

Comportamiento de los niveles séricos de cortisol y su relación con ciclos anovulatorios en vaquillas Holstein bajo estrés calórico

JUAN GARCÍA REYES

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 Postgrado**

Torreón, Coahuila. Diciembre de 2000

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
Unidad Laguna**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**COMPORTAMIENTO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE CORTISOL Y SU
RELACIÓN CON CICLOS ANOVULATORIOS EN VAQUILLAS HOLSTEIN
BAJO ESTRÉS CALÓRICO**

TESIS

POR

JUAN GARCÍA REYES

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 Elizondo Vázquez

Asesor: _____

Dr. J. David Hernández Bustamante

Asesor: _____

M.C. Jesús Enrique Cantú Brito

Dr. Raúl Villegas Vizcaíno
Jefe de Departamento de Postgrado

Dr. Ramiro López Trujillo
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila. Diciembre de 2000

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro señor. Por haberme dado la oportunidad de alcanzar una meta más en mi vida.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** que una vez más me brinda la oportunidad de crecer como profesional.

Dr. Carlos Leyva Orasma. Gracias por su apoyo incondicional y por su voluntad de transmitir cada uno de sus conocimientos en el aula y en la práctica de campo.

Dr. Carlos Eizondo Vázquez. Por su infinita disposición y sus valiosas aportaciones en la realización del presente trabajo.

Dr. Juan David Hernández Bustamante. Por su amistad y su contribución en el enriquecimiento del presente trabajo.

M.C. Jesús Enrique Cantú Brito. Por su amistad y sus observaciones en la conformación del trabajo.

A mis maestros.

Dr. J. Alberto Delgadillo Sánchez, M.C. Jesús Vielma Sifuentes, Dr. Jesús Vázquez Arroyo, M.C. Jaime Lozano García. Por su amistad y por todos los conocimientos que supieron infundir en mi persona.

A mis compañeros.

Severo de la Torre Villegas y Raimundo Rivas Muños. Por su amistad y apoyo en el trabajo de campo.

A los productores lecheros.

Sr. Rigoberto Becerra, Sr. Alfredo Becerra, Sr. Lucas Ramos. Por las facilidades otorgadas para la realización de investigación dentro de sus explotaciones lecheras.

A mis padres.

Francisco García González y Juana Reyes de García. Por todo su amor y comprensión.

A mis hermanos. Gerardo, Maria Elena y Rafael. Por su infinito apoyo.

COMPENDIO

Comportamiento de los niveles séricos de cortisol y su relación con ciclos anovulatorios en vaquillas Holstein bajo estrés calórico.

POR

Juan García Reyes

MAESTRIA EN CIENCIAS

REPRODUCCIÓN ANIMAL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón, Coahuila. Diciembre de 2000

Dr. Carlos Leyva Orasma

Palabras clave: infertilidad, estrés calórico, ciclos anovulatorios, cortisol, progesterona, estradiol.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar las concentraciones de cortisol sérico en vaquillas Holstein (receptoras de transferencia de embriones) sometidas a condiciones de estrés calórico durante la fase de estro y relacionar dichas concentraciones con ciclos anovulatorios. El experimento se realizó en dos establos de la Comarca Lagunera durante el verano de 1998 ($n = 22$) y 1999 ($n = 14$). Las 36 vaquillas fueron sincronizadas con dos dosis de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Prosolvin® Intervet), y el muestreo sanguíneo para la determinación de cortisol y estradiol se realizó 48 horas después de la segunda inyección de prostaglandina $F_{2\alpha}$. Un grupo (G_1 , $n = 18$) se alojó en instalaciones techadas recibiendo aspersiones intermitentes de agua cada hora, mientras un segundo grupo (G_2 , $n = 18$) se ubicó en un corral a la intemperie recibiendo directamente las radiaciones solares. Se recolectó una muestra de sangre en cada animal por hora (de 13:00 a 17:00) para determinación de cortisol y estradiol e inmediatamente se registró la temperatura ambiental y rectal en cada vaquilla.

Siete días después del celo se tomó una muestra sanguínea por animal para determinación de progesterona. El análisis de varianza determinó diferencia estadística ($P < 0.01$) en las concentraciones séricas de cortisol entre G_1 y G_2 en los dos años de experimentación. Además se pudo identificar mediante pruebas

de "t" de student la existencia de diferencia significativa ($P < 0.05$) a las 14:00 horas y alta diferencia significativa ($P < 0.01$) a las 13:00 horas en el verano de 1998, y para el verano de 1999 se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$) a las 16:00 y 17:00 horas, y diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) a las 13:00, 14:00 y 15:00 horas.

Las concentraciones séricas de estradiol no se vieron afectadas por efecto del estrés calórico en ambos grupos y el análisis estadístico no identificó diferencia significativa. Sin embargo las concentraciones séricas de progesterona fueron mayores en G_2 en comparación con G_1 , mostrando diferencia significativa ($P < 0.05$) entre grupos en los dos años de experimentación.

Estos resultados muestran que las vaquillas expuestas a las radiaciones solares directas durante la fase estrogénica presentan concentraciones de cortisol sérico mayores, que aquellas que se encuentran bajo procedimientos paliativos para altas temperaturas, y que estas concentraciones podrían ser la causa del incremento de las concentraciones de progesterona durante la fase luteal. En resumen, la exposición de vaquillas a condiciones de estrés calórico durante la fase de estro no suprimen los patrones de ovulación.

ABSTRACT

Behavior of the serum cortisol levels and its relation with nonovulatory cycles on heat stressed Holstein dairy heifers

BY

Juan García Reyes

MASTER IN SCIENCES

REPRODUCTION ANIMAL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón, Coahuila. December 2000

Dr. Carlos Leyva Orasma - Advisor

Key words: Infertility, heat stress, nonovulatory cycles, cortisol, progesterone, estradiol

The objective of the following research is to evaluate serum cortisol concentrations on Holstein dairy heifers (embryo transfer receptors) subdue to heat stress conditions during the estrus phase and related to these concentrations with nonovulatory cycles. The experiment took place in 2 farms located in the Comarca Lagunera during the summer of 1998 (n = 14) and 1999 (n = 22). The 36 heifers were synchronized with two doses of prostaglandin F_{2α} (Prosolvin® intervet) and the blood samples to determinate the cortisol and estradiol were made 48 hours after the second injection prostaglandin F_{2α}.

A group (G₁, n = 18) was located in a place covered with a roof getting intermittent aspersions of water every hour, whereas a second group (G₂, n = 18) was located in a farmyard getting the solar radiation. A blood sample was recollected on every animal per hour (from 13:00 to 17:00) to determinate the cortisol and estradiol, and the environmental and rectal temperatures was registered immediately in every heifer. Seven days after the estrus, a blood sample of every animal was taken to determinate the progesterone. The analysis of variance determinate statistical differences (P < 0.01) in the serum concentrations of cortisol between G₁ and G₂ in the second year of experiments.

Besides, the existence in meaning difference ($P < 0.05$) could be identified through student t-test at 14:00 hour and high meaning difference ($P < 0.01$) at 13:00 hour in the summer of 1998, and for the summer of 1999 a statistical difference ($P < 0.05$) was found at 16:00 and 17:00 hours and a very high meaning difference ($P < 0.01$) at 13:00, 14:00 and 15:00 hours.

The serum concentrations of estradiol were not affected because of the heat stress effect in both groups and the statistical analysis did not identify meaning difference. However, the serum progesterone concentrations in G_2 were lower than in G_1 , showing meaning differences ($P < 0.05$) between groups in two years of experiments.

These results suggest that heifers exposed to solar radiation during the estrogenic phase presents higher serum cortisol concentrations than those under palliative procedures to high temperatures and that these concentrations can increase the progesterone during the luteal phase. As progesterone production was increased, these data suggest that cortisol selectively suppresses specialized functions in bovine granulosa cells. In summary, exposure of heifers to heat stress conditions during the estrus phase does not suppress the overall pattern of ovulation.

ÍNDICE GENERAL

Compendio	iv
Abstract	vi
Lista de figuras	x
Lista de tablas	xi
I. Introducción	1
1.1 Objetivo general.....	3
1.2 Objetivos específicos.....	3
1.3 Hipótesis.....	4
II. Revisión de Literatura	5
2.1 Dinámica folicular en vaquillas.....	5
2.2 Crecimiento folicular.....	6
2.3 Pubertad.....	7
2.4 Endocrinología folicular.....	8
2.5 Temperatura ambiental de confort en bovinos.....	11
2.6 Estrés calórico	12
2.6.1 Estimulación neuroendocrina ocasionada por el estrés.....	12
2.6.2 Efecto del estrés calórico en el desarrollo folicular.....	15
2.7 Ritmo circadiano y ultradiano de cortisol.....	15
2.8 Ritmo circadiano y ultradiano de temperatura corporal.....	16
2.9 Efecto del estrés calórico en el desarrollo folicular y esteroidogénesis.....	17
2.10 Relación entre temperatura rectal y temperatura ambiental.....	18
2.11 Parámetros reproductivos afectados por estrés calórico.....	19
2.12 Efecto del estrés calórico en los ovarios.....	21
III. Materiales y métodos	23
3.1 Localización del trabajo experimental.....	23

