

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN A ESTRÉS TÉRMICO CRONICO EN VACAS Y  
VAQUILLAS HOLSTEIN Y SU RELACIÓN CON EL DESEMPEÑO  
REPRODUCTIVO Y ENFERMEDADES PERIPARTO

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS  
EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

presenta:

ELIZABETH PÉREZ REBOLLOSO

Torreón Coahuila

Diciembre de 2025

EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN A ESTRÉS TÉRMICO CRÓNICO EN VACAS Y  
VAQUILLAS HOLSTEIN Y SU RELACIÓN CON EL DESEMPEÑO  
REPRODUCTIVO Y ENFERMEDADES PERIPARTO

TESIS

Elaborada por ELIZABETH PÉREZ REBOLLOSO como requisito parcial para  
obtener el grado de Doctor en Ciencias en Producción Agropecuaria con la  
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría.



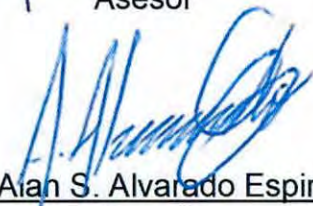
Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque  
Asesor Principal



Dr. José Eduardo García Martínez  
Asesor



Dr. Juan Luis Morales Cruz  
Asesor



Dr. Alan S. Alvarado Espino  
Asesor



Dr. Ma Guadalupe Calderón Leyva  
Asesora



Dra. Dalia Ivette Carrillo Moreno  
Jefa del Departamento de Posgrado



Dr. Antonio Flores Naveda  
Subdirector de Postgrado

## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente al Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque por todo el acompañamiento brindado durante mi trayectoria en el posgrado. Por compartirme su conocimiento y guía durante estos años.

De igual manera, agradezco a las jefas y jefes de posgrado por todo el trabajo que realizan para mantener el posgrado en el sistema nacional de posgrados y ofrecer una educación de gran calidad.

A todos los docentes que formaron parte de mi formación en el programa de posgrado, agradezco su invaluable labor.

A mis compañeros de posgrado por permitirme conocerlos y hacer equipo para lograr este objetivo juntos.

Y, por último, al área administrativa, por no dejarnos solos y ayudarnos en cada trámite necesario durante todos nuestros estudios.

## CARTA DE ACEPTACIÓN DEL ARTÍCULO NÚMERO 2

Estatus del artículo número 2.

# Submissions

My Queue 2 Archives 2

Help

## My Assigned

Search

Filters [New Submission](#)

- 37682

### **Pérez-Reboloso et al.**

Dr. Time series modeling of retained placenta, metritis, and ketosis in Holstein cows and heifers and its association with climate variables in a hot-arid zone: Seasonality of puerperal diseases in cows

1/5

ReviewCurrently in the Review stage.

[ViewView Pérez-Reboloso et al.](#)

# ÍNDICE GENERAL

## Contenido

RESUMEN .....	7
ABSTRACT .....	8
INTRODUCCIÓN .....	11
OBJETIVOS GENERALES .....	15
HIPÓTESIS GENERALES .....	16
REVISION DE LITERATURA .....	17
1. Estrés por calor en bovinos lecheros .....	17
1.1 Antecedentes en la investigación del estrés calorico en bovinos lecheros .....	17
1.2 Concepto de estrés calorico y fisiología de la termorregulación .....	18
1.3 Definición del ITH .....	18
1.4 Mecanismos fisiológicos para disipar calor .....	19
1.5 Consecuencias sobre el balance energético, consumo de materia seca y producción .	20
2. Mecanismos fisiológicos del estrés calorico sobre el sistema inmune .....	23
2.1 Impacto del estrés calorico en la respuesta inmune .....	23
2.2 Efecto del estrés calorico sobre el sistema inmune en el periparto .....	26
2.3 Distocia y retención de placenta .....	27
2.4 Enfermedades metabólicas (cetosis e hígado graso) .....	28
2.5 Enfermedades uterinas (metritis y endometritis) .....	31
3. Mecanismos fisiológicos del estrés por calor sobre la reproducción .....	33
3.1 Alteraciones endocrinas del comportamiento estral .....	33
3.2 Disminución de la secreción pulsátil de LH y alteraciones del pico preovulatorio .....	35
3.3 Menor expresión y detección de estro .....	36
3.4 Elevación de cortisol y supresión del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal .....	37
3. 5 Efectos sobre el desarrollo folicular, la calidad ovocitaria y el embrión .....	38
REFERENCIAS .....	39

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Diagrama que resume el impacto del estrés por calor en la salud y la productividad de las vacas lecheras.

Figura 2. Figura 2. Descripción de los diversos impactos del estrés térmico en el sistema inmunológico del ganado lechero.

Figura 3. Representación esquemática de los sitios importantes de acción del estrés por calor en las vacas lecheras que afectan directa o indirectamente su desempeño reproductivo.

## RESUMEN

### PRONÓSTICO DEL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO EN NOVILLAS Y VACAS HOLSTEIN EN UN AMBIENTE CÁLIDO: UN ANÁLISIS DE SERIES TEMPORALES

Elizabeth Pérez-Reboloso

Doctora en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Miguel Angel Mellado Bosque

Director de tesis

Este estudio tuvo como objetivo predecir la tasa de preñez (TP) y el número de servicios por concepción (SC) en un hato lechero comercial intensivo en una zona de temperatura ambiental elevada y prolongada. Además, se evaluó el impacto de las condiciones climáticas en el comportamiento reproductivo. Se utilizó un modelo autorregresivo de promedio móvil integrado (ARIMA) en el ajuste de datos para predecir TP y SC mensuales futuros utilizando datos de 2014 a 2020. La TP más alta prevista para las vacas fue en enero (35.3%, IC del 95% = 30.5–40.1), y la más baja fue en agosto (12.5%, IC del 95% = 7.5–17.6). El índice de temperatura-humedad (ITH) y la TP se correlacionaron negativamente de manera significativa en el mismo mes ( $r = 0.7$ ) y 2.5 meses antes y 2.5, 5, y 7.5 meses después. El SC más alto pronosticado para vacas fue en septiembre (6.2, IC del 95 % = 4.8–7.7) y el más bajo para marzo (2.8, IC del 95 % = 1.3–4.2). La TP más alto pronosticado en vaquillas fue en enero (62.2 %, IC = 51.6–72.9) y el más bajo en mayo (52.3 %, 37.9–66.7). La correlación cruzada entre ITH y TP en vaquillas no se correlacionó significativamente en el mismo mes, pero se produjeron correlaciones significativamente negativas 5, 7.5, y 10 meses antes. El SC en vaquillas se relacionó con la estacionalidad, y el SC máximo pronosticado se produjo en mayo (1.9, IC = 1.2–2.6) y el mínimo en febrero (1.6, IC = 1.0–2.2). Se concluyó que el clima tuvo una fuerte influencia en los ritmos mensuales del comportamiento reproductivo de las vacas y vaquillas Holstein. Además, los modelos ARIMA pronosticaron de forma robusta los resultados reproductivos de vacas y vaquillas en un clima desértico cálido.

**Palabras clave:** Tasa de concepción · Fertilidad · Estrés térmico · Servicios por gestación · Índice de temperatura y humedad.

## ABSTRACT

### FORECASTING REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN HOLSTEIN HEIFERS AND COWS IN A HOT ENVIRONMENT: A TIME-SERIES ANALYSIS

Elizabeth Pérez-Reboloso

Doctora en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Miguel Angel Mellado Bosque

Director de tesis

This study aimed to predict the pregnancy rate (PR) and number of services per pregnancy (SP) in a large high-input dairy herd in a prolonged high ambient temperature zone. Also, the impact of climatic conditions on reproductive performance was assessed. An autoregressive integrated moving average (ARIMA) model was used in data fitting to predict future monthly PR and SP using data from 2014 to 2020. The highest predicted PR for cows was in January (35.3%, 95% CI = 30.5–40.1), and the lowest was in August (12.5%, 95% CI = 7.5–17.6). Temperature-humidity index (THI) and PR were significantly negatively correlated in the same month ( $r = 0.7$ ) and 2.5 months earlier and 2.5, 5, and 7.5 months later. The predicted highest SP for cows was in September (6.2, 95% CI = 4.8–7.7) and the lowest for March (2.8, 95% CI = 1.3–4.2). The predicted highest PR in heifers was in January (62.2%, CI = 51.6–72.9) and the lowest in May (52.3%, 37.9–66.7). The cross-correlation between THI and PR in heifers was not significantly correlated in the same month, but significantly negative correlations occurred 5, 7.5, and 10 months earlier. SP in heifers were related to seasonality, with the predicted maximum SP occurring in May (1.9, CI = 1.2–2.6) and the minimum in February (1.6, CI = 1.0–2.2). It was concluded that weather strongly influenced the monthly reproductive performance rhythms of Holstein cows and heifers. Also, ARIMA models robustly forecasted reproductive outcomes of dairy cows and heifers in a hot desert climate.

**Keywords** Conception rate · Fertility · Heat stress · Services per pregnancy · Temperature-humidity index



## RESUMEN

### MODELADO DE SERIES TEMPORALES PARA RETENCION DE PLACENTA, METRITIS Y CETOSIS EN VACAS Y NOVILLAS HOLSTEIN Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES CLIMÁTICAS EN UNA ZONA CÁLIDA Y ÁRIDA

Elizabeth Pérez-Reboloso

Doctora en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Miguel Angel Mellado Bosque

Director de tesis

**RESUMEN:** Este estudio tuvo como objetivo predecir el porcentaje mensual de vacas y vaquillas Holstein en una explotación lechera intensiva que presentarían retención placentaria (RP), metritis puerperal (MP) y cetosis clínica (CC). Se utilizó un modelo ARIMA (modelo de media móvil integrada autorregresiva) para predecir los casos mensuales futuros de estas enfermedades a partir de datos de series temporales. Estas enfermedades puerperales se presentaron en una sola explotación lechera (2,560 - 3,300 vacas en ordeño durante siete años, de 2014 a 2020). El mayor porcentaje de RP predicho para las vacas se registró en mayo (11.3%, IC del 95% = 6.3-16.4) y el menor en noviembre (5.4%, IC del 95% = 0.5-10.4). La mayor incidencia pronosticada de PM en vacas se registró en julio (17.0%, IC del 95% = 12.1-21.8) y la menor en marzo (7.3%, IC del 95% = 2.5-12.1). La mayor incidencia pronosticada de CC en vacas se observó en junio (3.0%, IC del 95% = 1.8-4.3) y la menor en noviembre (1.1%, IC del 95% = -0.1-2.4). En vaquillas, la mayor incidencia pronosticada de RP se registró en agosto (20.6%, IC del 95% = 11.0-23.1) y la menor en diciembre (10.5%, IC del 95% = 7.9-13.0). En las vaquillas, la incidencia pronosticada de PM fue mayor en julio (18.8%, IC del 95% = 15.2-21.4) y menor en febrero (8.2%, IC del 95% = 5.7-10.8). La incidencia prevista de CK en las vaquillas fue mayor en mayo (2.7%, IC del 95% = 0.9-4.5) y menor en diciembre (0.7%, IC del 95% = -1.1-2.5). Se concluyó que el clima influyó notablemente en la evolución mensual de las enfermedades asociadas al parto en vacas y vaquillas.

