

Efecto de la época del año sobre la calidad embrionaria de vacas Holstein donantes y tasas de gestación en vaquillas Holstein receptoras en establos de la Comarca Lagunera

JUAN RAMÓN LUNA OROZCO

TESIS

**Presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en Reproducción Animal**



**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna – Subdirección de Posgrado**

Torreón, Coahuila. Noviembre de 1999.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
Unidad laguna**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

EFFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO SOBRE LA CALIDAD EMBRIONARIA DE
VACAS HOLSTEIN DONANTES Y TASAS DE GESTACIÓN EN VAQUILLAS
HOLSTEIN RECEPTORAS EN ESTABLOS DE LA COMARCA LAGUNERA

TESIS

POR


JUAN RAMÓN LUNA OROZCO

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada
como requisito parcial, para optar al grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
REPRODUCCIÓN ANIMAL**

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:



Dr. Carlos Leyva Orasma

Asesor:

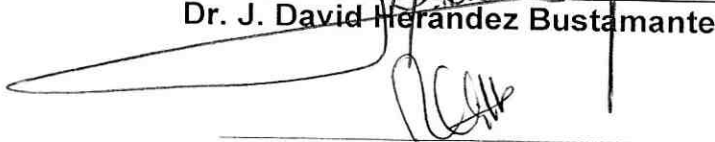


Dr. Carlos A. Elizondo Vázquez

Asesor:



Dr. J. David Hernández Bustamante



Dr. Raúl Villegas Vizcaíno
Jefe de Departamento de Postgrado.

Dr. Ramiro López Trujillo
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila. Noviembre de 1999

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro señor. Por haberme dado la vida y permitirme culminar con las metas que me he trazado.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** que me brindo la oportunidad de superarme académicamente.

A la **Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria** por el interés en la formación de profesionistas que ayuden al engrandecimiento de nuestro país.

Al **Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica** por su interés en la preparación académica y su siempre oportuno apoyo.

Al **Dr. Carlos Leyva Orasma.** Por su comprensión, apoyo, dedicación y por todos los conocimientos que pude adquirir con su ayuda.

Al **Dr. Carlos Elizondo Vázquez.** Por el interés mostrado para que éste trabajo tuviera un buen termino.

A mis maestros

Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez, Dr. Fernando Ulises Adame de León, Dr. David Hernández Bustamante, MC. Jesús Enrique Cantú Brito, Ing. Jaime Lozano García, MC. Jesús Vielma Sifuentes. Dr. Pedro Cano Ríos. Por todos los conocimientos y experiencias que me supieron transmitir.

A mis compañeros

Héctor Felipe Hernández Ortega, José Antonio Pérez Villanueva, Francisco Gerardo Véliz Deras, Candelario Guzmán Aguilar. Por todos esos momentos que pasamos juntos, por su apoyo, pero sobre todo por su amistad.

A quienes contribuyeron en la realización de éste trabajo.

Sr. Rigoberto Becerra	(Establo "Providencia")
Sr. Alfredo Becerra	(Establo "Providencia")
Sr. Jorge Becerra	(Establo "Providencia")
Sr. Eduardo Martínez	(Establo "Granada")

DEDICATORIAS

A mis padres.

A mi padre **Juan Luna Hinostroza(†)** y a mi madre **María de la Luz Orozco Luna** que con su amor y ejemplo han conducido mi vida.

A mi familia.

A mi esposa **Rosa Delia García Montelongo** quien me brinda su amor, comprensión y todo el apoyo para seguir adelante y culminar con mis objetivos.

A mis hijos **Juanito** y **Tony** a quienes mucho quiero en la vida y que me impulsan a continuar superándome, con el deseo que les sirva como ejemplo para que continúen con su educación y lleguen a ser grandes personas.

A mis hermanos **Alberto Ramón** y **Lucita**.

COMPENDIO

Efecto de la época del año sobre la calidad embrionaria de vacas Holstein donantes y tasas de gestación en vaquillas Holstein receptoras en establos de la Comarca Lagunera

POR

Juan Ramón Luna Orozco

MAESTRÍA EN CIENCIAS

REPRODUCCIÓN ANIMAL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón, Coahuila. Noviembre de 1999.

Dr. Carlos Leyva Orasma-Asesor

Palabras clave: Vacas, FSH, transferencia de embriones, calidad embrionaria, tasas de gestación.

Con el objetivo de valorar el efecto de la época del año sobre la calidad embrionaria de vacas Holstein donantes y las tasas de gestación en vaquillas Holstein receptoras, se seleccionaron 22 vacas de tres establos de la Comarca Lagunera como donantes; así como 93 vaquillas como receptoras de los mismos establos. Los parámetros de selección y manejo para las hembras fueron similares para cada categoría correspondiente. El total de las hembras donantes fue dividido en dos grupos iguales; 11 superovuladas y lavadas en

época de invierno y el resto en época de verano. La superovulación para las donantes se llevó a cabo en la fase media luteal, es decir entre los días 10 y 11 del ciclo estral (celo = día cero), con extractos hipofisarios de hormona folículo estimulante (FSH). La luteólisis fue inducida entre 48 y 72 horas de haber iniciado el tratamiento superovulatorio utilizando prostaglandina F_{2α}. La inseminación de las hembras superovuladas y con celo manifiesto se realizó con semen procedente de sementales de alto valor genético y de fertilidad probada. El lavado para la recuperación de los embriones se efectuó por método no quirúrgico (circuito cerrado por gravedad) entre el día 6 y 8 post-inseminación. La clasificación vigente descrita por Lindner y Wright (1983) fue la utilizada para la evaluación morfológica de los embriones. Por cada donante superovulada se seleccionaron entre 6 y 8 vaquillas como receptoras. En la selección inicial de las receptoras se consideró el peso corporal, entre 350.0 y 380.0 kilogramos y una edad promedio entre 15 y 17 meses. Además, se les realizó un examen ginecológico, para descartar cualquier trastorno que pudiera interferir en su fertilidad y la existencia de gestación. La sincronización de donante-receptora fue con dos dosis de prostaglandina F_{2α} separados por 11 días de intervalo tratando de que la segunda inyección fuera aplicada alrededor de 12 horas antes que la donante.

El total de receptoras (93) quedaron divididas en dos grupos, 55 embrionizadas en verano y 38 en invierno. El diagnóstico de gestación se realizó a los 45 días post-embrionización, si la receptora no había repetido estro.

Los resultados indican que la época del año no tuvo ninguna influencia sobre el porcentaje de respuesta al tratamiento superovulatorio. Sin embargo, sí influyó significativamente ($P < 0.05$) sobre la cantidad de los embriones no transferibles, siendo este parámetro superior en la época de verano (2.4 ± 0.7 vs 0.5 ± 0.7). También la cantidad de embriones de calidad excelente fue superior para las hembras en invierno. No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de ovocitos obtenidos en ambas estaciones del año.

Teniendo en cuenta la clasificación de los embriones transferibles, se encontró una tasa de gestación significativamente superior ($P < 0.01$) para las receptoras que fueron embrionizadas en invierno 48.4% en comparación a 23.6% en verano.

Estos resultados sugieren que durante el verano la fertilidad en los establos lecheros de la Comarca Lagunera se afecta, no porque se eleve el porcentaje de ovocitos que no se fertilizan, sino porque se afecta significativamente la calidad embrionaria y muchos de ellos, aún cuando son clasificados como embriones transferibles al momento de implantarlos, pierden la capacidad para el desarrollo de una gestación en esta estación.

ABSTRACT

Effect of the time of the year on the embryonic quality of Holstein cows donors and rates of gestation in receiving Holstein heifers in farms from Comarca Lagunera.

BY

Juan Ramón Luna Orozco

MASTERS IN SCIENCES

REPRODUCTION ANIMAL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón, Coahuila. November 1999

Dr. Carlos Leyva Orasma-Advisor

Key words: cows, FSH, embryo transfer, embryo quality, gestation. rates

With the objective to value the effect of the time of the year on the embryo quality of Holstein cows donor and the gestation rates in recipient Holstein heifers, 22 cows donor of three farms of the Comarca Lagunera selected; 93 heifers like recipient of such farms. The parameters of selection and handing for the females were similar for each corresponding category. The total of females donors was divided in two equal groups; 11 superovulated and washed at time of winter and the rest at time of summer. The superovulation for the donors was carried out in the luteal mid phase, is to say between days 10 and 11 of the estrous cycle (day 0 = day of estrus), with hormone stimulating follicle FSH. The

luteólisis was induced between 48 and 72 hours to initiate the superovulation using prostaglandin F₂ α . The artificial insemination of the superovulated females and with manifest estrous was with is sperm coming from stallion of high genetic value and proven fertility. The flushed for the recovery of the embryos was by non-surgical method (circuit closed by gravity) 6 and 8 days post-insemination. The effective classification described by Lindner and Wright (1983) was the used one for the morphologic evaluation of the embryos. For each superovulated donor they were selected between 6 and 8 heifers like recipients. In the initial selection of the recipients ones the corporal weight between 350.0 and 380.0 kilograms was considered and one age average between 15 and 17 months. In addition a gynecological examination was made to them to discard any upheaval that could interfere with in its fertility and the gestation. The Synchronization of donor-recipient was with two doses of prostaglandin F₂ α separated by 11 days of interval treating about which the second injection was applied around 12 hours before the donor.

The total of recipients (93) was divided in two groups, 55 embrionizadas in summer and 38 in winter. The gestation diagnosis was made to the 45 days post-embrionización, if the recipient one had not repeated estrous.

