

Universidad Autónoma Agraria  
“Antonio Narro”

Unidad Laguna  
División Regional de Ciencia Animal



Efecto del  $\beta$ -caroteno como suplemento alimenticio sobre los indicadores reproductivos de vacas Holstein primíparas en la Región Lagunera

Por:

Armando Cordero de la Torre

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

Médico Veterinario Zootecnista

Torreón, Coahuila, México, octubre de 2001

Universidad Autónoma Agraria  
"Antonio Narro"

Unidad Laguna  
División Regional de Ciencia Animal

Efecto del  $\beta$ -caroteno como suplemento alimenticio sobre los  
indicadores reproductivos de vacas Holstein primíparas en la  
Región Lagunera

Tesis

Aprobada por el Comité Particular de Asesoría

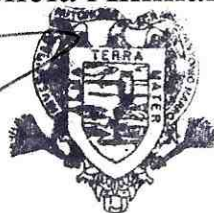
Presidente del Jurado



Dr. Rafael Rodríguez Martínez

Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

M. C. Jorge Iturbide Ramírez



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL

Torreón, Coah.

Octubre de 2001

Efecto del  $\beta$ -caroteno como suplemento alimenticio sobre los indicadores reproductivos de vacas Holstein primíparas en la Región Lagunera

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité de Asesoría y aprobada como requisito parcial, para obtener el título de:

**Médico Veterinario Zootecnista**



Presidente: Dr. Rafael Rodríguez Martínez



Vocal: M.C. Gerardo Arellano Rodríguez



Vocal: M.C. José Luis Corona Medina



Vocal Suplente: Dr. Jesús Heraclio del Río Martínez

# 1 Resumen

Para evaluar el efecto del  $\beta$ -caroteno sobre los indicadores reproductivos en vacas Holstein durante el período de estrés calórico, se utilizaron 208 vacas de primer parto, de las cuales 99 fueron suplementadas con  $\beta$ -caroteno (CAR) en la dieta a partir del segundo día hasta los 90 posparto, mientras que el grupo testigo (TES) de 109 vacas, tuvo su dieta normal. Para determinar los niveles de progesterona utilizando radio inmuno análisis, se obtuvieron muestras de plasma de todas las vacas a los 0, 30, 60 y 90 d pos parto. Se determinaron los indicadores reproductivos de días abierto, días a primer servicio, inseminaciones por gestación, calidad del primer celo pos parto (limpio o sucio), tasa de fertilidad a los 60, 90, 120 y 150 d y la tasa de eliminación de ganado de cada grupo a partir de los registros electrónicos del establo. En el tratamiento con  $\beta$ -caroteno se observó diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) para la calidad del primer celo posparto, (80.6% CAR; 59.6% TES) y diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a la tasa de fertilidad a 150 días (15.15% CAR; 9.09%). El tratamiento con  $\beta$ -caroteno no afectó ( $P > 0.05$ ) a los niveles de progesterona en ninguno de los períodos de medición sin embargo mostraron cierta tendencia en dichos períodos a una mayor concentración en el grupo CAR (0.13, 0.75, 1.09, 6.31 ng/dL) contra el grupo TES (0.05, 0.46, 0.91, 3.75); al igual se encontró dicha tendencia en los indicadores de: número de días al primer servicio, (68.8 d CAR; 71.2 d TES); número de días abiertos (96.2 d CAR; 108.1 TES) y porcentaje de desecho (46.15% CAR; 53.85% TES). Es probable que la falta de efecto de tratamiento se deba a que los embriones son susceptibles al estrés calórico en las primeras fases de su desarrollo, cuando aún no genera termoprotección a pesar de la presencia de los antioxidantes, o que la concentración de  $\beta$ -caroteno en el oviducto y el útero no hayan sido la suficiente para determinar diferencias en la concentración entre ambos grupos. Sin embargo, la calidad del primer celo se afectó en forma positiva, probablemente a causa del efecto benéfico que sobre el sistema inmune de los animales tienen los antioxidantes. Es recomendable establecer nuevas investigaciones donde se descarte problemas de manejo del establo que pudieron haber afectado los resultados de este experimento.

## 2 Índice

1	<b>RESUMEN</b> .....	1
2	<b>ÍNDICE</b> .....	2
3	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
3.1	<b>LA ADAPTACIÓN Y LA SELECCIÓN NATURAL</b> .....	5
3.2	<b>EL CONCEPTO DE ADAPTACIÓN</b> .....	6
3.3	<b>LA ADAPTACIÓN Y EL ESTRÉS</b> .....	7
3.3.1	<i>El estrés como fuerza externa</i> .....	8
3.3.2	<i>La respuesta orgánica al estrés</i> .....	8
3.3.3	<i>La zona termoneutral y la temperatura crítica superior</i> .....	10
3.3.4	<i>El Índice de Temperatura - Humedad y el Índice de Globo Negro-Humedad</i> .....	11
3.4	<b>EL ESTRÉS AMBIENTAL Y LA GANADERÍA</b> .....	12
3.4.2	<i>Estrategias para minimizar el estrés calórico</i> .....	17
3.4.3	<i>Consumo de alimento</i> .....	18
3.4.4	<i>El metabolismo del agua</i> .....	19
3.4.5	<i>Los mecanismos celulares</i> .....	19
3.4.6	<i>El rendimiento productivo</i> .....	21
3.4.7	<i>Los efectos del estrés calórico sobre la reproducción</i> .....	22
3.5	<b>LOS ANTIOXIDANTES Y EL ESTRÉS</b> .....	24
3.5.1	<i>Los antioxidantes y la reproducción</i> .....	25
3.5.2	<i>El <math>\beta</math>-caroteno, la reproducción y la lactancia</i> .....	27
4	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	29
5	<b>RESULTADOS</b> .....	31
6	<b>DISCUSIÓN</b> .....	33
7	<b>LITERATURA CITADA</b> .....	36

### **3 Introducción**

El animal y su medio ambiente, forman un sistema en el cual ambos actúan y reaccionan uno respecto al otro [1].

Las cinco variables climáticas de un microclima son la temperatura ambiental, la humedad relativa, la precipitación, la velocidad de los vientos y la radiación solar. Todas las variables están integradas, pero la temperatura ambiente, es el agente estresante individual más importante [2].

La temperatura ambiental es el factor físico más importante sobre la tierra, que limita la extensión geográfica de la explotación de un hábitat. Esto implica que un endotermo debe estar adaptado conductual y fisiológicamente para superar las temperaturas máximas extremas que pueda encontrar temporal y diariamente en este hábitat [3]. Para Ruben [4], la selección para una temperatura corporal alta y estable -es decir, para la endotermicidad- ha facilitado la expansión del nicho.

Ninguna área de la fisiología del medio ambiente ha recibido más atención que la del estudio de los animales que viven en medios ambientes calientes y secos. Estos estudios se han centrado principalmente sobre los mecanismos empleados para contrarrestar el estrés impuesto por las altas temperaturas y las atmósferas secas [5].

La función reproductora de las especies domésticas representa uno de los aspectos que más repercuten en la eficiencia económica de los sistemas de producción animal. La función reproductora permite la gestación del animal y la subsecuente obtención de crías e inducción del estado lactacional que representan una fuente importante de proteína de origen animal para consumo humano y una fuente de ingresos económicos. De esta manera, la función reproductora se convierte en una actividad prioritaria dentro del ciclo de producción de cualquier especie doméstica.

En el ganado lechero, caracterizado por un excesivo gasto metabólico destinado para la producción de leche, la actividad reproductora es postergada produciendo como consecuencia una interrupción en el ciclo de producción, afectando por lo tanto lactancias subsecuentes y la vida productiva del animal. Por esto, en los hatos de ganado lechero es

posible detectar a una población elevada (10-15%) de vaquillas o vacas identificadas como repetidoras debido al hecho que han sido inseminadas en más de tres ocasiones sin lograr quedar gestantes y que se muestran clínicamente sanas y sin anormalidades del tracto reproductivo al momento de ser palpadas rectalmente. La etiología de este síndrome puede ser multifactorial y por lo tanto difícil de contrarrestar ya que incluye factores de origen diverso, a la vez que factores nutricionales, hormonales, ambientales, genéticos e incluso, infecciosos [6].

Se considera a la mortalidad embrionaria al inicio de la gestación como una de las causas del síndrome de la vaca repetidora y representa la principal causa de pérdida de la gestación en vacas y otros rumiantes. Estudios pioneros han reportado una mortalidad embrionaria al inicio de la gestación del 30-40% en bovinos [7] y 20-30% en ovinos y caprinos [8]. Este problema es grave en el caso particular de la vaca repetidora en la cual más del 60% de los embriones mueren durante un lapso de 15 días después de la inseminación artificial (IA) [9]. Aunado a esto, los embriones recolectados de vacas repetidoras han mostrado una deficiente diferenciación celular y retardo en su desarrollo [10] [11].

En la Florida se han desarrollado estudios para explorar alternativas para evitar la excesiva mortalidad embrionaria en el ganado lechero expuesto a estrés calórico. En los climas cálidos el estrés calórico incrementa severamente la mortalidad embrionaria. Los porcentajes de concepción de las vacas lecheras inseminadas artificialmente disminuyen de 40-50% en los meses templados al menos de 10% durante los meses cálidos, causando grandes pérdidas económicas en la industria lechera [12]. Dicho fenómeno también ha sido observado en la Cuenca Lechera de La Laguna.

Las pérdidas embrionarias causadas por el estrés calórico generalmente ocurren de uno a tres días posteriores a la fertilización, y conforme avanza el desarrollo del embrión, este va adquiriendo termo - resistencia [13]. Embriones cultivados *in vitro* y sometidos a un choque calórico han incrementado su viabilidad en respuesta a la suplementación de antioxidantes en el medio de cultivo [14] [15], o disminuido su desarrollo en respuesta a la suplementación de inhibidores de antioxidantes [16] [17]. Con la suplementación oral prolongada de antioxidantes como el  $\beta$ -caroteno se ha incrementado en el ganado lechero

la producción de leche de un 6 a 10%, así como los porcentajes de preñez evaluados a 120 d pos parto [18].

Los estudios para disminuir los efectos nocivos del estrés calórico en la Florida se han desarrollando con base a 4 estrategias de investigación: 1) Modificación del medio ambiente del animal [19], 2) Modificación bioquímica *in vitro* de los embriones [20] [16] 3) Terapias de antioxidantes al animal *in vivo* para proteger al embrión por medios farmacológicos que le confieran resistencia [20] [13] y, 4) La utilización de prácticas reproductoras innovadoras como la artificial programada (IAP) para inducir el estro e inseminar a las hembras evitando la deficiente detección de celos, principalmente, en presencia de estrés calórico[21].