**Palabras clave:** vacas lecheras, estrés térmico, enfermedades periparto, índice de temperatura y humedad, análisis de tendencias.

## ABSTRACT

### TIME SERIES MODELING OF RETAINED PLACENTA, METRITIS, AND KETOSIS IN HOLSTEIN COWS AND HEIFERS AND THEIR ASSOCIATION WITH CLIMATE VARIABLES IN A HOT-ARID ZONE

Elizabeth Pérez-Reboloso

Doctora en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Miguel Angel Mellado Bosque

Director de tesis

**ABSTRACT:** This study aimed to predict the monthly percentage of Holstein cows and heifers in a high-input dairy farm presenting retained placenta (RP), puerperal metritis (PM), and clinical ketosis (CK). An autoregressive integrated moving average model was used to predict future monthly cases of these diseases based on time series data. These puerperal diseases occurred from a single dairy farm (2560-3300 milking cows across seven years, 2014 to 2020). The highest predicted RP for cows was in May (11.3%, 95% CI = 6.3-16.4), and the lowest was in November (5.4%, 95% CI = 0.5-10.4). The highest predicted occurrence of PM for cows was in July (17.0, 95% CI = 12.1-21.8), and the lowest was in March (7.3, 95% CI = 2.5-12.1). The highest predicted occurrence of CK in cows was in June (3.0%, 95% CI = 1.8-4.3), and the lowest in November (1.1%, 95% CI = -0.1-2.4). For heifers, the highest predicted occurrence of RP was in August (20.6%, 95% CI= 11.0-23.1), and the lowest in December (10.5%, 95% CI= 7.9-13.0). In heifers, the predicted occurrence of PM was highest in July (18.8%, 95% CI = 15.2-21.4) and lowest in February (8.2%, 95% CI = 5.7-10.8). The projected occurrence of CK in heifers was highest in May (2.7%, 95% CI= 0.9-4.5) and lowest in December (0.7%, 95% CI= -1.1-2.5). It was concluded that the weather had a strong influence on the rhythms of monthly diseases associated with periparturient diseases in cows and heifers.

**Keywords:** dairy cows, heat stress, periparturient diseases, temperature-humidity index, trend analysis.

## INTRODUCCIÓN

La industria lechera constituye uno de los pilares económicos y sociales de mayor importancia en la industria pecuaria del norte de México, especialmente en la Región Lagunera, ubicada en los estados de Durango y Coahuila, e integrada por municipios como Torreón, Gómez Palacio y Lerdo. Esta zona destaca por su alta capacidad de producción de leche, ubicándose, según los datos de producción nacional de 2023 en el segundo y tercer lugar por estado. Como zona agropecuaria, la región lagunera ocupó el primer lugar a nivel nacional en producción de leche (SIAP 2023). Esto la consolida como una región de alta especialización productiva, a pesar de ubicarse en zonas climáticas áridas (SIAP 2023, Gallegos-Daniel y Taddei-Bringas 2023).

En este tipo de regiones con climas áridos y secos, caracterizadas por largas temporadas de altas temperaturas, hacen que el ganado sea especialmente susceptible al estrés por calor, que tiene repercusiones directas sobre la eficiencia reproductiva (Oliveira et al. 2025) la salud animal (Mellado et al. 2023) y la rentabilidad de las explotaciones lecheras (Cartwright et al. 2023, Giannone et al. 2023).

Las vacas Holstein son principalmente utilizadas en las explotaciones comerciales altamente especializadas, debido a su alta producción de leche, requieren un mayor aporte metabólico y, por lo tanto, presentan una mayor sensibilidad a los aumentos de la carga térmica ambiental (Wheelock et al. 2010). Cuando la temperatura ambiente durante el día rebaza la zona termoneutral de las vacas lecheras, y por la noche no disminuye lo suficiente, el ganado lechero no puede disipar el calor que gana durante el día, esto provoca que las vacas permanezcan en un estado constante de estrés por calor (Becker et al. 2020, Giannone et al. 2023).

El estrés por calor se presenta cuando la ganancia de calor del animal rebasa su capacidad para disiparlo, esto altera la homeostasis térmica y desencadena el inicio de una serie de ajustes fisiológicos, para tratar de recuperarla (por ejemplo, aumento en la frecuencia respiratoria y cambios en el gasto energético) (Yan et

al. 2021, Cartwright et al. 2022). También modifica aspectos conductuales como permanecer más tiempo de pie o disminuir el consumo de materia seca, entre otros (Becker et al. 2020; Giannone et al. 2023). La medida mayormente usada actualmente para estimar la carga térmica ambiental y predecir la aparición de estrés por calor en bovinos lecheros, es el índice de temperatura-humedad (ITH). Los valores rebasen umbrales de 68-72 se han asociado en diversas publicaciones con la aparición de efectos negativos (Rhoads et al. 2009, Zimbelman et al. 2009).

A nivel mundial, diversas revisiones y metaanálisis describen que el estrés por calor disminuye el consumo de materia seca (Correa-Calderón et al. 2022), afecta negativamente la producción de leche (Moore et al. 2023) y modifica la composición de la leche (Habimana et al. 2023), menor contenido de grasa y proteína (Boonkum et al. 2024), aunado al incremento de indicadores de salud como son células somáticas y problemas metabólicos (Chen et al. 2024, Habimana et al. 2023).

Con el aumento de la temperatura ambiental se presentan periodos de estacionalidad, caracterizada por aumentos periódicos en la incidencia de enfermedades. Es común que muchas enfermedades infecciosas del ganado lechero presenten patrones influenciados por el ambiente cálido (Lemal et al. 2023). Las infecciones uterinas, por ejemplo, presentan una mayor incidencia y persistencia durante la estación cálida en comparación con la estación fría (Molinari et al. 2022).

En las vacas lecheras es común la presencia de patologías posparto, lo que agrega mayor dificultad para el establecimiento de la gestación (LeBlanc 2023). Estos trastornos del periparto incluyen distocia y retención de placenta. La distocia, definida como parto difícil, es un problema económico importante tanto en la industria cárnica como en la láctea (Tsaousioti et al. 2024). Las consecuencias de la distocia incluyen mayor morbilidad y mortalidad en los terneros y las vacas, menor fertilidad posterior en las vacas y mayor necesidad de mano de obra (Roche et al. 2023). Los esfuerzos para minimizar la distocia

mejorarán la salud y la rentabilidad general del hato (Bethany J Funnell and Hilton 2016). La retención de placenta es una patología que se define como la pérdida de la capacidad para expulsar las membranas fetales entre las 12 y 24 horas después del parto. Esta condición favorece el crecimiento bacteriano, al proporcionar una fuente de nutrientes provenientes de las membranas placentarias retenidas y los fluidos presentes (loquios) (Amin and Hussein 2022). Económicamente la RP, aumenta el costo de tratamientos veterinarios, disminuye la producción de leche y predispone al desarrollo de otras enfermedades metabólicas, como también el aumento en la incidencia de metritis y endometritis (LeBlanc 2008).

Algunos estudios han reportado que las vacas Holstein que paren en temporada de verano, tienen mayor riesgo de presentar cetosis grave en comparación con las que tienen su parto en temporada de invierno (Ha et al. 2023, Jeon and Galvão 2018). En consecuencia, la estacionalidad no afecta únicamente a las enfermedades infecciosas del útero, sino también a los trastornos metabólicos que ocurren después del parto en vacas y vaquillas lecheras, como la cetosis. Ésta tiende a presentarse con mayor frecuencia en determinadas estaciones del año, dependiendo de la zona geográfica (Thammacharoen et al. 2021).

En México, investigaciones recientes en hatos comerciales han demostrado la asociación del estrés por calor con pérdidas en producción de leche y con la disminución de parámetros reproductivos en vacas Holstein (Rodríguez-Godina et al. 2024). Mellado et al. (2013) llevo a cabo un estudio que reafirma que las vacas lecheras altamente productivas, expuestas a un ambiente cálido y árido, son extremadamente sensibles a la carga térmica, lo que repercute negativamente en el desempeño reproductivo de estos animales. Como consecuencia, las explotaciones presentan pérdidas económicas directas y aumentan los requerimientos de manejo, así como la necesidad de implementar estrategias para mantener la productividad (Ogundeji et al. 2021).

Diversos estudios han descrito tendencias estacionales en parámetros reproductivos como la tasa de preñez mensual (TP) y el número de servicios por

concepción (SC) y sus impactos en la estacionalidad reproductiva (De Vries and Risco 2005, Refsdal 2007). Sin embargo, pocos estudios han documentado como estas métricas se distribuyen a lo largo del año en zonas con estrés térmico crónico. Aunado a esto, la información disponible es limitada con relación al impacto del estrés por calor en las vaquillas nulíparas. De igual manera, no se ha publicado información sobre la relación temporal entre las enfermedades periparto y el mes del año en zonas de estrés térmico intenso y prolongado. Tener conocimiento de esta información es fundamental para la planeación estratégica y administrativa para controlar las entradas de dinero, dado que la estacionalidad en los indicadores reproductivos y de salud modifican significativamente la economía del hato.

## **OBJETIVOS GENERALES**

Evaluar como el estrés calorico provoca tendencias estacionales en los patrones de tasa de preñez y servicios por concepción en vacas y vaquillas Holstein de un hato lechero altamente productivo.

Analizar los patrones estacionales de la retención de placenta (RP), metritis (PM) y cetosis clínica (CC) en novillas y vacas. Holstein dentro de una explotación lechera intensiva en un ambiente cálido, con el fin de desarrollar un modelo adecuado para predecir futuros casos de enfermedades periparto mediante el modelo ARIMA.

Evaluar el desfase temporal entre la incidencia de enfermedades periparto y las condiciones climáticas a lo largo del año.