3.2 Animales experimentales.....	23
3.3 Manejo y tratamiento de los animales.....	24
3.4 Detección de celos e inspección rectal.....	26
3.5 Muestreo sanguíneo y medición de temperatura.....	26
3.6 Determinación hormonal.....	27
3.7 Temperatura y humedad relativa.....	27
3.8 Análisis estadístico.....	27
IV. Resultados.....	27
4.1 Primer experimento.....	28
4.1.1 Concentraciones de cortisol sérico.....	28
4.1.2 Concentraciones séricas de estradiol en vaquillas bajo estrés calórico durante el celo.....	30
4.1.3 Progesterona durante la fase luteal.....	31
4.2 Segundo experimento.....	32
4.2.1 Concentraciones séricas de cortisol durante el estro.....	32
4.2.2 Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas bajo estrés durante el estro.....	34
4.2.3 Progesterona en la fase luteal.....	35
V. Discusión.....	36
VI. Conclusiones.....	43
VII. Literatura citada.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Concentraciones de cortisol sérico en vaquillas expuestas a radiaciones solares directas y en vaquillas con sombra y aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas durante el estro (1998).....	29
2	Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas expuestas a radiaciones solares directas durante el estro (1998).....	30
3	Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas con sombra y aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas durante el estro (1998).....	31
4	Concentraciones de cortisol sérico en vaquillas expuestas a radiaciones solares directas y en sombra recibiendo aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas durante el estro (1999).....	33
5	Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas expuestas a las radiaciones solares directas durante el estro (1999).....	34
6	Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas con sombra y aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas durante el estro (1999).....	35

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Distribución del número de animales experimentales por año.....	24
2	Distribución de los grupos experimentales por año.....	25
3	Condiciones ambientales y temperatura rectal en ambos grupos de vaquillas durante el día de muestreo (1998).....	28
4	Condiciones ambientales y temperatura rectal en ambos grupos de vaquillas durante el día de muestreo (1999).....	32

I. INTRODUCCIÓN

Antes de que se iniciara el traslado de animales hacia todas partes del mundo, la mayoría de los animales nacieron, se criaron y reprodujeron en un ambiente donde sus ancestros evolucionaron continuamente durante miles de años, por lo anterior la reproducción y especialmente el comportamiento reproductivo, fueron finamente ajustados para una sobrevivencia óptima de la progenie . Hoy en día, grandes cantidades de animales se reproducen en nuevos ambientes, y frecuentemente, los patrones de comportamiento no son los más apropiados para un resultado óptimo de la reproducción (Fajersson, 1999).

Durante los meses del verano, caracterizados por estrés calórico, se encuentran distintos períodos estacionales de infertilidad. Con el uso de sistemas de manejo intensivo en vacas lecheras lactantes, este período de fertilidad reducida está asociado a incrementos en la temperatura y humedad ambientales que inducen a la hipotermia corporal (William *et al.*, 1997).

Se ha considerado que el estrés calórico es el mayor factor que contribuye en la baja de fertilidad en vacas lecheras, siendo un problema económico que afecta a cerca del 60 % de la población de ganado en el mundo (Wolfenson *et al.*, 2000).

Una serie de observaciones indican que probablemente el estrés calórico compromete el desarrollo del folículo ya que la dinámica folicular se ve alterada durante los períodos de estrés calórico (William *et al.*, 1997).

En explotaciones lecheras de la Comarca Lagunera los animales son sometidos a temperaturas elevadas típicas de la región. Estas condiciones ambientales imponen un estado de estrés calórico en el ganado, comprometiendo así la producción y las funciones reproductivas (Moberg *et al.*, 1975; O'Connor *et al.*, 1985; Wilson *et al.*, 1998a).

El estrés incrementa la actividad de eje hipotálamo – pituitaria – corteza adrenal en las especies domésticas. En respuesta al estrés, el ganado secreta hormona adrenocorticotrópica (ACTH) de la glándula pituitaria, que a su vez incrementa la liberación de cortisol dentro de la circulación sanguínea (Nockels *et al.*, 1996; Adams *et al.*, 1999). Estos glucocorticoides liberados en exceso pueden actuar directamente en sitios hipotalámicos, suprimiendo la síntesis de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Adams *et al.*, 1999), disminuyendo la secreción de hormona luteinizante (LH) por la hipófisis e incrementando la retroalimentación negativa del estradiol (E₂) (Daley *et al.*, 1999), en contraste, el cortisol tiende a incrementar la producción de progesterona (P₄) por las células de la granulosa (Kawate *et al.*, 1993).

1.1 Objetivo general

Evaluar durante el verano las concentraciones de cortisol sérico en vaquillas Holstein (receptoras de transferencia de embriones) sometidas y no, a procedimientos paliativos para altas temperaturas y asociar dichas concentraciones con ciclos anovulatorios.

1.2 Objetivos específicos

Relacionar las concentraciones séricas de cortisol durante la fase estrogénica con las concentraciones séricas de progesterona durante la fase luteal.

Relacionar las concentraciones séricas de estradiol durante la fase estrogénica con las concentraciones de cortisol durante la misma fase.

1.3 Hipótesis

El incremento en las concentraciones séricas de cortisol durante la fase estrogénica pueden ser una causa, directa o indirecta, de ciclos anovulatorios, o de modificaciones en las concentraciones séricas de progesterona durante la fase luteal.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Dinámica folicular en vaquillas

El curso de la ovogénesis, se inicia durante la vida fetal y constituye un depósito de folículos primordiales (aproximadamente 150,000 al nacimiento). Es a partir de este depósito que se realizará la foliculogénesis, que puede definirse como el conjunto de procesos por los cuales un folículo primordial se desarrolla (folículo preantral) para alcanzar la ovulación (folículo antral), lo que sucede en menos de 0.1% , o se atresia en 99.9% de los casos (Driancourt, 1999).

El folículo ovárico maduro es una estructura compleja compuesta de células de la granulosa y de la teca, las cuales participan en la nutrición del óvulo, y en la producción de hormonas esteroideas y factores peptídicos (Singh *et al.*, 1998).

El ciclo estral es caracterizado por el desarrollo sincronizado de un grupo de folículos que constituyen una serie de dos o tres oleadas foliculares (Evans *et al.*, 1994; Garverick, 1997), donde cada oleada folicular es precedida por un ascenso en las concentraciones séricas de FSH (hormona folículo estimulante), la cual inicia el crecimiento de folículos de 3mm de diámetro (Hendriksen *et al.*, 2000) y finaliza con el desarrollo de un folículo dominante (> 10mm), (Ginther *et al.*, 1997).

El desarrollo del folículo preovulatorio está en dependencia de las acciones reguladoras del eje hipotálamo – pituitaria – gonadal (Bage *et al.*, 2000).

La vaquilla cíclica cursa por tres etapas de desarrollo folicular que preceden la ovulación: 1) Reclutamiento folicular por acción de la FSH, antes del comienzo de la luteólisis, 2) Selección del folículo dominante y después crecimiento hasta la oleada preovulatoria de LH, y 3) Final folicular y maduración del ovocito después del pico de LH hasta la ovulación (Dieleman *et al.*, 1993; Schmitt *et al.*, 1996; Hagemann *et al.*, 1999).

2.2 Crecimiento folicular

Los folículos en crecimiento, tienen una doble función: por una parte son el soporte del crecimiento, de la maduración y de la expulsión del gameto femenino (ovocito) , por otra parte, por los esteroides que ellos producen, tienen una función clave en la regulación de la función reproductiva (Driancourt, 1999).

El desarrollo folicular es regulado principalmente por las hormonas gonadotrópicas FSH y por LH (De la Sota *et al.*, 1996). Se ha sugerido, que durante la segunda etapa el folículo dominante es seleccionado por contener más

receptores de FSH, y con esto, poder competir por gonadotropinas con los folículos subordinados (Hagemann *et al.*, 1999). El folículo dominante obtiene receptores para LH, capacitando el reconocimiento y reaccionando a la oleada preovulatoria de LH. Así este folículo preovulatorio entra en la etapa de maduración final donde el principal esteroide producido es el estradiol (Dieleman *et al.*, 1993)

Durante el crecimiento de los folículos el número de receptores LH se incrementan mientras que el número de receptores FSH disminuyen. Por monitoreo ultrasonográfico se puede confirmar que las vaquillas tienen tres (algunas veces dos y raramente uno) diferentes periodos de cambio de folículos dominantes durante un ciclo estral (estro, diestro temprano y mitad del diestro), (Sunderland *et al.*, 1994).

2.3 Pubertad

La primera ovulación en la vaquilla ocurre en la semana 56 ± 1.2 de edad, con un peso corporal de 391.9 ± 12 kg, presentando un ciclo ovulatorio de corta duración (7.7 ± 0.2 días) y luego un ciclo ovulatorio de duración normal (20.3 ± 0.5 días). El diámetro máximo de los folículos dominantes y de los subordinados no

se incrementa a medida que se aproxima la primera ovulación, o durante los subsecuentes ciclos ovulatorios. No existen diferencias entre las tasas de crecimiento folicular (1.4 ± 0.1 mm/día) y las tasa de regresión folicular (1.2 ± 0.1 mm/día) en relación con los animales sexualmente maduros (Evans *et al.*, 1994).

2.4 Endocrinología folicular

Los cambios en la secreción pulsátil de LH, FSH, E_2 y P_4 están relacionados con la fase de crecimiento folicular en vaquillas (Rhodes *et al.*, 1995). La hormona luteinizante y la hormona folículo estimulante desempeñan una función importante en la regulación del crecimiento folicular, ovulación y función del cuerpo lúteo (Wolfenson *et al.*, 2000). Las concentraciones plasmáticas preovulatorias de GnRH y LH son dependientes de las concentraciones de estradiol (Gilad *et al.*, 1993). La progesterona interviene en el proceso de esteroidogénesis en el folículo dominante y en la formación del cuerpo lúteo subsiguiente (Wolfenson *et al.*, 2000).

La concentración de estradiol se incrementa durante la fase de crecimiento del folículo dominante y se reduce cuando el folículo dominante alcanza su

máximo diámetro. Los pulsos de LH son seguidos por un aumento en las concentraciones de estradiol (Rhodes *et al.*, 1995).

La liberación plasmática de FSH se incrementa 1 a 2 días antes de que el folículo dominante surja, alcanzando un pico aproximadamente en el día de la emergencia folicular y declina durante un periodo de 4 días de divergencia folicular (tiempo en que el folículo dominante es seleccionado) (Ginther *et al.*, 1997).