### **3.1 La adaptación y la selección natural**

La adaptación es primariamente un proceso de selección. Para Darwin, la esencia de la selección natural fueron las modificaciones extremadamente pequeñas en la estructura o hábitos de un habitante, las cuales a menudo le dan una ventaja sobre los otros [22].

El principio de la selección natural está basado sobre dos premisas observacionales: Primero, la variación fenotípica heredable existe entre los miembros de una especie; algunas de estas variaciones son más útiles que otras al permitir que los individuos que las poseen las utilicen o se adapten a sus medios ambientes más efectivamente. Segundo, los organismos que están mejor adaptados a su medio ambientes tienden a tener más crías que aquellos que no están bien adaptados. Como resultante a partir de estas premisas, la proporción de individuos en la población o especies poseedoras de las variaciones útiles, tienden a incrementarse con el tiempo [23].

Tres procesos actúan sobre el programa de desarrollo: el genoma, el medio ambiente y los accidentes aleatorios o ruido del desarrollo. En particular, el segundo y el tercer procesos son confundidos a menudo. El ruido en el desarrollo ocasiona cambios en las vías del desarrollo debido a eventos aleatorios internos. Es decir, que individuos genéticamente idénticos criados en medios ambientes idénticos pueden exhibir diferentes fenotipos. Aunque existe un límite confuso entre estos dos tipos de variación, son conceptualmente diferentes [24].



Para Travisano *et al* (1995)[25], la diversidad de organismos es el producto de tres influencias evolutivas: la adaptación, el azar y la historia, las cuales no son mutuamente exclusivas, y todos pueden influir simultáneamente a un linaje particular. De cada una de ellas explica que...

“La adaptación fue considerada algunas veces como la única influencia sobre la evolución, y algunos biólogos invocaron a la selección natural para explicar casi cualquier diferencia fenotípica. Las afirmaciones no sostenidas de que la adaptación es la causa de toda la diversidad biológica, han inducido a los críticos para ofrecer dos causas alternativas, el azar y la historia, las que pueden explicar cualquier diferencia fenotípica.

“Los efectos del azar incluyen la mutación y la deriva genética, las cuales gobiernan la apariencia estocástica y la pérdida subsecuente de fijación de rasgos nuevos. El azar es usualmente invocado en el contexto de los rasgos genéticos moleculares que son selectivamente neutrales, sin embargo el azar es también importante para la evolución fenotípica porque las mutaciones benéficas surgen aleatoriamente y pueden ser rápidamente perdidas después que aparecen, aún en poblaciones grandes.

“La historia puede restringir o promover resultados evolutivos particulares, de acuerdo con la integración y el desarrollo genético del fenotipo ancestral. Desde esta perspectiva, el conjunto de adaptaciones potenciales se limita severamente por la constitución heredada, de tal forma que en cualquier momento del curso de la evolución, es accidental sobre los eventos principales (los históricos).”

### **3.2 El concepto de adaptación.**

El uso impreciso del término adaptación ha ocasionado muchas confusiones en la literatura sobre fisiología: Los fisiólogos han utilizado el término “adaptación” para describir los cambios compensatorios a corto plazo, por las alteraciones del medio ambiente o de los organismos. Tales sistemas de control son fenotípicos y revelan generalmente la plasticidad de los sistemas fisiológicos. Por otra parte, también han usado el término adaptación en su sentido genético y evolutivo para describir el rasgo o

característica que se ha cimentado dentro del genotipo por medio de la presión de la selección natural [26].

De esta manera, según Maddox (1991) [27] para los evolucionistas, la adaptación es una medida de ajuste o concordancia de un individuo con su ambiente, relacionado con el número de descendientes vivos que el organismo hubiera producido. También comenta que últimamente se ha definido como la probabilidad de que un organismo contribuya genes al banco genético del futuro. Sin embargo la propuesta de Maddox, es que la adaptación es el grado en que los procesos metabólicos se ajustan a las características del ambiente.

### **3.3 La adaptación y el estrés**

El término estrés denota tanto la magnitud de fuerzas externas al sistema corporal que tienden a desplazarlo de su estado de reposo basal o, como el desplazamiento interno que el organismo sufre a partir de este estado, por causa de la aplicación de estas fuerzas [28] [29].

Se considera que el estrés es el efecto de cualquier fuerza que tienda a extender cualquier proceso homeostático más allá de sus límites normales a cualquier nivel de organización biológica [30], rompiendo la homeostasis y ocasionando nuevas adaptaciones que pueden ser, tanto perjudiciales como ventajosas desde el punto de vista del hombre [31].

Inicialmente se consideraba al estrés como una respuesta inespecífica del cuerpo a cualquier demanda sobre él, además de reconocerse que no se constituye únicamente por la tensión nerviosa, ya que la reacción de estrés ocurre también en los animales inferiores que no tienen sistema nervioso e igualmente en las plantas [32].

En la actualidad, estrés es un término amplio que implica una amenaza ante la cual el cuerpo necesita ajustarse [33], mientras que en términos productivos, los ganaderos comúnmente usan el término estrés para indicar una condición medio ambiental que es adversa al bienestar del animal [31].

### **3.3.1 El estrés como fuerza externa**

En forma simple, un estresor es el que ocasiona el estrés, es decir los agentes o demandas que evocan la respuesta patrón del estrés, los cuales no son exclusivamente de naturaleza física, ya que las emociones como el odio, el enojo, el reto y el temor, también ocasionan fuertemente los cambios característicos del síndrome del estrés. De hecho, la estimulación psicológica es uno de sus más frecuentes activadores. Además, todas las enfermedades causan cierta cantidad de estrés debido a que imponen sobre los organismos demandas para la adaptación [34].

El estrés puede ser climático, tal como un frío o calor intenso; nutricional, debido a la privación de alimento y/o agua; social, a causa de un bajo rango en el orden social; por patógenos o toxinas [31]. Siegel (1995) [35] señala que puede verse al medio ambiente como un compuesto de estresores interactuantes, que en el sentido amplio puede incluir todas las condiciones en las cuales viven los seres vivos (temperatura, luz, medio ambiente social y medio ambiente conductual), así como aquellos factores internos (enfermedades, microorganismos, toxinas). En la actualidad el calentamiento global[29], se incluye como una factor importante para incrementar la magnitud del estrés térmico.

### **3.3.2 La respuesta orgánica al estrés**

El Síndrome General de Adaptación (GAS) se caracteriza por tres estados consecutivos: 1) el estado de alarma, usualmente conocido como "shock"; en la cual la adaptación aún no se ha adquirido, con un agrandamiento de las adrenales y una oleada inicial de glucocorticosteroides, seguida por un agotamiento de sus reservas; 2) el estado de resistencia, en el cual la adaptación es óptima y la corteza adrenal vuelve a ser rica en los gránulos secretores de corticoides; y 3) el estado de agotamiento, en el cual la adaptación adquirida se pierde nuevamente y los glucocorticosteroides se acaban [36]. Este modelo, se basó en la liberación o secreción de glucocorticoides y no en la concentración de ellos en la sangre [37].

En 1971, Mason propuso que la respuesta pituitaria-corticoadrenal puede ser una reacción específica al estrés fisiológico, más que una reacción inespecífica para todos los estresores, señalando como ejemplo, que cuando una oveja se expone a una variedad de

estresores, p.e. el esquilero, el encierro, la administración de estrógenos, la alimentación y el ayuno, estos incrementan el cortisol plasmático. Sin embargo, el patrón de liberación de las catecolaminas difiere para cada estresor [38]. A su vez, Boissy (1995)[39], señala que existe amplia evidencia que indica que la respuesta biológica a una amenaza no es estereotipada, sino que está influenciada por factores psicobiológicos y estrategias de comportamiento que tienen un impacto directo sobre la amenaza.

Siegel (1995) [35] plantea que los procesos reguladores que intentan mantener o restablecer el equilibrio o el estado homeostático pueden ser clasificados como específicos o no específicos, siendo los específicos, aquellos en los cuales una condición particular determina una respuestas específicas relacionadas con la condición. En las aves, p.e., cuando el medio ambiente ocasiona un aumento en la temperatura corporal, los vasos sanguíneos de la superficie se dilatan para permitir una rápida disipación del calor, mientras que las plumas se reorganizan para reducir su capacidad aislante, mientras que las alas se mantienen alejadas del cuerpo y las aves buscan superficies frescas para las pérdidas de calor por conductividad. Por otra parte, los procesos no específicos ocurren cuando, sin importar el tipo de estresor -calor o frío, hipoxia o toxina-, las aves responden en una forma generalizada, dirigiéndose a un estado de estrés generalizado. Estos procesos reguladores no son mutuamente excluyentes, sino que pueden ocurrir simultáneamente, pudiendo uno de ellos tener un dramático efecto sobre el otro y cada uno observarse o no como respuesta, de acuerdo al potencial genético del animal.

El ajuste al estrés induce un amplio rango de cambios neuroendócrinos, psicológicos y de comportamiento, que permiten una rápida recuperación o adaptación al cambio [33].

Se ha sugerido que los niveles elevados de cortisol pueden explicar las pérdidas de producción y la susceptibilidad aumentada de los animales a las enfermedades durante las situaciones de estrés [40]. Esto tal vez pueda ser explicado por el hecho conocido de que el estrés afecta al sistema inmune de los animales de granja, debido a que la inmunidad se reduce tanto por el cortisol como por las catecolaminas, y también han sido reportadas las acciones catabólicas de estas hormonas en los elementos corporales [41].

### 3.3.3 La zona termoneutral y la temperatura crítica superior

Los fisiólogos medio ambientalistas, han adoptado como definición internacional de zona termoneutral la de Bligh y Johnson (1973)[42], que la definen como *el rango de temperatura ambiental dentro de la cual, la tasa metabólica esta al mínimo, y la regulación de la temperatura se logra únicamente por procesos físicos no evaporativos*. También aclaran que los procesos físicos no evaporativos de la regulación de la temperatura consisten de aquellas respuestas autonómicas y de comportamiento que varían la conducción térmica entre el organismo y el medio ambiente, p.e., mediante variaciones en el tono vasomotor periférico y la piloerección, y a través de cambios en la conformación corporal, pero excluye cambios en la conducción térmica debidos a aislamiento externo adicional (p.e. vestiduras).

El ganado, dependiendo de las especies y el nivel de productividad, tiene una zona medio ambiental óptima y debe ser mantenido dentro de ésta para su crecimiento y lactación más eficiente así como para el adecuado desarrollo de sus funciones reproductoras.

Algunos investigadores han descrito para varios mamíferos la zona termoneutral, sin embargo, el medio ambiente total es complejo y no se ha podido determinar con precisión las características medio ambientales optimas para la lactación, el crecimiento y la reproducción, así como la fisiología y el comportamiento normal [43].

Se considera a los animales como “ más adaptables para el clima de la región” cuando a causa de los climas severos, éstos se encuentran fuera de la zona termo neutral (en la que son más productivos), sin que al aclimatarse ocurra una compensación excesiva que reduzca su crecimiento y producción de leche[43].