## **HIPÓTESIS GENERALES**

Las tendencias calculadas mediante el análisis de series de tiempo constituyen métodos de pronóstico precisos para describir la estacionalidad de la TP y SC en vacas y vaquillas Holstein bajo condiciones de estrés térmico prolongado.

La incidencia de retención de placenta, metritis puerperal y cetosis clínica fluctuaría a lo largo de los meses.

La asociación entre la incidencia de enfermedades periparto y las condiciones climáticas se ve influenciada por el retraso o la presencia previa de eventos de estrés térmico.



## REVISIÓN DE LITERATURA

### 1. Estrés por calor en bovinos lecheros

#### 1.1 Antecedentes en la investigación del estrés calorico en bovinos lecheros

El estudio del estrés calorico en bovinos tomó relevancia a mediados del siglo XX. Las investigaciones reconocieron que la producción lechera y la reproducción de estos animales se veía limitada en climas cálidos. Autores como Stott y Williams (1962) describían una baja en la eficiencia reproductiva en el ganado bovino en la temporada de altas temperaturas. Reportes realizados por Johnson (1965) permitieron que se comenzara a entender la relación entre el calor ambiental y el desempeño de las vacas. En Estados unidos y Australia, se desarrolló el concepto del índice temperatura-humedad (ITH), posicionándolo como un indicador efectivo del grado de estrés calorico en bovinos lecheros. Berry et al. (1964) fueron los primeros en aplicar el concepto de temperatura-humedad en el ganado productor de leche, demostrando en la práctica que el entorno térmico impacta en el rendimiento bovino productor de leche. Ellos propusieron una fórmula que permite calcular la disminución de la producción de leche en relación al cambio climático (temperatura y humedad) la fórmula propuesta es la siguiente:

$$\text{Disminución de la producción de leche (kg/d)} = 1.075 - 1.$$

$$736 \times NL + 2.02474 \times NL \times THI$$

Donde NL es el nivel normal de producción diaria de leche (kg por día), registrado en el rango de temperatura de 10 a 18 °C, y THI es el índice de temperatura y humedad promedio diario.

Esta fórmula sigue siendo utilizada en la actualidad para realizar investigaciones en relación con el bienestar, la producción y la calidad de la leche del ganado bovino en zonas con climas cálidos y húmedos (Summer et al. 2019).

En años posteriores, diversas publicaciones profundizaron sobre el impacto fisiológico del ambiente cálido en el ganado, las respuestas termorreguladoras y

los efectos sobre la producción. El trabajo de Bianca (1965) es citado como una de las primeras síntesis académicas relacionada con el estrés calorico en ganado, y tomó gran relevancia como fuente de información para respaldar diversas investigaciones científicas. También se describió que las zonas ubicadas cerca del ecuador son más propensas a enfrentar climas que inducen estrés por calor, debido a la presencia de temporadas cálidas más extensas y niveles elevados de humedad en el ambiente (Hahn and Osburn 1969). Con el tiempo el concepto de estrés térmico se fue consolidando y hoy en día se reconoce ampliamente como un elemento que influye significativamente en el rendimiento del ganado lechero (Mbuthia et al. 2021, Dovolou et al. 2023).

### 1.2 Concepto de estrés calorico y fisiología de la termorregulación

El estrés calorico es definido como el resultado de la interacción entre factores internos y externos que influyen en el organismo del animal, generando un incremento en su temperatura corporal y desencadenando reacciones fisiológicas para contrarrestarlo (Brügemann et al. 2012). Si el animal se expone a altas temperaturas del aire exterior, con alta humedad y alta radiación, se puede afectar su bienestar animal, acumulando calor y afectándolo negativamente. En estos periodos el animal intentará mantener su temperatura corporal constante regulando el equilibrio energético (Fournel et al. 2017).

Por lo tanto, para mantener el equilibrio, el calor que se genera a través del metabolismo (crecimiento, lactancia, consumo de alimento, gestación, mantenimiento, ejercicio) debe ser igual al calor perdido al ambiente. Cuando el mecanismo falla y el animal no puede disipar calor suficiente producido o absorbido metabólicamente, no se puede mantener el equilibrio térmico (Bernabucci et al. 2014).

### 1.3 Definición del ITH

El concepto del índice de temperatura y humedad (ITH) fue desarrollado originalmente por Thom (1959), como una medida de calor enfocada en el confort en el ser humano. Tomaba en cuenta la temperatura del bulbo seco y la del bulbo húmedo. Este concepto en la actualidad sigue siendo el indicador más

ampliamente usado en diversas especies animales para evaluar el estrés térmico. Las adecuaciones a este índice se desarrollaron años más tarde e hicieron hincapié en investigar sobre el bienestar animal y como herramientas para predecir su impacto en la producción de leche y carne en ambientes cálidos y húmedos (Nam et al. 2024, Moore et al. 2025).

La fórmula propuesta por (Bianca 1962) es la siguiente:

$$\text{Índice de Temperatura y Humedad (THI)} = (0.8 \times \text{temperatura ambiental}) + \frac{\% \text{ de humedad relativa}}{100} \times (\text{temperatura ambiental} - 14.4) + 46.4$$

Bianca (1962) presentó la importancia combinada del bulbo seco y bulbo húmedo y propuso la ecuación que hoy se usa frecuentemente.

A pesar de ser aceptado y utilizado por los investigadores, el ITH puede presentar ciertas limitaciones: (1) se basa en una formulación empírica, (2) presupone que todas las vacas responden de forma similar a los factores ambientales de estrés, y (3) omite otros elementos del entorno (como la velocidad del viento y la radiación solar), así como características individuales de cada vaca (por ejemplo, edad y raza). En años recientes, los avances tecnológicos han permitido recolectar datos ambientales más precisos y extensos (como dosis absorbida de radiación, vatios-segundo y duración de la exposición), junto con variables fisiológicas (frecuencia respiratoria, temperatura rectal y corporal central, y tasa de sudoración) (Hammami et al. 2013).

#### 1.4 Mecanismos fisiológicos para disipar calor

Los bovinos cuentan con varios mecanismos integrados para enfrentar el estrés térmico: fisiológicos (vasodilatación, sudor, respiración aumentada), metabólicos (reducción del metabolismo, proteínas de choque, ajuste hormonal), conductuales (sombra, cambio de actividad e ingesta) y adaptación de largo plazo (Giannone et al. 2023). Aunque estos mecanismos ayudan mucho, su eficacia depende de la raza, la humedad ambiental, la magnitud del calor, el acceso a agua, sombra y la nutrición. Por eso, en sistemas de producción intensivos es clave combinar genética, manejo ambiental y alimentación para

minimizar los efectos negativos del calor (Oliveira et al. 2025). Estos mecanismos de disipación de calor buscan la manera de mantener la homeostasis en la vaca, en respuesta al estrés térmico, y se conoce como termo tolerancia. Esta respuesta es esencial para la supervivencia y producción de leche en ambientes muy calientes. Las proteínas de choque térmico (HSP) son una clase de auxiliares moleculares que desempeñan un papel decisivo en el mantenimiento de la homeostasis celular y la promoción de la termo tolerancia en células expuestas a altas temperaturas (Mayer and Bukau 2005).

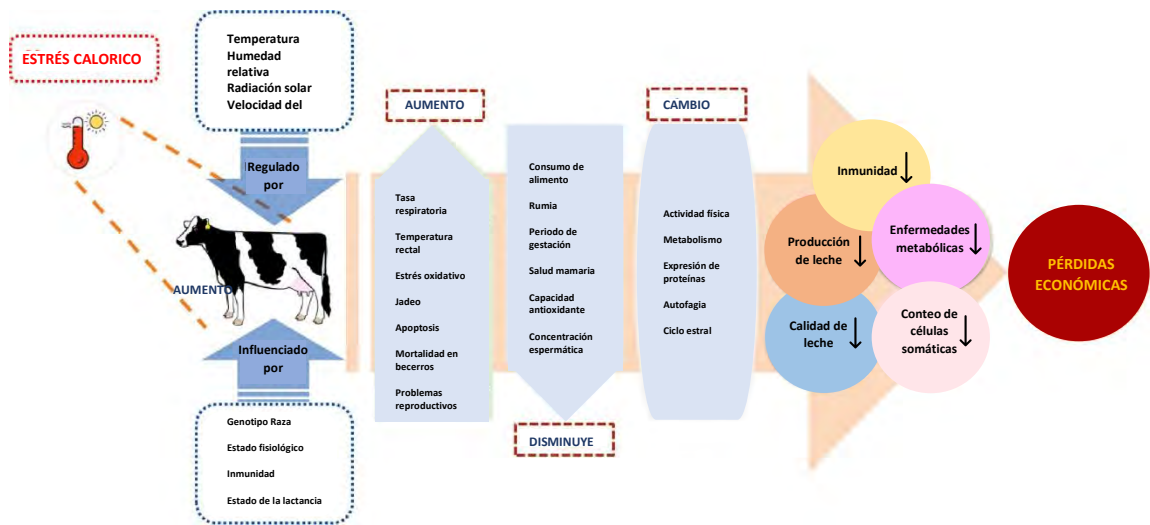


Figura 1. Diagrama que resume el impacto del estrés por calor en la salud y la productividad de las vacas lecheras. Obtenido de Rakib et al. (2024).

### 1.5 Consecuencias sobre el balance energético, consumo de materia seca y producción

Durante periodos de estrés térmico, las vacas necesitan disminuir su tasa metabólica para reducir la producción de calor (Marquez-Acevedo et al. 2023). Una estrategia consiste en una reducción de la motilidad intestinal y la rumia, y un aumento del consumo de agua, lo que conlleva una disminución de la ingesta de alimento debido a la sensación de plenitud intestinal (Spiers 2012, Koch et al. 2121). Fisiológicamente el centro regulador del apetito ubicado en el hipotálamo, puede verse afectado negativamente por el exceso de calor, promoviendo una

disminución en el consumo de materia seca a causa de daños en las neuronas hipotalámicas y una menor expresión génica de un neuropéptido implicado en la regulación de la homeostasis (He et al. 2019).

Los estudios sugieren que las vacas con mayor consumo de alimento podrían ser más vulnerables a los efectos adversos del aumento excesivo de la temperatura ambiental (Nascimento et al. 2025). El estrés térmico en el ganado bovino, repercute negativamente en el bienestar y productividad del ganado. En vacas lecheras, esto reduce la cantidad y calidad de la leche, afectando especialmente su uso en la producción de queso (Summer et al. 2019). En ganado de carne, disminuye la eficiencia reproductiva, ralentiza el crecimiento y deteriora la calidad de la carne (Bejaoui et al. 2023). Frente al cambio climático, es crucial adaptar los sistemas de manejo ganadero mediante estrategias como mejorar la alimentación, seleccionar animales más resistentes al calor y emplear tecnologías que ayuden a mitigar los efectos térmicos y optimizar la distribución de alimento (Summer et al. 2019).