The results indicate that the time of the year did not have any influence on the percentage of answer to the superovulatory processing. Nevertheless, it influenced ($P < 0.5$) the amount of the nontransfer embryos being this superior parameter at the time of summer (2.4 ± 0.7 vs 0.5 ± 0.7). The amount of embryos of excellent quality was superior for the females in winter. Were not significant differences between the percentage of ovocitos obtained in both stations of the year.

Considering the classification of the transferables embryos was significantly a gestation rate superior ($P < 0.01$) for the recipients ones that they were embrionizadas in winter 48.4% in comparison to 23.6% in summer.

These results suggest during the summer the fertility in the milk farms of the Comarca Lagunera is affected not because increase the percentage of ovocitos that are unfertilized, but because it is affected the embryonic quality and many of them, even though they are classified like transferables embryos at the time of implanting them, lose the capacity for the development of a gestation in this station.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Compendio -----	v
Abstract -----	vii
Lista de figuras -----	xi
Lista de tablas -----	xii
I. Introducción -----	1
1.1. Objetivo general-----	5
1.2. Objetivos específicos-----	5
1.3. Hipótesis-----	6
II. Revisión de Literatura -----	7
2.1. Temperaturas de confort en el bovino-----	7
2.2. Efecto del estrés calórico sobre la fertilidad del bovino y mortalidad embrionaria-----	8
2.3. Efecto del estrés calórico en la disminución de las tasas de gestación-----	12
2.4. Posibles mecanismos del estrés calórico en la reducción de la fertilidad-----	13
2.4.1. Desequilibrios endocrinos-----	15
2.4.2. Cambio del ambiente uterino-----	17
2.4.3. Equilibrio ácido básico y regulación fisiológica del animal bajo estrés calórico-----	18
III. Materiales y métodos -----	20
3.1. Localización del trabajo experimental-----	20
3.2. Animales experimentales-----	20
3.3. Tratamiento de las donantes-----	21
3.4. Recuperación y clasificación embrionaria-----	22
3.5. Manejo y transferencia a receptoras-----	22
3.6. Análisis estadístico-----	23

IV. Resultados -----	24
V. Discusión -----	37
VI. Conclusiones -----	42
VII. Literatura citada -----	43

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Calidad embrionaria según la época del año-----	31
2	Porcentaje de las tasas de gestación por época-----	33
3	Distribución porcentual de las gestaciones por grado de calidad embrionaria-----	34
4	Temperatura ambiental promedio el día del lavado uterino-----	35
5	Promedio de la temperatura ambiental por cada época-----	36

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Respuesta superovulatoria por época del año-----	27
2	Porcentaje de recuperación por época del año de las hembras lavadas-----	28
3	Grado de fertilización por época del año-----	29
4	Proporción total de los embriones transferibles y no transferibles-----	30
5	Tasa de gestación de receptoras por época del año-----	32

I. INTRODUCCIÓN

La obtención de animales de alta calidad genética para incrementar la producción de leche y carne en México generalmente se hace importando animales a costos muy elevados. Una alternativa para generar animales valiosos en el país desde el punto de vista genético, es mediante la utilización de la transferencia de embriones (Leyva *et al.*, 1994).

La hembra bovina es un animal uníparo y alcanza su capacidad reproductiva entre los 15 y 24 meses de edad. La duración de la gestación es de nueve meses por lo que su fisiología reproductiva hace que esta especie tenga un intervalo generacional prolongado. En los sistemas de explotación intensivos las vacas, son desechadas entre los cuatro y cinco años de edad cuando ya tuvieron de dos a tres partos (Campbell, 1993).

Por muchos años el ganado bovino ha sido mejorado genéticamente desde el lado paterno mediante el uso de la inseminación artificial (IA). Por el contrario, mediante la técnica de la transferencia de embriones (TE) se puede

acelerar el mejoramiento del ganado desde el lado materno, disminuyendo el intervalo entre generaciones y acelerando el proceso de selección obteniendo un gran número de prole de donadoras valiosas que permitirá incrementar la producción animal. La ovulación múltiple y la transferencia embrionaria representan una herramienta útil para mejorar, en menor tiempo, la calidad genética de los hatos y por lo tanto, su productividad (Aké *et al.*, 1995).

La transferencia de embriones es una biotecnología para el mejoramiento genético del ganado que consiste en provocar que una vaca o vaquilla “donadora”, mediante un tratamiento hormonal e inseminación con semen procedente de un toro probado con un alto valor genético, produzca varios embriones que siete días después le son extraídos del útero para ser transferidos a otras hembras “receptoras”, que previamente fueron sincronizadas con el celo de la “donadora”. La receptora no transmite ninguna característica genética a la cría y solo sirve para mantenerla hasta el parto y durante la lactancia (Leyva *et al.*, 1994).

Existen factores que pueden influir en la respuesta superovulatoria, entre los que destacan el nivel nutricional, el tipo y dosis de hormona, momento del ciclo estral en que se aplica el tratamiento, factores climáticos y la raza. El factor más importante que limita la respuesta ovárica está en el control interovárico de la foliculogénesis y la maduración de los ovocitos. La respuesta superovulatoria depende del número de los folículos capaces de responder al aporte gonadotrófico en el momento de su aplicación, ya que éstas hormonas

incrementan el número de mitosis en los folículos preantrales y los pequeños antrales, también evitan la atresia en los folículos antrales, de tal manera que se incrementan el número total de folículos con posibilidades de ovular (Palma y Brem, 1993).

Las gonadotrofinas más comúnmente utilizadas para la superovulación son la (FSH) hormona folículo estimulante y (PMSG) gonadotropina de suero de yegua preñada (Barraza, 1997).

La transferencia de embriones es sugerida por Thatcher *et al.* (1997) como una alternativa para mejorar las bajas tasas de preñez en la época de calor, ya que el estrés que provoca es una de las causas más importantes para la disminución de la fertilidad en el ganado lechero.

Algunos autores como Ryan *et al.* (1992), Gilad *et al.* (1993), Aréchiga *et al.* (1994) afirman que las elevadas temperaturas ambientales comprometen la viabilidad del embrión en sus primeras fases, lo que trae como resultado una mayor incidencia de mortalidad embrionaria a consecuencia de un elevado índice de anormalidades morfológicas y del incremento de la temperatura rectal, que a su vez modifica el ambiente uterino.

Por otro lado Wilson *et al.* (1998a) piensan que este estrés ocasiona una disminución en el crecimiento folicular, mientras que otros autores como Wagner *et al.* (1972), Minton *et al.* (1995) y Fisher *et al.* (1997) le dan crédito a

un desbalance en el sistema endocrino a consecuencia de las elevadas temperaturas.

Mellado (1995) afirma que las elevadas temperaturas del medio ambiente en la época de calor tienen una influencia negativa en la función reproductiva del bovino y esta empieza a decrecer cuando rebasa los 25.0°C.

En la Comarca Lagunera durante el verano las temperaturas ambientales se elevan arriba de los 40.0°C por lo que el estrés calórico es un tema de relevancia y de interés para los investigadores locales.

1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la época del año sobre la calidad embrionaria de vacas Holstein donantes y en las tasas de gestación de vaquillas Holstein receptoras en establos de la Comarca Lagunera.

1.2. Objetivos Específicos

Evaluar el comportamiento durante verano e invierno de las tasas de fertilización ovocitaria y la calidad embrionaria en vacas Holstein superovuladas en un programa comercial de transferencia de embriones.

Evaluar las tasas de gestación de receptoras Holstein embrionizadas con diferentes grados de calidad durante verano e invierno.

1.3. Hipótesis

Las altas temperaturas ambientales de la Comarca Lagunera afectan la respuesta superovulatoria y las tasas de gestación de las vaquillas receptoras en una relación directa con la pobre calidad embrionaria, de tal manera que la falta de fertilización ovocitaria no es la causa fundamental de las bajas tasas de gestación obtenidas durante el verano en los programas convencionales de inseminación artificial en establos de la región.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Temperaturas de confort en el bovino

De acuerdo con Johnson y Vanjonack (1975) la temperatura ambiental de confort para vacas lactando varía desde de 1.7 a 21.0°C, dependiendo de la raza, del grado de aclimatación, de la producción de leche y de la ingestión de alimento.

Mellado (1995) menciona que el rango en la temperatura ambiental que toleran sin estrés las vacas lecheras es de -5.0 a 24.0°C, independientemente de la edad del animal o del periodo de lactancia de la vaca. Para el caso de que dicha temperatura rebase los 26.0°C se activan en el animal procesos fisiológicos compensatorios, tendientes a mantener el balance energético, el equilibrio térmico del agua, el hormonal y el mineral, los cuales al alterarse hacen que las tasas de concepción empiecen a declinar.

2.2 Efecto del estrés calórico sobre la fertilidad del bovino y mortalidad embrionaria

Después del comportamiento sexual la tasa de fertilización es la que se ve afectada por estrés térmico. En vacas Holstein en Cuba el porcentaje de ovocitos fertilizados, después de una superovulación es más baja en la estación cálida que en la estación templada (57.5% vs 87.3 %) (De Armas *et al.*, 1988).

Cuando la temperatura rectal de la vaca se incrementa de 38.5 a 40.0°C 24 horas después de la inseminación, la tasa de preñez disminuye desde un 48.0 hasta el 0.0% y concluye en la mayoría de los casos en la muerte embrionaria que ocurre antes del séptimo día de gestación (Ryan *et al.*, 1992).

El ovocito preovulatorio y el embrión en sus primeras fases son altamente susceptibles al estrés calórico. El desarrollo embrionario y la viabilidad del mismo son más afectados, cuando el estrés calórico ocurre en el día del estro y hasta tres días después de este (Ealy *et al.*, 1994).

