambientais.

Um outro aspecto importante a ser discutido é que, a partir de análises filogenéticas baseadas no sequenciamento de dados moleculares, evidenciou-se grande diversidade de genes, mutações e polimorfismos linhagem-específicos em diferentes raças de bubalinos (Zhang et al., 2016) e de outros mamíferos domésticos (Groeneveld et al., 2010; Wiener e Wilkinson, 2011). Isto abre uma gama de possibilidades, uma vez que há genes cujos padrões de polimorfismo estão diretamente associados às características reprodutivas e de fertilidade em bubalinos (Sosa et al., 2017).

O aprimoramento das técnicas de biologia molecular facilitou o reconhecimento de marcadores moleculares relacionados às características de importância biológica e econômica em animais (Margawati, 2012). Em uma sequência de estudos realizada com búfalos no Egito, foram estudados os padrões de polimorfismo nos genes FSH β , GnRHR e LHR, os quais revelaram que a frequência do padrão I para o gene FSH β entre animais férteis e inférteis foi de 78,10% e 21,87%, respectivamente, concluindo que este gene é polimórfico e pode ser usado como marcador para fertilidade em búfalos (Sosa et al., 2017). Já o gene para receptor de LH (LHR) revelou-se com padrão monomórfico, não estando associado com o caráter fertilidade, tanto em fêmeas quanto em machos (Reen et al., 2018; Kathiravan et al., 2018; Sosa et al., 2016a). Sabendo que o GnRH é o hormônio-chave que controla as funções reprodutivas em nível neuronal (Yeo, 2013), Sosa et al., (2016b) também revelaram polimorfismo no gene de seu receptor (GnRHR) e que o padrão III (CC) foi exibido com uma incidência de 100% em animais inférteis, com distúrbios ovarianos.

Esses resultados sugerem haver confiabilidade na técnica de Polimorfismo de Conformação de Filamento Único (SSCP) quanto à sua acurácia na detecção de genótipos associados à baixa ou alta fertilidade em bubalinos, bem como em informações precisas que norteiam a seleção de importantes características econômicas, tais como produção, reprodução e crescimento. Contudo, a variabilidade genética nas populações ou raças estudadas pode ser determinante na ocorrência de padrões genéticos mono ou polimórficos, tal qual hipotetizaram Ishak et al. (2011), ao detectarem que o gene FSH β era monomórfico em bovinos da raça Bali e polimórfico em outras raças como Brahman, Simental e Limousin.

Controle molecular da sazonalidade reprodutiva em bubalinos

Nos mamíferos, a informação luminosa é recebida por fotorreceptores na retina e transmitida por via neural à glândula pineal, onde inibe a síntese e secreção de melatonina (Nishiwaki-Ohkawa e Yoshimura, 2016). O padrão de secreção de melatonina fornece estas informações fotoperiódicas para células dentro do cérebro que possuem os receptores específicos e controlam a função reprodutiva de modo sazonal (Migaud et al., 2005).

O *link* entre a melatonina e a ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal passa por uma via conhecida como “sinal retrógrado”, envolvendo a ligação da melatonina a seus receptores (MTNR1A) localizados na *Pars tuberalis* da hipófise (Dupré et al., 2008), seguida da liberação de tireotrofina (TSH) (Joseph-Bravo et al., 2015) e sua subsequente atuação por via “retrógrada” nas células ependimárias hipotalâmicas, nas quais regula localmente a concentração de triiodotironina (T3), que finalmente afeta a secreção de GnRH dos terminais axônicos (Korf, 2018), por meio de alterações morfológicas dinâmicas tanto nestes terminais neuronais quanto nos terminais gliais (Shinomiya et al., 2014; Yamamura et al., 2004).

Tem sido descrito que a sensibilidade individual de bubalinos ao fotoperíodo é devida ao genótipo do MTNR1A. Carcangiu et al. (2011) detectaram polimorfismos no gene MTNR1A em búfalos da raça Mediterrâneo criados na Itália, com diferenças nos padrões de sazonalidade, sendo que animais com genótipo C/C apresentaram pico de acasalamentos entre outubro e novembro, enquanto que aqueles com genótipo T/T o pico de acasalamento foi registrado entre maio e julho, levando os autores a concluírem que o polimorfismo pode ser considerado um marcador genético para identificar indivíduos capazes de se reproduzir em diferentes épocas do ano.