En promedio la emergencia de la oleada folicular se detecta en el día 0 (el día de la ovulación) y el día 10 para ciclos estrales de dos oleadas, y en los días 0, 9 y 16 para ciclos de tres oleadas (Adams, 1994). La oleada folicular emerge en 5.8 ± 5.5 h después del surgimiento de LH y en ese tiempo el futuro folículo dominante (4.2 ± 0.8 mm) es mayor que el futuro folículo subordinado (3.6 ± 0.1 mm) (Kulick *et al.*, 1999).

La desviación folicular (cuando diverge el diámetro entre el folículo dominante y el subordinado) ocurre cuando los dos grandes folículos muestran 8.3 ± 0.2 y 7.8 ± 0.2 mm en diámetro, en 61.0 ± 3.7 h después de emerger la oleada. Las concentraciones de FSH disminuyen, cuando las concentraciones de LH incrementan 24 y 32 h antes de la desviación (Kulick *et al.*, 1999).

La duración corta de ciclos ovulatorios está asociada con la baja concentración de progesterona en plasma sanguíneo (valores medios 2.75 ± 0.66 ng/ml), en comparación con ciclos ovulatorios normales (10.15 ± 0.58 ng/ml), (Evans *et al.*, 1994). La capacidad folicular para secretar progesterona se incrementa debido a los cambios radicales en la liberación de LH (Fortune, 1994).

La replicación de células de la granulosa está en dependencia de los estímulos hormonales esteroidales y gonadotrópicos; la FSH y el estradiol producen un incremento sinérgico de replicación de células de la granulosa y por la actividad aromatasa tanto *in vivo* como *in vitro*. Por lo tanto algunos factores que modulan el efecto de esas hormonas en células las células de la granulosa pueden actuar impidiendo la selección de un folículo dominante (Hynes *et al.*, 1996).

Al identificar las generaciones de las células de la granulosa se puede mostrar el crecimiento y la atresia folicular, así los folículos primordiales tienen aproximadamente 5 generaciones de células de la granulosa, sin embargo, poca atresia ocurre durante las primeras 7 generaciones y más folículos llegan a ser atrésicos durante la octava y novena generación. Esto sugiere que el desarrollo y crecimiento folicular puede ocurrir en presencia de concentraciones basales normales de gonadotropinas, pero que cuando los folículos alcanzan la octava y

novena generación de células de la granulosa llegan al final de su vida normal bajo condiciones basales. De tal manera que los folículos que son expuestos únicamente a señales específicas adicionales pueden continuar hacia la décima generación de células de la granulosa y ovular (Fortune, 1994).

2.5 Temperatura ambiental de confort en bovinos

La zona de confort termoneutral para ganado lactante oscila en un rango general de 1.7 °C a 21.0 °C, dependiendo de la raza, producción de leche y de la ingestión de alimento (Johnson y Vanjonack, 1975; Ryan *et al.*, 1993). Mellado (1995) menciona que la temperatura ambiental ideal para vacas lecheras es de -5 °C a 24 °C, independientemente de la edad del animal o del periodo de lactancia de la vaca. En el caso que la temperatura rebase los 26 °C se activan en el animal procesos fisiológicos compensatorios, tendientes a mantener el balance energético, térmico, hídrico, hormonal y mineral.

Para Estrada *et al.* (1995) el rango estimado para una mayor eficiencia en la utilización de energía por las vacas lecheras es de 13 a 18 °C, y por lo general no ocurren cambios significativos en el consumo de materia seca ni en otras funciones, dentro de la denominada zona de confort .

2.6 Estrés calórico

El estrés es definido como la inhabilidad de un animal para competir con el ambiente, y es considerado como un fenómeno que revela fracasos en el potencial genético, tasa de crecimiento, producción de leche, resistencia a enfermedades y fertilidad de primates y especies domésticas (Wilson *et al.*, 1998a; Dobson y Smith, 2000; Macfarlane *et al.*, 2000). El estrés ambiental es causado por la temperatura, el frío, el calor y la humedad relativa (Moberg *et al.*, 1975, O'Connor *et al.*, 1985).

2.6.1 Estimulación neuroendocrina ocasionada por el estrés calórico

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 (Daley *et al.*, 2000; Macfarlane *et al.*, 2000). La secreción de hormonas pituitario - adrenales, bajo condiciones de estrés, son controladas por la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual por si misma ha mostrado influir en la reproducción por inhibición de la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (Bage *et al.*, 2000)

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).

La regulación endocrina de la función ovárica por la hormona folículo estimulante y hormona luteinizante está sujeta a la modulación paracrina por esteroides producidos (Hiller *et al.*, 1998). El estradiol induce un rápido y marcado incremento en la expresión del GnRH. (Adams *et al.*, 1999).

Se ha sugerido que los glucocorticoides incrementan la potencia de la retroalimentación negativa de los esteroides gonadales, lo cual modifica la función ovárica (Daley *et al.*, 2000).

Exposiciones prolongadas al estrés reducen la fertilidad y los glucocorticoides liberados actúan directamente en sitios hipotálamicos suprimiendo la síntesis de GnRH, disminuyendo tanto la actividad del centro generador pulsátil de GnRH como la secreción de gonadotropinas en la hipófisis (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;

Wolfenson *et al.*, 2000). Johnson *et al.* (1975) mencionan que la exposición de vaquillas a una temperatura ambiente de 33 °C disminuye la secreción de LH y la duración del estro.

Adicionalmente, el cortisol es un importante indicador del estrés en el ganado (Lyimo *et al.*, 2000) 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 *et al.*, 1975; Browning *et al.*, 1998). Una investigación de Apple *et al.* (1993) reafirma los resultados obtenidos por Abilay *et al.* (1975), al mencionar que la elevación de las concentraciones de cortisol en el suero sanguíneo es directamente proporcional a la intensidad del estrés. El cortisol incrementa la potencia de la retroalimentación negativa del estradiol y reduce el estrógeno dependiente de la acumulación de GnRH en el tejido pituitario (Daley *et al.*, 1999).

Todas las alteraciones neuroendocrinas ocasionadas por el estrés reducen la frecuencia y amplitud de hormona liberadora de gonadotropinas y de los pulsos de LH, con lo que se interfiere el tiempo preciso de la liberación de hormonas reproductivas en la fase folicular, lo que sugiere que el estrés ejerce también un efecto en el hipotálamo y en los centros altos del cerebro (Dobson y Smith, 2000).

2.6.2 Efecto del estrés calórico en el desarrollo folicular

La exposición de vacas lecheras a condiciones de estrés calórico durante el ciclo estral entero induce un 50% de incremento en el número de folículos grandes (> 10 mm) durante la oleada folicular, reduciéndose la dominancia del gran folículo y permitiendo el crecimiento de un folículo adicional, lo que sugiere una explicación del marcado ascenso en partos dobles durante el verano en Israel, debido a la inseminación de vacas con ovulaciones dobles durante los meses calurosos. Se sugiere que la depresión de la dominancia folicular durante el estrés calórico involucra la supresión de la secreción de inhibina por las células de la granulosa y subsecuentemente alteraciones en la secreción de FSH, ocasionando el desarrollo de folículos subordinados (Wolfenson *et al.*, 2000).

2.7 Ritmo circadiano y ultradiano del cortisol

Los glucocorticoides son un importante componente de varias actividades (metabolismo y estrés). Las interacciones complejas que involucran esas actividades y la interrelación entre los animales y su medio ambiente, pueden resultar en fluctuaciones en los niveles de glucocorticoides que obscurecen fundamentalmente los ritmos. Las concentraciones periféricas de cortisol en vacas exhiben ritmos circadianos, donde el promedio mínimo es de 3.1 ng/ml y el

máximo es de 4.4 ng/ml, con diferencia de 12 horas en promedio (Lefcourt *et al.*, 1993). Se ha detectado un ritmo circadiano de cortisol en vaquillas, donde las concentraciones son altas entre la media noche y la media mañana y bajas por la tarde (Fulkerson *et al.*, 1980; Knobil y Neill, 1994). Thun *et al.* (1981) encontraron un ritmo circadiano de cortisol en toros, por periodos secuenciales de ocho horas.

El ritmo ultradiano de cortisol oscila en un periodo de 120 minutos, presentando amplitudes de pulsos de 1.0 a 17.0 ng/ml, lo cual sugiere la existencia de un mecanismo intrínseco que regula las concentraciones periféricas de cortisol (Lefcourt *et al.*, 1993).

2.8 Ritmo circadiano y ultradiano de temperatura corporal

La temperatura corporal en las vacas varia de acuerdo con el estado fisiológico del animal; en promedio, la temperatura corporal es de 38.18 °C con una diferencia alta o baja de 0.45 °C.

Durante el ciclo estral la temperatura corporal se presenta baja antes del estro y durante la ovulación, y alta durante el estro y en la fase luteal (Bitman *et al.*, 1984).

Las modificaciones diarias de la temperatura corporal, varían considerablemente entre las vacas, pero existe una tendencia para el ritmo circadiano; sin embargo las variaciones de temperatura corporal pueden ser influenciadas por la temperatura ambiente. Las vacas lecheras tienden a presentar ritmos circadianos sinusoidales de temperatura corporal con valores zeniths (cumbre) de $39.09 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.05$ a las $23:23 \pm 2.33$ horas, y valores nadir (descenso) de $38.82 \pm 0.05 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante las $15:50 \pm 2.75$, en un periodo de 24 horas. Un ritmo ultradiano de temperatura corporal se presenta en vacas lecheras con numerosos picos (11/h) en periodos de entre 100 y 175 minutos como media (Lefcourt *et al.*, 1999).

2.9 Efecto del estrés calórico en el desarrollo folicular y esteroidogénesis

La reducción de la fertilidad a sido documentada en un gran número de especies mamíferas que son expuestas 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 interno embrionario. Las temperaturas ambientales altas son causa en la reducción, duración e intensidad en la expresión del estro, y en el incremento en la incidencia de anestros y ovulaciones silenciosas (Badinga *et al.*, 1995). Turner *et al.* (1998) concluyen que

en condiciones de estrés calórico durante la fase folicular del ciclo estral de la cerda podría demorarse el inicio de estro.

