

Comparación de variables morfométricas y bioquímico-nutricionales de búfalas y bubillas de Corrientes, Argentina

Koza, G.A.; Mussart, N.B.; Hernando, J.; Konrad, J.L.; Crudeli, G.A.

Cátedras de Fisiología y Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. E-mail: gakoza@vet.unne.edu.ar

Resumen

Koza, G.A.; Mussart, N.B.; Hernando, J.; Konrad, J.L.; Crudeli, G.A.: Comparación de variables morfométricas y bioquímico-nutricionales de búfalas y bubillas de Corrientes, Argentina. Rev. vet. 28: 2, 108-115, 2017. El objetivo del trabajo fue analizar las diferencias de algunos parámetros hematológicos, bioquímicos y morfométricos entre bubillas y búfalas de dos establecimientos (Itatí y Empedrado) de la Provincia de Corrientes, Argentina. Se emplearon 60 hembras bubalinas, raza mediterránea, 15 por categoría. Se registró el peso vivo (PV) y el perímetro torácico (PT). Se tomaron muestras sanguíneas para valorar hematocrito (HTO), hemoglobina (HB), recuento de eritrocitos (RGR) y leucocitos (RGB), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de HCM (CHCM). En el suero se estimaron urea, proteínas totales (PRT), albúminas (ALB), globulinas (GLOB), relación albúmina-globulina (RAG), colesterol (CT, C-HDL y C-LDL), triglicéridos (TR), calcio (CA), fósforo (FOS), magnesio (MG), glucosa y actividad de lactato deshidrogenasa (LDH). Se utilizó un diseño experimental de arreglo factorial, donde la variable independiente fue la localidad y el tratamiento la categoría, valorándose la interacción de localidad x edad. Con el programa InfoStat se efectuó la estadística descriptiva y el ANOVA. La interacción significativa de algunas variables motivó el tratamiento por sus efectos simples. Las búfalas de Empedrado presentaron mayores PV, PT, neutrófilos, eosinófilos, CT, TR y urea, mientras que las bubillas tuvieron elevados linfocitos, CA, glucosa y LDH. Las búfalas de Itatí revelaron mayores PV, PT, HTO, RGR, CT y las hembras jóvenes elevados niveles de LDH. El efecto edad influyó, por lo cual las búfalas ostentaron mayores porcentajes de monocitos, PRT y GLOB, en tanto que en las bubillas fueron más altos RGB, FOS, C-HDL y C-LDL. Para el factor localidad los animales de Empedrado revelaron mayores niveles de HB, HCM, CHCM, RGR, monocitos y MG; los de Itatí mostraron elevadas PRT, ALB y RAG. No hubo diferencias para VCM y basófilos. La obtención de intervalos de referencia bioquímicos regionales asume importancia como herramienta para evaluar el estado nutricional y optimizar el diagnóstico de enfermedades.

Palabras clave: búfalos, crecimiento, nutrición, valores morfométricos y bioquímicos, producción animal.

Abstract

Koza, G.A.; Mussart, N.B.; Hernando, J.; Konrad, J.L.; Crudeli, G.A.: Comparison of differences between morphometrical and biochemical-nutritional parameters of buffaloes (adults and young females) from Corrientes, Argentina. Rev. vet. 28: 2, 108-115, 2017. The objective of this study was to analyze the differences in hematological, biochemical and morphometrical parameters between young and adult female buffaloes from two farms (Itatí and Empedrado) in Corrientes Province, Argentina. Sixteen Mediterranean buffaloes, 15 per category, were used. Weight and thoracic perimeter were recorded considering both geographic regions. Hematocrit, hemoglobin, erythrocyte and leukocyte counts, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration and relative leukocyte formula, were registered. Urea, total proteins, albumin, globulins, albumin-globulin ratio, cholesterol, triglycerides, calcium, phosphorous, magnesium, glucose and lactate dehydrogenase, were determined in serum. An experimental design of factorial arrangement was used, where the independent variable was the geographic region and the treatment the category, considering the interaction region x age. Descriptive statistics and analysis of variance were performed using InfoStat software. Empedrado buffaloes had higher values of live weight, total protein, neutrophils, eosinophils, cholesterol, triglycerides and urea, whereas young females had high values of lymphocytes, calcium, glucose and

lactate dehydrogenase. Buffaloes from Itatí revealed higher values of weight, hematocrit, erythrocytes and cholesterol. Young females showed high lactate dehydrogenase levels. Age of animals influenced values, as adult buffaloes had higher percentages of monocytes, total proteins and globulins, while young females had higher values of leucocytes and phosphorus. Considering the geographic region, animals from Empedrado revealed higher levels of hemoglobin, erythrocytes, monocytes and magnesium. Animals from Itatí showed high protein, albumin and albumin-globulin ratio. The mean corpuscular volume and basophils were not modified. Regional biochemical reference intervals are of great importance as a tool to evaluate blood nutritional indicators and to optimize the diagnosis of diseases.

Key words: buffalos, growth, nutrition, morphometrical and biochemical values, animal production.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a los datos aportados por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), en el año 2014 la población de búfalos en Argentina fue de 87.711 cabezas. Según categorías, los porcentajes variaron de la siguiente manera: búfalas (42,4%), bubillas (17,8%), bucerras (11,7%), bucerros (11,1%), bubillitos (7,3%), bubillos (5,3%), búfalos (3,3%), butoritos (0,7%) y buey búfalo (0,4%)¹⁴.

La explotación bubalina se instaló en las zonas bajas del nordeste argentino, que actualmente concentra el 80% de la producción, sitios donde los vacunos no se adaptaban⁵. Las provincias con mayores poblaciones bubalinas son Formosa y Corrientes. Por su gran rusticidad, la especie bubalina aprovecha mejor el forraje de baja calidad, aún bajo condiciones climáticas adversas, manifestando una notable resistencia a las enfermedades; los búfalos ganan más peso con relación a los bovinos, por su mayor capacidad de digestión de celulosa, pastos fibrosos y groseros²⁴.

El desarrollo reproductivo de las hembras jóvenes y el logro de una pubertad temprana, puede alcanzarse principalmente con una buena nutrición desde el momento del destete. La mejora en la eficiencia reproductiva y productiva del ganado bubalino, depende principalmente de la modificación de ciertos parámetros, que involucran principalmente la alimentación, el medio ambiente y el manejo⁸.