La zona termoneutral para las vacas está entre 0°C y 16°C, experimentando las vacas un estrés calórico cuando la temperatura está sobre 23.8°C a una humedad relativa del 80%[44].

La temperatura crítica superior se define como la temperatura ambiente por arriba de la cual un animal en reposo termorregulatorio, utiliza procesos termorreguladores evaporativos de pérdida de calor [42].

### 3.3.4 El Índice de Temperatura - Humedad y el Índice de Globo Negro-Humedad

Para una caracterización general de los efectos del clima sobre el rendimiento animal, también puede utilizarse el Índice de Temperatura-Humedad (THI), que se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{THI} = \text{Tdb} + .36 \text{Tdp} + 41.2^{\circ}\text{C}$$

Donde:

Tdb = a la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) del bulbo seco

Tdp = la temperatura de punto de rocío ( $^{\circ}\text{C}$ ).

Así, el ganado Holstein desarrollado en clima templado sobre 72 THI, comienza a ser menos productivo, dependiendo principalmente del período que permanezca sobre este calor. Algunas zonas climáticas están sobre 72 THI: Malasia durante 12 meses, Tabasco de 7 a 8 meses, Egipto de 4 a 6 meses, Arizona de 3 a 4 meses [43].

Se ha reportado un valor para el THI de 70 o menor como normal, considerando a los valores superiores a esta cifra como estresantes para el ganado [44].

Cuando los animales están expuestos a un nivel significativo de radiación el BGHI es un indicador más preciso del confort y rendimiento animal que el THI. Sin embargo, bajo condiciones de niveles bajos o moderados de radiación térmica, tanto el BGHI como el THI son igual de efectivos.

El BGHI se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{BGHI} = \text{Tbg} + .36 * \text{Tdp} + 41.5$$

Donde:

Tbg = temperatura de globo negro ( $^{\circ}\text{C}$ )

Tdp = temperatura de bulbo seco ( $^{\circ}\text{C}$ )

En las vacas lecheras se ha observado que la temperatura rectal y la tasa respiratoria se relacionan directamente con el BGHI, mientras que con la producción de leche y la eficiencia productiva está inversamente relacionado [45].

### 3.4 El estrés ambiental y la ganadería

El estrés calórico se define como cualquier combinación de condiciones medio ambientales que puedan causar que la temperatura efectiva del medio ambiente sea mayor que el rango de temperatura de la zona termoneutral de los animales y estas condiciones existen casi a todo lo largo del año en las zonas tropicales. Durante los períodos de estrés calórico, un animal sin acceso a las sombras está a menudo expuesto a una carga de calor radiante mayor que su producción de calor metabólico. Sin embargo, para cualquier tipo de especie animal es difícil si no imposible especificar cuál es la combinación exacta de condiciones medio ambientales para que se origine el estrés calórico, ya que existen tremendas diferencias entre los individuos de una especie sobre la base de la raza, el sexo, los estados de lactación y/o de gestación, la exposición climática previa, etc. [45].

En los años 50's del siglo pasado se hizo el primer reporte que vincula la depresión del verano con la fertilidad [29].

Los factores ambientales que influyen en la intensidad del estrés calórico y los factores internos de la vaca que determinan su capacidad termoreguladora influyen en la magnitud de la crisis de la fertilidad estacional [46]

Se ocasiona estrés calórico cuando la capacidad de las vacas lactantes para disipar el calor se ve comprometido por factores ambientales determinados en gran parte por la situación y características del alojamiento de los animales, tales como la temperatura, la humedad relativa y la alta energía radiante. Estos factores ambientales, unidos a los procesos asociados con el mantenimiento, la digestión, la actividad, el metabolismo y la producción, crean una gran cantidad de calor con lo que se aumenta la dificultad para mantener el balance térmico, provocando la elevación de la temperatura corporal, la cual a su vez inicia los mecanismos compensatorios y adaptativos para restablecer la homeotermia y la homeostasis [47] [46].

En las áreas calurosas del mundo, los efectos del estrés calórico son más manifiestos en el verano, cuando la fertilidad, al igual que la tasa de preñez de las vacas lecheras, se ven disminuidas de un 40 a 60 % en meses frescos a un 10 a 20% o menos en el verano, dependiendo de la severidad del estrés calórico [13] [46] [48].

Otros de los efectos de la elevación de la temperatura es la reducción en el número de embriones que pueden continuar su desarrollo [29]. En las vacas expuestas a temperaturas de 24 o 34°C y una humedad relativa baja (38 a 46%) o alta (76 a 80%), la producción de leche disminuye afectando principalmente a las vacas Holstein, medianamente a las Jersey, y en menor grado a la Pardo Suiza [47]. Por otra parte cuando la temperatura medio ambiental excede los 25°C el consumo de materia seca comienza a disminuir y el gasto de mantenimiento aumenta [47].

#### **3.4.1.1 La Comarca Lagunera como parte del Desierto Chihuahuense**

La Comarca Lagunera (Figura 1), se localiza en la parte sur del desierto Chihuahuense y es una zona árida en donde la confluencia de dos corrientes superficiales de consideración: ríos Nazas y Aguanaval y el aprovechamiento de los acuíferos locales ha permitido el desarrollo de actividades agropecuarias altamente especializadas. La precipitación pluvial es de alrededor de 200 mm anuales, concentrada en 30 días de los meses de junio a octubre, con seis o siete meses de sequía definida con precipitaciones pluviales menores a 7 mm al mes. Las temperaturas medias mensuales fluctúan entre 12.7°C en enero y 28.5°C en junio, con extremas de -5°C y 41.5°C. Debido a la elevada radiación solar la evaporación es diez veces mayor a la precipitación. Estas condiciones dan lugar a una escasa cobertura vegetal. En zonas no irrigadas del poniente de la región la producción anual de materia seca se ha estimado en 136.81 kg por hectárea [49].



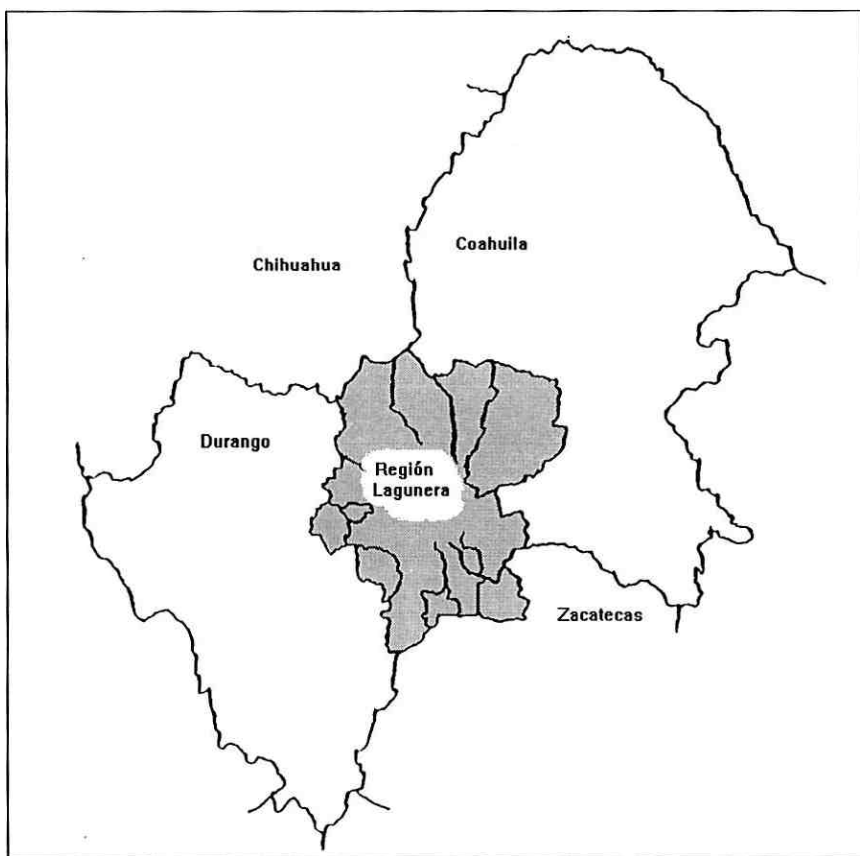


Figura 1. Ubicación geográfica de la Comarca o Región Lagunera, donde se aprecia su localización entre los estados de Durango y Coahuila, así como su colindancia con Chihuahua y Zacatecas.

En el Cuadro 1, se aprecia que más de la mitad de los días del año tienen temperaturas superiores a los 30°C, considerada como la temperatura crítica superior para los caprinos [50] y en más del 80% de los días se reportan temperaturas superiores a los 25°C, consideradas a su vez como la temperatura crítica superior para ganado Holstein [51]. Además, se observa que en promedio existen alrededor de 45 días al año con valores de THI superiores a 70, considerados como estresantes para el ganado [44] y que el promedio máximo de THI para el período es de 74.8, con valores que oscilan de 73.9 a 76.4.

Cuadro 1 Relación de días de temperaturas críticas superiores para cabras (30°C), para vacas Holstein (25°C), temperaturas máximas registradas e índices de temperatura humedad (THI) superiores a 70.5 y THI máximo registrado (Fuente de datos climáticos: Centro de Investigaciones Agrícolas del Noreste (CIANE), Matamoros, Coah.)

<b>Año</b>	<b>30 °C o más</b>	<b>25 °C o más</b>	<b>Temperatura máxima</b>	<b>THI días</b>	<b>THI máxima</b>	<b>Días sin datos</b>
1975	217	296	40			
1976	197	265	39			
1977	219	316	38			
1978	230	320	41			
1979	251	315	40			
1980	196	305	39			
1981	212	300	38			
1982	221	308	41.5			
1983	186	281	40			
1984	188	305	38	20	73.916	4 (temp y THI)
1985	185	284	39	38	75.644	30 (THI)
1986	174	275	37	47	76.352	11 (THI)
1987	171	293	39.5	29	73.852	1 (temp)
1988	204	289	38.5	45	73.828	
1989	227	295	41.5	65	74.352	
1990	208	309	39.9	39	74.288	
1991	197	288	39	46	74.88	
1992	205	290	40	49	75.388	
1993	203	314	39.5	70	75.432	
1994	238	305	39			
<b>Promedio</b>	<b>206.45</b>	<b>297.65</b>	<b>39.37</b>	<b>44.80</b>	<b>74.79</b>	
<b>D. E.</b>	<b>20.91</b>	<b>14.71</b>	<b>1.18</b>	<b>14.95</b>	<b>.88</b>	

Los datos de temperaturas, son obtenidos directamente de la fuente citada: Los datos relativos al THI, fueron calculados a partir de los datos meteorológicos.