El estrés térmico es un problema importante en el ganado lechero, principalmente debido a su mayor vulnerabilidad a las fluctuaciones de la temperatura ambiente, atribuida al aumento de su tasa metabólica necesaria para la producción de leche (Neves et al. 2022). Cuando el ganado lechero experimenta estrés térmico, la temperatura corporal y la frecuencia respiratoria pueden verse afectadas (Rathwa et al. 2017), lo que conlleva consecuencias para la salud (Idris et al. 2021). De hecho, el estrés térmico daña significativamente el sistema de homeostasis térmica de las vacas y altera su temperatura corporal. En el estudio Meneses et al. (2021), los resultados de la investigación revelan el impacto significativo del estrés térmico en el sistema de homeostasis térmica de las vacas. En este contexto, el estrés térmico se refiere a un estado en el que los animales experimentan dificultades para mantener su temperatura corporal normal como resultado de la exposición a calor intenso. Cuando la temperatura del aire ambiente supera los 30 °C, ejerce una presión considerable sobre la capacidad de las vacas para regular su temperatura corporal. Esto se manifiesta en

aumentos notables tanto en la temperatura ocular como en la de la superficie de la piel, lo que indica su dificultad para disipar el exceso de calor. De manera similar, Jeelani et al. (2019) investigaron la aplicabilidad del ITH para evaluar y cuantificar el estrés térmico en animales lecheros mestizos, especialmente en regiones con climas templados a cálidos. El ITH es un índice compuesto que considera tanto la temperatura como la humedad, ofreciendo una medida integral de la carga térmica ambiental. Un valor de ITH superior a 80 indica un nivel de estrés térmico particularmente alto.

En concordancia con los hallazgos previos, Scharf et al. (2010) observaron que el aumento de la temperatura corporal interna en toros Angus y *Bos taurus* adaptados (p. ej., Romosinuano) expuestos al estrés térmico se debió a una carga térmica mayor que su capacidad de disipación. Este resultado coincidió con el hallazgo de (Sejian et al. 2018). De hecho, la producción animal se vio afectada negativamente de forma significativa antes de alcanzar el umbral crítico de tolerancia, debido a la dificultad del organismo para mantener una temperatura constante. Burfeind et al. (2012) investigó los efectos del estrés térmico en la temperatura corporal de vacas lecheras sanas en el posparto temprano, durante dos periodos climáticos con ITH claramente diferentes ( $59.8 \pm 3.8$  y  $74.1 \pm 4.4$ ). Cuando una vaca percibe malestar térmico, comienza a modificar su comportamiento y experimenta adaptaciones fisiológicas (Van Os 2019). Según las investigaciones de Anderson et al. (2013), el aumento de la temperatura corporal central está fuertemente correlacionado con el tiempo que las vacas pasan de pie en un periodo de 24 horas.

El estudio de Habibu et al. (2019) demostró que, a medida que aumenta el índice de carga térmica, las vacas pasan menos tiempo echadas, la frecuencia respiratoria y la temperatura corporal aumentan. De hecho, además de las alteraciones en la temperatura corporal, el estrés térmico puede provocar un aumento de la frecuencia respiratoria en las vacas lecheras (Wang et al. 2020). A medida que aumenta el ITH, el ganado comienza a jadear intentando enfriar su cuerpo (Ramón-moragues et al. 2021). El jadeo es una forma de enfriamiento por

evaporación estrechamente relacionada con el estrés térmico (Polsky and Von Keyserlingk 2017). Además, la respiración agitada favorece la exhalación de  $\text{CO}_2$ , lo que contribuye a la acidosis ruminal. De hecho, el organismo debe mantener una relación fija de  $\text{HCO}_3^-$  a  $\text{CO}_2$  (es decir, 20:1) para funcionar como un mecanismo eficaz de amortiguación del pH sanguíneo. Debido a la reducción del  $\text{CO}_2$  en sangre causada por la hiperventilación, el riñón secreta  $\text{HCO}_3^-$  para mantener esta relación. Esto limita la cantidad de  $\text{HCO}_3^-$  disponible para amortiguar y mantener el pH ruminal 7.0 (Sammad et al. 2020).

## **2. Mecanismos fisiológicos del estrés calorico sobre el sistema inmune**

### **2.1 Impacto del estrés calorico en la respuesta inmune**

Sumado a los problemas productivos y reproductivos, el estrés térmico tiene un gran impacto en la salud del ganado lechero. Estudios han indicado que el ganado presenta una mayor incidencia a enfermedades durante periodos de estrés térmico. Este estrés puede alterar la función ruminal y, en combinación con la disminución del consumo de alimento, aumenta el riesgo de trastornos metabólicos en el ganado (Das et al. 2016).

La carga térmica generada por la producción láctea y el estado fisiológico particular de la vaca (por ejemplo, balance energético negativo, estado inmunológico al inicio de la lactancia, y el crecimiento fetal al término de la lactancia) influye en la magnitud del efecto del estrés térmico (Chen et al. 2024).

El sistema inmunitario innato y el adaptativo pueden verse afectados por el estrés térmico. El estrés provocado por el aumento en las temperaturas afecta la respuesta inmune adaptativa alterando el equilibrio entre las respuestas de los linfocitos T colaboradores tipo 1 (TH-1) y tipo 2 (TH-2), causando un predominio de la respuesta TH-2. El cortisol también está involucrado en la respuesta al estrés, al ser uno de los principales glucocorticoides producidos en respuesta al estrés térmico, se une al ADN e inhibe la expresión de genes que activan a las células TH-1 y la producción de citocinas proinflamatorias (Das et al. 2016). Lo anterior provoca el deterioro de la respuesta inmunitaria celular, la principal

responsable de la defensa contra los patógenos intracelulares (Salak-Johnson and McGlone 2007).

El estrés térmico también influye en la disminución de las citocinas proinflamatorias o TH-1 y en el aumento de las citocinas TH-2 o reguladoras (M Bagath et al. 2019). Estos estudios sugieren un cambio hacia una respuesta TH-2 o una respuesta inmune supresora, lo que puede aumentar significativamente el riesgo de enfermedades causadas por patógenos intracelulares en el ganado lechero. El estrés por calor también reduce la proliferación de linfocitos, alteración en la función de los neutrófilos, afecta la activación del complemento agregando así factores de riesgo para la presentación de enfermedades en el ganado lechero (Das et al. 2016).

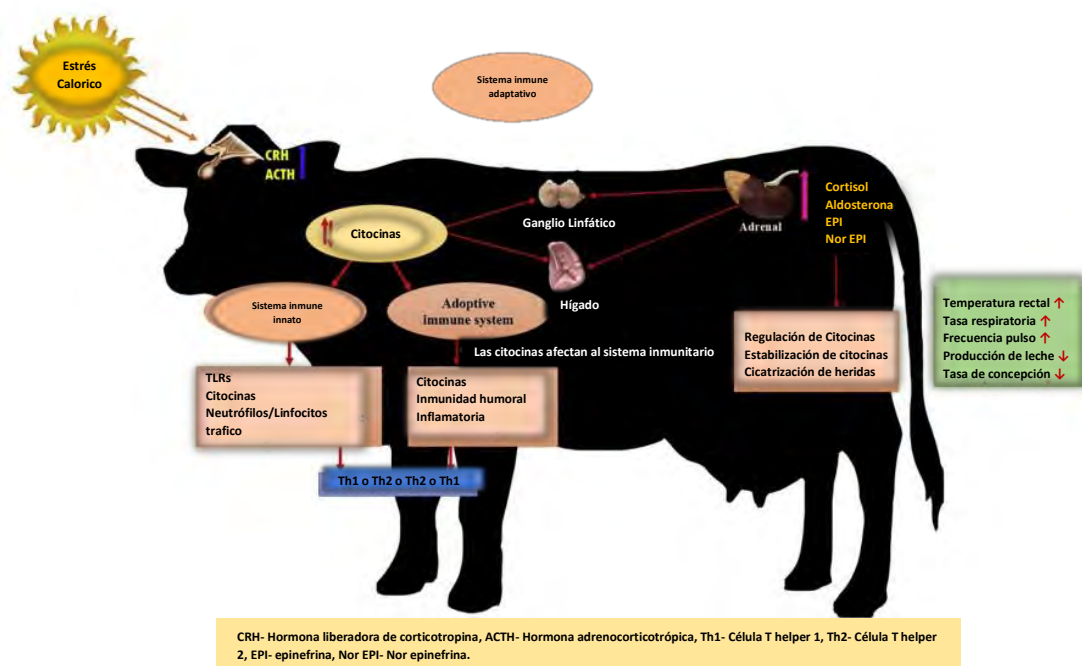


Figura 2. Descripción de los diversos impactos del estrés térmico en el sistema inmunológico del ganado lechero (M. Bagath et al. 2019).

Durante el verano, se ha observado un aumento en el recuento de células somáticas (RCS) y una reducción en el volumen y la calidad de la leche en zonas templadas (Lambertz et al. 2014; Zeinhom et al. 2016) y subtropicales (Nasr et al. 2016) con el incremento del ITH. Se esperaba que la carga patógena total



aumentara con la temperatura, pero se encontraron diversas variaciones. Lundberg et al. (2016) observaron que, en un hato estudiado durante 12 meses, infecciones como *Streptococcus dysgalactia* y *Streptococcus uberis* fueron comunes durante la temporada de pastoreo (verano) y al final de la temporada de estabulación (invierno), respectivamente. El RCS de las vacas sometidas a estrés térmico fue mayor en comparación con las vacas refrigeradas (Safa et al 2019). Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de citocinas e inmunoglobulinas fueron menores en las vacas con estrés térmico en comparación con las vacas bajo un sistema de enfriamiento, lo que indica efectos adversos del estrés térmico en la inmunidad del ganado lechero. Además, se informó que refrigerar a las vacas lactantes con ventiladores durante 8 horas al día mejoró el consumo de alimento y la producción de leche en comparación con las vacas sometidas a estrés térmico. Por lo tanto, se puede concluir que las estrategias de mitigación del estrés por calor pueden ser útiles para eliminar los efectos adversos del estrés por calor.