La composición bioquímica del suero sanguíneo refleja la situación metabólica de los tejidos animales, trastornos en el funcionamiento de los órganos, adaptación del organismo animal frente a alteraciones nutricionales y fisiológicas, como así también desequilibrios metabólicos específicos o de origen nutricional. Factores como la especie, raza, edad, sexo, hábitat, sistema de crianza y alimentación -entre otros- influyen sobre los resultados de la bioquímica sérica²².

Para la especie bubalina, los datos disponibles en la región son escasos, la mayoría generados por nuestro grupo de trabajo, debiendo recurrirse a la bibliografía de otras latitudes como referencia. Por lo tanto, existe una creciente necesidad de obtener hallazgos clínicos y de laboratorio específicos para los búfalos, respetando las

peculiaridades fisiológicas que le son inherentes a estos animales⁷, considerando las zonas geográficas donde se ubican las explotaciones.

El objetivo del trabajo fue analizar las diferencias de algunos parámetros hematológicos y bioquímico-nutricionales, peso corporal y perímetro torácico entre bubillas de primer servicio y búfalas adultas, de las localidades de Itatí y Empedrado, en la Provincia de Corrientes, Argentina.

MATERIAL Y MÉTODOS

La toma de muestras se realizó a 60 búfalas raza Mediterránea, de dos establecimientos ganaderos, uno próximo a la localidad de Itatí y otro en cercanías del municipio de Empedrado. En cada lugar, se seleccionaron 15 animales de la categoría bubillas (hembras de aproximadamente 2,5 años de edad, próximas a recibir su primer servicio) y otros 15 de la categoría búfalas (hembras mayores de 4 años, vacías). Las condiciones de alimentación (campo natural), sanidad y manejo fueron similares en los todos casos.

Se procedió al registro del peso vivo (PV, en báscula) y el perímetro torácico (PT, medición con cinta métrica), así como a la toma muestras sanguíneas (por venopunción yugular). Con la sangre entera anticoagulada con EDTA se efectuó la valoración de hematocrito (HTO), hemoglobina (HB), recuento de glóbulos rojos (RGR) y blancos (RGB), valoración de índices hematimétricos (VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media) y fórmula leucocitaria relativa, de acuerdo a técnicas de laboratorio convencionales.

Con el suero obtenido se llevaron a cabo las valoraciones bioquímicas de algunos analitos incluidos en los perfiles nitrogenado (urea, proteínas totales-PRT, albúminas-ALB, globulinas-GLOB, relación albúmina-globulina-RAG), lipídico (colesterol total-CT, triglicéridos-TR, mineral (calcio-CA, fósforo inorgánico-FOS, magnesio-MG), glucosa y la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), cuyas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE, según

técnicas convencionales, empleado reactivos Wiener Lab.

Para las estadísticas se utilizó un diseño experimental de arreglo factorial, donde la variable independiente fue la localidad (Itatí–Empedrado) y el tratamiento fue la edad (búfala–bubilla), valorándose la interacción localidad x edad. Las variables dependientes fueron: peso vivo, perímetro torácico, condición corporal, indicadores hematológicos y bioquímico-nutricionales. Con la ayuda del programa estadístico InfoStat Profesional (2016), se realizaron las estadísticas descriptivas, el análisis de la varianza y la diferencia entre medias (test de Tukey).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para las variables analizadas se consignan en la Tabla 1. Como muchos de los parámetros explorados revelaron interacción significativa entre los efectos de la edad (categoría) y de la localidad

(lugar de residencia), los mismos se trataron por sus efectos simples, es decir, edad por localidad (Tabla 2) y localidad por edad (Tabla 3).

El PV mostró una significativa interacción de edad por localidad ($p=0,0003$). Las búfalas adultas revelaron significativamente mayores valores de PV ($p=0,0001$) que las bubillas de ambas localidades (Tabla 2). Considerando el efecto de la localidad, en la Tabla 3 puede observarse que las búfalas de Empedrado fueron más pesadas que las de Itatí ($p=0,003$), mientras que estas últimas bubillas, ostentaron PV más elevados que las de Empedrado ($p=0,006$).

Generalmente, los búfalos alcanzan la pubertad cuando adquieren cerca el 55-60% de su peso corporal adulto (250 a 400 kg), dependiendo del genotipo animal²⁶. La capacidad que tienen los búfalos para lograr pesos elevados a edades tempranas, puede relacionarse con algunas características reproductivas, como la edad al primer servicio y la edad al primer parto; en un trabajo se recomienda que la actividad reproductiva de

Tabla 1. Efectos de la localidad y la edad, sobre variables morfométricas, hemáticas y bioquímicas.