Temp = temperatura, D. E. = desviación estándar

Por otra parte la Figura 2, permite observar que aunque no existe la variabilidad registrada para la precipitación, ni para las temperaturas máximas y mínimas, en el caso de las primeras, éstas tienen registros para todos los meses del año que superan a las consideradas como temperaturas críticas superiores tanto para ganado bovino Holstein como para ganado caprino en general.

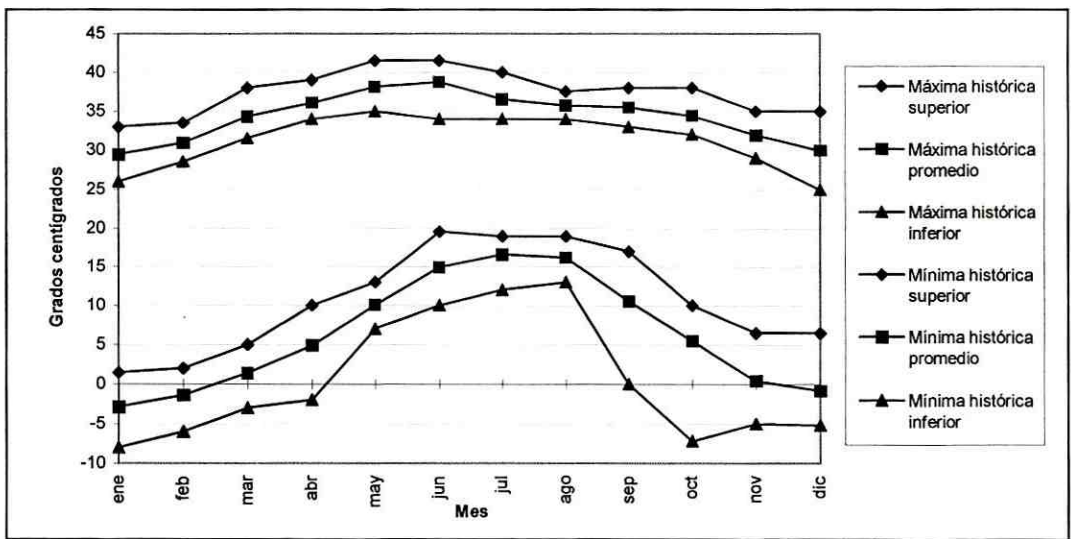


Figura 2 Temperaturas históricas máximas y mínimas registradas en Matamoros, Coah., durante el período de 1975 a 1994. Se registran para cada una la superior, la promedio y la inferior. (Fuente de datos climáticos: CIANE, Matamoros, Coah.)

En la Figura 3 se observan los valores del THI para el período de 1984 a 1993, donde puede apreciarse si se consideran los valores promedios para este indicador, no representa un problema serio para el ganado bovino lechero, mientras que si se consideran los valores superiores registrados durante el período, se observa que sólo durante el período de mayo a agosto es probable se tengan días en que el indicador se eleve sobre los 72 puntos, que es el nivel en que se comienzan a presentar problemas reproductivos en el ganado bovino lechero [43].

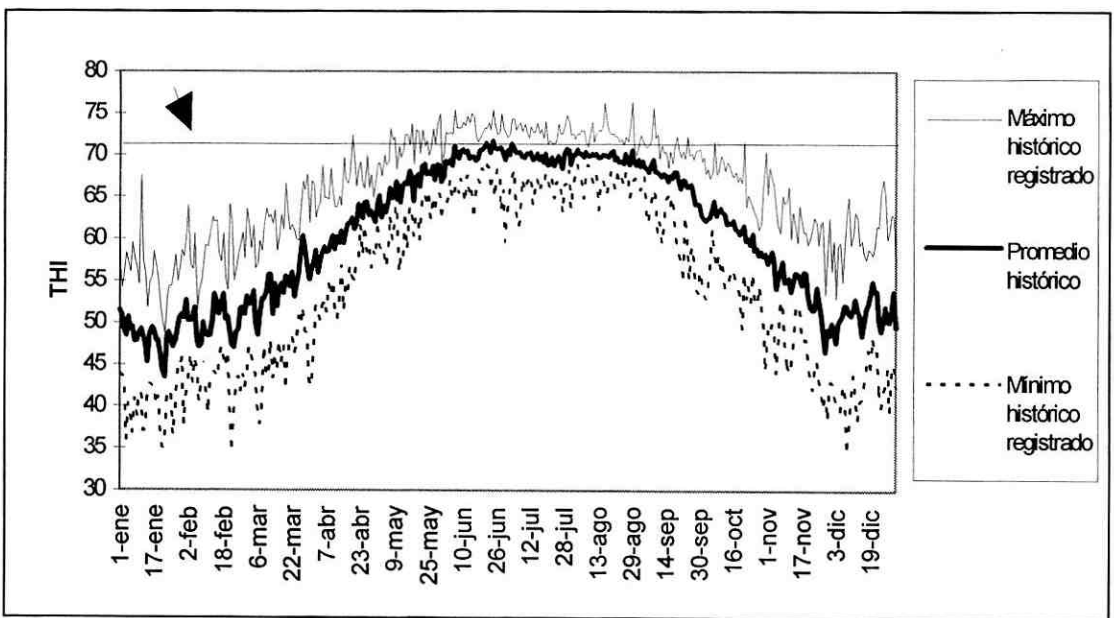


Figura 3 Valores anuales para el THI en Matamoros, Coah., con base en los datos de 1984 a 1993. Se indican los valores máximo, promedio y mínimo históricos registrados durante el período. La flecha señala los 72 THI, punto a partir del cual el ganado bovino Holstein empieza a presentar problemas de salud (Fuente de datos climáticos: CIANE, Matamoros, Coah.).

### 3.4.2 Estrategias para minimizar el estrés calórico

El organismo cuenta con mecanismos fisiológicos para contrarrestar el efecto del estrés calórico, éstos incluyen la sudoración, al aumento en la tasa respiratoria, y una mayor vasodilatación, que provoca un aumento en el flujo de sangre a la superficie de la piel para su enfriamiento por conducción [47].

Sin embargo estos mecanismos no son suficientes para minimizar los efectos adversos del estrés calórico sobre los organismos, por lo que deben adecuarse otras medidas para evitarlos. Existen tres estrategias de manejo que minimizan los efectos del estrés térmico, éstas son: 1) modificación física del medio ambiente, 2) desarrollo genético de tolerancia al calor y 3) mejoramiento de las practicas de manejo nutricional [47].

La principal estrategia para reducir los efectos del estrés calórico sobre la reproducción ha sido alterar el medio ambiente de la vaca a través del uso de sombras, ventiladores, o evaporación refrescante [52]. En los climas calientes, los lugares sombreados reducen la temperatura rectal de un 2 a un 4.1%, la tasa respiratoria de un 29 a un 60%, se mejora el

consumo de materia seca de un 6.8 a un 23.2% y aumenta la producción de leche de un 9.4 a un 22.7% comparado con vacas sin sombra [47]. Además se ha observado un incremento en la tasa de preñez cuando se refrescó a los animales durante 12 días antes del empadre y hasta 10 días después de la gestación [13].

Una de las causas de la baja fertilidad durante el verano es la baja tasa de detección de celos. En establos de Florida esta ausencia de detección fue estimada de un 76 a 82% desde junio hasta septiembre contra un 44 a 65% de octubre hasta mayo, explicado por el hecho de que en el verano la duración y cantidad de montas entre vacas esta disminuida, teniéndose menos oportunidad de detectarlas en celo. Por esta razón se pensaría que el uso del empadre natural en climas calientes podría ser una solución. Sin embargo, esta práctica no ha sido adoptada por los productores, no tanto por la pérdida del progreso genético, incluso cuando las vacas de un progenitor por monta natural producen pérdidas de 150 a 200 dólares por lactancia que las vacas de progenitores de toros por inseminación artificial; sino por el deterioro de la fertilidad del toro causado por el estrés calórico. De hecho, la inseminación artificial con el descongelamiento del semen representa el mejor método para evitar el efecto del estrés calórico sobre la fertilidad del macho [29].

El uso de protocolos de inseminación a tiempo fijo (TAI) puede eliminar los problemas de detección de estros causados por el estrés calórico, pero debido a las severas consecuencias del estrés calórico sobre la embriogénesis, esto no es suficiente para restablecer la tasa de preñez del hato a los nivel vistos en los climas frescos [29].

Dentro de los principales efectos del estrés sobre la fisiología de los animales domésticos se pueden señalar los siguientes:

### **3.4.3 Consumo de alimento**

Las respuestas en el consumo de alimento a la temperatura parecen ser adaptativas. El apetito se comporta como si fuera un mecanismo termorregulador. Puesto que el consumo de alimento se asocia con la producción de calor, una disminución en la temperatura debe provocar un incremento en el consumo de alimento, para incrementar la producción de calor y mantener al animal caliente; por el contrario, el consumo de

alimento debe disminuir cuando la temperatura se incrementa de tal forma que la producción de calor disminuya y el animal se mantenga fresco [53].

La disminución en el consumo de alimento es la razón principal para una disminución en la producción de leche, sin embargo, se ha encontrado que cuando las vacas lecheras son forzadas a comer a través de fistulas ruminales, la producción de leche a 31°C es de un 10% menor que para las mismas vacas a 18°C, concluyéndose que la declinación en la producción de leche se debe a otros factores distintos al consumo de alimento [54].

En un medio ambiente caliente, los mamíferos pueden defenderse contra la hipertermia por un incremento en la pérdida de calor, por una disminución en la producción de calor o, por una combinación de ambos [1].

#### **3.4.4 El metabolismo del agua**

En los climas calientes, se requieren para la supervivencia de los mamíferos la sudación o el jadeo, necesarios para proporcionar enfriamiento evaporativo [55]. Sin embargo, este mecanismo requiere de un consumo de agua continuo, ya que conforme se incrementa la tasa respiratoria y más agua se vaporiza, una cantidad mayor de agua se consume, mientras que cuando las tasas respiratorias y de vaporización se disminuyen al mínimo, el consumo de agua desciende [53].

En los ungulados, las principales formas de pérdidas de agua son la evaporación, la producción y excreción de heces y orina y, en las hembras lactantes, la producción de leche. Las pérdidas evaporativas de agua dependen de muchos factores, incluyendo la extensión en que los animales se exponen a altas temperaturas y niveles de radiación solar [56], ya que cuando la temperatura ambiental excede a la temperatura corporal, el agua es especialmente necesaria para los propósitos termorreguladores. Bajo tales condiciones, el calor corporal sólo puede disiparse a través de vías evaporativas [57].