En vacas lecheras bajo estrés calórico las tasas de concepción pueden bajar de 55.0% en los meses de baja temperatura ambiental y humedad hasta menos del 10.0% en los meses de temperatura y humedad elevada. Esto

sugiere que las temperaturas elevadas pueden ejercer un efecto depresivo en la fertilidad por acción en el ambiente uterino, sistema endocrino o el embrión mismo (Badinga *et al.*, 1993).

El porcentaje de supervivencia de un embrión bovino después de la transferencia es aproximadamente el 60.0%. Esto es similar a lo observado con inseminación artificial con ovulación espontánea (Dorland *et al.*, 1993).

Muchos son los factores que pueden afectar la reproducción de las vacas lecheras y algunas investigaciones, han mostrado que esto se incrementa en las épocas de temperaturas elevadas (Gwazdauskas *et al.*, 1975).

Algunas de las pérdidas embrionarias son causadas tal vez por una deficiencia en la señal de la proteína trofoblástica bovina-1 (bTP-1), falla en el útero para recibir la señal, o falla en el útero para responder a la señal. La síntesis de la bTP-1 empieza cerca del día 15 (Kastelic, 1994, Ryan *et al.*, 1993).

El estrés es definido como un estado de tensión nervioso, ocasionado por eventos físicos, ambientales, psicológicos o emocionales. El estrés ambiental es causado por la temperatura, el frío, el calor y la humedad relativa (Moberg, 1975, O'connor *et al.*, 1985).

La elevación de la temperatura arriba de la normal resulta en una alta incidencia en la muerte embrionaria. De acuerdo con estudios recientes que reportan mortalidad embrionaria en vacas lecheras durante los meses de calor y frío realizados en Arabia Saudita, en los que la mortalidad embrionaria *in vivo* se incrementó de 41.0% en el día 6 y 7 hasta 73.0% en el día 13 y 14 de gestación durante la estación de calor. Sin embargo, no se incrementó entre el día 6 y 14 de gestación durante la época de frío (Ryan *et al.*, 1992).

Gilad *et al.*, (1993) dicen que la baja fertilidad de vacas lecheras en verano en climas subtropicales es muy conocida y observaron que las tasas de concepción en Israel disminuyen de 52.0% en invierno a 24.0% en verano, y similares valores han sido registrados en el sur de los Estados Unidos (Monty y Wolf, 1974).

Se ha encontrado que la fertilidad es sensible al estrés calórico durante 12 días antes del estro, especialmente dos días antes del estro (Ingraham *et al.*, 1976), el día después del estro (Badinga *et al.*, 1985) y del día 1 al 7 después de la inseminación artificial (Putney *et al.*, 1989).

La viabilidad y el desarrollo de pre-implantación de embriones mamíferos está comprometida por la exposición a temperaturas elevadas (Aréchiga *et al.*, 1994).

Los embriones de mamíferos en sus primeras fases son más sensibles a la exposición de temperaturas ambientales elevadas, así el estrés calórico maternal durante las primeras etapas embrionarias causa una disminución en la sobrevivencia, reduce la viabilidad y el desarrollo del mismo (Aréchiga *et al.*, 1995).

La reducción de la fertilidad está asociada con la elevación de la temperatura corporal de los animales en ambientes con temperatura ambiental elevada. El promedio de temperatura rectal en bovinos es de 38.7°C, cuando la temperatura ambiente esta entre 18.0 y 24.0°C; sin embargo la temperatura rectal se incrementa 1.0°C en la raza Jersey y 1.4°C en ganado Holstein cuando la temperatura ambiental esta entre 32.0 y 35.0°C. (Gwazdauskas *et al.*, 1973).

En vacas superovuladas las tasas de fertilización son a menudo menores al 65.0% y alrededor del 15.0% de las vacas quedan sin fertilizar. Por lo que se recomienda que las vacas sean inseminadas dos veces con un intervalo de 12 horas de diferencia para obtener mejores tasas de fertilización (Goulding *et al.*, 1994).

La exposición de hembras a elevadas temperaturas está asociada con un incremento en la mortalidad embrionaria en muchas especies de mamíferos incluidas las vacas, el mayor efecto es cuando este estrés calórico, se presenta cerca al estro (Lannett y Hansen, 1996).

2.3 Efecto del estrés calórico en la disminución de las tasas de gestación.

El establecimiento de la gestación se ha visto afectada por diversos factores como la temperatura ambiental, desde el año de 1929 diversos estudios han demostrado que las tasas de gestación disminuyen en la época de verano (Gwazdauskas *et al.*, 1975).

En una investigación realizada en La Florida, Estados Unidos de América en verano e invierno se encontró que las tasas de gestación disminuían durante la época de alta temperatura ambiental en vacas lecheras estabuladas, probablemente a consecuencia de daños embrionarios (Ealy *et al.*, 1994).

Aké *et al.* (1995) en un estudio bajo condiciones tropicales encontraron unas tasas de gestación para receptoras de 51.1%. Lo cual coincide con Greve *et al.* (1994) que mencionan que las tasas de preñez seguidas de una recuperación por método no quirúrgico son de un 50.0% pero que depende del embrión, sincronización de la receptora, habilidad del operador. Por su parte Mellado (1995) habla de un 47.0% generalmente en la tasa de gestación en los meses de verano.

Ryan *et al.* (1992) encontraron que las bajas tasas de preñez en la época de verano son a consecuencia de un aumento en la temperatura rectal, lo que causa una alta incidencia de mortalidad embrionaria principalmente entre el día 7 y 14 de gestación.

La tasa de preñez, que depende de la detección de celos y de la concepción, se reduce durante los períodos estacionales de estrés calórico en los que se decrecen los niveles plasmáticos de estradiol durante el proestro y por lo tanto baja el índice de detección de celos. Las tasas de concepción también disminuyen durante el estrés calórico debido a los aumentos en la temperatura corporal que pueden resultar con muerte embrionaria en sus primeras fases (William *et al.*, 1997).

2.4 Posibles mecanismos del estrés calórico en la reducción de la fertilidad

El estrés calórico en el verano tiene como resultado una baja en el funcionamiento reproductivo de la vaca. Cuando los animales son expuestos a estrés por calor, causa una disminución en el crecimiento folicular y reduce las concentraciones de estradiol, la disminución de este se relaciona con una falla en la luteólisis por lo que hay una fase luteal que presenta múltiples oleadas foliculares (≥ 3) en el ciclo estral. Esto sugiere que la infertilidad por estrés

calórico se debe principalmente por detener el desarrollo folicular (Wilson *et al.*, 1998b).

Durante los períodos de estrés calórico disminuye la producción de leche, el consumo de alimento y la actividad física, comprometiendo la producción y las funciones reproductivas de los mamíferos (O'Connor *et al.*, 1985, Wilson *et al.*, 1998a).

La reducción de la fertilidad ha sido documentada en un gran número de especies de mamíferos que son expuestos a humedad y temperaturas ambientales elevadas. El estrés calórico puede deprimir la fertilidad por acción en el ambiente uterino, en el sistema endocrino o modificando el medio embrionario. Las temperaturas ambientales altas son la causa en la reducción, en la duración y en la intensidad de la expresión del estro, así como en el incremento de la incidencia de anestros y de las ovulaciones silenciosas. (Badinga *et al.*, 1993).

Turner *et al.* (1998) concluyen que en condiciones de estrés calórico durante la fase folicular del ciclo estral de la cerda podría demorar el inicio del estro.

La exposición del ganado al estrés está asociada con la activación del eje hipotálamo-pituitaria-corteza adrenal y reduce la función inmune y el cortisol

es considerado como el agente primario en mediar los efectos negativos del estrés en el sistema inmune (Minton *et al.*, 1995, Fisher *et al.*, 1997).

2.4.1. Desequilibrios endocrinos

En varios estudios se ha encontrado que cualquier tipo de estrés altera la función reproductiva de los mamíferos debido a una hiperactividad adrenal (Christison y Johnson, 1972, Wagner *et al.*, 1972).

El estrés incrementa la actividad del eje hipotálamo - pituitaria - corteza adrenal en roedores, primates y especies domésticas y comúnmente conduce a un marcado y persistente incremento en la secreción de glucocorticoides. En respuesta al estrés el ganado secreta hormona adrenocorticotrópica (ACTH) de la glándula pituitaria que incrementa la liberación de cortisol adrenal dentro de la circulación (Nockels *et al.*, 1996, Adams *et al.*, 1999).

Las exposiciones prolongadas al estrés reducen la fertilidad y los glucocorticoides liberados actúan en el hipotálamo y en la hipófisis disminuyendo la secreción de gonadotropinas. Los glucocorticoides actúan directamente en sitios hipotálamicos suprimiendo la síntesis de GnRH y disminuyendo la actividad del centro generador pulsátil de GnRH (Hiller *et al.*, 1998, Adams *et al.*, 1999).

Por otro lado una excesiva liberación de glucocorticoides disminuye la secreción de la LH por la hipófisis en animales domésticos (Daley *et al.*, 1999).

Johnson y Vanjonack (1975) mencionan que la exposición de vaquillas a una temperatura ambiente de 33.0°C disminuye la secreción de LH y la duración del estro.

Adicionalmente, el cortisol es un importante indicador del estrés en el ganado y los cambios en las concentraciones de cortisol plasmático son graduales a la exposición del calor y correlacionados significativamente con la temperatura rectal y ambiental (Abilay, 1975, Browing, 1998).