variable	Itatí		Empedrado		edad	local.	interac.
	búfalas	bubillas	búfalas	bubillas	p	p	p
PV (kg)	553,10±7,65a	421,20±10,82b	598,33±8,84c	397,00±884b	0,0001*	0,25	0,0003*
PT (cm)	215,05±3,08a	188,30±4,36b	216,73±3,56a	174,07±3,56c	0,09	0,0001*	0,03*
HTO (%)	40,60±0,49a	37,40±0,70b	36,60±0,57b	36,87±0,57b	0,015*	0,0003*	0,004*
RGR (T/l)	9,12±0,13a	8,38±0,19b	8,93±0,15b	8,19±0,15b	0,003*	0,0004*	0,01*
VCM (u ³)	44,75±0,35	44,47±0,50	44,53±0,41	45,53±1,73	0,41	0,33	0,12
HB (g/dl)	12,13±0,20a	11,63±0,29ab	13±0,23bc	13,50±0,23c	0,98	0,0001*	0,04*
HCM (uug)	13,44±0,25a	13,42±0,36a	16,47±0,29b	16,60±0,29b	0,86	0,0001*	0,79
CHCM (%)	29,90±0,47a	30,74±0,67a	36,87±0,55b	36,60±0,55b	0,61	0,0001*	0,33
RGB (G/l)	7,53±0,32a	9,95±0,45b	9,72±0,37b	10,96±0,37b	0,0001*	0,0001*	0,12
Neutrófilos (%)	37,9±1,96ab	37,20±2,77b	45,87±2,26a	34,80±2,26b	0,01*	0,23	0,03*
Linfocitos (%)	54,65±1,85a	54,80±2,61a	35,5±2,13b	56,87±2,13a	0,0001*	0,0003*	0,0001*
Monocitos (%)	2,65±0,45a	2,40±0,64a	5±0,52b	3±0,52a	0,04*	0,008*	0,11
Eosinófilos (%)	4,05±1a	5,50±1,41a	13,40±1,15b	5,27±1,15a	0,007*	0,0003*	0,0002*
Basófilos (%)	0,20±0,08	0,10±0,12	0,20±0,09	0,07±0,09	0,86	0,23	0,87
CT (g/l)	1,39±0,04a	1,22±0,06b	1,58±0,05c	1,17±0,05b	0,0001*	0,17	0,016*
TR (g/l)	1,38±0,02a	1,39±0,03a	0,49±0,02b	0,38±0,02c	0,05*	0,0001*	0,02*
C-HDL (g/l)	0,66±0,04a	0,51±0,04b	0,71±0,04a	0,48±0,03b	0,0001*	0,77	0,34
C-LDL (g/l)	0,63±0,03a	0,52±0,03b	0,63±0,03a	0,50±0,11b	0,0004*	0,73	0,81
PRT (g/dl)	7,62±0,10a	7,03±0,14b	6,14±0,11c	5,79±0,11c	0,0002*	0,0001*	0,31
ALB (g/dl)	4,57±0,09a	4,43±0,13a	3,33±0,11b	3,35±0,10b	0,58	0,0001*	0,47
GLOB (g/dl)	3,05±0,12a	2,60±0,17ab	2,81±0,14 ab	2,44±0,14a	0,006*	0,17	0,78
RAG	1,60±0,10ab	1,79±0,13a	1,24±0,11b	1,40±0,11ab	0,13	0,002*	0,88
Urea (g/l)	0,70±0,01a	0,67±0,02a	0,58±0,01b	0,36±0,01c	0,0001*	0,0001*	0,0001*
CA (mg/dl)	9,96±0,08a	9,78±0,12ab	9,47±0,10b	9,75±0,10ab	0,60	0,02*	0,03*
FOS (mg/dl)	5,38±0,29a	6,97±0,41b	5,43±0,35a	6,18±0,36b	0,001*	0,30	0,24
MG (mg/dl)	2,91±0,05a	2,96±0,04a	3,22±0,05b	3,38±0,05b	0,11	0,0001*	0,12
Glucosa (g/l)	0,49±0,03a	0,38±0,05a	0,81±0,04b	0,92±0,04b	0,98	0,0001*	0,007*
LDH (UI/l)	971±24a	1142±27b	456±22c	506±23c	0,0001*	0,0001*	0,02*

Media ± error estándar. Letras distintas indican diferencia (test de Tukey, significancia $p<0,05$). local: localidad; interac: interacción; PV: peso vivo; PT: perímetro torácico; HTO: hematocrito; RGR: glóbulos rojos; HB: hemoglobina; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; RGB: glóbulos blancos; CT: colesterol total; TR: triglicéridos; C-HDL y C-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad respectivamente; PRT: proteínas totales; ALB: albúmina; GLOB: globulinas; RAG: relación albúmina-globulina; CA: calcio sérico; FOS: fósforo inorgánico; MG: magnesio; LDH: enzima lactato deshidrogenasa.

Tabla 2. Efectos de la categoría (edad) de los animales, en las dos localidades estudiadas. Variables morfométricas, hemáticas y bioquímicas que resultaron con interacción edad x localidad.

variable	Itatí			Empedrado		
	búfalas	bubillas	p	búfalas	bubillas	p
PV (kg)	553,10±10,64	421,20±15,04	0,0001*	598,33±2,30	397,00±2,30	0,0001*
PT (cm)	215,07±3,49	188,30±4,94	0,0001*	216,73±3,02	174,07±3,02	0,0001*
HTO (%)	40,60±0,59	37,40±0,83	0,004*	36,8±0,43	36,6±0,43	0,66
RGR (T/l)	9,12±0,13	8,38±0,18	0,003*	8,13±0,15	8,19±0,15	0,80
HB (g/dl)	12,13±0,23	11,63±0,32	0,21	13,00±0,20	13,50±0,20	0,08
Neutrófilos (%)	37,90±1,82	37,20±2,58	0,83	45,87±2,40	34,80±2,40	0,003*
Linfocitos (%)	54,65±1,61	54,80±2,28	0,96	35,53±2,38	56,87±2,38	0,0001*
Eosinófilos (%)	4,05±0,79	5,50±1,12	0,3	13,40±1,35	5,27±1,35	0,0002*
CT (g/l)	1,39±0,03	1,22±0,04	0,004*	1,58±0,06	1,17±0,06	0,0001*
TR (g/l)	1,38±0,02	1,39±0,02	0,57	0,49±0,03	0,38±0,03	0,02*
Urea (g/l)	0,70±0,02	0,67±0,02	0,41	0,58±0,01	0,36±0,01	0,0001*
CA (mg/dl)	9,96±0,10	9,78±0,14	0,31	9,47±0,08	9,75±0,08	0,02*
Glucosa (g/l)	0,49±0,04	0,38±0,05	0,09	0,81±0,03	0,92±0,03	0,03*
LDH (UI/l)	970,83±34,01	1141,90±37,26	0,003*	456,64±12,34	506,08±12,8	0,01*

Media ± error estándar. Significancia $p < 0,05$. PV: peso vivo; PT: perímetro torácico; HTO: hematocrito; RGR: glóbulos rojos; HB: hemoglobina; CT: colesterol total; TR: triglicéridos; CA: calcio sérico; LDH: enzima lactato deshidrogenasa.

las hembras comience a los dos años de edad, con pesos aproximados de 400 kg⁴. Las bubillas que se evaluaron en nuestra experiencia, de ambas localidades, rondaron el peso óptimo citado por la bibliografía, como indicado para el inicio de la fase reproductiva.

El PT manifestó interacción edad por localidad ($p=0,03$). Este parámetro fue de 215,05±3,49 y 188,30±4,94 cm para las búfalas y bubillas de Itatí ($p=0,0001$) y de 216,73±3,02 y 174,07±3,02 cm para las mismas categorías de Empedrado. No se registraron diferencias de PT entre las hembras adultas de ambas localidades; las bubillas de Itatí ostentaron mayores PT (188,30±3,93 cm) que las de Empedrado (174,07±3,02 cm).