#### **3.4.5 Los mecanismos celulares**

El conocimiento de cómo los animales responden al calor a nivel celular es relativamente escaso. Entre otros mecanismos relevantes, las células eucariotas responden al estrés por

calor con la producción de un conjunto específico de proteínas llamadas de choque calórico o proteínas del estrés. Una variedad de factores incluyendo el calor, metales pesados, análogos de aminoácidos, inhibidores del metabolismo energético, agentes quelantes e infecciones con ciertos virus, son capaces de inducir la síntesis de estas proteínas [58], señalándose que mientras que las proteínas de choque calórico representan alrededor del 2 al 3% del total de las proteínas en las células normales, esta proporción puede alcanzar el 20% en las células expuestas al calor [59].

Se desconoce una función definida para la síntesis de proteínas del calor, pero se piensa que ellas ayudan a la célula a sobrevivir al estrés calórico [58], ya que participan en el desarrollo de la termotolerancia, es decir, la habilidad de las células pre-expuestas a temperaturas no letales, para sobrevivir subsecuentes exposiciones a temperaturas letales bajo condiciones normales [59].

La definición original de las proteínas de choque calórico es relativa exclusivamente a aquellas proteínas que se expresan en respuesta al estrés fisiológico, las cuales se clasifican de acuerdo a su peso molecular [60].

El metabolismo celular se altera marcadamente debido al estrés por el choque térmico, siendo dañadas numerosas funciones celulares relacionadas con la expresión genética, entre ellas la traducción de proteínas, el ensamblaje del ácido ribonucleico (ARN) y la "normal" transcripción genética, mientras que, por otra parte, la transcripción de genes del choque calórico se activa o aumenta [61]. Esto permite asumir que los animales más adaptados o preacondicionados al calor pudieran tener una mayor síntesis de producción de proteínas de choque calórico que aquellos no adaptados al choque térmico. Se ha demostrado que los animales adquieren termotolerancia por una dosis acondicionante corporal al calor y que aunque es incierto que la hipertermia en todos los animales induce la síntesis de proteínas. Sin embargo, en todo caso, la adquisición de termotolerancia está relacionada con el incremento en la síntesis de proteínas del estrés [58] [21].

### 3.4.6 El rendimiento productivo

Los animales con alto potencial genético para una elevada productividad, pueden tener menos ventajas o aún, tener desventajas en un medio ambiente restrictivo [62] [63].

Los efectos combinados de una alta temperatura ambiental del aire, humedad relativa y radiación solar, tienen profundos efectos sobre la producción láctea, el rendimiento reproductivo y la salud del ganado lechero [64].

En el ganado existen diferencias genéticas para la tolerancia al calor. Por su mayor capacidad de sudar y su menor tasa metabólica la especie *Bos indicus* es más tolerante al calor que la especie *Bos taurus* [47], Por otra parte, en las razas europeas se ha dificultado la selección para la resistencia calórica debido a la relación inversa que existe entre la producción de leche y la regulación de la temperatura corporal, es decir, los cambios en la genética y fisiología para incrementar la producción de animales para consumo, los están haciendo menos capaces para regular su temperatura corporal [29].

La caída en la fertilidad de las vacas lactantes se ha asociado con el aumento en la capacidad genética para la producción de leche, con cambios en el manejo nutricional y con el gran tamaño de los hatos [65]. El aumento en la producción de calor metabólico asociado a la alta producción láctea de los años recientes, tiende a agravar el síndrome de baja fertilidad del verano [48], reportándose que las vacas altas productoras de leche (32.6 kg/d) y las medianas productoras (18.5 kg/d) tienen una producción de calor de un 48.5% y 27.3% mayor a la de las vacas secas [47].

También las altas producciones de leche en la vaca con su alto gasto energético, dependen de los altos niveles de proteína y energía de la dieta. Dependiendo de la calidad de proteína y su composición, las concentraciones de progesterona sérica pueden ser menores por lo que el medio ambiente uterino puede estar alterado y disminuida la fertilidad [65].

La producción de leche y el consumo del total de nutrientes digestibles disminuye ligeramente cuando el índice de temperatura humedad excede de 72 y disminuye agudamente cuando excede los 76. La producción de leche desciende cuando la temperatura corporal excede los 38.9°C y por cada 0.55° C de aumento en la temperatura



rectal, la producción de leche y el consumo de total de nutrientes digestibles disminuye 1.8 y 1.4 kg respectivamente [47]. Por otra parte, cuando la producción de leche se incrementa rápidamente, la vaca entra a un balance energético negativo cuya severidad y duración se relacionan principalmente con el consumo de materia seca, el cual a su vez se relaciona con la condición corporal al parto [65].

### **3.4.7 Los efectos del estrés calórico sobre la reproducción**

El estrés calórico también afecta a la capacidad reproductiva de los animales domésticos. La característica más prominente de la infertilidad en el verano es de naturaleza multifactorial, ya que la hipertermia altera directamente y daña las funciones celulares de varias partes y tejidos del sistema reproductivo. Además la exposición del ganado al estrés térmico produce respuestas indirectas, las cuales pudieran también tener un impacto sobre los procesos reproductivos. Tales respuestas incluirían la redistribución del flujo de sangre entre los órganos del cuerpo, la reducción en el consumo de alimento, la alcalosis respiratoria, etc. Aunque el impacto de varios efectos directos o indirectos del estrés calórico sobre los procesos reproductivos no han sido cuantificados, se cree que el efecto directo predominante de la hipertermia es el daño de las funciones celulares [29] [48].

Entre otros factores indirectos del estrés calórico sobre la reproducción, [47], se ha planteado que como consecuencia del estrés calórico se observa una tasa reducida del metabolismo, la disminución del consumo de materia seca y nutrientes, y el metabolismo alterado y que estas respuestas frecuentemente tienen un efecto negativo sobre la fisiología y producción de leche de la vaca. Por otra parte, algunos efectos del estrés calórico pueden involucrar a la ACTH, ya que ésta puede ocasionar un incremento en la secreción de cortisol el cual bloquea el comportamiento sexual [29].

Existen diferentes formas en las que el estrés calórico maternal puede disminuir la fertilidad del ganado: Se han observado efectos que podrían involucrar daño tanto sobre los espermatozoides como en los oocitos, debido a que los espermatozoides depositados dentro del tracto reproductivo de una hembra hipertérmica están potencialmente en riesgo de dañarse por el choque calórico [29]. El estrés calórico produce además de alteraciones

en la duración del celo, cambios en la dinámica folicular [13] y una disminución en la supervivencia embrionaria, por lo que el desarrollo del embrión se interrumpe por exposición a temperaturas elevadas [66], ya que dentro de los efectos dañinos del estrés calórico sobre el embrión, se encuentra un aumento en la secreción de prostaglandinas en el útero [13] y un incremento en la producción de radicales libres de oxígeno, por lo que el sistema antioxidante de los embriones es de gran importancia para la resistencia térmica [21].

El estrés calórico es particularmente dañino en las etapas tempranas de gestación. Se ha reportado que los oocitos periovulatorios y los embriones muy jóvenes pueden ser sumamente susceptibles al estrés calórico [13] [29], por lo que la exposición de Holsteins lactantes superovuladas a estrés calórico en el día 1 después del estro disminuye la viabilidad y desarrollo de los embriones recuperados al día 8, pero el estrés calórico no tiene efecto si se aplica en los días 3, 5 o 7 después de la inseminación [46]. También en ovejas se reporta que el desarrollo embrionario y la viabilidad se afectan más cuando el estrés calórico ocurre en los días del estro o un día después, que cuando ocurre después del tercer día post estro [13].

La resistencia embrionaria al estrés calórico no es sólo cuestión de tiempo, sino también de su desarrollo, ya que por ejemplo, los embriones de bovinos de dos células son más susceptibles al choque calórico que los oocitos maduros: el desarrollo de la etapa de 4 a 8 células está asociado con un incremento en la termotolerancia, y además la resistencia térmica no se obtiene hasta la etapa de mórula [66]. Se ha intentado explicar a nivel celular, ya que los embriones jóvenes no tienen capacidad transcripcional y por lo tanto no producen moléculas protectoras como las proteínas de choque calórico (Hsp70) [18] [29].

El estrés calórico reduce drásticamente las tasas de preñez en vacas lecheras, ya que además de afectar la mortalidad embrionaria, el estrés calórico reduce la duración e intensidad de la conducta del estro, de manera que bajo condiciones de estrés calórico, una proporción más pequeña de vacas es detectada en estro [52], probablemente debido a la duración de éste, ya que se ha reportado [29] que durante el verano, se observan menos intentos de monta entre vacas (4.5), que durante el invierno (8.6).

### 3.5 Los antioxidantes y el estrés

Desde 1956 se ha resaltado la importancia de la acumulación de radicales libres de oxígeno durante la respiración aeróbica, como causa de daño acumulativo que ocasiona envejecimiento y muerte, siendo las tres principales clases de macromoléculas biológicas (lípidos, ácidos nucleicos y proteínas), susceptibles al ataque de los radicales libres, existiendo abundante evidencia de que todas sufren daño oxidativo *in vivo* [67].

El oxígeno diatómico ( $O_2$ ) es un tipo de radical y el más importante oxidante en los organismos aeróbicos. La reducción de uno o dos electrones del  $O_2$  genera  $O_2^-$  y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) respectivamente, los cuales son generados por numerosas rutas *in vivo*. En presencia de metales libres de transición (en particular hierro y cobre), el  $O_2^-$  y  $H_2O_2$  generan juntos radicales hidroxilos (OH) sumamente reactivos, los cuales se cree son las especies responsables de iniciar la destrucción oxidativa de las biomoléculas [67]. Aproximadamente 1 o 2% del oxígeno metabolizado es convertido a una especie de oxígeno reactivo [18].

Las células están equipadas con un impresionante repertorio de enzimas antioxidantes, así como con pequeñas moléculas antioxidantes obtenidas principalmente de frutas y vegetales en la dieta. Estas incluyen 1) enzimas inactivadoras como la superóxido dismutasa (SOD), la que acelera la dismutación de  $O_2^-$  a  $H_2O_2$ , y catalasas y glutatión peroxidasa (GPX), que convierten el  $H_2O_2$  a agua, 2) inactivadoras de radicales hidrofílicos como el ascorbato, el urato, y el glutatión (GSH); 3) la inactivación de radicales lipofílicos como son el tocoferol, los flavonoides, los carotenoides y el ubiquinol; 4) enzimas involucradas en la reducción de formas oxidadas de pequeñas moléculas antioxidantes (GSH reductasa, dehidroascorbato reductasa) responsable del mantenimiento de las proteínas tioles (thioredoxin reductasa); y 5) el mecanismo celular que mantiene la reducción del entorno (por ejemplo; glucosa 6-fosfato dehidrogenasa, la cual regenera al NADPH). [67].

El sistema antioxidante incluye moléculas como el  $\beta$ -caroteno, la vitamina E, el selenio, el glutatión y la taurina, los cuales actúan como antioxidantes de membrana, manteniendo la integridad de la membrana fosfolípida contra los daños oxidativos y las

peroxidaciones, y como cofactor que actúa en el líquido intracelular y los compartimientos extracelulares para catalizar la destrucción de peróxidos [13, 18].