Se ha descrito una relación entre el estrés por calor y las enfermedades uterinas. Durante el verano, la incidencia de retención placentaria y metritis posparto fue mayor (24.05 % frente a 12.24 %) en comparación con el resto del año (Mellado et al. 2023). Otro estudio que investigó el impacto del ITH en la mastitis y los trastornos puerperales en 22 212 vacas (Gernand et al. 2019) informó que la incidencia de mastitis, retención placentaria y trastornos puerperales aumentó con el incremento del ITH desde el día 0 hasta el día 10 posparto. En vacas al inicio de la lactancia, el estrés por calor tuvo un efecto más perjudicial sobre la productividad y la fertilidad. Datos recientes muestran que un mayor número de vacas padeció enfermedad uterina persistente durante la temporada de calor y que la recuperación fue más lenta que durante la temporada de frío. Asimismo, la gravedad de la enfermedad uterina se asoció con una menor producción de leche durante los primeros 60 días de lactancia (Molinari et al. 2019).

Además, estudios in vitro también han demostrado el efecto del EC sobre la función inmunitaria del ganado lechero (Lacetera et al. 2006). En uno de estos estudios, realizado por Lacetera et al. (2006), se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de vacas Pardo suizo y Holstein y se expusieron a ciclos de temperatura que oscilaron entre 39 °C y 43 °C. La temperatura de 39 °C simulaba la normotermia, mientras que las demás simulaban la hipertermia severa. Se observó que la HSP72 aumentaba y las especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares disminuían debido al incremento de la temperatura de incubación.

## 2.2 Efecto del estrés calorico sobre el sistema inmune en el periparto

El efecto del medio ambiente en la salud y productividad de las vacas es muy alto. Se ha demostrado que, en la producción, la salud y la reproducción de las vacas lecheras en lactancia tiene efectos negativos en la mayoría de estos animales (Gupta et al. 2022). En la etapa de vaca seca o también llamadas no lactantes el estrés térmico durante la última etapa de la gestación tiene efectos amplios sobre el periodo preparto y posparto. Altera la función inmunitaria en el periodo de transición, en el periodo seco afecta negativamente el desarrollo de la glándula mamaria. El estrés térmico materno al final de la gestación también compromete el desarrollo placentario y el crecimiento fetal, y afecta negativamente la competencia inmunitaria de la cría (Tao and Dahl 2013).

Durante la última etapa de la gestación, el estrés térmico provoca un aumento en la concentración de la prolactina circulante, que se traduce en una menor expresión de sus receptores. Este ciclo de retroalimentación negativa, derivado del aumento de la prolactina circulante, también se asocia con una respuesta humoral disminuida, lo que implica menor producción de anticuerpos para responder contra un antígeno (Ettema and Santos 2004).

### 2.3 Distocia y retención de placenta

Las vacas sometidas a estrés por calor e hipertermia, tienen células inmunitarias afectadas, lo que puede predisponer a las vacas a presentar diversas enfermedades (Menta et al. 2022). La distocia, entendida como un parto difícil, constituye un problema de relevancia económica en los sistemas de producción bovina. Esta condición se asocia con un incremento en la morbilidad y mortalidad de vacas y terneros, una reducción en la fertilidad posterior (Funnell and Hilton 2016).

La distocia se relaciona con la ocurrencia de partos gemelares y mortinatos, siendo más frecuente cuando las vacas paren crías muertas en partos de gemelos. El estrés térmico altera la fisiología materna y fetal, afectando el metabolismo, la inmunidad y el desarrollo del becerro. La exposición a hipertermia durante la gestación incrementa el riesgo de mortinatos, especialmente cuando el ITH supera las 83 unidades (Bahrami-Yekdangi et al. 2022).

Diversos estudios de investigación y ensayos de campo han analizado los factores de riesgo relacionados con la distocia. En la mayoría de los casos, se identifican la edad de la vaca, el número de partos previos y la desproporción entre el tamaño fetal y el materno como los principales determinantes de riesgo (Funnell and Hilton 2016). Las tasas de distocia reportadas en el ganado lechero a nivel internacional son generalmente inferiores al 5%, con excepción de Estados Unidos, donde son más elevadas. Debido a la distribución asimétrica de las tasas de distocia en los hatos, las cifras promedio ocultan la alta prevalencia en algunos hatos. Las tendencias de distocia fenotípica están aumentando a nivel internacional, tendencia que se ha atribuido parcialmente a la introducción de genes Holstein. Los principales tipos de distocia difieren entre vacas primíparas y multíparas, predominando la desproporción feto pélvica en las primeras y la malposición fetal en las segundas. Los dos principales determinantes de la diferencia feto-pelvis, en orden de importancia, son el peso al nacer del becerro y el tamaño de la pelvis materna. La posición fetal anormal está influenciada

principalmente por el número de fetos, la paridad y la raza del padre del becerro (Mee 2008).

La retención de placenta, mastitis y problemas respiratorios se han asociado con una mayor incidencia cuando las vacas son expuestas a estrés térmico durante el periodo preparto (Thompson and Dahl 2012). La retención placentaria se define como la incapacidad de expulsar la placenta en las primeras 24 horas posparto (Amin et al. 2023). Entre los principales factores que predisponen a la retención de placenta se encuentran los partos gemelares, el parto distócico, la pérdida del ternero antes o durante el nacimiento, la inducción del parto, los abortos, la hipocalcemia posparto y la mayor edad del animal, junto con influencias estacionales que pueden variar según las condiciones del año (Sandals et al. 1979).

La falla del desprendimiento de la placenta parece estar principalmente relacionada con una deficiencia del sistema inmunológico para degradar adecuadamente los placentomas al final de la gestación. Las vacas que presentan un mayor grado de balance energético negativo antes del parto, evidenciado por concentraciones elevadas de ácidos grasos no esterificados (NEFA), tienen un 80 % más de probabilidad de desarrollar retención de placenta. Además, considerando el efecto de los NEFA, aquellas con niveles más bajos de vitamina E en sangre muestran un riesgo aún mayor de padecer esta afección (LeBlanc et al. 2004).

#### 2.4 Enfermedades metabólicas (cetosis e hígado graso)

El periodo de transición (última etapa de la gestación y el inicio de la lactancia) representa un proceso fisiológicamente exigente para las vacas lecheras y constituye el periodo de mayor incidencia de enfermedades y trastornos metabólicos (Drackley 1999; Mezzetti et al. 2021). El hígado es uno de los principales órganos implicados en el metabolismo de proteínas, lípidos, glucosa, aminoácidos, vitaminas y hormonas (Kirchgessner et al. 2016, Puchalska and Crawford 2017); estos procesos se ven alterados en vacas lecheras expuestas al estrés por calor (Tian et al. 2015, 2016). Las vacas muestran un deterioro en

la función mitocondrial y alteraciones en el metabolismo de los lípidos, carbohidratos y aminoácidos en el hígado. A partir de la variación en la abundancia de proteínas involucradas en estas rutas, se sugiere que las vacas afectadas por el estrés térmico podrían experimentar una menor producción de ATP, incrementando el estrés oxidativo, modificaciones en el aporte de precursores para la gluconeogénesis y acumulación de grasa en el hígado, lo que favorece el desarrollo de esteatosis hepática. En consecuencia, dichas alteraciones en la función hepática pueden estar relacionadas con trastornos metabólicos en el periodo de transición (Skibieli et al. 2018).

La cetosis es un trastorno metabólico frecuente que afecta a las vacas lecheras de alta producción durante la etapa posterior al parto y suele estar relacionada con diversas enfermedades típicas del posparto, tales como metritis, mastitis, hipocalcemia puerperal, cojera, alteraciones gastrointestinales, cetosis clínica y diarrea vinculada al inicio de la lactancia. La cetosis puede manifestarse mediante diferentes signos clínicos, entre los que se incluyen la pérdida del apetito, la reducción en la producción láctea, la disminución del peso corporal, la preferencia por el consumo de forraje en lugar de concentrado, la presencia de heces secas, un olor dulce o afrutado en el aliento o en la leche, así como postración y alteraciones del comportamiento, como lamidos repetitivos o actitudes agresivas (Duffield 2000; Berge and Vertenten 2014; Lei and Simões 2021).

Es importante considerar que la última etapa de la gestación de la vaca puede dedicarse casi por completo al crecimiento del feto, por lo que las necesidades energéticas aumentan (Bell 1995). Estas necesidades se ven incrementadas por la demanda de nutrientes para el desarrollo de la glándula mamaria, que comienza a aparecer en esta etapa; todos estos requerimientos se ven agravados o disminuidos por la reducción en la ingesta de materia seca que ocurre al final de la gestación (Ingvarsen 2006), debido principalmente a la compresión que el útero grávido ejerce sobre el rumen.

En comparación con el período preparto, al inicio de la lactancia, la producción de leche requiere un aporte energético en la dieta entre un 30 % y un 50 % mayor (Benedet et al. 2019). Estos requerimientos se reflejan en la disminución de la concentración de glucosa plasmática después del parto, principalmente en vacas de alta producción, lo que indica la prioridad del aporte energético para la producción de leche en la glándula mamaria; principalmente para producir lactosa (glucosa + galactosa), el principal regulador osmótico de la secreción de agua por la glándula mamaria, que determina así el volumen total de leche producida. Alrededor del 85% de la glucosa producida al comienzo de la lactancia está destinada a la glándula mamaria (Van Kneysel et al. 2014).

Sin embargo, este aumento en la ingesta no se produce porque, por el contrario, se observa una disminución más pronunciada en la ingesta de materia seca 24 horas antes del parto, la cual solo se recupera a los valores previos a esta disminución 24 horas después del parto (Schirmann et al. 2013), debido a la aparición de la sensación de hambre en respuesta al aumento de la demanda nutricional 38. Aun así, los valores equivalentes a los de la ingesta previa al parto son insuficientes para cubrir el 30 al 50 % adicional de energía necesario para la producción de leche (Gruber and Mansfeld 2019). Esta discrepancia entre la demanda nutricional y las reservas disponibles contribuye al establecimiento del balance energético negativo (BEN) (Herdt 2000).

Dadas las mayores necesidades energéticas para la producción de leche (cuyo pico se alcanza generalmente a las cuatro semanas) y considerando que la capacidad máxima de ingesta se recupera solo entre 7 y 8 semanas después del parto, la respuesta adaptativa esperada (una adaptación del metabolismo anabólico al catabólico (Belić et al. 2018) suele ser insuficiente para satisfacer estas mismas necesidades, especialmente en vacas con alto rendimiento productivo (Benedet et al. 2019), lo que eventualmente conduce a la cetosis después del parto.