Otros autores trabajaron con un rodeo bubalino lechero mestizo de raza Murrah, machos y hembras, con el fin de evaluar la posible correlación entre el peso vivo y perímetro torácico². A través del estudio, demostraron que este último puede ser utilizado para determinar el peso vivo de los animales, debiendo siempre considerarse al sexo, como un factor de variación.

Los parámetros hemáticos HTO, RGR y HB mostraron interacción positiva entre los efectos de edad y localidad ($p=0,004$; $p=0,01$ y $0,04$ respectivamente). Las búfalas adultas de Itatí, revelaron significativamente mayores valores de HTO ($p=0,004$) y RGR ($p=0,003$) que las bubillas de la misma localidad, resultado que no fue observado en los animales de Empedrado (Tabla 2). Las búfalas de Itatí revelaron mayores valores

Tabla 3. Efectos de la localidad (lugar de residencia) sobre la categoría de los animales. Variables morfométricas, hemáticas y bioquímicas que resultaron con interacción edad por localidad.

variable	búfalas		p	bubillas		p
	Itatí	Empedrado		Itatí	Empedrado	
PV (kg)	553,10±9,26	598,33±10,60	0,003*	421,20±6,26	397,00±5,11	0,007*
PT (cm)	215,05±3,28	216,73±3,78	0,74	188,30±3,93	174,07±3,21	0,01*
HTO (%)	40,60±0,48	36,60±0,55	0,0001*	37,40±0,73	36,87±0,059	0,58
RGR (T/l)	9,12±0,14	8,13±0,16	0,0001*	8,38±0,17	8,19±0,14	0,4
HB (g/dl)	12,13±0,22	13,00±0,25	0,01*	11,63±0,25	13,50±0,20	0,0001*
Neutrófilos (%)	37,90±2,00	45,87±2,30	0,01*	37,20±2,68	34,80±2,19	0,49
Linfocitos (%)	54,65±1,84	35,53±2,13	0,0001*	54,80±2,62	56,87±2,14	0,55
Eosinófilos (%)	4,05±0,79	13,40±1,35	0,0001*	5,50±1,11	5,27±0,91	0,87
CT (g/l)	1,39±0,05	1,58±0,05	0,01*	1,22±0,04	1,17±0,04	0,33
TR (g/l)	1,38±0,02	0,49±0,02	0,0001*	1,39±0,03	0,38±0,03	0,0001*
Urea (g/l)	0,70±0,01	0,58±0,02	0,0001*	0,67±0,01	0,36±0,01	0,0001*
CA (mg/dl)	9,96±0,09	9,47±0,11	0,002*	9,78±0,09	9,75±0,08	0,83
Glucosa (g/l)	0,49±0,03	0,81±0,04	0,0001*	0,38±0,04	0,92±0,03	0,0001*
LDH (UI/l)	970,83±21,71	456,64±20,10	0,0001*	1141,90±30,49	506,08±26,74	0,0001*

Media ± error estándar. Significancia $p < 0,05$. PV: peso vivo; PT: perímetro torácico; HTO: hematocrito; RGR: glóbulos rojos; HB: hemoglobina; CT: colesterol total; TR: triglicéridos; CA: calcio sérico; LDH: enzima lactato deshidrogenasa.

de HTO y RGR que las de Empedrado ($p=0,0001$ para ambos parámetros), mientras que estas diferencias no se observaron en la categoría bubillas (Tabla 3).

En otra investigación se obtuvieron niveles de RGR de $7,55 \pm 1,02$ y $6,53 \pm 0,81$ T/l; HTO de $34,00 \pm 5,90$ y $33,10 \pm 4,00\%$ y HB de $10,70 \pm 1,30$ y $10,80 \pm 1,41$ g/dl, para grupos de bubalinos de raza Murrah de 9 meses a 2 años y mayores de 2 años, de la región del Amazonas¹¹. Asimismo, estos autores observaron que los búfalos más jóvenes (de 2 a 8 meses) tuvieron valores más altos de HTO ($39,62 \pm 4,01\%$), HB ($12,81 \pm 1,53$ g/dl) y RGR ($9,80 \pm 1,22$ (T/l)). Estos aumentos podrían atribuirse a la expansión del volumen sanguíneo, producto de una mayor demanda de eritrocitos y un incremento de la actividad hematopoyética por la que atraviesan estos animales durante la fase de crecimiento rápido, en los primeros meses de vida¹³.

Otras experiencias realizadas con búfalos de agua, hacen referencia que los valores de RGR, HTO y HB son más altos en los animales jóvenes, observándose una significativa disminución a medida avanza la edad²⁸. Para bubalinos de raza Murrah del estado de São Paulo, de 7 meses a 1 año y de 1 a 5 años, estudios reportaron RGR de $7,9 \pm 1,2$ y $6,7 \pm 1,7$ T/l, HB de $12,0 \pm 1,2$ y $11,7 \pm 1,8$, g/dl y HTO de $33,8 \pm 3,2$ y de $34,4 \pm 3,4\%$, respectivamente¹⁶. El RGR fue menor en la especie bubalina, en relación a la bovina, en los primeros 30 días de edad⁹.

Los resultados obtenidos en nuestra experiencia muestran un comportamiento distinto, ya que los niveles de estos parámetros hematológicos fueron mayores en las búfalas adultas. En concordancia con otro estudio donde se evaluaron hembras de distintas edades¹⁰, en bubillas de 12 meses se obtuvieron HTO cercanos al 33%, mientras que en búfalas de 30 meses, el valor hallado fue de 37%. Otros autores coinciden en estos índices, al explorar rodeos de búfalas mestizas Murrah de aproximadamente 18 meses de edad, en Maracaibo, Venezuela³.