El ciclo estral bovino es caracterizado por la presencia de 2 o 3 oleadas de desarrollo folicular. En cada oleada se incluye el agrupamiento de pequeños folículos de los cuales uno es selecto para continuar el crecimiento y los otros sufren atresia. El folículo seleccionado y referido como folículo dominante, inhibe el reclutamiento de un nuevo corte de folículo y secreta abundante cantidad de estradiol (E2). Bajo condiciones de estrés calórico se inhibe el crecimiento y la dominancia folicular durante el período preovulatorio; afectándose el tamaño del folículo dominante de la segunda oleada y reduciéndose el estradiol folicular. Además la disminución en el estradiol folicular puede afectar los mecanismos luteolíticos y resultar en una muy larga fase luteal con repetidas oleadas foliculares (Badinga *et al.*, 1993, Wilson *et al.*, 1998b).

La pobre eficiencia reproductiva está asociada con el estrés térmico tal vez por la acción de las elevadas temperaturas las que actúan directamente en el desarrollo embrionario y en el desbalance endocrino de la madre (Gwazdauskas *et al.*, 1973).

Durante los períodos de estrés calórico, la productividad disminuye al mismo tiempo que la habilidad reproductiva. Estas bajas están asociadas con el estrés calórico, con una disminución en la expresión del estro causado por un anestro y ovulaciones silenciosas. Una hipótesis al respecto es que el estrés calórico inhibe el desarrollo folicular (Wilson *et al.*, 1998a).

2.4.2. Cambio del ambiente uterino

La temperatura uterina y el promedio de la temperatura ambiente en el día de la inseminación está inversamente relacionado con la fertilidad (Gwazdauskas *et al.*, 1973).

Un incremento en la temperatura rectal de 1.0°C está asociada con una disminución en las tasas de preñez en vacas lecheras, de 61.0 a 45.0%. Así mismo, el incremento en la temperatura uterina de 0.5°C se relaciona con la disminución en la concepción de 13.0 a 7.0% (Gwazdauskas *et al.*, 1975).

Uno de los mecanismos de las vacas para regular la temperatura corporal durante el estrés térmico es el incremento del flujo sanguíneo en la periferia del cuerpo del animal. Como consecuencia de esta respuesta, el canal reproductivo recibe menor cantidad de sangre y trae como consecuencia una reducción en el intercambio de nutrientes en el aparato genital, lo que provoca alteraciones en el volumen de las secreciones del útero y los oviductos (Mellado, 1995).

2.4.3. Equilibrio ácido básico y regulación fisiológica del animal bajo estrés calórico

Uno de los problemas del desempeño animal en ambientes cálidos es la eliminación de calor. La evaporación es la capacidad de disipación de calor por la vaca lechera (Wolfenson *et al.*, 1988).

De acuerdo con Mellado (1995) a consecuencia de las elevadas temperaturas se puede desarrollar una alcalosis respiratoria, debido a la pérdida acelerada de bióxido de carbono. Lo anterior deriva del incremento en la tasa respiratoria, la cual va en aumento a medida que la temperatura incrementa. Con temperaturas excesivamente calientes, se incrementa el jadeo, esto último ocasiona que se altere la respiración alveolar, modificando el pH de la sangre, la presión parcial y concentración de bióxido de carbono.

Las altas temperaturas del medio ambiente afectan adversamente la productividad de los animales que viven en climas tropicales y subtropicales, a consecuencia de un desbalance en el cuerpo del animal, particularmente de energía, de hormonas, térmico y del balance de agua (Mohammed y Johnson, 1985).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del trabajo experimental

El trabajo fue realizado en tres establos de la raza Holstein de la Comarca Lagunera (Providencia I , II, y Granada). El período comprendido fue de agosto de 1997 a diciembre de 1998.

Debido a que en México las estaciones del año no son tan marcadas como en otros países, para los fines de este trabajo, el verano no fue considerado estrictamente como el período comprendido entre el 21 de junio al 20 de septiembre, sino los meses más calurosos del año que abarcan desde mayo hasta el mes de agosto así mismo, para el invierno corresponden los meses de noviembre a febrero.

La Comarca Lagunera, se encuentra a 26° N y 102° y 104° O. Con una altitud media de 1100 a 1400 metros sobre el nivel del mar (Schmidt, 1989). La

precipitación pluvial anual promedio es de 200 a 250 milímetros. El clima se considera seco extremoso.

3.2 Animales experimentales

Se utilizaron un total de 22 vacas Holstein en producción como donantes (11 en invierno y 11 en verano) con condiciones similares de manejo, que tuvieran de dos a cuatro partos, más de 60 días en leche y haber presentado como mínimo dos celos anteriores limpios y con longitud de ciclo estral normal (18 – 24 días) para iniciar el tratamiento superovulatorio.

3.3 Tratamiento de las donantes

Los tratamientos superovulatorios para las hembras donantes, se iniciaron en la fase media luteal, es decir entre los días 10 y 11 del ciclo estral.

Las vacas fueron tratadas con extractos hipofisarios. de FSH¹

Día	Uno	Dos	Tres	Cuatro*	Cinco
Mañana	3.0 ml	2.5 ml	2.0 ml	1.5 ml	1.0 ml
	(300 UI)	(250 UI)	(200 UI)	(150 UI)	(100 UI)
Tarde	3.0 ml	2.5 ml	2.0 ml	1.5 ml	1.0 ml
	(300 UI)	(250 UI)	(200 UI)	(150 UI)	(100 UI)

* Se aplicó un análogo de prostaglandina F_{2α} para producir la luteólisis

En todos los casos la inseminación artificial se realizó con semen congelado procedente de sementales de alto valor genético y de fertilidad probada llevada a cabo por inseminadores de basta experiencia.

3.4 Recuperación y clasificación embrionaria

El lavado uterino se efectuó entre el día seis y ocho post-inseminación por método no quirúrgico.

Para la clasificación embrionaria se utilizó un estereoscopio de fibra óptica con 50X de magnificación y los parámetros que se usaron fueron con el criterio descrito por Lindner y Wright (1983).

¹ Pluset (FSH-p), Serono

3.5 Manejo y transferencia a receptoras

Todas las receptoras fueron sincronizadas con la donante por medio de dos inyecciones de prostaglandina $F2\alpha$ con 11 días de intervalo. Las vaquillas tenían un peso promedio de 350.0 – 380.0 kilogramos y una edad de 14 a 16 meses.

Se evaluaron un promedio de 10 vaquillas por donante y se seleccionaron aquellas que el día de la transferencia presentaran un cuerpo lúteo definido diagnosticado por vía transrectal.

3.6 Análisis estadístico

Para la calidad embrionaria y las tasas de gestación donde se realizaron comparaciones de medias y de proporciones se utilizó el programa computacional SAS.

IV. RESULTADOS

Como puede observarse en la tabla 1, del total de las hembras donantes evaluadas (22) el 90.9% respondieron al tratamiento superovulatorio, con una media de cuerpos lúteos (CL) de 9.7 y 11.0 para invierno y verano respectivamente. La época del año no tuvo influencia en estos parámetros.

En la tabla 2 se observa que tampoco hubo diferencias en el total de recuperación de cuerpos lúteos diagnosticados, 73 para invierno y 99 para verano con un porcentaje de 63.0 y 76.8% respectivamente. Hay que tener en cuenta que este porcentaje de recuperación se determinó en base a la cantidad de hembras que respondieron al tratamiento y cuyo útero fue lavado para la obtención de ovocitos y embriones.

Otro factor que también ha sido reportado por algunos autores, es la baja tasa de fertilidad que se obtiene en los programas convencionales de reproducción en establos lecheros durante el verano, debido al porcentaje de no fertilización ovocitaria, sin embargo, según los resultados que aparecen en la

tabla 3 no se encontraron diferencias significativas para este parámetro que fue de 15.2 y 13.2% en el invierno y el verano respectivamente.

En lo referente a la calidad embrionaria según la estación del año, que es uno de los principales objetivos de este trabajo, puede observarse en la tabla 4 que del total de embriones obtenidos de las hembras donantes lavadas que fueron 39 para invierno y 66 para verano, el 89.7% y 66.7% fueron transferibles. Como puede observarse, el porcentaje de embriones transferibles fue significativamente ($P<0.05$) superior para la época de invierno. De igual manera, para los embriones no transferibles, fue significativamente ($P<0.05$) superior para la época del verano (10.3 vs 33.3%).

La figura 1 muestra una visión general del comportamiento del grado de calidad. Como puede notarse la proporción de embriones calidad 1 o excelentes que de acuerdo con Noriega *et al.* (1995) son aquellos que son compactos, esféricos, tienen un desarrollo adecuado con su edad, con pocas vesículas, sin desechos celulares, sin blastómeros extruídos y color ambar uniforme, fue superior para la época de invierno, mientras que cuando analizamos la proporción de embriones con imperfecciones hubo una tendencia a ser superior para la época de verano, llegando a ser significativo ($P<0.05$) para el porcentaje de embriones que por manifestar diferentes grados de anormalidades fueron clasificados como no transferibles. Esto indica que las altas temperaturas y otros factores de ésta época, afectan la calidad embrionaria.

Al analizar las tasas de gestación de las receptoras embrionizadas, sin tomar en cuenta el grado de calidad de los embriones transferidos, se puede observar en la tabla 5 que durante el invierno los porcentajes de gestación fueron superiores en un 24.8% con respecto al verano (48.4% vs 23.6%).

A pesar de las diferencias entre la cantidad de receptoras utilizadas en ambas épocas, debido a la disponibilidad en los hatos, la diferencia de proporciones arrojó una tasa significativamente superior ($P < 0.01$) para la época de invierno, lo cual se puede observar en la figura 2.

Como puede apreciarse en la figura 3 al analizar el porcentaje de gestación de acuerdo al grado de calidad del embrión fue muy semejante para las dos estaciones en los considerados como calidad 1, no siendo así para los de calidad 2 y 3 donde se encontró que la gestación disminuía significativamente en el verano.