El ciclo estral bovino está 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 seleccionado para continuar el crecimiento y los otros sufren atresia. Ese folículo denominado dominante, inhibe el reclutamiento de otro y secreta abundante cantidad de estradiol. 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 extensa fase luteal con repetidas oleadas foliculares. (Badinga *et al.*, 1993; Wilson *et al.*, 1998b).

2.10 Relación entre temperatura rectal y temperatura ambiental

Uno de los problemas del desempeño animal en temperaturas ambientales elevadas es la eliminación de calor. La evaporación es la capacidad de disipación de calor por la vaca lechera (Wolfenson *et al.*, 1988). La reducción de la fertilidad está asociada con la elevación de la temperatura corporal de los animales en ambientes calurosos (Gwazdauskas *et al.*, 1973a).

El promedio de temperatura rectal en bovinos es de 38.7°C, cuando la temperatura ambiente varía 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 oscila entre 32.0 y 35.0°C (Gwazdauskas *et al.*, 1973a).

2.11 Parámetros reproductivos afectados por estrés calórico

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

En el ganado lechero la tasa de concepción para inseminación artificial puede tener un rango de 55% durante los meses de baja temperatura y humedad, y hasta un 10 por ciento durante los meses de alta temperatura y humedad ambientales (Badinga *et al.*, 1993; Lyimo *et al.*, 2000).

En vacas sin tratamiento hormonal, la temperatura ambiente en el día de la inseminación artificial o del siguiente, está correlacionada negativamente con la tasa de concepción. Un aumento de la temperatura uterina de 0.5°C durante estos dos días provoca una disminución del porcentaje de fertilidad. Si la fertilización se produce en condiciones normales los embriones son muy sensibles a las altas

temperaturas durante los primeros estadios del desarrollo (Gwazdauskas *et al.*, 1973b, 1975). La exposición de los embriones a altas temperaturas *in vitro* detienen el desarrollo y la viabilidad embrionaria (Ealy *et al.*, 1995). Cuando la temperatura rectal del ganado se incrementa de 38.5 a 40°C por 72 horas postinseminación, la tasa de preñez disminuye de 48 a 0 por ciento. La mayor mortalidad embrionaria de vacas lecheras bajo estrés calórico ocurre antes del día 7 de gestación y continua a través del día 14 de gestación (Ryan *et al.*, 1992, 1993).

Después de los signos del estro la tasa de fertilización es la que se ve afectada por el estrés calórico. En vacas Holstein en Cuba el porcentaje de ovocitos fertilizados, después de la superovulación, es más baja en la estación calurosa que en la estación templada (57.5 vs 87.3 %) (De Armas - Taboada *et al.*, 1988). Por lo tanto la tasa de preñez, se ve reducida durante los períodos estacionales de estrés calórico.

El estrés calórico reduce el estradiol del plasma sanguíneo durante el proestro, por lo tanto también baja la detección de celos. Las tasas de concepción disminuyen durante el estrés calórico debido al aumento en la temperatura corporal que puede provocar una muerte embrionaria temprana (Wolfenson *et al.*, 1993; William *et al.*, 1997).

2.12 Efecto del estrés calórico en los ovarios

Los quistes ováricos en el ganado lechero son definidos generalmente como estructuras de 2.5 cm de diámetro que persisten 10 a 40 días, en ausencia de cuerpo lúteo (Hamilton *et al.*, 1995). La presencia de quistes ováricos en los hatos lecheros ha sido reportada de 6 a 19 %, considerándose como una causa importante de problemas reproductivos (Kesler *et al.*, 1982).

Los factores ambientales pueden provocar la formación de quistes ováricos en los bovinos (Garverick, 1997; Gutiérrez, 1999). Algunas hormonas se incrementan por el estrés (cortisol) y pueden inhibir los sitios de el eje hipotálamo - pituitaria - sistema ovárico que controla la ovulación (Kawate *et al.*, 1993; Garverick, 1997). En vacas algunos tratamientos endocrinos de hormona adrenocorticotrópica exógena incrementan la formación de quistes ováricos (Gutiérrez, 1999). Normalmente la cantidad de receptores LH en las células de la granulosa y las concentraciones de estradiol -17 β en el fluido de quistes ováricos es baja (Kawate *et al.*, 1993).

Estudios realizados por Wan *et al.* (1994) demostraron que la ACTH y los glucocorticoides durante la fase folicular del ciclo estral repercuten en luteinización de folículos, en quistes ováricos pequeños y en estros silenciosos en cerdas.

Recientes investigaciones muestran que administrar ACTH en vaquillas incrementa los niveles de cortisol y progesterona. Altas concentraciones de estradiol y bajas de progesterona fueron observadas después de la formación del quiste folicular; la frecuencia del pulso de LH puede ser significativamente reducida durante la formación y persistencia de ese quiste. La reducción en la secreción endógena de GnRH y LH priva al folículo ovárico de un adecuado soporte gonadotrópico para inducir la ovulación, pero parece ser suficiente para causar el crecimiento continuo del folículo dominante, el cual podría ser asociado con la formación y la persistencia del quiste ovárico (Ribadu *et al.*, 1993; Dobson y Smith, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del trabajo experimental

El experimento se realizó en dos establos de la Comarca Lagunera, localizados en el Km 6 de la carretera Gómez Palacio - La Torreña Durango y Torreón - La Partida Coahuila, México durante el verano de 1998 y 1999.

La Comarca Lagunera, se encuentra a 26° N y 103° O, con una altitud media sobre el nivel del mar de 1100m. La precipitación pluvial promedio (anual) oscila entre los 200 y 250 milímetros. El clima de la región se clasifica como seco extremo (Schmidt, 1989).

3.2 Animales experimentales

Se utilizaron un total de 36 vaquillas Holstein seleccionadas de acuerdo a edad, peso, condición corporal y óptima salud reproductiva confirmada por examen ginecológico, que se destinaron como receptoras para la transferencia de embriones.

En el presente trabajo se muestran dos repeticiones del mismo experimento, durante el verano de 1998 y 1999 con diferente número de vaquillas, como se representa en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución del número de animales experimentales por año .

No. Vaquillas	Año	Estación
22	1998	Verano
14	1999	Verano
36 *		

*Número total de vaquillas.

3.3 Manejo y tratamiento de los animales

En el desarrollo del trabajo experimental, los animales se mantuvieron cubriendo los requerimientos de nutrición y con el manejo propio de su estado fisiológico. En cada una de las vaquillas se sincronizó el celo con dos aplicaciones (intervalo de 11 días) intramusculares de 15.0 mg de un análogo de $\text{PgF2}\alpha$.

*Prosolvín® Intervet 7.5mg/ml Luprostiol

Cuarenta y ocho horas después de la segunda inyección de PgF2 α (vaquillas en celo), las vaquillas se dividieron en dos grupos, un grupo (G₁) se ubicó en instalaciones techadas recibiendo aspersiones intermitentes de agua (cada hora y durante las cinco horas del muestreo) y el segundo grupo (G₂) se ubicó en corrales sin techo, recibiendo directamente las radiaciones solares, la distribución de los grupos de acuerdo a el año de experimentación se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Distribución de los grupos experimentales por año.

Grupo	Tratamiento	Año
G ₁ (n =11)	Sombra	1998
G ₂ (n =11)	Sol	1998
G ₁ (n = 7)	Sombra	1999
G ₂ (n = 7)	Sol	1999

Número de vaquillas por grupo (n).

3.4 Detección de celos e inspección rectal

La detección del estro se realizó por observación durante el día y la noche, 24 horas después de la segunda aplicación de $\text{PgF2}\alpha$, y confirmandolo por palpación rectal. A los siete días post – celo esperado y coincidente con la transferencia de los embriones a las receptoras tratadas, las vaquillas fueron palpadas para valorar la calidad del cuerpo lúteo.

3.5 Muestreo sanguíneo y medición de temperatura

El muestreo serológico para determinación de cortisol y estradiol se realizó 48 hrs después de la segunda inyección de $\text{PgF2}\alpha$ (durante el celo). Cada hora, de las 13:00 a las 17:00 se recolectó una muestra de sangre por punción venococcígea en cada una de las vaquillas y se registró la temperatura ambiental, rectal y la humedad relativa en los dos grupos. Otra muestra de sangre se tomó a los siete días post - celo en cada vaquilla para determinación de progesterona. La sangre recolectada fue centrifugada y el suero obtenido fue almacenado en tubos Eppendorf y congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la determinación de cortisol estradiol y progesterona.

3.6 Determinación hormonal

La determinación de cortisol, estradiol y progesterona se realizó en el Laboratorio del Departamento de Biología de la Reproducción de la Universidad Autónoma de Coahuila en suero sanguíneo por la técnica de radioinmunoanálisis.

3.7 Temperatura y humedad relativa

Durante el experimento se utilizaron termómetros ambientales, rectales e higrómetro manual.

3.8 Análisis estadístico

Los valores de las concentraciones séricas de cortisol, estradiol, progesterona y las temperaturas rectales se sometieron a un análisis de varianza y a pruebas de "t" de student por cada hora del muestreo, empleando el programa estadístico SYSTAT® versión 5.0 (1994).

IV. RESULTADOS

Los resultados que a continuación se presentan han sido divididos en dos experimentos, debido a que la temperatura ambiental promedio durante el día de muestreo en el verano de 1998 fue inferior a la existente en el verano de 1999.

4.1 Primer experimento

Como puede observarse en la tabla 3 la temperatura ambiental promedio prevaleciente durante las cinco horas de muestreo ejerció un efecto sobre los animales, encontrándose diferencia significativa en la temperatura rectal entre grupos.

Tabla 3. Condiciones ambientales y temperatura rectal en ambos grupos de vaquillas durante el día de muestreo (1998).