En la región de Magdalena, Colombia, se hallaron niveles de HTO promedio de 34%, al evaluar grupos de búfalos de entre 12 y 36 meses, sin distinción de sexo²³. En tanto, en el estado de Táchira, Venezuela, al analizar las variables hematológicas de 105 búfalos jóvenes de las razas Murrah, Nilli Ravi y Jafarabadi, de hasta 30 meses de edad, no se encontraron diferencias significativas entre sexos salvo en los valores de HTO, que fue mayor en las hembras (37%) en relación a los machos (35%). En la misma investigación, los animales agrupados según sus pesos hasta 150 kg, de 150-350 kg y mayores de 350 kg, surgió que las diferencias se acentuaban entre los animales del primer y segundo grupo, con respecto al tercero, mostrando este último, descensos de RGR y HTO, así como aumentos de HB, HCM y CHCM, sin variaciones del VCM¹⁹.

En nuestro trabajo, el VCM no se vio influenciado por los efectos de la edad y el lugar de residencia, en tanto que HB, HCM, CHCM difirieron en los animales de las dos localidades. Mayores valores de estos últi-

mos parámetros se registraron en el establecimiento próximo a Empedrado (Tabla 1). La HB reveló interacción significativa ($p=0,004$). La edad no influenció sobre este indicador hemático, pero sí la localidad. Las búfalas ($13 \pm 0,25$ g/dl, $p=0,01$) y bubillas $13,50 \pm 0,20$ g/dl, $p=0,0001$) de Empedrado revelaron mayores valores de HB que las hembras adultas ($12,13 \pm 0,22$ g/dl) y jóvenes ($11,63 \pm 0,25$ g/dl) de Itatí (Tabla 3).

En un trabajo se halló que los niveles de HB fueron menores en los animales de 12 meses, en relación al incremento observado en los búfalos de 24 meses de edad¹⁶. En concordancia, en otra investigación, se observó que el valor de HB fue menor en los animales de 3 a 4 años, en relación con los de 5 a 6 años¹⁸.

Otros autores citan disminuciones de HB, RGR, HTO y VCM con el avance de edad, (en grupos etarios de hembras bubalinas, desde el nacimiento hasta los 72 meses de vida), no así de los valores de HCM y CHCM, que aumentaron paralelamente a la edad. Asimismo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables hematológicas, en relación al factor racial de los animales, al trabajar con hembras de raza Murrah, Jafarabadi y Mediterránea, en la región del Valle de la Rivera, San Pablo, Brasil¹⁵. La concentración de HB fue mayor en búfalos que en bovinos, en animales hasta los 45 días de vida⁹, y también hubo influencia del sexo en el valor de VCM¹⁴. Las hembras ($49,29 \pm 2,5$ fl) presentaron mayores valores de VCM que los machos ($43,28 \pm 1,2$ fl). Un autor propone que la disminución del VCM se deba probablemente a un menor volumen de los eritrocitos como consecuencia de un menor contenido de HB²⁰.

El RGB se presentó significativamente más alto en la categoría bubillas, y fue mayor en los ejemplares de la localidad de Empedrado (Tabla 1). Los porcentajes de neutrófilos, monocitos y eosinófilos revelaron interacción de los efectos edad por lugar de origen. Las búfalas de Empedrado presentaron porcentajes más elevados de estos glóbulos blancos que las bubillas de igual localidad, efecto que no fue registrado en Itatí (Tabla 2).

En dicha localidad, las hembras adultas mostraron mayores porcentajes de linfocitos ($p=0,0001$), mientras que en las de Empedrado fueron mayores los neutrófilos ($p=0,01$) y eosinófilos ($p=0,0001$). Las bubillas de ambas localidades no revelaron diferencias entre estas variables leucocitarias (Tabla 3). Los efectos analizados en la experiencia no influyeron sobre los porcentajes de monocitos y basófilos (Tabla 1).

Al evaluar búfalos de 12 y 24 meses de edad se obtuvieron valores de glóbulos blancos de 11,9 G/l para el grupo más joven y de 14,1 G/l para los adultos¹². Búfalos de Colombia revelaron recuentos diferenciales con 22-26% de neutrófilos, 66-69% de linfocitos, 4-6% de monocitos, 1-2% de eosinófilos y 0,2-0,5% de basófilos²³. Otros autores citan valores de recuentos diferenciales muy similares a los aquí hallados (neutrófilos 30,92%, linfocitos 65%, monocitos 3,23% y eosinófilos

0,92%), no así para el recuento de leucocitos totales, que resultó menor (10,24 G/l) ¹⁰.

En búfalos de la Amazonia se constató influencia de la edad en el RGB, obteniendo valores significativamente mayores en búfalos de 2 a 8 meses (15,95±3,70 G/l), mientras que para animales de 9 meses a 2 años y mayores a 2 años, el RGB fue de 12,41±2,70 G/l y 9,20±2,71 G/l, respectivamente ¹¹. Estos mismo autores señalan que la relación neutrófilos/linfocitos fue inferior a 1 en todos los grupos etarios que consideraron en su trabajo, revelando el predominio de linfocitos, por sobre los neutrófilos, circunstancia que coincide con lo citado en diferentes trabajos ²³.

En nuestra experiencia, las búfalas y bubillas de la localidad de Itatí, mostraron una relación neutrófilos/linfocitos de 0,69 y 0,68, respectivamente. Para las hembras jóvenes de Empedrado, la relación fue de 0,68; mientras que para las adultas fue de 1,29. Otros autores encontraron una prevalencia de neutrófilos sobre linfocitos, en bucerros de hasta 8 días, diferencia que se atribuiría a la edad ¹⁰.

Un estudio sobre el leucograma de búfalos aseveró que no existirían diferencias atribuibles a las razas (Mediterránea, Jafarabadi y Murrah), pero sí a la edad, ya que al incrementarse provocaría la elevación de neutrófilos y eosinófilos, con disminución del RGB y los linfocitos ²⁹. Estas observaciones concuerdan con otras citas que indican que tales diferencias serían más significativas en la especie bubalina que en la bovina, en animales dentro de los primeros 45 días de vida ⁹.

En un trabajo se hace referencia a un recuento de eosinófilos más alto en los animales de los rangos etarios mayores (9 meses a 2 años versus mayores de 2 años) ¹¹. Este incremento de la eosinofilia acorde a la edad, puede atribuirse a una mayor exposición de los animales a los parásitos gastrointestinales ²⁰. La influencia de la edad de los bubalinos sobre el número de eosinófilos fue observada también por otros autores ¹² y concuerda con los resultados obtenidos en nuestro trabajo. El comportamiento de la eosinofilia también es citado en la especie bovina ⁹.