Em outra pesquisa realizada no sudeste do Brasil com fêmeas da raça Murrah, foi confirmada a existência de polimorfismo no gene MTRN1A, porém sem evidência de correlação direta com características reprodutivas, apenas com a porcentagem de proteína no leite (Zetouni et al., 2014). Já na amazônia equatorial brasileira, Barbosa



et al. (2017) verificaram que os partos se concentraram entre os meses de abril e agosto, e novamente não foram detectadas associações entre os genótipos do MTRN1A e os períodos de picos de acasalamento e partos. Assim, mesmo tendo sido observados polimorfismos e diferenças nas frequências alélicas e genotípicas do MTRN1A, tanto nas populações brasileiras como europeias, no Brasil, o gene do receptor de melatonina ainda não pôde ser usado para seleção e melhoramento genético, apenas como um excelente marcador para estudos genéticos populacionais (Barbosa et al., 2016).

Considerações finais

O conjunto de estudos aqui apresentados apontam a interação de um "coquetel molecular" que opera a atividade reprodutiva em bubalinos, e que muitas destas moléculas são especificamente expressas para modular de modo independente ou interdependente as funções celulares, hormonais e maturacionais relacionadas à fertilidade animal. Contudo, ainda há grandes desafios a serem superados para que se possa elucidar a complexa rede de interações genéticas, biológicas e ambientais que coordenam estrutural e funcionalmente a reprodução tanto na espécie bubalina quanto em outros animais de interesse zootécnico. Portanto, o futuro das biociências aplicadas à produção animal se encontra nas mãos de grupos de pesquisadores colaborativos, estruturados e multidisciplinares para que, em um futuro próximo, as novas tecnologias e suas interpretações permitam uma compreensão mais completa de tais fenômenos, objetivando apresentar alternativas para a melhoria do desempenho produtivo e reprodutivo dos rebanhos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo aporte financeiro das pesquisas envolvendo fisiologia (FAPEMA; Processo APP-UNIVERSAL-00759/13) e biotecnologia da reprodução (FAPEMA; Processo REBAX-03250/13) em bubalinos. À FAPEMA e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelas bolsas de Produtividade em Pesquisa (FAPEMA; Processo BEPP-01705/18) e de Estudos concedidas ao primeiro, e demais autores deste manuscrito.

Referências

- Arosh JA, Banu SK, Kimmins S, Chapdelaine P, Maclaren LA, Fortier MA.** Effect of interferon-tau on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of prostaglandin E2. *Endocrinology*, v.145, p.5280-5293, 2004.
- Barbosa EM, Souza BB, Guimarães RC, Azevedo JSN, Gonçalves EC, Ribeiro HFL, Rolim Filho ST, Silva Filho E.** Polymorphism in the melatonin receptor gene in buffalo populations of the Brazilian Amazon. *Gen Mol Res*, v.15, n.2, 2016.
- Barbosa EM, Souza BB, Guimarães RC, Silva LKN, Azevedo JSN, Gonçalves EC, Ribeiro HFL, Rolim Filho ST, Silva Filho E.** Polymorphisms in the melatonin receptor gene promoter and their associations with fertility characteristics in buffalo herd in Eastern Amazon. *Genet Mol Res*, v.16, n.2, 2017.
- Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K, Ginther OJ.** Follicular and hormonal response to experimental suppression of FSH during follicle deviation in cattle. *Theriogenology*, v.54, p.1191-1206, 2000.
- Bernardes O.** Integração, associativismo e arranjos na cadeia produtiva da bubalinocultura: situação atual e perspectivas. In: Simpósio da Cadeia Produtiva da Bubalinocultura, 2, 2011, Botucatu. p.1-13. (Resumo).
- Bittman EL, Kaynard AH, Olster DH, Robinson JE, Yellon SM, Karsch FJ.** Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. *Neuroendocrinology*, v.40, p.409-418, 1985.
- Borghese A.** Buffalo production and research. In: Technical Series 67. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 2005.
- Brasil.** Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem Populacional, 2016. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2>. Acesso em 02 ago. 2018.
- 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*, v.76, n.3, p.419-26, 2011.
- Cockrill WR.** The draught buffalo (*Bubalus bubalis*). *Veterinarian*, v.5, p.265-272, 1968.
- Driancourt MA.** Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*, v.35, p.55-68, 1991.
- Drost M.** Bubaline versus bovine reproduction. *Theriogenology*, v.68, p.447-449, 2007.
- Dupré SM, Burt DW, Talbot R, Downing A, Mouzaki D, Waddington D, Malpoux B, Davis JR, Lincoln GA, Loudon AS.** Identification of melatonin-regulated genes in the ovine pituitary pars tuberalis, a target site for seasonal hormone control. *Endocrinology*, v.149, p.5527-5539, 2008.
- FAOSTAT.** FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2007. Disponível em