Los carotenoides son importantes para los humanos y otros animales como precursores de vitamina A y retinoides. Además, actúan como antioxidantes, como inmunoestimulantes, como inhibidores de la mutagénesis e inhibidores de lesiones premalignas, filtrando pigmentos en la fovea primitiva, y suprimiendo la fluorescencia no fotoquímica [68, 69].

La mayoría de los carotenoides pueden ser descritos con la fórmula general  $C_{40}H_{56}O_n$ , donde  $n$  son 0-6- Hidrocarburos ( $n = 0$ ) llamados carotenos y los carotenoides oxigenados llamados xantofilas [69].

Existe un número de factores que influyen en la biodisponibilidad de los carotenoides, los cuales se agrupan en nemotécnico SLAMENGI (en inglés): Especies (*Species*) de carotenoides, Unión (*Linkage*) molecular, Cantidad (*Amount*) de carotenoides consumidos en el alimento, Matriz (*Matrix*) en la cual los carotenoides se incorporan, Efectores (*Effectors*) de absorción y bioconversión, Estado de Nutrición (*Nutrient*) del hospedero, Factores Genéticos (*Genetic*), Factores relacionados con el Hospedero (*Host*), e interacciones matemáticas (*Mathematical*), definiendo biodisponibilidad como la fracción del nutriente ingerido que está disponible para su utilización en las funciones fisiológicas o para su almacenamiento [69].

Los carotenoides plasmáticos representan aproximadamente el 1% del contenido corporal total de carotenoides, mientras que la mayor concentración de ellos se encuentra en el hígado[69].

### 3.5.1 Los antioxidantes y la reproducción

En mórulas de ratón se ha observado que se incrementa la producción de radicales libres debido a que el choque calórico reduce las concentraciones del antioxidante glutatión. [66]. Varias enzimas remueven radicales libres, entre ellas, la glutatión peroxidasa, dependiente del selenio y que utiliza electrones del glutatión y otros compuestos que contienen azufre para convertir los peróxidos en agua [52].

Los radicales libres pueden dañar varios de los procesos asociados con la fertilidad reproductiva, incluyendo la síntesis de esteroides y prostaglandinas, la motilidad

espermática y el desarrollo embrionario [20], ya que el aumento en su formación puede agobiar los mecanismos de defensa de los antioxidantes y comprometer la función celular. La producción de radicales libres puede representar una fuente de infertilidad debido a que el tejido ovárico, la esteroidogénesis, los espermatozoides y la preimplantación del embrión, son sensibles a los daños producidos por ellos [18].

Los antioxidantes son importantes para la adecuada función reproductiva. Varios estudios han demostrado que la administración de selenio, vitamina E o la combinación de ambos reducen la incidencia de retención de membranas fetales y de metritis, mejoran la fertilidad y reducen la incidencia de quistes ováricos y se ha observado que la inyección de vitamina E y selenio tuvo un efecto benéfico sobre la función reproductiva postparto de vacas lecheras, causando una disminución de la incidencia de retención de membranas fetales y un aumento en la fertilidad [20].

La condición o estado de la vitamina A y el  $\beta$ -caroteno así como el estado de la vitamina E y el selenio, pueden influir en la ocurrencia de mastitis en los hatos lecheros [70]. A la fecha no se han definido los mecanismos por los cuales el selenio refuerza la expulsión de las membranas fetales después del parto, pero podrían involucrar efectos sobre la esteroidogénesis o la síntesis de prostaglandinas. La administración oral de selenio refuerza la actividad bactericida de los neutrófilos y las vacas que experimentan retención de membranas fetales tienen disminuida la función de los neutrófilos en la etapa post parto. Además, el selenio puede influir en las contracciones uterinas después del parto durante la expulsión de las membranas fetales, debido a que aumenta su actividad contráctil [20].

A pesar de que los embriones jóvenes pueden ser insensibles a la protección térmica de los antioxidantes, se ha observado que la exposición de embriones de ratón a un choque calórico, disminuye la concentración intracelular del antioxidante glutatión y la inhibición de la síntesis del glutatión, aumentando la sensibilidad al choque calórico, [21].

### 3.5.2 El $\beta$ -caroteno, la reproducción y la lactancia

El  $\beta$ -caroteno esta presente en concentraciones sumamente altas en el cuerpo lúteo de los bovinos, dando su característico color amarillo, así como actuando como precursor de la vitamina A, de ahí la evidencia de que incrementar el  $\beta$ -caroteno puede ser necesario para la óptima producción de esteroides, posiblemente actuando como un antioxidante [71].

El  $\beta$ -caroteno en los bovinos es transportado normalmente a los ovarios incorporado en componentes lípidos: las lipoproteínas de alta densidad (HDL), y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) para las que las células lúteas han mostrado tener receptores sobre su membrana celular. Tanto las HDL como las LDL abastecen al cuerpo lúteo de otras sustancias solubles en grasas como son el colesterol, la vitamina A y la vitamina E [71].

Existen varias formas en que en que El  $\beta$ -caroteno afecta al proceso reproductivo en las vacas lecheras: disminuyendo el intervalo de tiempo entre el que ocurre el pico de la LH y la ovulación, encontrándose un retraso de 72 a 49 h en vacas deficientes respecto a las suplementadas; favoreciendo el desarrollo folicular, observándose que las vacas suplementadas ovulan un día después de iniciado el estro y las deficitarias de  $\beta$ -caroteno sólo hasta dos días después; evitando la presencia de quistes ováricos, ya que las vacas suplementadas tienen una menor incidencia que las no suplementadas; así como favoreciendo la esteroidogénesis al favorecer el abastecimiento de colesterol, precursor de la progesterona [71].

También la producción de leche se afecta positivamente con la suplementación de  $\beta$ -caroteno, ya que se ha observado que ésta incrementa el porcentaje de grasa en el calostro y leche y afecta el comportamiento de la curva de lactancia [68], además de que reduce la cuenta de células somáticas [70].

Por lo tanto, basados en la evidencia que los efectos del estrés calórico tienen sobre la capacidad reproductiva en el ganado bovino lechero, una estrategia viable para aumentar los índices reproductivos durante los meses en que se considera que las condiciones ambientales afectan en forma adversa esta función en el ganado lechero, es proveer a las vacas con un suplemento de  $\beta$ -caroteno, por lo que para medir los efectos que el  $\beta$ -caroteno tiene sobre los parámetros reproductivos de vacas Holstein bajo condiciones de

estrés calórico, se llevó a cabo este experimento, utilizando para ello vacas primíparas de la Región Lagunera.

## 4 Materiales y métodos

Para evaluar el efecto del  $\beta$ -caroteno sobre los indicadores reproductivos y productivos del ganado lechero, se utilizaron 208 vacas Holstein de primer parto, que parieron entre el 22 de mayo al 4 de agosto de 2000 del establo lechero Campo Sagrado, ubicado en el municipio de Torreón, Coahuila, a los 26°06' LN, 103°26' LE y 1,092 m sobre el nivel del mar, con una temperatura y precipitación media anuales de 22.5° C y 180.3 mm respectivamente, las cuales fueron seleccionadas al momento del parto, eliminando aquellas que sufrieron aborto.

En forma alterna, al momento del parto a cada una de las vacas se les asignó en forma aleatoria a un grupo: en el primero de ellos (Beta), a las vacas se les suplementó con 400 mg/día de  $\beta$ -caroteno directamente al pesebre durante 90 días a partir del parto. Al segundo grupo (Tes), grupo testigo, no se le suplementó con el antioxidante. Como no fue posible ubicar a los dos grupos en diferentes corrales, se les señaló mediante alambre de color colocados en el arete de identificación del establo con la finalidad de administrarles el suplemento alimenticio y realizar la toma de muestras.

Las vacas del experimento fueron alimentadas con una ración totalmente integrada a base de 8.0 kg de heno de alfalfa, 12.0 kg de ensilaje de sorgo, 5.0 kg de maíz rolado, 2.5 kg de semilla de algodón, 1.0 de melaza, 0.120 kg de minerales, 0.150 de bicarbonato, 1.0 de megalala plus, 0.2 kg de glúten de maíz, 0.02 de óxido de magnesio, 2.0 kg de sorgo rolado y 1.0 kg de pasta de soya, para un total de 33.020 kg de materia seca por vaca por d. y tuvieron a su disposición agua *ad libitum*.

Todas las vacas recibieron el manejo reproductivo convencional del establo. Las vacas fueron inseminadas con base en la detección del estro, comenzando en el día acostumbrado del período de espera voluntario para el servicio (aproximadamente 50 d). Este trabajo fue realizado por el inseminador del establo y las vacas se sometieron al diagnóstico de gestación acostumbrado. Las vacas no gestantes a ese primer servicio recibieron el manejo reproductivo del establo.

Se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea de las vacas, aproximadamente a los días 0 (el día después del parto), a 30, 60 y 90 días postparto (PP) con tubos vacutainer



con heparina como anticoagulante (Becton Dickinson VACUTAINER Systems, N.J., USA) y se trasladaron refrigeradas al Laboratorio de Diagnóstico de la UAAAN.UL en donde se centrifugaron a 3,000 revoluciones durante 15 min para la obtención del plasma, el cual fue congelado a  $-18^{\circ}$  C hasta su posterior análisis.

Se obtuvieron los registros del comportamiento reproductivo de las vacas (inseminaciones a gestación, días al primer servicio, días abiertos, calidad del primer celo -limpio o sucio-, tasas de fertilidad a los 60, 90, 120, 150 y el acumulado a 150 días pos parto).

Las muestras fueron analizadas para determinar los niveles plasmáticos de progesterona, mediante Radio Inmuno Análisis para lo cual se utilizó un kit comercial (Coat-A-Count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA), con una sensibilidad para la dosis de detección mínima de aproximadamente 0.02 ng/mL).

Los datos relativos a niveles plasmáticos de progesterona, inseminaciones por gestación y días abiertos, fueron analizados con el Procedimiento de SAS [72] Modelo General Linear, mediante un modelo de parcelas divididas [73] que incluyó tratamiento (Beta o Tes) sobre estos indicadores reproductivos. Los valores de significancia fueron probados contra el error estándar medio. Los datos de calidad del primer celo -limpio o sucio-, tasas de fertilidad a los 60, 90, 120, 150 y la acumulada a 150 días pos parto fueron analizados con la prueba de  $X^2$ .

## 5 Resultados

En el Cuadro 2, se pueden observar los resultados del experimento, con relación al efecto de la administración de  $\beta$ -caroteno en la dieta de vacas Holstein primíparas a partir del segundo hasta los 90 d posparto, sobre los indicadores reproductivos estudiados.