La categoría bubilla evidenció valores de PRT significativamente más bajos (p=0,0002) que los observados en la categoría búfalas. Este parámetro fue mayor en las hembras de la localidad de Itatí (p=0,0001) (Tabla 1). Evaluando un grupo de búfalos de 12 a 36 meses, sin distinción de sexo, se registró una tendencia ascendente a medida que avanzaba la edad ²³. Otros describen que la concentración de PRT es influenciada por la faja etaria de los animales (de 2 a 8 meses 8,05±0,51 g/dl; de 9 meses a 2 años 8,3±0,90 g/dl y mayores a 2 años 9,2±1,74 g/dl) siendo menor en los animales más jóvenes ^{11, 15}.

En una experiencia en la que se muestrearon 127 búfalas de entre 1 y 2 años de edad, de varias granjas de los valles de Egipto, se reportó un intervalo de referencia de 5,60 a 8,10 g/dl para los valores de PRT (media de 6,80±0,69 g/dl) ¹. Otros investigadores citan niveles de 6,70 a 7,40 g/dl (media 7,10±0,18 g/dl) ²¹.

Investigadores han postulado que el incremento de los valores de PRT, en paralelo a la edad, también se observa en la especie bovina ⁹. La concentración plasmática de proteínas, incluyendo a las globulinas, aumenta rápidamente horas después del consumo del calostro debido a la absorción intestinal de γ -globulinas y β -globulinas ²¹. En hembras bubalinas de raza Murrah en lactación, los niveles de PRT son en general más bajos en la temporada de verano que durante el invierno ³⁰. En bucerros sometidos a estrés térmico, los valores séricos de PRT disminuyen significativamente ¹⁷.

Los valores de ALB no se vieron afectados por la edad de los animales, pero sí revelaron modificaciones significativas (p=0,0001) debidas a la localidad. Mayores concentraciones de esta variable se observaron en las búfalas de Itatí (Tabla 1). Elevados niveles de ALB sérica son citados para la especie bubalina, en relación a la bovina ⁹.

El valor promedio de albuminemia reportado para búfalas de 1 a 2 años, fue de 3,20±0,47 g/dl (2,4-4,07 g/dl) y de GLOB: 3,50±0,65 g/dl (2,34-5 g/dl) ¹. Otros autores hacen referencia a rangos de ALB de 3,03 a 3,50 g/dl (media 3,92±0,13 g/dl) y de GLOB de 3 a 3,48 g/dl (media 3,24±0,24 g/dl) ²¹. En nuestro trabajo, las GLOB fueron mayores en hembras adultas, con relación a las bubillas, en ambas localidades (Tabla 1).

La RAG fue más elevada en las búfalas de Itatí que en las de Empedrado (p=0,002). La edad no influyó sobre esta variable (Tabla 1). Los resultados obtenidos en nuestra experiencia, fueron mayores a los reportados en otros trabajos (valor medio 0,96±0,27; intervalo de 0,56 – 1,67) ¹.

La urea reveló una significativa interacción (p=0,0001) entre los efectos de la edad y la localidad (Tabla 1). Este indicador nitrogenado se mostró más elevado (p=0,0001) en las búfalas mayores que en las jóvenes de la localidad de Empedrado, no así en las de Itatí (Tabla 2). Asimismo, las hembras jóvenes (p=0,0001) y adultas (p=0,0001) de Itatí, ostentaron valores superiores que las de Empedrado (Tabla 3).

Diferentes trabajos mencionan valores de uremia de 0,21±0,14 g/l para bucerros de 2 a 8 meses, de 0,30±0,17 g/l para animales de 9 meses a 2 años y de 0,29±0,07 g/l para mayores a 2 años ¹¹, valores medios de 0,4±0,09 g/l (0,21-0,59) para bubillas de 1 a 2 años ¹ o niveles de 0,2 a 0,3 g/l para este mismo parámetro ²¹.

Las concentraciones de urea sérica fueron mayores en la especie bubalina, que en la bovina ⁹. Bucerros sometidos a condiciones de estrés, elevan significativamente sus niveles de uremia ¹⁷. La exposición aguda al calor (33-43°C y 40-60% de humedad relativa) no generó cambios manifiestos de los valores de urea plasmática, tanto en búfalos jóvenes (de 6 meses) como adultos (mayores de 12 meses) ²⁵.

La glucemia mostró una significativa interacción (p=0,02) entre la influencia de la edad y la localidad (Tabla 1). Esta variable se mostró más elevada en los animales de Empedrado (Tabla 3). Asimismo, las bubillas de este lugar presentaron los mayores valores de

glucosa sérica ($0,92 \pm 0,03$ g/l) que las búfalas adultas de la misma localidad ($0,81 \pm 0,03$ g/l) y que las hembras jóvenes ($0,38 \pm 0,05$ g/l) y adultas ($0,49 \pm 0,04$) de la localidad de Itatí (Tabla 2).

Un estudio refiere que los niveles de glucosa sérica disminuyen con la edad y que este parámetro fue menor en búfalos que en bovinos⁹. En trabajos con bubillas de raza Murrah, se observó que aquéllas que recibieron altos tenores energéticos, presentaron mayores concentraciones circulantes de sustratos metabólicos como glucosa, en relación a las que recibieron dietas de bajo contenido calórico⁶. Otros citan valores medios de glucemia de $0,63 \pm 0,14$ g/l (intervalo 0,35-0,92) para bubillas de 1 a 2 años de edad¹ o niveles de $0,45$ a $0,75$ g/l (media $0,57 \pm 0,06$ g/l)²¹. La exposición aguda al calor ($33-43^{\circ}\text{C}$ y $40-60\%$ de humedad relativa) a bucerros de meses, puede ocasionar incrementos de glucosa en plasma de hasta el 58% ²⁵.

Los valores de CT y TR revelaron interacción entre los efectos de la edad y el lugar de residencia de los animales (Tabla 1). Las hembras adultas exhibieron mayores niveles de CT que las hembras jóvenes de ambas localidades (Tabla 2). Las búfalas de Itatí mostraron menores valores de CT ($1,39 \pm 0,05$ g/l) que las de Empedrado ($1,58 \pm 0,05$ g/l) (Tabla 3).