Tratamiento	Grupo	Temperatura ambiental (°C)	Humedad relativa (%)	Temperatura rectal (°C)
Sombra	(G ₁ , n =11)	31 °C	20%	39.0 ± 0.08 ^a
Sol	(G ₂ , n =11)	34 °C	16 %	39.3 ± 0.09 ^b

Diferente literal indica diferencia estadística ($P < 0.01$). La temperatura ambiental y la humedad relativa se presentan como media durante las cinco horas de muestreo (verano, 1998). La temperatura rectal se presenta como media \pm SEM.

4.1.1 Concentraciones de cortisol sérico durante el celo.

El análisis de varianza reveló diferencia estadística ($P < 0.01$) en las concentraciones séricas de cortisol entre G₁ y G₂ (Fig. 1), reflejando un efecto de

la temperatura ambiental sobre las concentraciones séricas de cortisol en vaquillas. Además se pudo identificar mediante pruebas de "t" de student la existencia de diferencia significativa ($P < 0.05$) a las 14:00 horas y alta diferencia significativa ($P < 0.01$) a las 13:00 horas (Fig. 1).

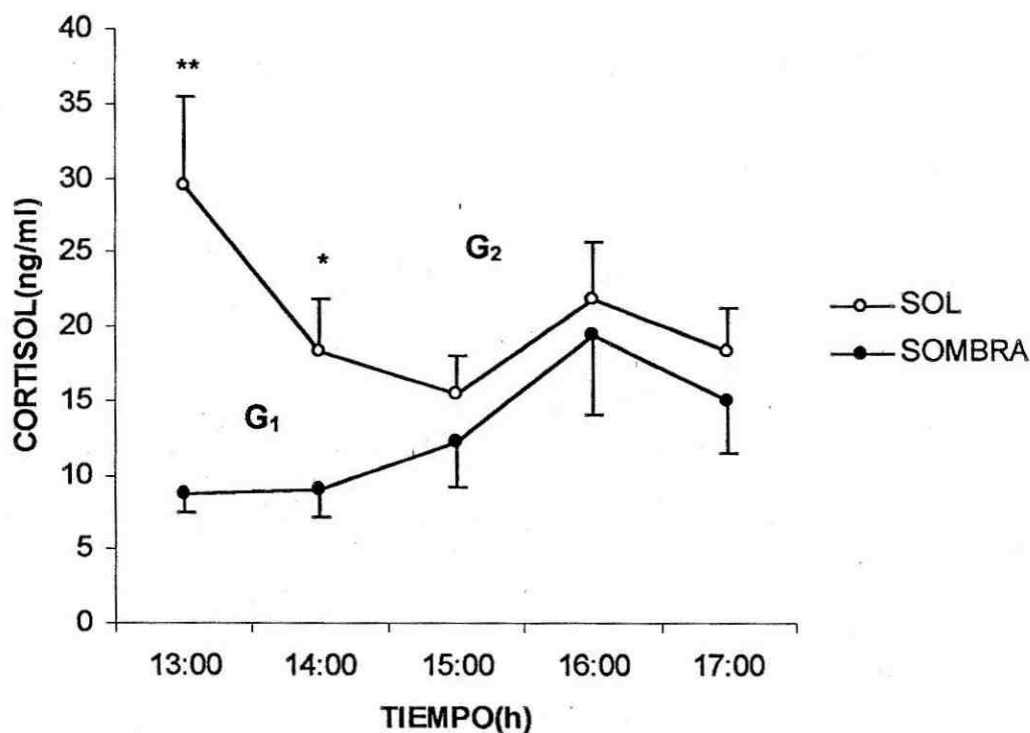


Figura 1. Concentraciones de cortisol sérico en vaquillas expuestas a radiaciones solares directas (G₂) y en vaquillas con sombra y aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas (G₁) durante el estro (verano, 1998). Media \pm SEM. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

4.1.2 Concentraciones séricas de estradiol en vaquillas bajo estrés calórico durante el celo.

Las concentraciones de estradiol durante el celo no se encontraron reducidas por el estrés calórico en ambos grupos (Fig 2 y 3). El análisis estadístico no identificó diferencia significativa de estradiol entre G₂ (sol) y G₁ (sombra) durante las horas de muestreo.

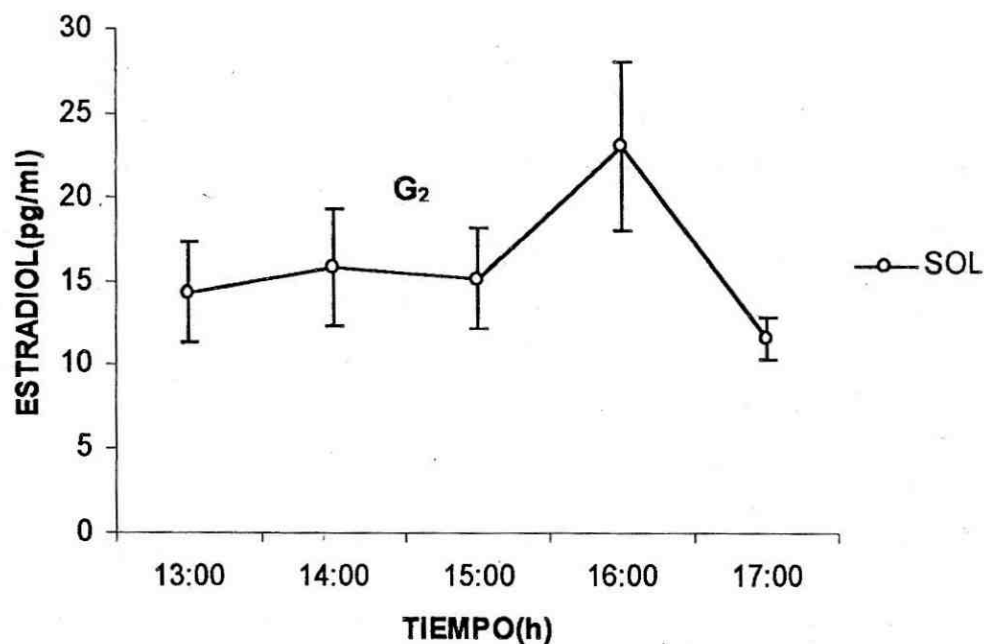


Figura 2. Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas expuestas a las radiaciones solares directas durante el celo (verano,1998). Los datos se presentan como media \pm SEM.

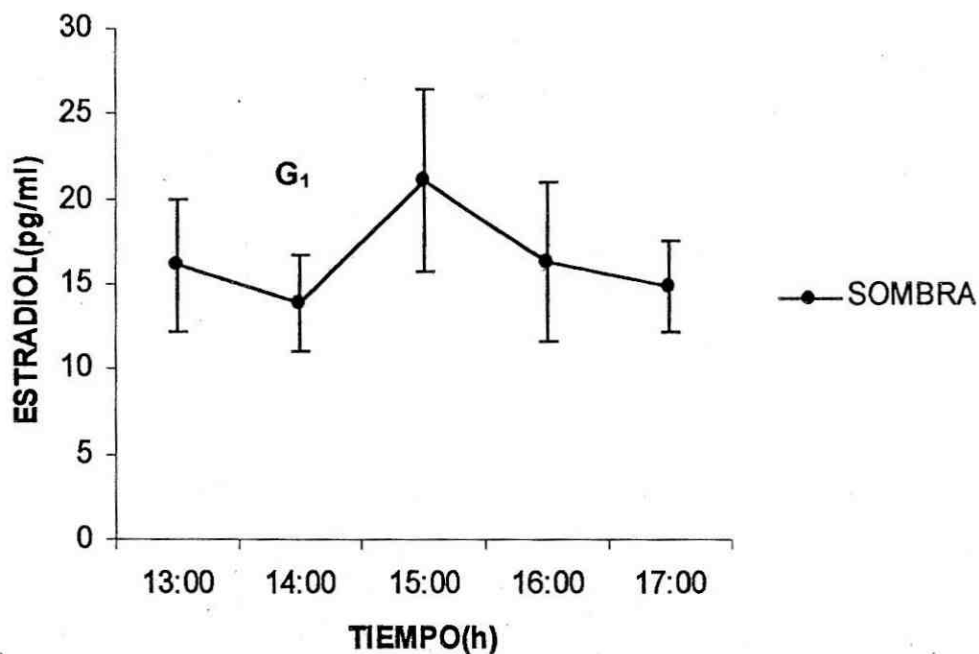


Figura 3. Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas con sombra y aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas durante el estro (verano, 1998). Los datos se presentan como media \pm SEM.

4.1.3 Progesterona durante la fase luteal

Las concentraciones de progesterona sérica (promedio \pm SEM) durante la fase luteal fueron mayores en G₂ (15.6 ± 2.1 ng/ml) en comparación de G₁ (10.7 ± 3.4 ng/ml), con diferencia significativa ($P < 0.05$) entre grupos.

4.2 Segundo experimento

Durante el desarrollo de las cinco horas de muestreo en el segundo experimento (verano de 1999), la temperatura rectal fue superior en G₂, reflejando un efecto de la temperatura ambiental sobre la temperatura rectal. El análisis estadístico determinó diferencia significativa en la temperatura rectal entre G₁ y G₂ como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Condiciones ambientales y temperatura rectal en ambos grupos de vaquillas durante el día de muestreo (1999).

Tratamiento	Vaquillas n	Temperatura ambiental (°C)	Humedad relativa (%)	Temperatura rectal (°C)
Sol	7	43 °C	10 %	39.3 ± 0.09 ^a
Sombra	7	37 °C	14 %	38.9 ± 0.08 ^b

Diferente literal indica diferencia estadística ($P < 0.01$). La temperatura ambiental y la humedad relativa se presentan como media durante las cinco horas de muestreo (verano, 1999). La temperatura rectal se presenta como media ± SEM.

4.2.1 Concentraciones séricas de cortisol durante el estro

Mediante el análisis de varianza se pudo determinar la existencia de diferencia significativa ($P < 0.01$) en las concentraciones séricas de cortisol entre

G₁ y G₂, como se muestra en la figura 4. Al implementar pruebas de "t" de student se identificó diferencia significativa ($P < 0.05$) a las 16:00 y 17:00 horas, y diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) a las 13:00, 14:00 y 15:00 horas (Fig. 4).