## 2.5 Enfermedades uterinas (metritis y endometritis)

Las afecciones que se presentan alrededor del parto, como la metritis y la mastitis, son comunes durante las primeras semanas del posparto y generan repercusiones significativas en la productividad, la capacidad reproductiva y la supervivencia de las vacas lecheras (Gröhn and Rajala-Schultz 2000; Carvalho et al. 2019). El útero agrandado después del parto contiene restos placentarios y loquia, que facilitan la proliferación de microorganismos y el desarrollo de infecciones uterinas (Ribeiro 2015).

La aparición de metritis tiende a incrementarse durante los periodos de estrés térmico. Este tipo de estrés, especialmente en la etapa final de la gestación, puede debilitar los mecanismos naturales de defensa del útero. Además, las temperaturas elevadas y la alta humedad ambiental favorecen la proliferación de microorganismos patógenos en el entorno, aumentando así el riesgo de infecciones (Santos and Ribeiro 2014).

Las vacas que padecen enfermedades uterinas, como la metritis, suelen presentar una menor tasa de fertilización, dificultades en el desarrollo embrionario temprano y una mayor probabilidad de pérdida gestacional (Santos and Ribeiro 2014; Kasimanickam et al. 2025).

La etiología de las enfermedades uterinas en vacas posparto es multifactorial y dinámica. Implica una compleja interacción entre patógenos oportunistas, defensas inmunitarias innatas y adaptativas, factores de estrés ambiental y el estado nutricional (Drillich and Wagener 2018). Patógenos como *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* y *Escherichia coli* suelen predominar en las infecciones uterinas y a menudo se encuentran presentes en comunidades polimicrobianas que pueden formar biopelículas (Knudsen et al. 2016; Galvao et al. 2019), lo que aumenta la persistencia bacteriana y la resistencia a la terapia antimicrobiana, complicando la resolución de la enfermedad (Santos and Bicalho 2012). Además, la respuesta inflamatoria del huésped, necesaria para la eliminación bacteriana, puede dañar el tejido y retrasar la cicatrización uterina si se desregula (Fischer et al. 2010). Este delicado equilibrio entre el control de la

infección y la reparación tisular mediada por el sistema inmunitario subraya la complejidad de las enfermedades uterinas posparto y las dificultades para predecir y manejar su progresión (Chapwanya et al. 2009). El diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades uterinas posparto siguen presentando considerables desafíos. Los métodos de diagnóstico tradicionales, por ejemplo, el examen clínico, la ecografía y la citología, pueden ser subjetivos y a menudo no logran detectar infecciones subclínicas ni predecir la gravedad de la enfermedad (Barlund et al. 2008).



### **3. Mecanismos fisiológicos del estrés por calor sobre la reproducción**

#### **3.1 Alteraciones endocrinas del comportamiento estral**

Se sabe que el estrés (ya sea físico o inflamatorio) actúa como inhibidor de la secreción de gonadotropina, alterando la ciclicidad ovárica (Gaully et al. 2013, Hou et al. 2021). Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual el estrés altera la secreción normal de gonadotropina no se entiende completamente. Evidencias sugieren que el cortisol actúa en el hipotálamo, suprimiendo la pulsatilidad de GnRH. Además, los receptores de glucocorticoides están presentes en las células de la granulosa, y se ha demostrado que en presencia de glucocorticoides, las células de la granulosa pierden parte de su capacidad de respuesta a los estímulos gonadotróficos, lo que conduce a una capacidad esteroidogénica deteriorada (Manica et al. 2022).

El ganado lechero expuesto a estrés por calor presenta una reducción en la proliferación de linfocitos, células clave en la defensa frente a infecciones, lo que provoca un debilitamiento del sistema inmunitario. De manera similar, los neutrófilos se ven afectados, ya que la expresión de L-selectina en su superficie limita su capacidad de migrar hacia el sitio donde deben actuar para combatir infecciones, de esta manera intervienen de manera negativa en la función inmunitaria (Țogoe and Mincă 2024).

El estrés por calor constituye uno de los principales factores que limitan la eficiencia reproductiva en bovinos lecheros y productores de carne. La elevada temperatura ambiental, especialmente cuando se combina con alta humedad, genera un desbalance en la homeostasis térmica del animal que afecta tanto la fisiología general como procesos clave de la reproducción. En las vacas lecheras, la exposición a estrés térmico se ha asociado consistentemente con una reducción significativa en la tasa de concepción y en la eficiencia de programas de inseminación artificial (Roth 2017; De Rensis et al. 2021).

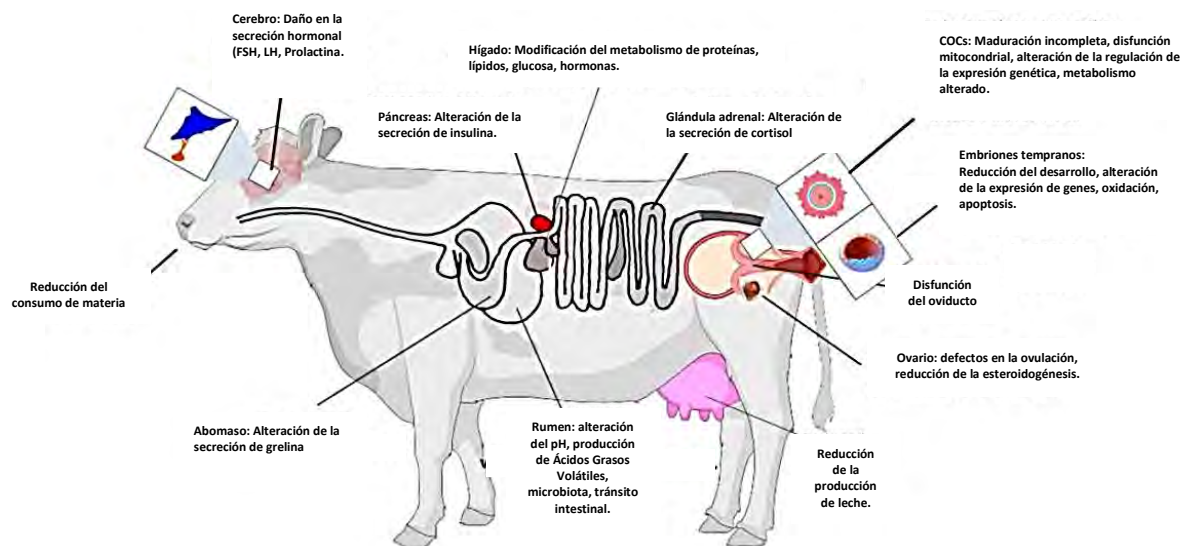


Figura 3. Representación esquemática de los sitios importantes de acción del estrés por calor en las vacas lecheras que afectan directa o indirectamente su desempeño reproductivo. Adaptado de Dovolou et al. (2023).

Si bien diversos estudios indican que la capacidad de concepción de la vaca se reduce significativamente bajo condiciones de estrés térmico (Rensis and Scaramuzzi 2003; Mellado et al. 2013), los mecanismos subyacentes a esta alteración aún no se comprenden del todo. De hecho, el mecanismo exacto que determina cómo la vaca reinicia la ciclicidad ovárica posparto, si se produce la fecundación o si el embrión sobrevive durante el estrés térmico, dando como resultado una cría sana, aún no se ha dilucidado (Rahman et al. 2018). Generalmente se acepta que el estrés térmico tiene un efecto multifactorial sobre la función reproductiva. La gametogénesis bovina, en particular los espermatozoides, la vesícula germinal y los ovocitos en maduración, así como los embriones tempranos, son los principales objetivos de los efectos nocivos del estrés térmico (Paula-Lopes et al. 2013; Roth 2018). Curiosamente, incluso las células del cúmulo que rodean al ovocito son altamente susceptibles al estrés térmico. Por ejemplo, los complejos cúmulo-ovocito recolectados de folículos de 3 a 6 mm en la temporada cálida (mayo-septiembre) mostraron una competencia reducida para la fertilización y el desarrollo embrionario posterior (Gendelman and Roth 2012).

Estos autores demostraron que, tanto en modelos in vivo como in vitro, la exposición de ovocitos en estadio de vesícula germinal a temperaturas elevadas redujo su competencia para el desarrollo, afectando en igual medida la abundancia de transcriptores de genes implicados en la maduración del ovocito y el desarrollo embrionario temprano. En consecuencia, Pavani et al. (2016) demostraron que DNMT1, Cx43 y HSPA14 se encontraban subregulados en embriones producidos durante los meses cálidos en comparación con los meses más fríos. Además, el efecto retardado del estrés térmico estival sobre la calidad de los ovocitos y el desarrollo embrionario también se observó en otoño, requiriendo un periodo de dos a tres ciclos estrales para recuperarse del calor y permitir la aparición de ovocitos competentes. Por el contrario, la eliminación de folículos dañados de vacas previamente sometidas a estrés térmico propició la aparición más temprana de folículos sanos y ovocitos de alta calidad en otoño (Roth 2018).

### 3.2 Disminución de la secreción pulsátil de LH y alteraciones del pico preovulatorio

La función ovárica está regulada por una interacción coordinada entre la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) hipotalámica, las gonadotropinas de la hipófisis anterior (hormona folículo estimulante y hormona luteinizante), los esteroides gonadales (progesterona y estradiol) y los péptidos foliculares (inhibina, activina, follistatina). Sin embargo, actualmente se ha comprobado que otras hormonas y metabolitos, como la glucosa, el cortisol, la hormona del crecimiento, la prolactina, la grelina y la kisspeptina, afectan la función gonadal, actuando tanto a nivel central (hipotálamo, hipófisis) como en los tejidos periféricos (p. ej., ovarios) (Dovolou et al. 2023).

La alteración en la producción de estradiol también juega un papel importante en la baja fertilidad que se observa en las vacas lecheras en el verano. Según Lee et al. (2016), esta hormona es clave para una correcta expresión del estro. Cuando su secreción se ve afectada, se presentan signos débiles de celo, más ovulaciones silenciosas (Hansen, 2007), una maduración deficiente de folículos

y ovocitos, y cuerpos lúteos con menor capacidad de secreción (Shilja et al. 2016).

El impacto del estrés por calor en la hormona luteinizante en vacas lecheras no está completamente claro. Algunos estudios no detectan cambios, otros reportan aumentos, y algunos muestran una disminución en sus niveles. Los investigadores asocian estas diferencias con la variabilidad entre estudios y sus diferencias en los diseños experimentales. Además, factores como el tipo e intensidad del estrés (medidos a través del cortisol) parecen influir directamente en cómo se regula la secreción de hormona luteinizante (Dovolou et al. 2023).