Los niveles de TR de las hembras de Itatí no revelaron diferencias de acuerdo a la edad, no así las de Empedrado, donde las búfalas adultas mostraron ($p=0,02$) mayores concentraciones que las bubillas (Tabla 2). Los animales jóvenes de Itatí presentaron niveles de TR ($1,39 \pm 0,03$ g/l) significativamente más elevados ($p=0,0001$) que las del establecimiento próximo a Empedrado ($0,38 \pm 0,03$ g/l), hecho que se repitió en los animales mayores ($p=0,0001$) (Tabla 3).

La bibliografía consultada hace referencia a valores medios de CT de $0,56 \pm 0,10$ g/l; en un rango de $0,35$ a $0,78$ g/l para hembras bubalinas de 12 a 24 meses de distintas granjas de Egipto¹ y otros autores citan niveles de $0,8$ a $1,20$ g/l²¹. Al evaluar el efecto de las estaciones del año, se observaron concentraciones de colesterol sanguíneo más bajas durante el verano que durante la temporada de invierno, durante el período de lactancia de hembras bubalinas de la raza Murrah³⁰. Esto indicaría que los valores de CT disminuyen con el aumento de la temperatura ambiente¹⁷.

Los resultados obtenidos por otros autores para TR variaron entre $0,27 \pm 0,11$ g/l ($0,04-0,49$)¹ y de $0,001$ a $0,14$ g/l²¹. Estos valores fueron similares a los observados en nuestro trabajo, en las búfalas y bubillas de la localidad de Empedrado, no así para las de Itatí, donde los niveles hallados fueron significativamente más elevados (Tabla 3). En experiencias donde se apreciaron los efectos de la restricción alimentaria, se observaron marcados incrementos de los TR, como consecuencia, posiblemente, de la mayor lipólisis del tejido graso de reserva²⁷.

Las concentraciones séricas de colesterol-HDL y de colesterol-LDL se mostraron más elevadas en las búfalas que en las bubillas ($p=0,0001$ y $p=0,0004$, res-

pectivamente). No se observaron efectos de la localidad sobre estos indicadores lipídicos (Tabla 1). Algunos autores citan valores de C-HDL de $0,32 \pm 0,10$ g/l, con un intervalo de referencia de $0,12$ a $0,52$ g/l y de C-LDL de $0,18 \pm 0,06$ g/l (rango $0,04$ a $0,31$ g/l) para hembras bubalinas de 12 a 24 meses¹.

Los valores de CA sérico revelaron una significativa interacción entre los efectos de la edad y la localidad ($p=0,03$). Las bubillas de Empedrado mostraron una calcemia más elevada que las búfalas adultas del mismo lugar ($p=0,02$), hecho que no se observó en la localidad de Itatí ($p=0,3$) (Tabla 2). Los animales de Itatí (búfalas $9,96 \pm 0,09$ mg/dl y bubillas $9,78 \pm 0,09$ mg/dl) presentaron mayores niveles de calcio que los de Empedrado (búfalas $9,47 \pm 0,11$ mg/dl y bubillas $9,75 \pm 0,08$ mg/dl) (Tabla 3). En búfalas de 1 a 2 años se reportaron valores medios de CA de $10,29 \pm 1,11$ mg/dl ($8,11-12,46$)¹, y $11,08 \pm 0,67$ mg/dl ($9,70-12,4$)²¹.

La FOS no reveló variaciones por efecto de la localidad pero sí por la edad. Las bubillas de ambas localidades mostraron niveles más altos de fósforo, que las hembras adultas (Tabla 1). Los valores medios observados en nuestra experiencia para las búfalas jóvenes, son muy similares a los reportados en otros trabajos, con medias de $6,57 \pm 0,75$ mg/dl; rango de $4,39-7,85$ para animales de 1 a 2 años de edad¹ y $5,60-6,50$ mg/dl²¹.

Los valores de MG sérico fueron significativamente mayores ($p=0,0001$) en las hembras de Empedrado (búfalas $3,22 \pm 0,05$ mg/dl y bubillas $3,38 \pm 0,05$ mg/dl) que en las de Itatí (búfalas $2,91 \pm 0,05$ mg/dl y bubillas $2,96 \pm 0,04$ mg/dl). La bibliografía consultada hace referencia a valores de magnesemia, para bubillas jóvenes, de $2,69 \pm 0,46$ mg/dl ($1,78-3,59$)¹ y de $2,05 \pm 0,25$ mg/dl ($1,80-2,30$)²¹. Otros autores indican que los niveles séricos de CA y FOS son similares entre bovinos y búfalos, no así los del MG, que se presentan más elevados en la especie bubalina⁹.

La enzima LDH evidenció interacción entre la influencia de la edad y la localidad ($p=0,02$). Las bubillas mostraron mayores niveles sanguíneos de lactato dehidrogenasa que las búfalas adultas, en ambas localidades (Tabla 2). Las hembras de Itatí presentaron valores más altos de LDH (búfalas $970,83 \pm 21,71$ UI/l y bubillas $1141,90 \pm 30,49$ UI/l) que las de Empedrado (búfalas $456,64 \pm 20,10$ UI/l y bubillas $506,08 \pm 26,74$ UI/l) (Tabla 3).

La bibliografía consultada reveló escasas referencias de la enzima LDH en la especie bubalina. Algunos autores señalan valores de $546,18 \pm 232,71$ UI/l, con un intervalo de referencia de $186,72$ a $917,43$ UI/l para búfalas de 12 a 24 meses¹ o niveles medios de 1061 ± 222 (692 a 1445 UI/l)²¹. Los valores enzimáticos obtenidos en nuestra experiencia están dentro de los rangos citados.

Concluyendo, surge que la obtención de intervalos de referencia regionales para valores de laboratorio de esta especie animal, asume importancia para optimizar el diagnóstico de enfermedades, como así también para valorar los indicadores nutricionales sanguíneos

que, en conjunto con la medición de parámetros morfo-métricos, constituyen herramientas útiles para evaluar la eficacia de los emprendimientos productivos.

Agradecimientos. A la empresa Wiener Lab (Rosario, Argentina), por proveer los reactivos necesarios para la realización de los análisis.