<http://faostat.fao.org/site/573/default.aspx#ancor>. Acesso em 06 ago. 2018.

Ferrazza RA, Garcia HDM, Schmidt EMDS, Mihm Carmichael M, Souza FF, Burchmore R, Sartori R, Eckersall PD, Ferreira JCP. Quantitative proteomic profiling of bovine follicular fluid during follicle development. *Biol Reprod*, v.97, p.835-849, 2017.

Forde N, Spencer TE, Bazer FW, Song G, Roche JF, Lonergan P. Effect of pregnancy and progesterone concentration on expression of genes encoding for transporters or secreted proteins in the bovine endometrium. *Physiol Genomics*, v.41, p.53-62, 2010.

Gibbons JR, Wiltbank MC, Ginther OJ. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the FSH surge in heifers. *Biol Reprod*, v.57, p.1066-1073, 1997.

Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.55, p.1187-1194, 1996.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology*, v.52, p.1079-1093, 1999.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod*, v.62, p.920-927, 2000a.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. *Biol Reprod*, v.63, p.383-389, 2000b.

Ginther OJ. The theory of follicle selection in cattle. *Dom Anim Endocrinol*, v.57, p.85-99, 2016.

Groeneveld LF, Lenstra JA, Eding H, Toro MA, Scherf B, Pilling D, Negrini R, Finlay EK, Jianlin H, Groeneveld E, Weigend S. Genetic diversity in farm animals--a review. *Anim Genet, Suppl v.1*, p.6-31, 2010.

Hodgen GD. The dominant ovarian follicle. *Fertil Steril*, v.38, p.281-300, 1982.

Ikegami K, Yoshimura T. Circadian clocks and the measurement of daylength in seasonal reproduction. *Mol Cell Endocrinol*, v.349, p.76-81, 2012.

Ikegami K, Yoshimura T. Comparative analysis reveals the underlying mechanism of vertebrate seasonal reproduction. *Gen Comp Endocrinol*, v.227, p.64-68, 2016.

Ishak ABL, Sumantri C, Noor RR, Arifiantini I. Identification of polymorphism of FSH beta-subunit gene as sperm quality marker in Bali cattle using PCR-RFLP. *J Indonesian Trop Anim Agric*, v.36, p.221-227, 2011.

Joseph-Bravo P, Jaimes-Hoy L, Uribe RM, Charli JL. TRH, the first hypophysiotropic releasing hormone isolated: control of the pituitary-thyroid axis. *J Endocrinol*, v.226, p.T85-T100, 2015. **Kamalludin MH, Garcia-Guerra A, Wiltbank MC, Kirkpatrick BW.** Proteomic analysis of follicular fluid in carriers and non-carriers of the Trio allele for high ovulation rate in cattle. *Reprod Fertil Dev*, v.30, p.1643-1650, 2018.

Kathiravan RS, Chitra R, Murali N, Arthanarieswaran M. Monomorphism of luteinizing hormone receptor (LHR) gene in buffaloes by restriction fragment length polymorphism. *J Entomol Zool Stud*, v.6, p.2010-2012, 2018.