Cuadro 2. Efecto de la administración de  $\beta$ -caroteno sobre indicadores reproductivos en vacas Holstein primíparas en la Región Lagunera

Indicador reproductivo	Tratamiento		Error Estándar de la Media	Nivel de significancia
	Beta	Tes		
Niveles de progesterona (Ng/dL)				
P d 0		0.05	0.18	NS
P d 30	0.75	0.46	0.37	NS
P d 60	1.09	0.91	0.38	NS
P d 90	6.31	3.75	1.12	NS
Días al primer servicio	68.8	71.2	2.59	NS
Inseminaciones por gestación	2.32	2.53	0.38	NS
Días abiertos	96.2	108.1	10.69	NS
Calidad de primer celo posparto (Porcentaje de celos limpios)	80.6	59.6		***
Tasa de fertilidad (porcentaje)				
60 días	8,08	11,11		NS
90 días	33,33	37,37		NS
120 días	25,25	22,22		NS
150 días	15,15	9,09		*
Total a 150 días	81,82	79,80		NS

Para los análisis de los niveles de progesterona, días al primer servicio, inseminaciones por gestación y días abiertos se utilizó GLM, mientras que para calidad de primer celo posparto y tasa de fertilidad se utilizó  $X^2$ .

N.S. = no significativo

\*\* diferencia estadística  $<0.05$

\*\*\* diferencia estadística  $<0.001$

En el Cuadro 2 se puede observar que en lo general no hubo efecto del tratamiento sobre los indicadores reproductivos, sin embargo, se encontró efecto del tratamiento ( $P<0.001$ ) sobre la calidad del primer celo posparto, es decir en el porcentaje de celos limpios, con un 80.6% para las vacas que consumieron  $\beta$ -caroteno, contra un 59.6% de las que no lo consumieron. También en la tasa de fertilidad a 150 días, se observó efecto del tratamiento ( $P<0.05$ ), con un 15.15% para las vacas suplementadas con el antioxidante, contra un 9.09% para las no suplementadas.

En el Cuadro 3, se observa la tasa de eliminación de vacas durante el experimento, es decir, vacas incluidas en él y que por decisión del productor fueron dadas de baja del establo, principalmente por motivos de baja producción.

Cuadro 3. Tasa de eliminación de animales experimentales según tratamiento

Desecho (porcentaje)	Tratamiento		Nivel de significancia
	Beta	Tes	
	46.15	53.85	NS

N.S. = no significativo

Se puede observar de acuerdo a los datos del Cuadro 3, que estadísticamente no existe diferencia en la tasa de eliminación entre los animales suplementados con  $\beta$ -caroteno y los no suplementados, sin embargo la tasa tuvo la tendencia a ser mayor en los animales suplementados, de tal forma que de cada cien animales, se eliminan siete más en animales no suplementados.

## 6 Discusión

Las evidencias científicas demuestran efectos deletéreos sobre la capacidad reproductiva en el ganado bovino lechero, debidos al incremento de radicales libres producidos como resultado del estrés calórico, por lo que una estrategia para aumentar los índices reproductivos de vacas Holstein durante los meses que se encuentran bajo condiciones de estrés calórico, en la Región Lagunera, podría ser el añadir a la ración alimenticia, el antioxidante  $\beta$ -caroteno. Con este propósito se utilizó al  $\beta$ -caroteno como suplemento alimenticio en vacas Holstein de primer parto, en un establo comercial de la Comarca Lagunera durante los meses de mayo a agosto de 2000.

De acuerdo con nuestros resultados, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en los indicadores reproductivos (niveles de progesterona plasmática a los 0, 30, 60 y 90 d posparto, los días al primer servicio, el número de inseminaciones por gestación y los días abiertos) entre las vacas suplementadas en su ración alimenticia con 400 mg diarios de  $\beta$ -caroteno y las vacas testigo, sin embargo, se observó efecto de tratamiento ( $P < 0.001$ ) sobre la calidad del primer celo posparto, (80.6% de celos limpios para las vacas que consumieron  $\beta$ -caroteno, contra un 59.6% de las que no lo consumieron). Por otra parte, se registró efecto del tratamiento ( $P < 0.05$ ) en la tasa de fertilidad a 150 días, (15.15% para las vacas suplementadas con el antioxidante, contra un 9.09% para las no suplementadas).

Aún cuando no se encontró diferencia estadística sobre la concentración de progesterona plasmática a los 0, 30, 60 y 90 días pos parto, en todos los períodos de muestra se observó una tendencia a una mayor concentración de ésta en el grupo suplementado con  $\beta$ -caroteno (0.13, 0.75, 1.09, 6.31 ng/dL) contra el no suplementado (0.05, 0.46, 0.91, 3.75 ng/dL).

Otras tendencias no significativas fueron el número de días al primer servicio, con 68.8 d para el grupo suplementado contra 71.2 d del grupo no suplementado y el número de días abiertos con 96.2 d para las suplementadas vs 108.1 d de las no suplementadas.

Otra variable medida en forma complementaria es el porcentaje de desecho, en el cual no se mostró diferencia estadística con un 46.15% para el grupo suplementado contra un

53.85 % del grupo no suplementado, pero teniendo una tendencia de que por cada 100 vacas no suplementadas se eliminan 7 vacas más que en el grupo suplementado.

La falta de diferencias entre los grupos experimentales puede ser debida a dos razones principales: Primera, se ha reportado [66] que los embriones en sus primeras etapas de división son resistentes a la terapia con antioxidantes, ya que en cultivos de embriones con glutatión y taurina -otros dos antioxidantes- la respuesta termoprotectora no se observa en embriones de dos células por lo que en este experimento, los embriones jóvenes de las hembras de uno y otro grupo experimental pudieron ser susceptibles por igual al efecto del estrés calórico; Segunda, Arechiga en 1998 [74], encontró que la suplementación con  $\beta$ -caroteno no eleva las concentraciones de éste en el oviducto y útero para proteger al embrión de los radicales libres. Sin embargo en este experimento no se midieron las concentraciones de  $\beta$ -caroteno en oviducto y útero, para poder descartar que las concentraciones del antioxidante fueran iguales para las vacas de ambos grupos.

Aréchiga [21] encontró que las vacas que reciben  $\beta$ -caroteno por  $\geq 90$  d, tienen durante el verano, una mejor tasa de preñez a 120 d. En este experimento se observó un incremento a los 150 d, por lo que estos datos sugieren que es necesaria la suplementación prolongada con  $\beta$ -caroteno para incrementar su concentración a niveles tisulares adecuados.

En este experimento se encontró diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) sobre la calidad del primer celo posparto, la cual puede ser explicada por el efecto que el  $\beta$ -caroteno tiene sobre el sistema inmunológico de los animales, ayudándole a combatir con mayor eficiencia las infecciones uterinas y promoviendo así la renovación del tejido y su involución [68].

Sin embargo, existen diferencias en cuanto a los resultados de la suplementación con  $\beta$ -caroteno. Se ha reportado una relación positiva entre concentraciones plasmáticas elevadas de caroteno ( $1500 \mu\text{g/L}$ ) con la infertilidad, sin embargo en otros estudios las concentraciones plasmáticas menores a ( $1500 \mu\text{g/L}$ ) de  $\beta$ -caroteno no incrementaron la fertilidad [68], por lo que se piensa que tanto el alto y el bajo consumo de  $\beta$ -caroteno pueden bajo ciertas condiciones tener un efecto adverso sobre la fertilidad.

En el experimento nos encontramos con una cantidad de variables no controladas que pudieron tener influencia sobre los resultados. A pesar de la diferencia estadística en la calidad del primer celo pos parto ( $P < 0.001$ ) en las vacas suplementadas con  $\beta$ -caroteno, lo que les podría haber significado respecto a las no suplementadas, una ventaja para ser inseminadas sin ningún problema después de la espera voluntaria, no existió diferencia ( $P > 0.05$ ) entre la tasa de fertilidad a los 60 d (8.08% suplementadas vs 11.11% no suplementadas) ni a los 90 d pos parto (33.33% suplementadas vs 37.37% no suplementadas) e incluso, se encontró entre un 3% a un 5% más de fertilidad en el grupo no suplementado a los 60 y 90 d que el suplementado, lo que induce a pensar en dos explicaciones: primero que el tratamiento para los celos sucios establecido en el establo resuelve en forma muy eficiente el problema, eliminando la ventaja de las vacas con su primer celo limpio y, segundo, que los técnicos inseminadores no tengan la misma experiencia y responsabilidad provocando los resultados señalados.

Debido a que la suplementación con  $\beta$ -caroteno no se pudo homogenizar con la dieta de las vacas pudo existir el rechazo o selección del suplemento, y por un contratiempo en los resultados de  $\beta$ -caroteno plasmático no se estableció si existía diferencia en las concentraciones plasmáticas de ambos grupos. Del mismo modo no controlamos ni medimos la cantidad de caroteno que contenía la dieta dando margen a una sobre dosis con la suplementación pudiendo confirmar así la correlación positiva entre el alto contenido plasmático de  $\beta$ -caroteno y la infertilidad reportado por Folman [68]. Esto sugiere la necesidad de otros estudios en los que se puedan controlar todas estas variables, de tal forma de establecer una mayor aproximación a los efectos del  $\beta$ -caroteno sobre los parámetros reproductivos en las vacas lecheras.

## 7 **Literatura citada**

1. Yousef, M. K. Principles of bioclimatology and adaptation, in *Bioclimatology and adaptation of livestock*, H. D. Johnson, Editor. 1987, Elsevier: Amsterdam. p. 127.
2. Cymbaluk, N. F., Christison, G. I. Environmental effects on thermoregulation and nutrition of horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 1990. 6(2): 355-72.
3. Lovegrove, B. G., Heldmaier, G., Ruf, T. Perspectives of endothermy revisited: The endothermic temperature range. *J Therm Biol*, 1991. 16: 187.
4. Ruben, J. The evolution of endothermy in mammals and birds: From physiology to fossils. *Annu Rev Physiol*, 1995. 57: 69.
5. Goodfriend, W., Ward, D., Subach, A. Standard operative temperatures of two desert rodents, *Gerbillus allenbyi* and *Gerbillus pyramidum*: The effects of morphology, microhabitat and environmental factors. *J Therm Biol*, 1991. 16: 157.
6. Ayalon, N. The repeat breeder problem. in *Proceedings of the 10th International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination*. 1984. USA.
7. Robinson, N. A., Leslie, K. E., Walton, J. S. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J Dairy Sci*, 1989. 72(1): 202-7.
8. Edey, T. N. Factors associated with prenatal mortality in the sheep. *J Reprod Fertil*, 1969. 19(2): 386-7.
9. Ayalon, N. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod fertil*, 1978. 54: 483-493.
10. Linares, T. Plasma progesterone levels from oestrus through day 7 after A.I. in heifers carrying embryos with normal or deviating morphology. *Theriogenology*, 1982. 17: 125-132.
11. Gustafsson, H. Characteristics of embryos from repeat breeder and virgin heifers. *Theriogenology*, 1985. 23: 487-498.
12. Badinga, L., Collier, R. J., Thatcher, W. W., Wilcox, C. J. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. *J Dairy Sci*, 1985. 68(1): 78-85.
13. Ealy, A. D., Aréchiga, C. F., Bray, D. R., Risco, C. A., Hansen, P. J. Effectiveness of short-term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J Dairy Sci*, 1994. 77: 3601-3607.
14. Ealy, A. D., Drost, M., Barros, C. M., Hansen, P. J. Thermoprotection of preimplantation bovine embryos from heat shock by glutathione and taurine. *Cell Biol. Int. Rept.*, 1992. 16: 125-131.
15. Arechiga, C. F., Ealy, A. D., Hansen, P. J. Efficacy of vitamin E and glutathione for thermotolerance of murine morulae. *Theriogenology*, 1994. 41: 1545-1553.
16. Arechiga, C. F. Evidence that glutathione is involved in thermotolerance of preimplantation murine embryos. *Biology of Reproduction*, 1995. 52: 1296-1301.
17. Arechiga, C. F., Staples, C. R., McDowell, L. R., Hansen, P. J. Effects of timed insemination and supplemental beta-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J Dairy Sci*, 1998. 81(2): 390-402.