En la figura 4 y 5 se muestran las temperaturas ambientales promedio el día del lavado uterino en cada una de las estaciones y el promedio de la temperatura general donde hubo una diferencia de 11.2°C entre ambas épocas.

Tabla 1. Respuesta superovulatoria por época del año.

Época	N	Hembras con respuesta	Porcentaje %	Cantidad de cuerpos lúteos	Media de cuerpos lúteos
Invierno	11	10	90.9	97	9.7 a
Verano	11	10	90.9	110	11.0 a

Literales iguales indican que no hubo diferencias estadísticas.

Tabla 2. Porcentaje de recuperación por época del año de las hembras lavadas

Época	Hembras con respuesta	Hembras lavadas		Total de cuerpos lúteos	Recuperación	
		Total	%		Total de embriones y ovocitos	%
Invierno	10	8	80	73	46	63.0 a
Verano	10	9	90	99	76	76.8 a

Literales iguales indican que no hubo diferencias estadísticas.

Tabla 3. Grado de fertilización por época del año

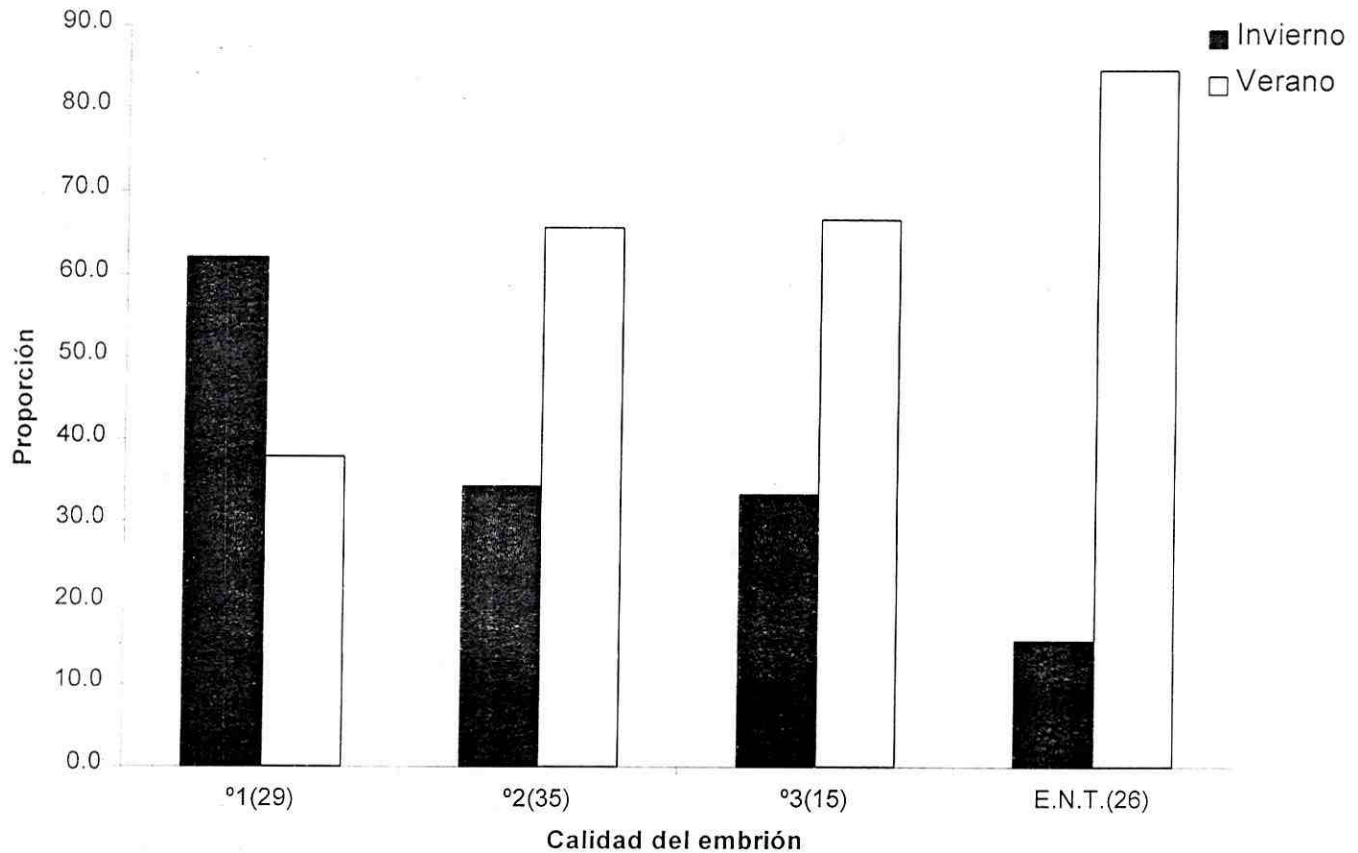
Época	Vacas lavadas	Total de Embriones y ovocitos	Embriones	%	Ovocitos	%
Invierno	8	46	39	84.8 a	7	15.2 a
Verano	9	76	66	86.8 a	10	13.2 a

Literales iguales indican que no hubo diferencias estadísticas.

Tabla 4. Proporción total de los embriones transferibles y no transferibles

Época	Vacas lavadas	Total de embriones	Calidad embrionaria	
			Embriones transferibles	Embriones no transferibles
Invierno	8	39	89.7% a (35/39)	10.3% a (4/39)
Verano	9	66	66.7% b (44/66)	33.3% b (22/66)

Literales desiguales indican diferencias estadísticas de ($P < 0.05$).



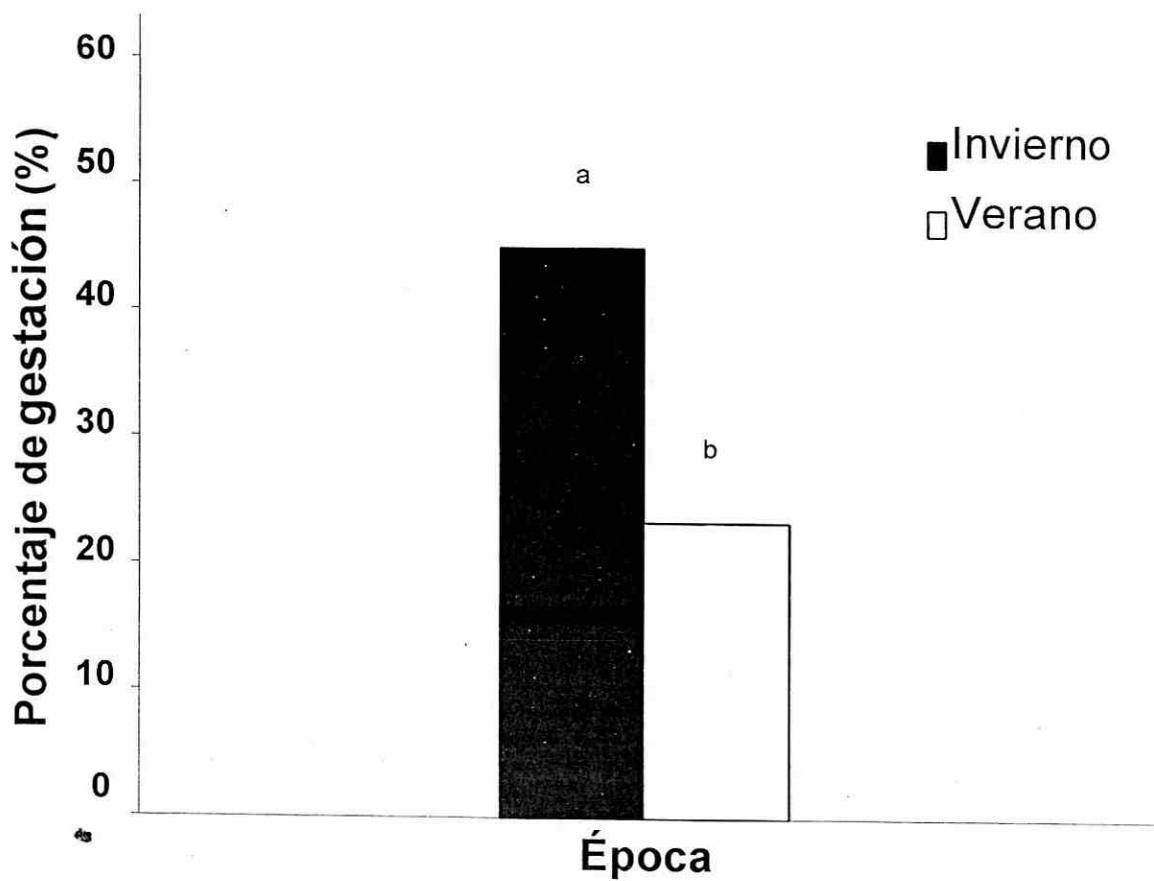
E.N.T.= embriones no transferibles

Figura 1. Calidad embrionaria según la época del año

Tabla 5. Tasa de gestación de receptoras por época del año.