Korf HW. Signaling pathways to and from the hypophysial pars tuberalis, an important center for the control of seasonal rhythms. *Gen Comp Endocrinol*, v.258, p.236-243, 2018.

Lourenço Júnior JB, Garcia AR. Panorama da bubalinocultura na Amazônia. 2008. Disponível em <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/409969/1/LOURENCO2008AmazonpecPanorama.pdf>>. Acesso em 10 ago. 2018.

Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Animal Sci J*, v.70, p.3615-3626, 1992.

Luo W, Gumen A, Haughian JM, Wiltbank MC. The role of luteinizing hormone in regulating gene expression during selection of a dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.84, p.369-378, 2010.

Malpaux B, Migaud M, Tricoire H, Chemineau P. Biology of mammalian photoperiodism and critical role of pineal gland and melatonin. *J Biol Rhythms*, v.16, p.336-347, 2001.

Margawati ET. A global strategy of using molecular genetic information to improve genetics in livestock. *Reprod Dom Anim*, v.47, p.7-9, 2012.

Migaud M, Daveau A, Malpaux B. MTNR1A melatonin receptors in the ovine prehypothalamic hypothalamus: day-night variation in the expression of the transcripts. *Biol Reprod*, v.72, p.393-398, 2005.

Moioli 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. *Animal Sci J*, v.66, p.87-91, 1998.

Moreira P, Costa AL, Valentin JF. Comportamento produtivo e reprodutivo de bubalinos mestiços Murrah-Mediterrâneo em pastagem cultivada em terra firme, no Estado do Acre. Rio Branco: Embrapa-CPAF-Acre, Boletim de Pesquisa, v.13, p.19, 1994.

Nishiwaki-Ohkawa T, Yoshimura T. Molecular basis for regulating seasonal reproduction in vertebrates. *J Endocrinol*, v.229, p.R117-27, 2016.

Obi Reddy A, Tripahi VN, Raina VS. Effect of climate on the incidence of oestrus and conception rate in Murrah buffaloes. *Indian J Anim Sci*, v.57, p.204-207, 1987.

Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). Dados da evolução do rebanho brasileiro, 2006. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em 01 ago. 2013.

Pfeffer M, Korf HW, Wicht H. Synchronizing effects of melatonin on diurnal and circadian rhythms. *Gen Comp*



Endocrinol, v.258, p.215-221, 2018.

Phogat JB, Pandey AK, Singh I. Seasonality in buffaloes reproduction. *Int J Pl An and Env Sci*, v.6, p.46-54, 2016.

Reen JK, KP Ramesha, Revanasiddu SD, Rohit K. Molecular characterization of luteinizing hormone receptor (*LHR*) gene in Murrah bulls. *J Entomol Zool Stud*, v.6, p.246-250, 2018.

Roch GJ, Busby ER, Sherwood NM. Evolution of GnRH: diving deeper. *Gen Comp Endocrinol*, v.1, p.1-16, 2010.

Santos CLR, Santos Junior JB, Cunha MC, Nunes SRF, Bezerra DC, Torres-Júnior JRS, Chaves NP. Nível tecnológico e organizacional da cadeia produtiva da bubalinocultura de corte no estado do Maranhão. *Arq Inst Biol*, v.83, p.1-8, 2016.

Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, De La Sota RL, Wolfenson D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *J Reprod Infertil*, v.97, p.197-203, 1993.

Shah SNH, Willemsse AH, Van De Wiel DFM. Descriptive epidemiology and treatment of postpartum anestrus in dairy buffalo under small farm conditions. *Theriogenology*, v.33, p.1333-1345, 1990.

Shashikumar NG, Baithalu RK, Bathla S, Ali SA, Rawat P, Kumaresan A, Kumar S, Maharana BR, Singh G, Puneeth Kumar DS, Singh SK, Lathwal SS, Jaiswal L, Mohanty TK, Mohanty AK. Global proteomic analysis of water buffalo (*Bubalus bubalis*) saliva at different stages of estrous cycle using high throughput mass spectrometry. *Theriogenology*, v.110, p.52-60, 2018.