18. Aréchiga, C. F., Vázquez-Flores, S., Ortíz, O., Hernández-Cerón, J., Porras, A., McDowell, L. R., Hansen, P. J. Effect of injection of b-carotene or vitamina E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 1998. 50: 65-76.
19. Ealy, A. D., Arechiga, C. F., Bray, D. R., Risco, C. A., Hansen, P. J. Effectiveness of short-term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J Dairy Sci*, 1994. 77(12): 3601-7.
20. Aréchiga, C. F., Ortíz, O., Hansen, P. J. Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology*, 1994. 41: 1251-1258.
21. Aréchiga, C. F., Staples, C. R., McDowell, L. R., Hansen, P. J. Effects of timed insemination and supplemental b-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J Dairy Sci*, 1998. 81: 390-402.
22. Orr, H. A., Coyne, J. A. The genetics of adaptation. A reassessment. *Am Nat*, 1992. 140: 725.
23. McDonald, J. F. The molecular basis of adaptation: A critical review of relevant ideas and observations. *Am Rev Ecol Syst*, 1983. 14: 77.
24. Scheiner, S. M. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu Rev Ecol Syst*, 1993. 24: 35.
25. Travisano, M., Mongold, J. A., Bennett, A. F., Lenski, R. E. Experimental tests of the roles of adaptation, chance, and history in evolution. *Science*, 1995. 267(5194): 87-90.
26. Garland, T., Jr., Carter, P. A. Evolutionary physiology. *Annu Rev Physiol*, 1994. 56: 579-621.
27. Maddox, J. Is Darwinism a thermodynamic necessity? *Nature*, 1991. 350(6320): 653.
28. Lee, D. H. Climatic stress indices for domestic animals. *Int J Biometeorol*, 1965. 9(1): 29-35.
29. Hansen, P. J., Aréchiga, C. F. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci*, 1999. 77: 36-50.
30. Spotila, J. R., Standora, E. A., Easton, D. P., Rutledge, P. S. Bionergetics, behavior, and resource partitioning in stressed habitats: Biophysical and molecular approaches. *Physiol Zool*, 1989. 62: 253.
31. Stott, G. H. What is animal stress and how is it measured? *J Anim Sci*, 1981. 52(1): 150-3.
32. Selye, H. The evolution of the stress concept. *Am Sci*, 1973. 61(6): 692-9.
33. von Borell, E. Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of farm animals. *Appl Anim Behav Sci*, 1995. 44: 219.
34. Selye, H. The stress concept: Past, present and future, in *Stress Research*, C. L. Cooper, Editor. 1983, John Wiley & Sons, Ltd. p. p 1.
35. Siegel, H. S. Stress, strains and resistance. *Brit Poultry Sci*, 1995. 36: 3.
36. Selye, H. Stress and disease. *Science*, 1955. 122: 625.
37. Friend, T. H. Behavioral aspects of stress. *J Dairy Sci*, 1991. 74(1): 292-303.
38. Carbonaro, D. A., Friend, T. H., Dellmeier, G. R., Nuti, L. C. Behavioral and physiological responses of dairy goats to isolation. *Physiol Behav*, 1992. 51(2): 297-301.
39. Boissy, A. Fear and fearfulness in animals. *Q Rev Biol*, 1995. 70(2): 165-91.



40. Dantzer, R., Mormede, P. Stress in farm animals: a need for reevaluation. *J Anim Sci*, 1983. 57(1): 6-18.
41. Nwe, T. M., Hori, E., Manda, M., Watanabe, S. Significance of catecholamines and cortisol levels in blood during transportation stress in goats. *Small Ruminant Res*, 1995. 20: 129.
42. Bligh, J., Johnson, K. G. Glossary of terms for thermal physiology. *J Appl Physiol*, 1973. 35(6): 941-61.
43. Johnson, H. D. Bioclimates and livestock, in *Bioclimatology and adaptation of livestock*, H. D. Johnson, Editor. 1987, Elsevier: Amsterdam. p. p 127.
44. duPreez, J. H., Terblanche, S. J., W. H. Giesecke, W. H., Maree, C., Welding, M. C. Effect of heat stress on conception in a dairy herd model under South African conditions. *Theriogenology*, 1991. 35: 1039.
45. Buffington, D. E., Collazo-Arocho, A., Canton, G. H., D. Pitt, D., Thatcher, W. W., Collier, R. J. Black Globe-Humidity Index (BGHI), as comfort equation for dairy cows. *T. ASAE*, 1981. 711.
46. Al-katanani, Y. M., webb, D. W., Hansen, P. J. Factors affecting seasonal variation in 90-day nonreturn rate to first service in lactantinf holstein cows in a hot climate. *J Dairy Sci*, 1999. 82: 2611-2616.
47. West, J. W. Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci*, 1999. 77: 21-35.
48. Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R. Impaired reproduction in heat stressed cattle; basic and applied aspects. *Animal reproduction science*, 2000. 60-61: 535-547.
49. Mazcorro, V. E., De la Fuente, H. J., Jiménez, E. M. L., González, H. M. La producción agropecuaria en la Comarca Lagunera. Su evolución reciente: 1960-1990. 1991: UACH.
50. Lu, C. D. Effects of heat stress on goat production. *Small Ruminant Res*, 1989. 2: 151-162.
51. Collier, R. J., Beede, D. K., Thatcher, W. W., Israel, L. A., Wilcox, C. J. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *J Dairy Sci*, 1982. 65(11): 2213-27.
52. Aréchiga, C. F., Staples, C. R., McDowell, L. R., Hansen, P. J. Effects of timed insemination and supplemental b-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J Dairy Sci*, 1998. 81: 390-402.
53. Appleman, R. D., Delouche, J. C. Behavioral, physiological and biochemical responses of goats to temperature, 0°C to 40°C. *J Anim Sci*, 1958. 17: 326.
54. McDowell, R. E., Moody, E. G., Van Soest, P. J., Lehmann, R. P., Ford, G. L. Effect of heat stress on energy and water utilization of lactating cows. *J Dairy Sci*, 1969. 52(2): 188-94.
55. Macfarlane, W. V., Robinson, K., Howard, B., Kinne, R. Heat, salt and hormones in panting and sweating animals. *Nature*, 1958. 182: 672.
56. Butterworth, M. H. Wild and domestic ungulates, in *Bioclimatology and adaptation of livestock*, H. D. Johnson, Editor. 1987, Elsevier: Amsterdam. p. 127.
57. Müller, E. F., van Aken, R. Thermoregulation and evaporative water loss in Spiny mice (*Acomys cahirinus* Desmarest, 1819). *Z Säugetierkd*, 1990. 55: 244.
58. Guerriero, V., Jr., Raynes, D. A. Synthesis of heat stress proteins in lymphocytes from livestock. *J Anim Sci*, 1990. 68(9): 2779-83.

59. Donati, Y. R., Slosman, D. O., Polla, B. S. Oxidative injury and the heat shock response. *Biochem Pharmacol*, 1990. 40(12): 2571-7.
60. Haas, I. G. BiP--a heat shock protein involved in immunoglobulin chain assembly. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1991. 167: 71-82.
61. Dubois, M. F., Bensaude, O. MAP kinase activation during heat shock in quiescent and exponentially growing mammalian cells. *FEBS Lett*, 1993. 324(2): 191-5.
62. Devendra, C. Milk production in goats compared to buffalo and cattle in humid tropics. *J. Dairy Sci*, 1980. 63: 1755.
63. Ferrell, C. L., Jenkins, T. G. Cow type and the nutritional environment: nutritional aspects. *J Anim Sci*, 1985. 61(3): 725-41.
64. Shearer, J. K., Beede, D. K. Heat stress, part 2. Effects of high environmental temperature on production, reproduction, and health of dairy cattle. *Agri-Practice*, 1990. 11.
65. Butler, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal reproduction science*, 2000. 60 - 61: 449-457.
66. Aréchiga, C. F., Hansen, P. J. Response of preimplantation murine embryos to heat shock as modified by developmental stage and glutathione status. *Society for In Vitro Biology*, 1998. 34: 655-659.
67. Beckman, B. K., Ames, N. B. The free radical theory of ageing matures. *The american physiological society*, 1998. 78: 547 - 581.
68. Folman, Y., Ascarelli, I., Kraus, D., Barash, H. Adverse effect of b-carotene in diet on fertility of dairy cows. *J Dairy Sci*, 1987. 70: 357-366.
69. Greiwe-Crandell, K. M., Kronfeld, D. S., Gay, L. S., Sklan, D., Tiegs, W., Harris, P. A. Vitamin A repletion in thoroughbred mares with retinyl palmitate or beta-carotene. *J Anim Sci*, 1997. 75(10): 2684-90.
70. Oldham, E. R., Eberhart, R. J., Muller, L. D. Effects of supplemental vitamin A or b-caroteno during the dry period and early lactation on udder health. *J Dairy Sci*, 1991. 74: 3775-3781.
71. Arikan, S., Rodway, R. G. Effects of high density lipoprotein containing high or low b-carotene concentrations on progesterone productio and b-carotene uptake and depletion by bovine luteal cells. *Animal reproduction science*, 2000. 62: 253-263.
72. SAS, SAS/STAT User's Guide, Versión 6.1. 1991, SAS Institute Inc: Cary NC.
73. Gill, J. L. Repeated measurement: Split-Plot Trend Analysis versus Analysis of First Differences. *Biometrics*, 1988. 44: 289-297.
74. Arechiga, C. F., Vazquez-Flores, S., Ortiz, O., Hernandez-Ceron, J., Porras, A., McDowell, L. R., Hansen, P. J. Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 1998. 50(1): 65-76.