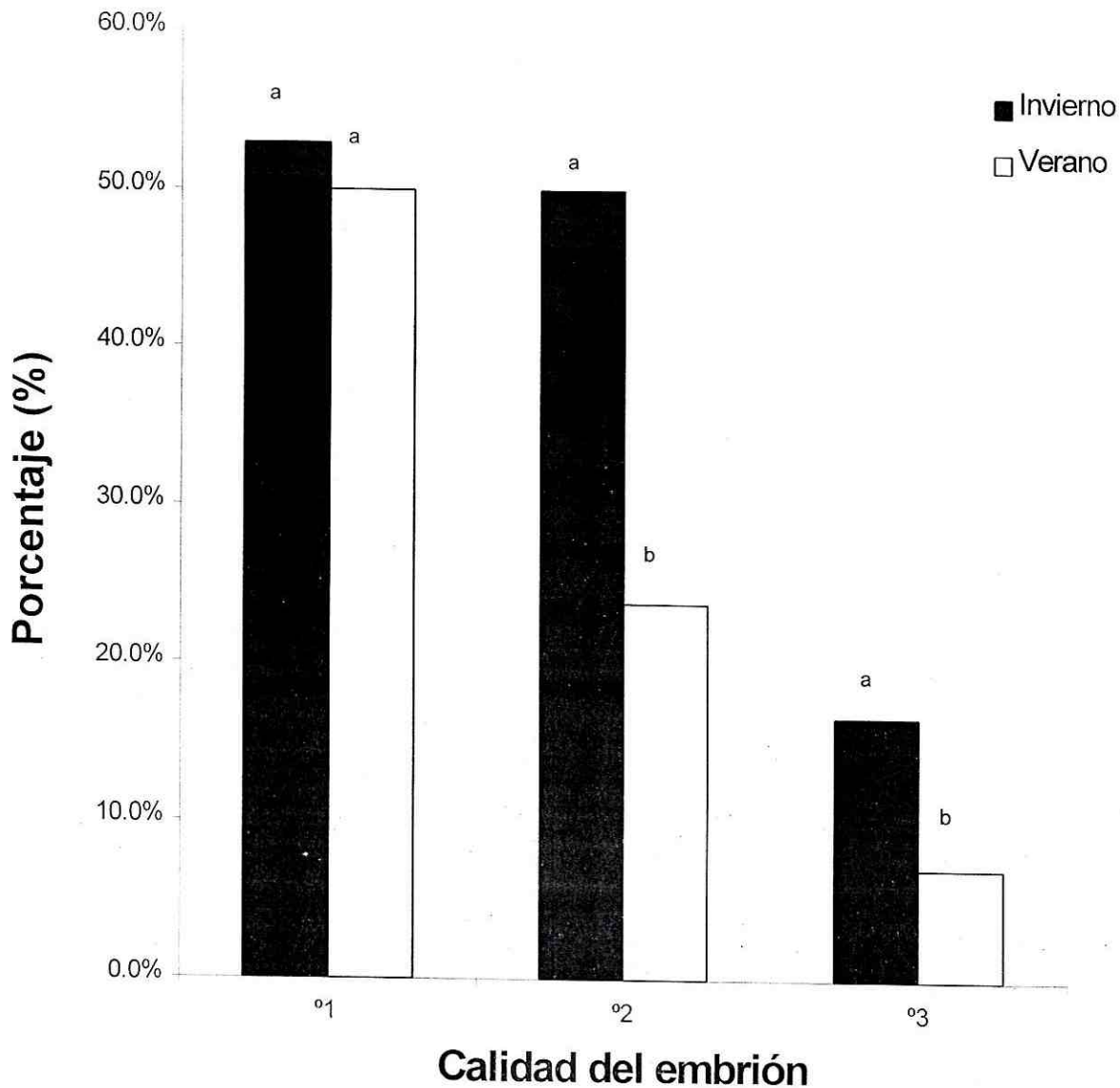
Época	Vacas lavadas	Receptoras totales	Hembras gestantes	Por ciento de gestación
Invierno	8	38	17	48.4 a
Verano	9	55	12	23.6 b

Literales desiguales indican diferencias estadísticas de ($P < 0.01$).



Literales desiguales indican diferencias estadísticas de ($P < 0.01$)

Figura 2. Porcentaje de las tasas de gestación por época



Literales desiguales indican diferencias estadísticas de ($P < 0.05$)

Figura 3. Distribución porcentual de las gestaciones por grado de calidad embrionaria.

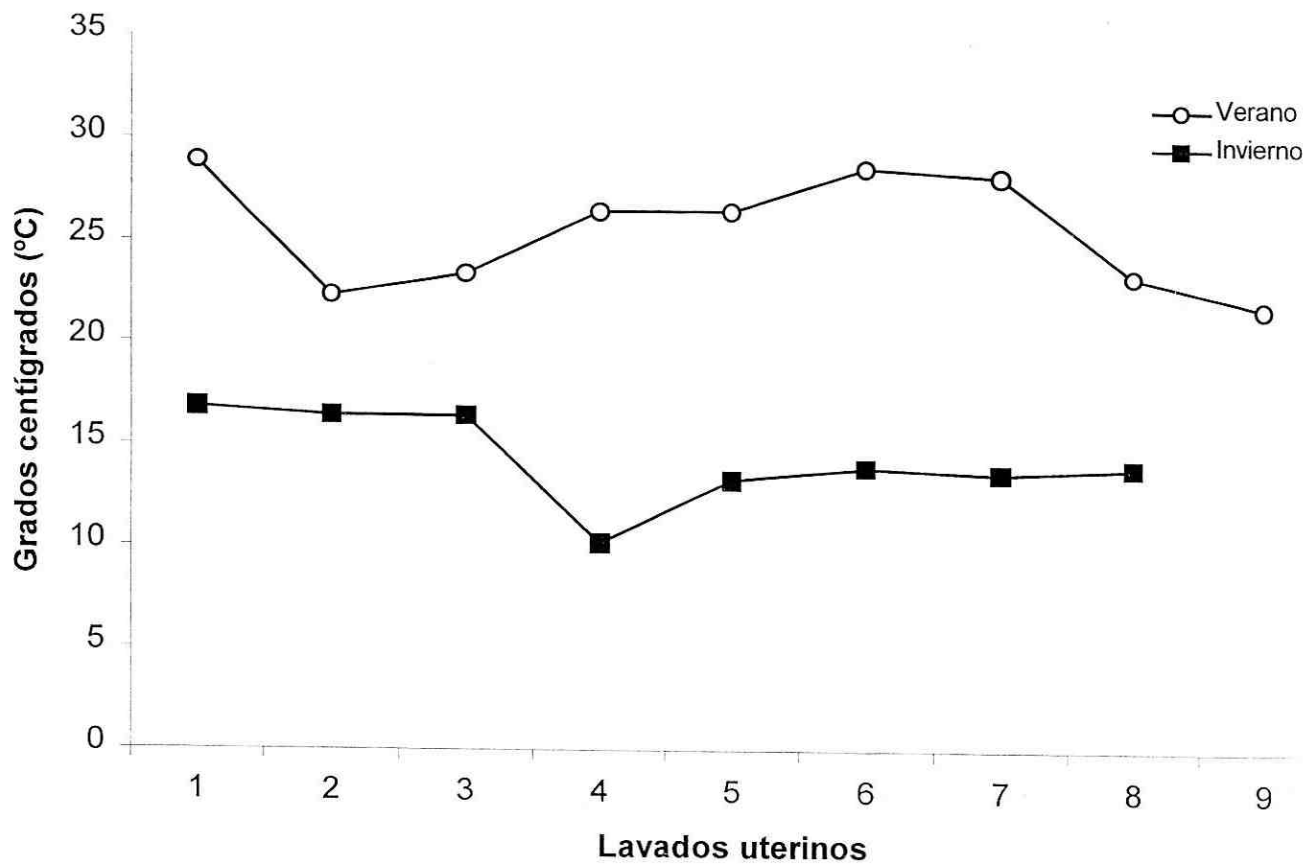


Figura 4. Temperatura ambiental promedio el día del lavado uterino.