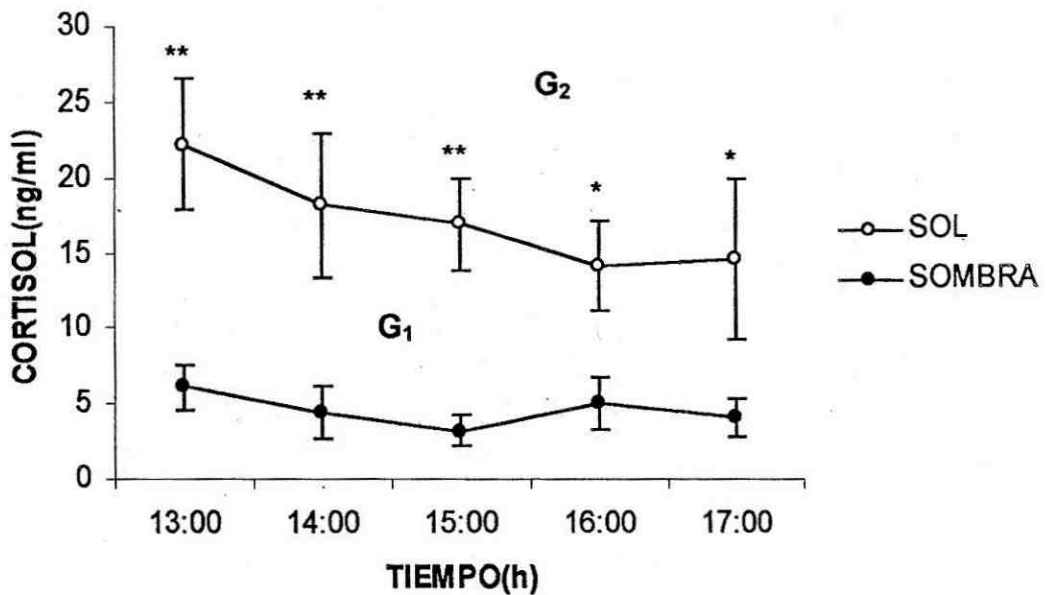


Figura 4. Concentraciones de cortisol sérico en vaquillas expuestas a radiaciones solares directas (G₂) y en sombra recibiendo aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas (G₁) durante el estro (verano,1999). Media \pm SEM. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

4.2.2 Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas bajo estrés calórico durante el estro.

Las concentraciones séricas de estradiol durante el estro no se vieron afectadas por efecto del estrés calórico en ambos grupos (Fig 5 y 6). El análisis estadístico no identificó diferencia significativa de estradiol entre G₁ y G₂ durante las 5 horas de muestreo.

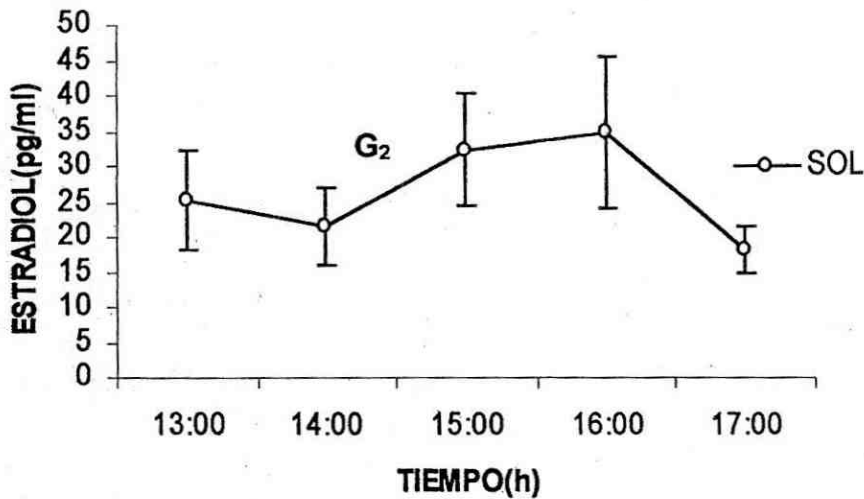


Figura 5. Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas expuestas a las radiaciones solares directas durante el estro (verano, 1999). Los datos se presentan como media \pm SEM.

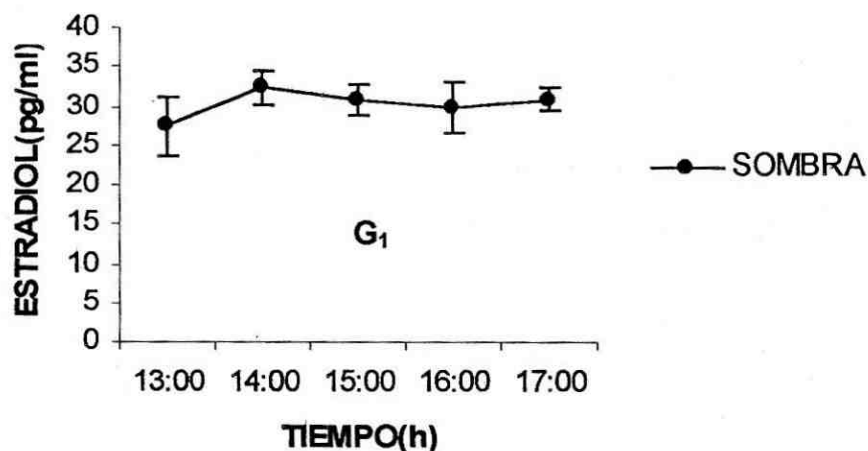


Figura 6. Concentraciones de estradiol sérico en vaquillas con sombra y aspersiones de agua contra las temperaturas ambientales elevadas durante el estro (verano, 1999). Los datos se presentan como media \pm SEM.

4.2.3 Progesterona en la fase luteal

Las concentraciones de progesterona sérica (promedio \pm SEM) a los siete días después del estro fueron mayores en G₂ (15.3 ± 2.2 ng/ml) en comparación de G₁ (9.7 ± 1.7 ng/ml), con diferencia significativa ($P < 0.05$) entre grupos.

Los resultados anteriores sugieren que el incremento en las concentraciones de cortisol sérico en la fase estrogénica no es la causa de ciclos anovulatorios, ni de reducción en la secreción de progesterona durante la fase luteal en vaquillas Holstein.

V. DISCUSIÓN

Las temperaturas ambientales elevadas que prevalecen durante el verano en muchas regiones de México son motivo de interés por las implicaciones que tienen sobre la reproducción y productividad de las vacas lecheras.

Algunos estudios indican que la tasa de concepción empieza a declinar a partir de los 25 °C y que esta puede descender hasta 5% cuando las temperaturas ambientales rebasan los 35 °C (Ealy *et al.*, 1994; Mellado, 1995; Ullah *et al.*, 1996). Las temperaturas ambientales registradas en este trabajo rebasan por mucho el rango de temperatura ambiental óptimo para la reproducción y producción en vacas lecheras, encontrado por Estrada *et al.* (1985).

La temperatura rectal en bovinos es en promedio de 38.18 ± 0.45 °C cuando la temperatura ambiente se encuentra en un rango de 18 a 24 °C (Bitman *et al.*, 1984), sin embargo, la temperatura rectal se incrementa 1.4 °C en ganado

Holstein cuando la temperatura ambiental se presenta entre 32 y 35 °C (Gwazdauskas *et al.*, 1973b). En el presente estudio la temperatura ambiental promedio durante el desarrollo de cada uno de los dos experimentos se encontró fuera de la zona de confort, tanto en el grupo de sol como en el grupo de sombra.

En el primer experimento realizado durante el verano de 1998, la temperatura ambiental promedio, en el grupo de vaquillas expuestas al sol durante las cinco horas de muestreo fue de 34 °C y en el grupo de vaquillas a la sombra de 31 °C. Esta diferencia de temperatura ambiental entre grupos modificó de manera significativa ($P < 0.01$) la temperatura rectal durante las horas de muestreo, entre el grupo de vaquillas expuestas al sol (39.3 ± 0.09 °C) y el grupo de vaquillas bajo sombra (39.0 ± 0.08 °C).

Durante el desarrollo del segundo experimento en el verano de 1999, la temperatura ambiental promedio, en el grupo de vaquillas expuestas al sol durante las cinco horas de muestreo fue de 43 °C y en el grupo de vaquillas a la sombra de 37 °C. Esta diferencia de temperatura ambiental entre grupos modificó significativamente ($P < 0.01$) la temperatura rectal en las horas de muestreo, entre el grupo de vaquillas expuestas al sol (39.3 ± 0.09 °C), y el grupo de vaquillas bajo sombra (38.9 ± 0.08).

Los resultados anteriores reflejaron la capacidad homeotérmica que tienen los bovinos para estabilizar su temperatura corporal, ya que la temperatura rectal fue similar entre los grupos de sol en el año de 1998 (39.3 ± 0.08) y 1999 (39.3 ± 0.09) y en los grupos de sombra de los mismos años (39.0 ± 0.08 vs 38.9 ± 0.08) a pesar de la diferencia existente entre temperaturas ambientales. Sin embargo se registran temperaturas rectales por arriba de la media ($38.18 \pm .45$ °C) tanto en los grupos de vaquillas a la sombra, como en los grupos de vaquillas al sol en los dos experimentos. Este incremento de temperatura rectal puede reducir la supervivencia del embrión en un periodo de siete días después del estro y afectar la productividad (Araki *et al.*, 1984; Ealy *et al.*, 1994). De acuerdo con lo propuesto por Fox *et al.* (1998) porcentajes mayores a 40% de humedad relativa comprometen las funciones reproductivas de los bovinos, por lo que los porcentajes de humedad relativa presente durante los días de experimentación en el verano de 1998 (16% en G₂ y 20% en G₁) y 1999 (10% en G₂ y 14% en G₁) no se considera como un factor que afecte el desempeño reproductivo.