Los efectos identificados de los altos niveles de cortisol sobre la LH y la FSH difieren entre los estudios. Se describe que el aumento de cortisol asociado al estrés por calor conlleva una inhibición de la GnRH que, a su vez, reduce los niveles de LH (Gilad et al. 1993). Sin embargo, Ryan and Boland (1991) demostraron una mayor prevalencia de partos gemelares durante la época de calor. Plantearon la hipótesis de que una producción insuficiente de inhibina para prevenir la aparición de más de un folículo dominante podría explicar este resultado.

Las vacas sometidas a estrés por calor presentan niveles más bajos de estradiol (E2) debido a la pérdida de función de las células de la teca y la granulosa; estos tejidos cultivados in vitro a 41 °C mostraron una producción de E2 un 30 % menor (68). De manera similar, la progesterona (P4) disminuyó durante la época de calor debido a la pérdida de función de las células luteales (De Rensis et al. 2015). Además, las células estromales endometriales aumentaron significativamente la producción de PGF2 $\alpha$ , PGE2 y COX2 bajo estrés por calor (Sakai et al. 2018), lo que puede afectar la función y la duración del cuerpo lúteo.

### 3.3 Menor expresión y detección de estro

Uno de los efectos más visibles del estrés por calor es la reducción de la expresión y detección del estro. Las vacas bajo estrés por calor presentan menor actividad física y tiempos más cortos de manifestación del celo, lo que dificulta la

identificación por parte de los productores y compromete la eficiencia de los programas reproductivos. Este fenómeno ha sido reportado como una de las principales causas de la baja tasa de detección de estros en climas cálidos, lo que se traduce en un retraso en los intervalos parto-concepción (Schüller et al. 2017). En vacas sometidas a estrés térmico, la duración e intensidad del estro se ven alteradas; por ejemplo, la actividad y otras manifestaciones del estro disminuyen (Hansen and Aréchiga 1999), y aumenta la incidencia de anestro y ovulación silente (Szalai et al. 2025). Las vacas pueden volverse acíclicas bajo la influencia del estrés térmico debido a la hipertermia, el estrés oxidativo y las modificaciones fisiológicas en su organismo (Sammad et al. 2020). Se han desarrollado tecnologías automatizadas basadas en sensores que monitorean y registran continuamente información detallada sobre la vaca, lo que puede mejorar el manejo reproductivo de las explotaciones lecheras (Reith and Hoy 2018). López-Gatius et al. (2005) detectaron un aumento significativamente menor en la actividad de desplazamiento durante el verano. La expresión de la actividad de monta se inhibe mientras la temperatura ambiental máxima supere la zona termoneutral.

### 3.4 Elevación de cortisol y supresión del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

La vía de secreción de cortisol inducida por estrés por calor, implica la estimulación inicial de las neuronas paraventriculares para secretar la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que actúa sobre los corticotropos adenohipofisarios, estimulando la secreción de ACTH e induciendo la síntesis de cortisol por la corteza suprarrenal. Si el estímulo persiste, los niveles de cortisol aumentan de forma constante y se estabilizan a las 2 a 4 h. Sin embargo, bajo exposición continua (7 semanas) a altas temperaturas, se activa una vía de aclimatación y los niveles descienden a niveles suprabasales (Gauly et al. 2013). El desarrollo folicular irregular, durante el estrés por calor debe estar vinculado principalmente a la comunicación perturbada del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, resultante de un círculo vicioso que incluye un soporte gonadotrófico deteriorado (ya sea directamente o mediado por la interferencia de otros estímulos extraaxiales) y una esteroidogénesis ovárica subóptima. En muchos

informes, la funcionalidad desviada del eje HPG se ha examinado independientemente de las alteraciones que ocurren debido al estrés por calor, en el estado metabólico de las vacas. Por ejemplo, durante el estrés por calor, la ingesta de materia seca de las vacas disminuye, lo que lleva a un balance energético negativo (Stone et al. 2017).

### 3. 5 Efectos sobre el desarrollo folicular, la calidad ovocitaria y el embrión

La exposición a altas temperaturas genera cambios en la dinámica folicular, reduciendo la dominancia y la calidad del folículo preovulatorio. Esto tiene un impacto directo en la capacidad del ovocito para completar la maduración nuclear y citoplasmática. Investigaciones recientes confirman que los ovocitos expuestos a estrés térmico presentan menor competencia para ser fertilizados y para sostener un desarrollo embrionario adecuado (De Rensis et al. 2021; Capela et al. 2025). La maduración y viabilidad del ovocito también se ven seriamente comprometidas. Roth (2017) señala que el calor afecta la organización del huso meiótico y altera el metabolismo mitocondrial del ovocito, limitando su potencial para generar un embrión viable. Estos efectos son acumulativos y explican en parte la baja tasa de fertilización observada en verano en zonas de clima cálido. Un problema crítico asociado es la muerte embrionaria temprana, que ocurre durante los primeros días posteriores a la fertilización. Estudios como los de Nanas et al. (2021) muestran que la exposición a altas temperaturas reduce la supervivencia de embriones en etapa de mórula y blastocisto, lo que conlleva a una disminución de la tasa de preñez. Schüller et al. (2017) destacan que este fenómeno es una de las principales razones de la menor eficiencia reproductiva en regiones tropicales y subtropicales.

## REFERENCIAS

- Amin, Y. A., Elqashmary, H. A., Karmi, M., and Essawi, W. M. 2023. Different protocols in treatment of placental retention in dairy cows and their influences on reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(8), 1114-1124.
- Amin, Y. A., and Hussein, H. A. 2022. Latest update on predictive indicators, risk factors and 'Omic' technologies research of retained placenta in dairy cattle – A review. *Reproduction in Domestic Animals* 57(7), 687-700.
- Bagath, M., G. Krishnan, C. Devaraj, V. P. Rashamol, P. Pragna, A. M. Lees, and V. Sejian. 2019. "The Impact of Heat Stress on the Immune System in Dairy Cattle: A Review." *Research in Veterinary Science* 126(July):94–102. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.08.011.
- Bahrami-Yekdangi, M., G. R. Ghorbani, A. Sadeghi-Sefidmazgi, A. Mahnani, J. K. Drackley, and M. H. Ghaffari. 2022. "Identification of Cow-Level Risk Factors and Associations of Selected Blood Macro-Minerals at Parturition with Dystocia and Stillbirth in Holstein Dairy Cows." *Scientific Reports* 12(1):1–17. doi: 10.1038/s41598-022-09928-w.
- Becker, C. A., R. J. Collier, and A. E. Stone. 2020. "Invited Review: Physiological and Behavioral Effects of Heat Stress in Dairy Cows." *Journal of Dairy Science* 103(8):6751–70. doi: 10.3168/jds.2019-17929.
- Berge, Anna C., and Geert Vertenten. 2014. "A Field Study to Determine the Prevalence, Dairy Herd Management Systems, and Fresh Cow Clinical Conditions Associated with Ketosis in Western European Dairy Herds." *Journal of Dairy Science* 97(4):2145–54. doi: 10.3168/jds.2013-7163.
- Bernabucci, U., S. Biffani, L. Buggiotti, A. Vitali, N. Lacetera, and A. Nardone. 2014. "The Effects of Heat Stress in Italian Holstein Dairy Cattle." *Journal of Dairy Science* 97(1):471–86. doi: 10.3168/jds.2013-6611.
- Berry, I. L., M. D. Shanklin, and H. D. Johnson. 1964. "Dairy Shelter Design Based on Milk Production Decline as Affected by Temperature and Humidity." *Transactions of the ASAE* 7(3):329–31.
- Bianca, W. 1962. "Relative Importance of Dry- and Wet-Bulb Temperatures in Causing Heat Stress in Cattle." *Nature* 195:251–52.
- Bianca, W. 1965. "Section A. Physiology. Cattle in a Hot Environment." *Journal of Dairy Research* 32(3):291–345. doi: DOI: 10.1017/S0022029900018665.
- Cartwright, Shannon L., Julie Schmied, Niel Karrow, and Bonnie A. Mallard. 2023. "Impact of Heat Stress on Dairy Cattle and Selection Strategies for Thermotolerance: A Review." *Frontiers in Veterinary Science* 10(June):1–13. doi: 10.3389/fvets.2023.1198697.
- Carvalho, M. R., F. Peñagaricano, J. E. P. Santos, T. J. DeVries, B. W. McBride, and E. S. Ribeiro. 2019. "Long-Term Effects of Postpartum Clinical Disease

- on Milk Production, Reproduction, and Culling of Dairy Cows.” *Journal of Dairy Science* 102(12):11701–17. doi: 10.3168/jds.2019-17025.
- Chen, L., V. M. Thorup, A. B. Kudah, and S. Østergaard. 2024. “Effects of Heat Stress on Feed Intake, Milk Yield, Milk Composition, and Feed Efficiency in Dairy Cows: A Meta-Analysis.” *Journal of Dairy Science* 107(5):3207–18. doi: 10.3168/jds.2023-24059.
- Correa, M. T., H. Erb, and J. Scarlett. 1993. “Path Analysis for Seven Postpartum Disorders of Holstein Cows.” *Journal of Dairy Science* 76(5):1305–12. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77461-5.
- Das, Ramendra, Lalrengpuui Sailo, Nishant Verma, Pranay Bharti, Jnyanashree Saikia, Intiwati, and Rakesh Kumar. 2016. “Impact of Heat Stress on Health and Performance of Dairy Animals: A Review.” *Veterinary World* 9(3):260–68. doi: 10.14202/vetworld.2016.260-268.
- Dovolou, Eleni, Themistoklis Giannoulis, Ioannis Nanas, and Georgios S. Amiridis. 2023. “Heat Stress: A Serious Disruptor of the Reproductive Physiology of Dairy Cows.” *Animals* 13(11):1–24. doi: 10.3390/ani13111846.
- Drackley, James K. 1999. “Biology of Dairy Cows During the Transition Period: The Final Frontier?” *Journal of Dairy Science* 82(11):2259–73. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3).
- Duffield, Todd. 2000. “Subclinical Ketosis in Lactating Dairy Cattle.” *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16(2):231–53. doi: [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30103-1](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30103-1).
- Ettema, J. F., and J. E. P. Santos. 2004. “Impact of Age at Calving on Lactation, Reproduction, Health, and Income in First-Parity Holsteins on Commercial Farms.” *Journal of Dairy Science* 87(8):2730–42. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73400-1.
- Fournel, Sébastien, Véronique Ouellet, and Édith Charbonneau. 2017. “Practices for Alleviating Heat Stress of Dairy Cows in Humid Continental Climates: A Literature Review.” *Animals* 7(5):1–23. doi: 10.3390/ani7050037.
- Funnell, Bethany J, and W. Mark Hilton. 2016. “Management and Prevention of Dystocia.” *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 32(2):511–22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.016>.
- Funnell, Bethany J., and W. Mark Hilton. 2016. “Management and Prevention of Dystocia.” *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 32(2):511–22. doi: 10.1016/j.cvfa.2016.01.016.
- Gallegos-Daniel, Cecilia; Taddei-Bringas, Cristina y Gonzalez-Córdoba Aarón F. 2023. “Panorama de La Industria Láctea En México.” *Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional* 33(61):291.
- Gauly, M., H. Bollwein, G. Breves, K. Brügemann, S. Dänicke, G. Daş, J. Demeler, H. Hansen, J. Isselstein, S. König, M. Lohölter, M. Martinsohn, U. Meyer, M.