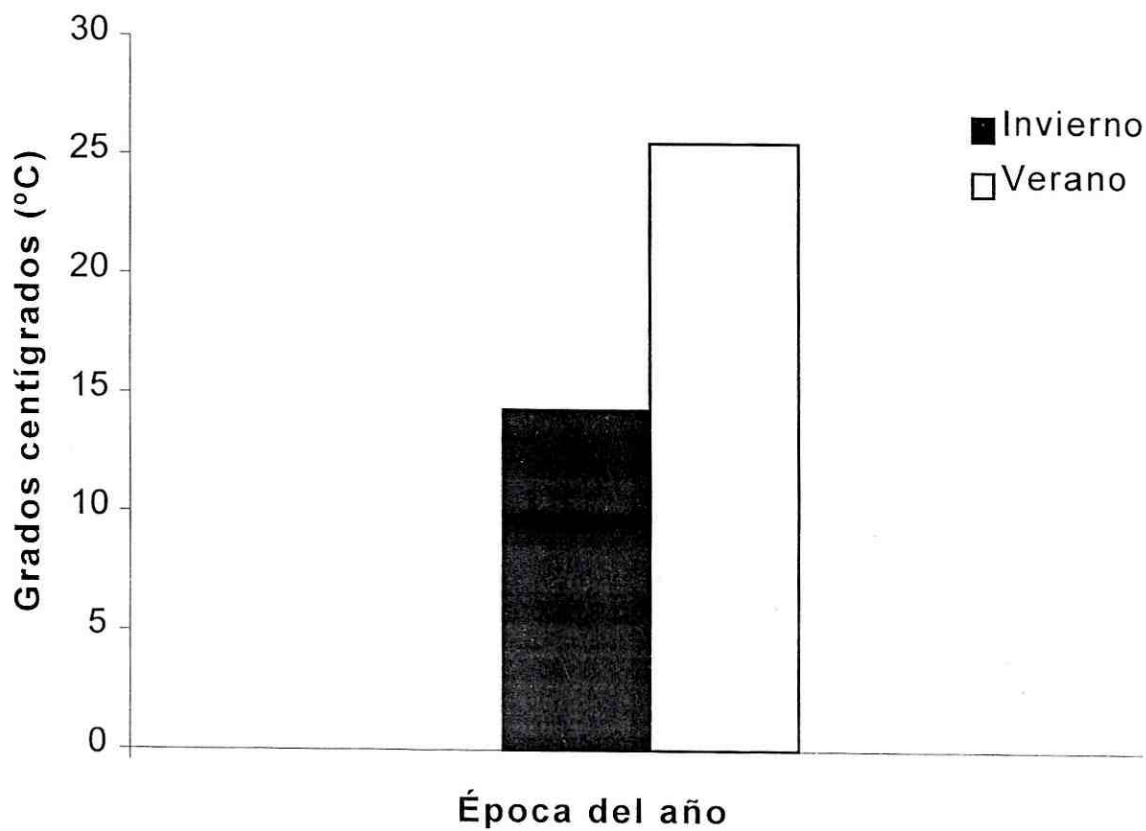


Figura 5. Promedio de la temperatura ambiental por cada época

V. DISCUSIÓN

El control de la respuesta superovulatoria sigue siendo un problema de la transferencia de embriones. En la actualidad se desconoce exactamente cuál es la razón por la que existe una gran variabilidad. Algunos autores como Goulding *et al.* (1994) piensan que puede deberse al tipo de hormona utilizada, a las dosis empleadas y a la frecuencia de las aplicaciones. Dieleman *et al.* (1989) mencionan que esta variación en la respuesta parece no ser debida a la concentración de hormonas endógenas sino causada por el organismo.

Por otro lado Hahn (1992) menciona que entre los factores que afectan la respuesta superovulatoria están la edad, la producción de leche, el número de inseminaciones, el número de lavados uterinos y los efectos ambientales como el viento, la lluvia, la humedad, el calor y el frío. De la misma manera Leyva *et al.* (1994) reportan que la variabilidad de la respuesta se ve afectada entre otras por el tipo de hormona, la dosis, el momento de la aplicación, el nivel nutricional y las variaciones estacionales, los cuales parecen tener una influencia, ya que en épocas de alta temperatura ambiental es cuando se presentan las más bajas respuestas superovulatorias.

En este estudio la respuesta superovulatoria en verano e invierno no se afectó, ya que en ambas se tuvo una respuesta del 90.9%.

La reducción de la fertilidad en animales expuestos a temperaturas ambientales elevadas, ha sido documentada en diferentes especies de mamíferos. Ealy *et al.* (1994) mencionan que se ve disminuida por una acción dañina en el desarrollo folicular. Finch (1986) y Badinga *et al.* (1993) por su parte reportan que el estrés calórico, probablemente no altera los factores que regulan el crecimiento folicular en vacas, a pesar de que el estrés producido por las elevadas temperaturas del medio ambiente incrementan significativamente la temperatura rectal que puede alterar de algún modo el medio ambiente uterino.

En los programas de inseminación artificial, se mencionan como causas generales de repetición al servicio, la no fertilización del ovocito y la mortalidad embrionaria. La no fertilización de ovocito ha sido atribuida por algunos autores, como causa principal de la baja fertilidad en verano. De Armas *et al.* (1988) en un trabajo llevado a cabo en Cuba, donde analizan este parámetro en invierno y verano, concluyeron que la principal causa de la baja fertilidad en época de calor, fue la no fertilización de los ovocitos, 42.5% para verano y 12.7% para invierno. Así, Gilad *et al.* (1988) reportan resultados semejantes para estos mismos parámetros.

Sin embargo, en este trabajo no se encontraron diferencias significativas entre estas dos estaciones para los ovocitos no fertilizados, ya que fueron de 15.2% y 13.2% para invierno y verano respectivamente. Estos resultados hacen pensar que la principal causa de la baja fertilidad en verano en establos de la Comarca Lagunera no es la "no fertilización de los ovocitos". La mayoría de los trabajos consultados se inclinan a plantear que la principal causa de la baja fertilidad en época de calor se debe a que se afecta la calidad embrionaria.

La calidad embrionaria sí se afectó significativamente en el verano, pues el porcentaje de embriones transferibles fue 23.0% superior en el invierno. De la misma manera, al analizar los grados de calidad morfológica, los embriones con defectos fueron aumentando durante el verano y hubo un 23.0% más de embriones calificados como no transferibles.

Estos resultados coinciden con los de otros autores en diferentes zonas geográficas, así por ejemplo, Ayalon *et al.* (1988) plantean que la fertilidad en verano en vacas Holstein, está caracterizada por una tendencia a incrementar las anormalidades embrionarias. Del mismo modo Lannett y Hansen (1996) encontraron que los embriones expuestos a elevadas temperaturas (39.0-42.0°C) sufren cambios en su morfología, maduración y desarrollo, lo que seguramente, tiene relación con la calidad y las tasas de gestación en las receptoras.

Con respecto a las tasas de gestación en vaquillas receptoras que fueron embrionizadas con diferentes grados de calidad embrionaria, la época del año tuvo una influencia significativa ($P < 0.01$), siendo un 24.8% superior para la época de invierno observándose las mayores diferencias para los grados 2 y 3, ya que al ser transferidos con algunos defectos tienen menores probabilidades de éxito. Posiblemente las bajas tasas de fertilidad obtenidas con embriones transferidos con anomalías morfológicas se deban a que las temperaturas elevadas aceleran los procesos degenerativos antes de que los embriones sean capaces de dar la señal del reconocimiento materno de la preñez, pues las diferencias porcentuales en las tasas de gestación con embriones de calidad 1 es decir (sin defectos) fueron mínimas para ambas épocas.

Badinga *et al.* (1993) y Thatcher *et al.* (1997) plantean que las tasas de gestación en las épocas de calor, se ven afectadas dramáticamente en vacas lecheras, disminuyendo desde un 55.0% durante los meses de baja temperatura hasta un 10.0% en los meses de calor, argumentando estos autores que el medio ambiente cálido, puede tener un efecto depresivo en la fertilidad por acción del medio ambiente uterino, en el sistema endocrino y en el embrión mismo.

Sin embargo, de acuerdo Hasler *et al.* (1987) y Aké *et al.* (1995) las tasas de preñez se ven afectadas por la calidad embrionaria, donde se encontró que los embriones de calidad 1 tenían un porcentaje de gestación del 83.0%, los de calidad 2, 75.0% y los de calidad 3 un 63.0%, siendo estos valores diferentes

entre sí ($P < 0.01$). A pesar de que estos autores, mencionan que aparentemente la época del año no afecta las tasas de gestación de las receptoras habría que tomar en consideración las diferencias de las temperaturas entre cada época. En nuestro caso hubo una diferencia de 11.2°C entre las temperaturas medias de cada época teniendo una máxima en verano de 40.5°C y una mínima en invierno de -11.0°C , incluyendo el periodo desde la selección y trabajo con las donantes hasta el diagnóstico de la gestación a las receptoras transferidas.

En regiones con veranos extremos como se presentan en el norte de México, el porcentaje de concepción en los meses más calurosos del año descienden hasta 20.0% en comparación con lo observado en los meses frescos del año (Mellado, 1995).

Por lo tanto a pesar del carácter multifactorial que tiene la infertilidad temporal en el ganado bovino de leche, es un hecho que las altas temperaturas del medio ambiente durante el verano disminuyen sustancialmente las tasas de gestación en los establos lecheros de la Comarca Lagunera y se necesitan más estudios científicos para tratar de dilucidar con exactitud el mecanismo por el cual las altas temperaturas ambientales afectan la fertilidad en los bovinos.

VI. CONCLUSIONES

1.- Las altas temperaturas durante la época de calor en establos de la Comarca Lagunera, afectan significativamente la calidad embrionaria y no así la tasa de fertilización de los ovocitos por lo que se piensa que el detrimento en la calidad de los embriones podría ser la causa fundamental de la baja fertilidad en esta época.

2.- Posiblemente las altas temperaturas del medio ambiente causan daños embrionarios, afectando las tasas de gestación en las vaquillas receptoras en las que la transferencia se realiza con embriones defectuosos incapaces de alcanzar el desarrollo para dar la señal del reconocimiento materno de la preñez.

LITERATURA CITADA

- Abilay, T.A., R.Mitra y H.D. Johnson. (1975). Plasma cortisol and total progesterin levels in Holstein steers during acute exposure to high environmental temperature 42°C conditions. *J. of Anim. Sci.* 41: 113-117.
- Adams, T.E., H. Sakurai y B.M. Adams. (1999). Effect of stress-like concentrations of cortisol on estradiol dependent expression of gonadotropin Releasing hormone receptor in orchidectomized sheep. *Biol. Reprod.* 60: 164-168.
- Aké, L.J.R., M.E. Alfaro G., y L. Holy. (1995). Respuesta superovulatoria en ganado *Bos indicus* y *Bos taurus* bajo condiciones tropicales y efecto del desarrollo y calidad del embrión sobre el porcentaje de gestación. *Vet. Méx.* 26: 189-193.
- Aréchiga, C.F., A.D. Ealy y P.J. Hansen. (1994). Efficacy of vitamin E and glutathione for termoprotection of murine morulae. *Theriogenology* 41: 1545-1553.
- Aréchiga, C.F., A.D. Ealy y P.J. Hansen (1995). Evidence that glutathione is involved in termotolerance of preimplantation murine embryos. *Biol.Reprod.* 52: 1296-1301.
- Ayalon, N., S. Marcus, D. Feingold y I. Lewis. (1988). Summer infertility in Holstein cattle. 11 th. International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. University College, Dublin, Ireland. Abstr. 399.
- Badinga, L., W.W. Thatcher, T. Díaz, M. Drost, y D. Wolfenson. (1993). Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 39:797-810.