Bage *et al.* (2000) reportan que posiblemente los efectos del estrés calórico sobre la reproducción se deban a la inhibición en la liberación de LH preovulatoria y a la demora de la ovulación. Lyimo *et al.* (2000) mencionan que un estrés agudo cerca del periodo de estro puede influenciar el tiempo y la amplitud de la liberación de LH preovulatoria.

La secreción de hormonas pituitaria-adrenales en respuesta al estrés están controladas por la hormona liberadora de corticotropinas que tiene efectos en la reproducción al inhibir la secreción de GnRH (Bage *et al.*, 2000).

La diferencia estadística ($P < 0.01$) en las concentraciones séricas de cortisol entre G_1 y G_2 en los dos años de experimentación reafirma lo propuesto por Abilay *et al.* (1975) al señalar que la elevación en las concentraciones de cortisol en suero son proporcionales a la intensidad del estrés.

En vacas bajo condiciones de confort ambiental durante el proestro las concentraciones de cortisol plasmático no exceden el rango fisiológico (4 ± 0.1 ng/ml) pero se incrementan hasta alcanzar un pico (10.0 ng/ml) en el momento de mayor intensidad del estro. El celo por si mismo ocasiona algún estrés manifestándose con un ascenso en las concentraciones plasmáticas de cortisol (Lyimo *et al.*, 2000).

En este trabajo, el promedio general de las concentraciones séricas de cortisol en las vaquillas expuestas a las radiaciones solares (G_2) durante las cinco horas de muestreo en el verano de 1998 (20.7 ± 2.4 ng/ml) y 1999 (17.2 ± 1.4) fue mayor que el pico de cortisol que se presenta durante el celo en vacas en condiciones de confort.

Kawate *et al.* (1993) mencionan que el cortisol en concentraciones elevadas puede inhibir la secreción de estradiol y reducir el número de receptores de LH en células de la granulosa. Sin embargo, en este estudio las concentraciones séricas de estradiol durante el celo no se inhibieron por efecto de un incremento en las concentraciones séricas de cortisol, y se mostraron por arriba del promedio (7.76 ± 2.39 pg/ml) de las concentraciones de estradiol durante el celo de vaquillas en condiciones de confort (Lyimo *et al.*, 2000).

Dieleman *et al.* (1993) indican que concentraciones altas de estradiol después de la ovulación en vaquillas causan un microambiente uterino impropio que puede afectar al ovocito y producir anomalías, lo cual es importante ya que en el presente trabajo el promedio general de las concentraciones séricas de estradiol (pg/ml) durante el celo en el verano de 1998 (G_2 , 15.9 ± 1.8 ; G_1 , 16.4 ± 1.2) y 1999 (G_2 , 26.5 ± 3.1 ; G_1 , 30.2 ± 0.8) se presentó muy por arriba del promedio antes señalado.

Existe controversia sobre el efecto que pudiera tener el estrés calórico en las concentraciones de progesterona en la sangre durante el ciclo estral. Algunos estudios indican que las concentraciones de progesterona se incrementan en condiciones de estrés calórico (Kawate *et al.*, 1993), y otros señalan que existe una disminución de dichas concentraciones (Howell *et al.*, 1994; Jennifer *et al.*, 1998).

Otros autores señalan que las concentraciones plasmáticas de progesterona se pueden incrementar por una estimulación en la corteza adrenal, asociada a estrés ambiental (Wagner *et al.*, 1972; Stoebel y Moberg, 1982). En condiciones experimentales las vaquillas que son tratadas con ACTH en el periodo preovulatorio presentan un incremento en las concentraciones de progesterona, las cuales inhiben la liberación de LH y ocasionan la manifestación previa de ciclos anovulatorios (Baucus *et al.*, 1990; Bage *et al.*, 2000).

Howell *et al.* (1994) consideran como un cuerpo lúteo funcional o fase luteal de progesterona cuando se presentan concentraciones mayores de 1ng/ml. En el presente trabajo no ocurrieron ciclos anovulatorios ya que las 36 vaquillas de los dos experimentos mostraron concentraciones superiores a un nanogramo de progesterona por mililitro de suero sanguíneo.

Durante un ciclo estral normal la progesterona ejerce un efecto inhibitorio sobre la secreción de $PGF2\alpha$, debido a que impide la formación de receptores para estradiol en el endometrio, y por lo tanto el estradiol no puede estimular la síntesis de receptores a la oxitocina. Este efecto de la progesterona depende del tiempo de exposición y de las concentraciones de esta hormona, siendo más efectivo a concentraciones más altas (Zarco y Hernández, 1999). Aké *et al.* (1995) mencionan que el promedio de progesterona plasmática de vaquillas receptoras a

transferencia de embriones a los siete días después del estro es de 3.005 ± 0.96 ng/ml, y que concentraciones mayores a 5 ng/ml reducen el porcentaje de preñez al momento de la embrionización.

En este experimento los promedios de las concentraciones de progesterona en sangre (ng/ml) a los siete días después del estro en el verano de 1998 (G_2 , 15.6 ± 2.1 ; G_1 , 10.7 ± 3.4) y 1999 (G_2 , 15.3 ± 2.2 ; G_1 , 9.7 ± 1.7) mostraron diferencia significativa ($P < 0.05$) entre grupos.

Por lo tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos se puede pensar que el incremento en las concentraciones de cortisol sérico en vaquillas bajo estrés calórico al momento del celo no impiden la ovulación ni la secreción de estradiol, pero pudieran incrementar las concentraciones de progesterona al estimular de manera selectiva células de la granulosa bovina.

Para estudios subsecuentes sería conveniente considerar la determinación de las concentraciones de inhibina durante la dominancia folicular en vaquillas bajo estrés calórico y emplear técnicas de ultrasonido durante la fase folicular para confirmar ciclos anovulatorios o una posible sobreestimulación ovárica como causa de la reducción de las concentraciones de inhibina.

VI. CONCLUSIONES

1.- Las vaquillas expuestas a las radiaciones solares directas durante la fase estrogénica presentaron concentraciones de cortisol sérico mayores en comparación con las vaquillas que estuvieron con sombra y recibiendo aspersiones de agua, estas concentraciones pudieran ser la causa del incremento de la progesterona durante la fase luteal hasta un nivel que afecte el desarrollo embrionario durante los primeros 7 días posteriores a la fecundación.

2. El incremento en las concentraciones de cortisol sérico en vaquillas bajo estrés calórico al momento del celo no impidieron la ovulación ni la secreción de estradiol al momento del celo.

VII. LITERATURA CITADA

- Abilay, T.A., Mitra, R., Johnson, H.D. 1975. Plasma cortisol and total progesterin levels in Holstein steers during acute exposure to high environmental temperature (42 C) conditions. *J. Anim. Sci.* 41:113-117.
- Adams, G.P. 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization superstimulation. *Theriogenology.* 41:19-24.
- Adams, T.A., Sakurai, H., Adams, B.M. 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, J.R., Aguayo, A.M., Medina, M.J. 1995. Influencia del nivel de progesterona plasmática sobre el porcentaje de preñez en hembras bovinas receptoras de embriones. *Vet. Méx.* 26:103-106.
- Apple, J.K., Minton, J.E., Parsons, K.M., Unruh, J.A. 1993. Influence of repeated restraint and isolation stress and electrolyte administration on pituitary-adrenal secretion, electrolytes, and other blood constituents of sheep. *J. Anim. Sci.* 71:71-77.
- Araki, C.T., Nakamura, R.M., Kam, L.W., Clarke, N. 1984. Effect of lactation on diurnal temperature patterns of dairy cattle in hot environments. *J Dairy Sci.* 67:1752-1760.
- Badinga, L., Thatcher, W.W., Díaz, T., Drost, M., Wolfenson, D. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating holstein cows. *Theriogenology.* 39:797-810.
- Bage, R., Forsberg, M., Gustafsson, H., Larsson, B., Rodríguez-Martínez, H. 2000. Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 63:65-76.
- Baucus, K.L., Squires, E.L., Ralston, S.L., McKinnon, A.O. 1990. Effect of transportation on the estrous cycle and concentration of hormones in mares. *J. Anim. Sci.* 68:419-426.
- Bitman, J., Lefcourt, A., Wood, D.L., Stroud, B. 1984. Circadian and ultradian temperature rhythms of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 67:1014-1023.

- Browning, R., Leite-Browning, M.L., Smith, H.M., Wakefield, T. 1998. Effect of ergotamine and ergonovine on plasma concentration of thyroid hormones and cortisol in cattle. *J. Anim. Sci.* 76:1644-1650.
- Daley, C.A., Sakurai, H., Adams, B.M., Adams, T.E. 1999. Effect of stress-like concentrations of cortisol on gonadotroph function in orchidectomized sheep. *Biol. Reprod.* 60:158-163.
- Daley, C.A., Sakurai, H., Adams, B.M., Adams, T.E. 2000. Effect of stress-like concentrations of cortisol on the feedback potency of oestradiol in orchidectomized sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 59:167-178.
- De Amas-Taboada, R., Caral, J.P., Solano, R., Alcalá, L., Chupin, D. 1988. Seasonal effect on bovine embryo production in Cuba. 11 th Int Cong on anim reprod and AI, Dublin, Ireland. June 26-30, 403.
- De la Sota, R.L., Simmen, F.A., Díaz, T., Thatcher, W.W. 1996. Insulin-like growth factor system in bovine first-wave dominant and subordinate follicles. *Biol. Reprod.* 55:803-812.
- Dieleman, S.J., Bevers, M.M, Vos, P.L., Loos, F.A. 1993. PMSG/anti-PMSG in cattle: A simple and efficient superovulatory treatment?. *Theriogenology.* 41:25-41.
- Dobson, H., Smith, R.F. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction?. *Anim Reprod Sci. Anim Reprod Sci.* 61:743-752.
- Driancourt, M.A. 1999. Crecimiento folicular en los animales domésticos. Curso internacional de fisiología de la reproducción en rumiantes, Septiembre 8-10. Colegio de postgraduados. 78-91.
- Ealy, A.D., Aréchiga, C.F., Bryan, D.R., Risco, C.A., 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.
- Ealy, A.D., Howell, J., Aréchiga, C.F., Hansen, P.J. 1995. Developmental changes in sensitivity of bovine embryos to heat shock and use of antioxidants as thermoprotectants. *J. Anim. Sci.* 73:1401-1407.
- Estrada, J.M., Hartnell, G.F., Collier, R.J., Hard, D.L. 1995. El estrés calórico y el uso de posilac, somatotropina bovina, en ganado lechero. Monsanto Agricultural Company (Boletín científico, 1-10).