Shimizu T, Krebs S, Bauersachs S, Blum H, Wolf E, Miyamoto A. Actions and interactions of progesterone and estrogen on transcriptome profiles of the bovine endometrium. *Physiol Genomics*, v.42A, p.290-300, 2010.

Shinomiya A, Shimmura T, Nishiwaki-Ohkawa T, Yoshimura T. Regulation of seasonal reproduction by hypothalamic activation of thyroid hormone. *Front Endocrinol*, v.5, p.1-7, 2014.

Sosa ASA, Mahmoud KGhM, Kandiel MMM, Eldebaky HAA, Nawito MF, Abou El-Roos MEA. Genetic Polymorphism of Luteinizing Hormone Receptor Gene in Relation to Fertility of Egyptian Buffalo. *BioTechnology: an Indian J*, v.12, p.1-11, 2016a.

Sosa ASA, Mahmoud KGhM, Eldebaky HAA, Kandiel MMM, Abou El- Roos MEA, Nawito MF. Single nucleotide polymorphisms of GnRHR gene and its relationship with reproductive performance in Egyptian buffaloes. *Egyptian J Vet Sci*, v.47, p.41-50, 2016b.

Sosa ASA, Mahmoud KGhM, Kandiel MMM, Eldebaky HAA, Nawito MF, Abou El-Roos MEA. Genetic characterization of FSH beta-subunit gene and its association with buffalo Fertility. *Asian Pac J Reprod*, v.6, p.193-196, 2017.

Terzano GM, Barile VL, Borghese A. Overview on Reproductive Endocrine Aspects in Buffalo. *J Buffalo Sci*, v.1, p.126-138, 2012.

Wiener P, Wilkinson S. Deciphering the genetic basis of animal domestication. *Proc Biol Sci*, v.278, p.3161-70, 2011.

Yamamura T, Hirunagi K, Ebihara S, Yoshimura T. Seasonal morphological changes in the neuro-glial interaction between gonadotropin-releasing hormone nerve terminals and glial endfeet in Japanese quail. *Endocrinology*, v.145, p.4264-4267, 2004.

Yeo SH. Neuronal circuits in the hypothalamus controlling gonadotrophin-releasing hormone release: the neuroanatomical projections of kisspeptin neurons. *Exp Physiol*, v.98, p.1544-1549, 2013.

Yindee M. Reproduction and genetic diversity of the swamp buffalo. 2010. 110f. Dissertação, Utrecht University, Utrecht, 2010.

Yoshimura T. Thyroid hormone and seasonal regulation of reproduction. *Front Neuroendocrinol*, v.34, p.157-166, 2013.

Zetouni L, de Camargo GM, da Silva Fonseca PD, Cardoso DF, Gil FM, Hurtado-Lugo NA, Aspilcueta-Borquis RR, Cervini M, Tonhati H. Polymorphisms in the MTRN1A gene and their effects on the productive and reproductive traits in buffaloes. *Trop Anim Health Prod*, v.46, p.337-340, 2014.

Zhang Y, Lu Y, Yindee M, Li KY, Kuo HY, Ju YT, Ye S, Faruque MO, Li Q, Wang Y, Cuong VC, Pham LD, Bouahom B, Yang B, Liang X, Cai Z, Vankan D, Manatchaiworakul W, Kowlim N, Duangchantrasiri S, Wajjwalku W, Colenbrander B, Zhang Y, Beerli P, Lenstra JA, Barker JS. Strong and stable geographic differentiation of swamp buffalo maternal and paternal lineages indicates domestication in the China/Indochina border region. *Mol Ecol*, v.25, p.1530-1550, 2016.

Zicarelli L. Management in different environmental conditions. *World Buffalo Congress*, 4, 1994, São Paulo, Proceedings... São Paulo, 1994. p.88-112.

Zicarelli L. Reproductive seasonality in buffalo. *Proceedings... of the Third Course on Biotechnology of Reproduction in Buffaloes (Issue II)*, Gaserta, Italy, p.29-52, 1997.