- Badinga, L., R.L. Collier, W.W. Thatcher y C.J. Wilcox. (1985). Effects of climatic and managements factor on conception rate in dairy cattle in subtropical environment. *J. Dairy Sci.* 68: 78-85.
- Barraza A.S.I. (1997). Respuesta superovulatoria y calidad embrionaria en vacas Holstein tratadas con anti-PMSG en fase tardía del pico preovulatoria de L.H. Tesis de maestría de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Browning R., Jr., M.L. Leite-Browning, H.M. Smith y T. Wakefield, Jr. (1998). Effect of ergotamine and ergonovine on plasma concentrations of thyroid hormones and cortisol in cattle. *J. Anim. Sci.* 76: 1644-1650.
- Callesen, H., P. Lvendahl, A. Bak y T. Greve. (1995). Factors affecting the developmental stage of embryos recovered on day 7 from superovulated dairy cattle *J. Anim. Sci.* 73: 1539-1543.
- Campbell, G.M. (1993). Efecto de la FSHp y PMSG-anti-PMSG en vacas Holstein superovuladas. Trabajo para la obtención de diploma de maestría en ciencias. La Habana Cuba. 42-45.
- Christison, G.I. y H.D. Johnson. (1972). Cortisol turnover in heat-stressed cows. *J. Anim. Sci.* 35: 1005-1010.
- Daley, C.A., H. Sakurai, B.M. Adams y T.E. Adams. (1999). Effect of stress-like concentrations of cortisol on gonadotroph function in orchidectomized sheep. *Biol. Reprod.* 60: 158-163.
- De Armas T.R., J.P. Caral G., R. Solano F., L. Alcalá S. y D. Chupin. (1988). Seasonal effect on bovine embryo production in Cuba. 11th. International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. University College, Dublin, Ireland. Abstr. 403.
- Desauliniers, D.M., J.G. Lussier, A.K. Goff, D. Bousquet y L.A. Guilbault. (1995). Follicular development and reproductive endocrinology during and after superovulation in heifers and mature cows displaying contrasting superovulatory responses. *Theriogenology* 44: 479-497.
- Dieleman, S.J., M.M. Bevers, Y.A. Wurth, J. Th. Gielen y A.H. Willems. (1989). Improved embryo yield and condition of donor ovaries in cows after PMSG superovulation with monoclonal anti-PMSG administered shortly after the preovulatory L.H. Peak. *Theriogenology* 31: 473-487.
- Dorland, M., W.A.L. Duijndam, Th.A.M. Kruij y J.A. van der Donk. (1993). Cytogenetic analysis of day - 7 bovine embryos by cytophotometric DNA measurements. *J. Reprod. Fertil.* 99: 681-688.

- Ealy, A.D., Aréchiga, C.F., Bray, D.R., Risco, C.A. y Hansen, P.J. (1994). Effectiveness of short-term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 3601-3607.
- Fisher, H.D., M.A. Crowe, E.M. O' Nualláin, M.L. Monaghan, D.J. Prendiville, P.O' Kiely y W.J. Enright. (1997). Effects of suppressing cortisol following castration of bull calves on adrenocorticotrophic hormone, in vitro interferon- γ Production, leukocytes, acute-Phase proteins, growth and feed intake. *J. Anim. Sci.* 75: 1899-1908.
- Gilad, E., R. Meidan, A. Berman, Y. Graber y D. Wolfenson. (1993). Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *J. Reprod. Fertil.* 99: 315-321.
- Goulding, D., D.H. Williams, J.F. Roche y M.P. Boland. (1994). Effect of exogenous progesterone on superovulatory response in heifers inseminated with fresh or frozen semen. *J. Reprod. Fertil.* 100: 505-510.
- Greve, T., B. Avery y H. Callesen (1994). Viability of in-vivo and in vitro produced bovine embryos. Royal Veterinary and Agricultural University. Frederiksberg C. Denmark. 164-169.
- Gwazdauskas, F.C., W.W. Thatcher y C.J. Wilcox. (1973). Physiological, environmental and hormonal factors at insemination which may affect conception. *J. Dairy Sci.* 56: 873-877.
- Gwazdauskas, F.C., C.J. Wilcox y W.W. Thatcher. (1975). Environmental and managemental factors affecting conception rate in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 58: 88-92.
- Hahn, J. (1992). Attempts to explain and reduce variability of superovulation. *Theriogenology* 38: 269-275.
- Hasler, J.F., A.D. Mc Cauley, W.F. Lathrop y R.H. Foote. (1987). Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology* 27: 139-168.
- Holy, L. (1987). *Biología de la reproducción bovina*. Ed. Ciencia y Técnica, 2ª edición. La Habana, Cuba. 125-130.
- Ingraham, R.H., R.W. Stanley y W.C. Wagner. (1976). Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in Hawaii. *J. Dairy Sci.* 59: 2086-2090.

- Johnson, H.D. y W.J. Vanjonack. (1976). Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. *J. Dairy Sci* 59: 1603 – 1617.
- Kastelic, J.P. (1994). Noninfectious embryonic loss in cattle. *Vet. Medicine*. 585-589.
- Kastelic, J.P. (1994). Noninfectious embryonic loss in cattle. *Vet. Medicine* 584-589.
- Lannett E.J. y P.J. Hansen. (1996). Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two – cell embryos and compromises function of maturing oocytes. *Biol. Reprod.* 55: 340-346.
- Leyva, O.C., J. Veliz P., O. Reyes S., V.M. González V. (1994). Curso teórico práctico de transferencia de embriones con el método no quirúrgico en el ganado bovino en condiciones practicas de campo. Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Investigaciones en Ciencia Veterinarias. Mexicali, B.C. 17-30.
- Lindner, G.M. y R.W. Jr. Wright. (1983) Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*. 20: 407-416.
- Mellado, M. (1995). Respuesta fisiológica, producción de leche, eficiencia reproductiva y salud del ganado lechero expuesto a temperaturas ambientales elevadas. *Vet. Méx.* 26: 389-399.
- Minton, J.E., J.K. Apple, K.M. Parsons y F. Blecha. (1995). Stress-associated concentrations of plasma cortisol cannot account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in lambs exposed to restraint and isolation stress. *J. Anim. Sci.* 73: 812-817.
- Moberg, G.P. (1975). Effects of environment and management stress on reproduction in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 59: 1618-1624.
- Mohamed, M.E. y H.D. Johnson. (1985). Effect of growth hormone on milk yields and related physiological functions of Holstein cows exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.* 68: 1123-1133.
- Monty, D.E. y L.K. Wolf. (1974). Summer heat stress and reduced fertility in Holstein-Friesian cows in Arizona. *American J. Vet. Rec.* 35: 1495-1500.
- Nockels, C.F., K.G. Odde y A.M. Craig. (1996). Vitamin E supplementation and stress affect tissue α -tocopherol content of beef heifers. *J. Animal Sci.* 74: 672-677.
- Noriega, R., S. Martínez, R. Flores. (1995). Técnicas de procesamiento de embriones para la transferencia en bovinos. Universidad Nacional Autónoma de México. 36-38.

- O'Connor, M.L., F.C. Gwazdauskas, M.L. McGilliard y R.G. Saacke. (1985). Effect of adrenocorticotropic hormone and associated hormonal responses on semen quality and sperm output of bulls. *J. Dairy Sci.* 68: 151-157.
- Palma G.A. y G. Brem. (1993). Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina. Munich, Alemania. 65-140.
- Putney, D.J., M. Drost y W.W. Thatcher. (1989). Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. *Theriogenology* 31: 745-778.
- Ryan, D.P., E.G. Blakewood, J.W. Lynn, L.Munyakazi y R.A. Goodke. (1992). Effect of heat-stress on bovine embryo development in vitro. *J. Anim. Sci.* 70: 3490-3497.
- Ryan, D.P., J.F. Prichard, E. Kopel y R.A. Godke. (1993). Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 39: 719-737.
- Schmidt, R.H. (1989). The arid zones of México: Climatic extremes and conceptualization of the Sonoran desert. *J.Arid. Env.* 16: 241-256.
- Simpson, R.B., C.C. Chase, Jr., L.J. Spicer, R.K. Vernon, A.C. Hammond y D.O. Rae. (1994). Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *J.Reprod. Fertil.* 102: 483-492.
- Thatcher W.W., F. Moreira, J. D. Ambrose, C.A. Risco y R.L. de la Rosa. (1997). Manejo reproductivo de hatos lecheros bajo estrés calórico. III ciclo de Conferencias Internacionales sobre Nutrición y Manejo. 29-58.
- Turner A.I., P.H. Hemsworth, P.E. Hughes y A.J. Tilbrook. (1998). Repeated acute activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis prior to and during estrus did not affect reproductive performance in gilts. *Biol. Reprod.* 58: 1458-1462.
- Wagner, W.C., R.E. Strohbehn y P.A. Harris. (1972). ACTH, corticoids and luteal function in heifers. *J. Anim. Sci.* 35: 789-793.
- Wilson, S.J., R.S. Marion, J.N. Spain, D.E. Spiers, D.H. Keisler y M.C. Lucy. (1998a). Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J. Dairy Sci* 81: 2124-2131.

- Wilson , S.J., C.J. Kirby, A.T. Koenigs Feld, D.H. keisler y M.C. Lucy. (1998b). Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle . 2. Heifers. J. Dairy Sci. 81: 2132-2138.
- Wolfenson, D., I. Flamenbaum y A. Berman. (1988). Dry period heat stress relief effects on prepartum progesterone calf birth weight and milk production. J.Dairy Sci. 71: 809-818.