- Evans, A.C., Adams, G.P., Rawlings, N.C. 1994. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *J. Reprod. Fert.* 100:187:194.
- Fajersson, P. 1999. Influencia del ambiente en la reproducción de rumiantes. Curso internacional de fisiología de la reproducción en rumiantes, Septiembre 8-10. Colegio de posgraduados, Chapingo México. 101-127.
- Fortune, J.E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.* 50:225-232.
- Fox, D.G., Tylutki, T.P. 1998. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. *J Dairy Sci.* 81:3085-3095.
- Fulkerson, W.J., Sawyer, G.J., Gow, C.B. 1980. Investigations of ultradian and circadian rhythms in the concentration of cortisol and prolactin in plasma on dairy cattle. *J. Biol. Sci.* 33:557.
- Garverick, H.A. 1997. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci.* 80:995-1004.
- Gilad, E., Meidan, R., Berman, A., Graber, Y., Wolfenson, D. 1993. Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of estradiol in plasma of cyclic cows. *J.Reprod. Fert.* 99:315-321.
- Ginther, O.J., Wiltbank, Fricke, P.M, Gibbons, J.R., Kot, K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55:1187-1194.
- Ginther, O.J., Kot, K., Kulick, L.J., Wiltbank, M.C. 1997. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology.* 48:75-87.
- Gutiérrez, C.G. 1999. Dinámica y etiología de los quistes foliculares en ganado lechero post-parto. VIII Curso internacional de reproducción bovina, Mayo 24-27. México, D.F. 14-20.
- Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W.W., Wilcox, C.J. 1973. Adrenocorticotropin alteration of bovine peripheral plasma concentration of cortisol, corticosterone, and progesterone. *J Dairy Sci.* 55:1165-1169.
- Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W.W., Wilcox, C.J. 1973. Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination which may affect conception. *J Dairy Sci.* 56:873-877.

- Gwazdauskas, F.C., Wilcox, C.J., Thatcher, W.W. 1975. Environmental and managemental factors affecting conception rate in a subtropical climate. *J Dairy Sci.* 58:88-92.
- Hagemann, L.J. 1999. Influence of the dominant follicle on oocytes from subordinate follicles. *Theriogenology.* 51:449-459.
- Hamilton, S.A., Garverick, H.A., Keisler, D.H., Loos, K., Youngquist, R.S., Salfen, B.E. 1995. Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol. Reprod.* 53:890-898.
- Hendriksen, P.J.M., Vos, P.L., Steenweg, W.N., Bevers, M.M., Dieleman, S.J. 2000. Bovine follicular development and its effect on the in vitro competence of oocytes. *Theriogenology.* 53:11-20.
- Hiller, S.G., Tetsuka, M. 1998. Paracrine regulation of ovulation. *J. Reprod. Fert. Abstr.* 55:5.
- Howell, J.L., Fuquay, J.W., Smith, A.E. 1994. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J Dairy Sci.* 77:735-739.
- Hynes, A.C., Sreenan, J.M., Kane, M.T. 1996. Modulation of effect of FSH, androstenediona, epidermal growth factor and insulin-like growth factor I on bovine granulosa cells by GCIF, a growth-inhibitory factor of low molecular mass from bovine follicular fluid. *J. Reprod. Fert.* 108:193-197.
- Jennifer, P., McDowell, L.R., Hansen, P.J. 1998. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J Dairy Sci.* 81:1244-1250.
- Johnson, H.D., y Vanjonack. 1975. Effects of enviromental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. *J Dairy Sci.* 59:1603-1617.
- Kawate, N., Inaba, T., Mori, J. 1993. Effect of cortisol on the amounts of estradiol-17 β and progesterone secreted and the number of luteinizing hormone receptors in cultured bovine granulosa cells. *Anim. Reprod. Sci.* 32:15-25.
- Kesler, D.J., y Garverick, H.A. 1982. Ovarian cysts in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 55:1147-1159.
- Knobil, E., y Neill, J.D. 1994. *The physiology of reproduction.* Raven press, Ltd., 2a. Ed. New York. 487-529.

- Kulick, L.J., Kot, K., Wiltbank, M.C, Ginther, O.J. 1999. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology*. 52:913-921.
- Lefcourt, A.M., Bitman, J., Kahl, S., Wood, D.L. 1993. Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows. *J dairy Sci*. 76:2607-2612.
- Lefcourt, A.M., Huntington, J.B., Akers, R.M., Wood, D.L., Bitman, J. 1999. Circadian and ultradian rhythms of body temperature and peripheral concentrations of insulin and nitrogen in lactating dairy cows. *Domest Anim Endocrinol*. 16(1):41-55.
- Lyimo, Z.C., Nielen, M., Ouweltjes, W., Kruij, T.A.M. 2000. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology*. 53:1783-1795.
- Macfarlane, M.S., Breen, K.M., Sakurai, H., Adams, B.M., Adams, T.E. 2000. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. *Anim. Reprod. Sci*. 63: 167-175.
- 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.
- Moberg, G.P. 1975. Effects of environment and management stress on reproduction in the dairy cow. *J Dairy Sci*. 59:1618-1624.
- Nockels, C.F., Odde, K.G., Craig, A.M. 1996. Vitamin E supplementation and stress affect tissue α -tocopherol content of beef heifers. *J. Anim. Sci*. 74:672-677.
- O'Connor, M.L., Gwazdauskas, F.C., McGilliard, M.L., Saacke, R.G. 1985. Effect of adrenocorticotrop hormone and associated hormonal responses on semen quality and sperm output of bulls. *J Dairy Sci*. 68:151-157.
- Rhodes, F.M., Fitzpatrick, L.A., Entwistle, K.W., Kinder, J.E. 1995. Hormone concentrations in the caudal vena cava during the first ovarian follicular wave of the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fert*. 104:33-39.

- Ribadu, A.Y., Nakada, K., Moriyoshi, M., Nakao, T. 1993. The role of LH pulse frequency in ACTH-induced ovarian follicular cysts in heifers. *J. Reprod. Fert. Abstr.* 68:27
- Ryan, D.P., Blakewood, E.G., Lynn, J.W., Munyakazi, L., Godke, R.A. 1992. Effect of heat-stress on bovine embryo development in vitro. *J. Anim. Sci.* 70:3490-3497.
- Ryan, D.P., Prichard, J.F., Kopel, E., Godke, R.A. 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.
- Schmitt, E.J., Drost, M., Díaz, T., Roomes, C., Thatcher, W.W. 1996. Effect of a gonadotropin-releasing hormone agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:154-161.
- Singh, J., Pierson, R.A., Adams, G.P. 1998. Ultrasound image attributes of bovine ovarian follicles and endocrine and functional correlates. *J.Reprod. Fert.* 112:19-29.
- Stoebel, D.P., Moberg, G.P. 1982. Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 65:92-96.
- Sunderland, S.J., Crowe, M.A., Boland, M.P., Roche, J.F., Ireland, J.J. 1994. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.* 101:547-555.
- Thun, R., Eggenberger, E., Zerobin, K., Luscher, T. 1981. Twenty-four-hour secretory pattern of cortisol in the bull: evidence of episodic secretion and circadian rhythm. *Endocrinology.* 109:2208-2209.
- Turner, A.I., Hemsworth, P.H., Hughes, P.E., Tilbrook, A.J. 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.
- Ullah, G., Fuquay, J.W., Keawkhong, T., Clark, B.L. 1996. Effect of gonadotropin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating Holsteins during heat stress. *J Dairy Sci.* 79:1950-1953.
- Wagner, W.C., Strohbehn, R.E., Harris, P.A. 1972. ACTH, corticoids and luteal function in heifers. *J. Anim. Sci.* 35:789-793.

- Wan, S.S., Hennessy, D.P., Cranwell, P.D. 1994. Seasonal infertility, stress and adrenocortical responsiveness in pigs. *Anim Reprod Sci.* 34:265-279.
- Wilson, S.J., Marion, R.S., Spain, J.N., Spiers, D.E., Keisler, D.H., Lucy, M.C. 1998. Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1a. Lactating cows. *J Dairy Sci.* 81:2124-2131.
- Wilson, S.J., Kirby, C.J., Koenigsfeld, A.T., Keisler, D.H., Lucy, M.C. 1998. Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2b. Heifers. *J Dairy Sci.* 81:2132-2138.
- William, W., Thatcher, W., Moreira, F., Ambrose, J.D., Risco, C.A., De la Sota, R.L. 1997. Manejo reproductivo de hatos lecheros bajo estrés calórico. III Conferencia internacional sobre nutrición y manejo, Noviembre 13-15. Gómez Palacio, Dgo. 29-50.
- Wolfenson, D., Flamenbaum, I., Berman, A. 1988. Dry period heat stress relief effects on parturition progesterone, calf birth weight, and milk production. *J Dairy Sci.* 71:809-818.
- Wolfenson, D.H., Bartol, F.F., Badinga, L., Barros, C.M., Marple, D.N., Cummins, K., Wolfe, D., Lucy, M.C., Spencer, T.E., Thatcher, W.W. 1993. Secretion of PGF₂ α and oxytocin during hyperthermia in cyclic and pregnant heifers. *Theriogenology.* 39:1129-1141.
- Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspect. *Anim. Reprod. Sci.* 61:535-547.
- Zarco, L., Hernández, J. 1999. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. VIII Curso internacional de reproducción bovina, Mayo 24-27. México, D.F. 52-70.