REFERENCIAS

1. **Abd Ellah MR, Hamed MI, Ibrahim DR, Rateb HZ.** 2014. Serum biochemical and haematological reference intervals for water buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers. *J South Afr Vet Ass* 85: 962-970.
2. **Alcântara DC, Araújo CV, Bittencourt RH, Rodrigues FE, Colino EC, Silva MC.** 2008. Estudo preliminar da correlação entre o perímetro torácico e o peso corporal de búfalos leiteiros mestiços Murrah (*Bubalus bubalis*). *Anais 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*. Gramado, Brasil, Resumen cd R0302.
3. **Azuaje R, Sánchez D.** 2009. Valores hematológicos en búfalos (*Bubalis bubalis*) y bovinos (*Bos taurus-indicus*) en fincas del sur del lago de Maracaibo. *Mund Pec Rev* 3: 168-218.
4. **Baruselli PS.** 2007. *Reprodução em búfalos*. On line: <http://www.fmvz.usp.br/menu/sitebra11.html>>21.
5. **Bavera GA.** 2011. *Razas bovinas y bufalinas de la Argentina*, Ed. Imberti, Rio Cuarto (Córdoba, Argentina), 261 p.
6. **Campanile G et al.** 2011. Growth, metabolic status and ovarian function in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers fed a low energy or high-energy diet. *Anim Reprod Sci* 22: 74-81.
7. **Damasceno FA, Viana JM, Tinôco IF, Gomes RC, Schiassi L.** 2010. Adaptação de bubalinos ao ambiente tropical. *Nutr Rev Eletr* 125: 1370-1381.
8. **Das GK, Khan FA.** 2010. Summer anoestrus in buffalo. A Review. *Reprod Dom Anim* 45: 483-494.
9. **Fagliari JJ, Santana AE, Lucas FA, Campos PR, Curi PR.** 1998. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arq Bras Med Vet Zootec* 50: 253-262.
10. **Ferrer JM, Árraga CM, Barboza M.** 2000. Caracterización hematológica de *Bubalus bubalis* por sexo y edad. *Rev Cient FCV-LUZ* 10: 508-514.
11. **Fontes DG et al.** 2014. Perfil hematológico y bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental. *Pes Vet Bras* 34: 57-63.
12. **França R et al.** 2011. Valores hematológicos de búfalos em diferentes faixas etárias criados na região central do Rio Grande do Sul. *Rev Bras Cien Vet* 1: 51-54.
13. **Freitas ML, Pinheiro DM, Ginani F, Barreto MP, Barboza CA.** 2012. Influência do envelhecimento no rendimento *in vitro* de células-tronco mesenquimais da medula óssea de camundongos. *J Health Sci Inst* 30: 103-106.
14. **Gerometta J.** 2015. La cría de búfalos se consolida en la región con ventajas competitivas. *On Line*: www.diarionorte.com/article/125668.
15. **Gomes V, Madureira KM, Blagitz MG, Galdino J, Vantim G, Benesi FJ.** 2010. Valores de referência e influência do etário sobre os parâmetros bioquímicos utilizados para avaliação da função hepática de bubalinos hípidos da raça Murrah. *Ars Vet* 26: 128-131.
16. **Gomes V et al.** 2010. Valores de referencia e influencia da idade no eritograma de bubalinos da raça Murrah. *Pesq Vet Bras* 30: 301-304.
17. **Habeeb AA, Fatma FI, Osman SF.** 2007. Detection of heat adaptability using heat shock proteins and some hormones in Egyptian buffalo calves. *Egypt J Appl Sci* 22: 28-53.
18. **Hernandez A, Romero O, Montiel N, Nava H, Cahua N.** 2005. Determinación de valores de referencia hematológicos en búfalos (*Bubalus bubalis*) parto y postparto en una unidad de producción en el sur del lago de Maracaibo, Venezuela. *Rev Cient FCV-LUZ* 15: 119-124.
19. **Iglesia LM, Azuaje KK, Sanchez F, Ramirez AD.** 1990. Observaciones hematológicas en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) parentemente sanos em el Occidente de Venezuela. *Rev Cient FCV-LUZ* 9: 524-531.
20. **Jain NC.** 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1344 p.
21. **Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss LM.** 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6º ed., Academic Press, San Diego (USA), 932 p.
22. **Klinkon M, Jezek J.** 2012. *Values of blood variable in calves. A birds-eye views of veterinary medicine*. On line: <http://www.intechopen.com/books/a-bird-s-eye-view-of-veterinary-medicine/values-of-blood-variables-in-calves>.
23. **Londoño R, Sánchez M, Prada G.** 2012. Parámetros fisiológicos y valores hematológicos normales en búfalos (*Bubalus bubalis*) del Magdalena Medio colombiano. *Rev Med Vet* 23: 51-64.
24. **Nascimento C, Carvalho LO.** 1993. *Criação de Búfalos. Alimentação, Manejo, Melhoramento e Instalações*. Anais EMBRAPA, Brasília, 403 p.
25. **Nessim MG.** 2004. Heat-induced biological changes as heat tolerance indices related to growth performance in buffaloes. *Ph Doctoral Thesis*, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Cairo, Egypt.
26. **Perera BM.** 2010. Reproductive cycles of buffalo. *Anim Reprod Sci*. On line: www.animalreproductionscience.com/doi:10.1016/j.anireprosci.2010.08.022.
27. **Rodríguez EJ, Carande VG, Rodríguez VA.** 1985. Efectos de la restricción y la realimentación sobre la concentración de metabolitos sanguíneos. *Rev Arg Prod Anim* 5: 1-12.
28. **Silva MB, D'Angelino JL, Araujo WP, Galhardo M, Garcia M, Birgel EH.** 1992. Avaliação do eritograma de búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na região do Vale do Ribeira em São Paulo. *Braz J Vet Res Anim Sci* 29: 113-119.
29. **Silva MB, D'Angelino JL, Araujo WP, Galhardo M, Garcia M, Birgel EH.** 1992. Leucograma de búfalos criadas no Vale do Ribeira, Sao Paulo. Influencia de fatores raciais e etarios. *Braz. J Vet Res Anim Sci* 29: 121-129.
30. **Verma DN, Lal SN, Singh SP, Parkash OM, Parkash O.** 2000. Effect of season on biological responses and productivity of buffalo. *J Anim Sci* 15: 237-244.