- Potthoff, C. Sanker, B. Schröder, N. Wrage, B. Meibaum, G. Von Samson-Himmelstjerna, H. Stinshoff, and C. Wrenzycki. 2013. "Future Consequences and Challenges for Dairy Cow Production Systems Arising from Climate Change in Central Europe - A Review." *Animal* 7(5):843–59. doi: 10.1017/S1751731112002352.
- Giannone, Claudia, Marco Bovo, Mattia Ceccarelli, Daniele Torreggiani, and Patrizia Tassinari. 2023. "Review of the Heat Stress-Induced Responses in Dairy Cattle." *Animals* 13(22). doi: 10.3390/ani13223451.
- Goff, J. P., and R. L. Horst. 1997. "Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders." *Journal of Dairy Science* 80(7):1260–68. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7.
- Gröhn, Y. T., and P. J. Rajala-Schultz. 2000. "Epidemiology of Reproductive Performance in Dairy Cows." *Animal Reproduction Science* 60:605–14.
- Ha, Seungmin, Seogjin Kang, Mooyoung Jeong, Manhye Han, Jihwan Lee, Hakjae Chung, and Jinho Park. 2023. "Characteristics of Holstein Cows Predisposed to Ketosis during the Post-Partum Transition Period." *Veterinary Medicine and Science* 9(1):307–14. doi: 10.1002/vms3.1006.
- Habimana, Vincent, Athumani Shabani Nguluma, Zabron Cuthibert Nziku, Chinyere Charlotte Ekine-Dzivenu, Gota Morota, Raphael Mrode, and Sebastian Wilson Chenyambuga. 2023. "Heat Stress Effects on Milk Yield Traits and Metabolites and Mitigation Strategies for Dairy Cattle Breeds Reared in Tropical and Sub-Tropical Countries." *Frontiers in Veterinary Science* 10(July). doi: 10.3389/fvets.2023.1121499.
- Hahn, G. LeRoy, and D. D. Osburn. 1969. "Feasibility of Summer Environmental Control for Dairy Cattle Based on Expected Production Losses." *Transactions of the ASAE* 12(4):448–51.
- Hammami, H., J. Bormann, N. M'hamdi, H. H. Montaldo, and N. Gengler. 2013. "Evaluation of Heat Stress Effects on Production Traits and Somatic Cell Score of Holsteins in a Temperate Environment." *Journal of Dairy Science* 96(3):1844–55. doi: 10.3168/jds.2012-5947.
- He, Xiaofang, Zhuang Lu, Bingbing Ma, Lin Zhang, Jiaolong Li, Yun Jiang, Guanghong Zhou, and Feng Gao. 2019. "Chronic Heat Stress Alters Hypothalamus Integrity, the Serum Indexes and Attenuates Expressions of Hypothalamic Appetite Genes in Broilers." *Journal of Thermal Biology* 81:110–17. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.02.025>.
- Hou, Y., L. Zhang, R. Y. Dong, M. Y. Liang, Y. Lu, X. Q. Sun, and X. Zhao. 2021. "Comparing Responses of Dairy Cows to Short-Term and Long-Term Heat Stress in Climate-Controlled Chambers." *Journal of Dairy Science* 104(2):2346–56.
- Jeon, Soo Jin, and Klibs N. Galvão. 2018. "An Advanced Understanding of Uterine Microbial Ecology Associated with Metritis in Dairy Cows." *Genomics &*

*Informatics* 16(4):e21. doi: 10.5808/gi.2018.16.4.e21.

- Kelton, D. F., K. D. Lissemore, and R. E. Martin. 1998. "Recommendations for Recording and Calculating the Incidence of Selected Clinical Diseases of Dairy Cattle." *Journal of Dairy Science* 81(9):2502–9. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)70142-0.
- Kirchgessner, Todd G., Paul Sleph, Jacek Ostrowski, John Lupisella, Carol S. Ryan, Xiaoqin Liu, Gayani Fernando, Denise Grimm, Petia Shipkova, and Rongan Zhang. 2016. "Beneficial and Adverse Effects of an LXR Agonist on Human Lipid and Lipoprotein Metabolism and Circulating Neutrophils." *Cell Metabolism* 24(2):223–33.
- LeBlanc, S. J., T. H. Herdt, W. M. Seymour, T. F. Duffield, and K. E. Leslie. 2004. "Peripartum Serum Vitamin E, Retinol, and Beta-Carotene in Dairy Cattle and Their Associations with Disease." *Journal of Dairy Science* 87(3):609–19. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73203-8.
- LeBlanc, Stephen J. 2008. "Postpartum Uterine Disease and Dairy Herd Reproductive Performance: A Review." *The Veterinary Journal* 176(1):102–14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019>.
- Manica, Emanuel, Priscila Pereira Coltri, Verônica Madeira Pacheco, and Luciane Silva Martello. 2022. "Changes in the Pattern of Heat Waves and the Impacts on Holstein Cows in a Subtropical Region." *International Journal of Biometeorology* 66(12):2477–88. doi: 10.1007/s00484-022-02374-3.
- Mayer, M. P., and B. Bukau. 2005. "Hsp70 Chaperones: Cellular Functions and Molecular Mechanism." *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 62(6):670–84. doi: 10.1007/s00018-004-4464-6.
- Mellado, Miguel, Edgar Sepulveda, Cesar Meza-Herrera, Francisco G. Veliz, Jose R. Arevalo, Jesus Mellado, and Angeles De Santiago. 2013. "Effects of Heat Stress on Reproductive Efficiency of High Yielding Holstein Cows in a Hot-Arid Environment." *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 26(3):193–200.
- Menta, P. R., V. S. Machado, J. M. Piñeiro, W. W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2022. "Heat Stress during the Transition Period Is Associated with Impaired Production , Reproduction , and Survival in Dairy Cows." 4474–89. doi: 10.3168/jds.2021-21185.
- Molinari, Paula C. C., Geoffrey E. Dahl, I. Martin Sheldon, and John J. Bromfield. 2022. "Effect of Calving Season on Metritis Incidence and Bacterial Content of the Vagina in Dairy Cows." *Theriogenology* 191:67–76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.001>.
- Nanas, Ioannis;, Chouzouris; Thomas-Markos, Dovolou; Eleni, Katerina; Dadouli, Stamperna; Konstantina, Ilektra; Kateri, Mariana; Barbagianni, and Georgios S. Amiridis. 2021. "Early Embryo Losses, Progesterone and Pregnancy Associated Glycoproteins Levels during Summer Heat Stress in Dairy Cows."

- Nascimento, Bárbara M., Kristen L. Parker Gaddis, James E. Koltes, Robert J. Tempelman, Michael J. VandeHaar, Heather M. White, Francisco Peñagaricano, and Kent A. Weigel. 2025. "Impact of Heat Stress on Dry Matter Intake and Residual Feed Intake in Mid-Lactation Dairy Cows." *Journal of Dairy Science* 108(7):7345–53. doi: 10.3168/jds.2025-26574.
- Oliveira, Charles Paranhos, Fernanda Campos de Sousa, Alex Lopes da Silva, Érica Beatriz Schultz, Roger Iván Valderrama Londoño, and Pedro Antônio Reinoso de Souza. 2025. "Heat Stress in Dairy Cows: Impacts, Identification, and Mitigation Strategies—A Review." *Animals* 15(2):1–15. doi: 10.3390/ani15020249.
- Puchalska, Patrycja, and Peter A. Crawford. 2017. "Multi-Dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics." *Cell Metabolism* 25(2):262–84.
- Rakib, M. R. H., V. Messina, J. I. Gargiulo, N. A. Lyons, and S. C. Garcia. 2024. "Graduate Student Literature Review: Potential Use of HSP70 as an Indicator of Heat Stress in Dairy Cows—A Review." *Journal of Dairy Science* 107(12):11597–610. doi: 10.3168/jds.2024-24947.
- Refsdal, Arne Ola. 2007. "Reproductive Performance of Norwegian Cattle from 1985 to 2005: Trends and Seasonality." *Acta Veterinaria Scandinavica* 49(1):1–7. doi: 10.1186/1751-0147-49-5.
- De Rensis, Fabio, Roberta Saleri, Irina Garcia-Ispuerto, Rex Scaramuzzi, and Fernando López-Gatius. 2021. "Effects of Heat Stress on Follicular Physiology in Dairy Cows." *Animals* 11(12). doi: 10.3390/ani11123406.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, R. J. Collier, S. R. Sanders, W. J. Weber, B. A. Crooker, and L. H. Baumgard. 2009. "Effects of Heat Stress and Plane of Nutrition on Lactating Holstein Cows: I. Production, Metabolism, and Aspects of Circulating Somatotropin." *Journal of Dairy Science* 92(5):1986–97. doi: 10.3168/jds.2008-1641.
- Ribeiro, Eduardo De Souza. 2015. "Molecular Features of Reproductive Biology and Fertility in Lactating Dairy Cows."
- Rodríguez-Godina, Iris J., José E. García, Juan L. Morales, Viridiana Contreras, Francisco G. Véliz, Ulises Macías-Cruz, Leonel Avendaño-Reyes, and Miguel Mellado. 2024. "Effect of Heat Stress during the Dry Period on Milk Yield and Reproductive Performance of Holstein Cows." *International Journal of Biometeorology* 68(5):883–90. doi: 10.1007/s00484-024-02633-5.
- Roth, Zvi. 2017. "Effect of Heat Stress on Reproduction in Dairy Cows: Insights into the Cellular and Molecular Responses of the Oocyte." *Annual Review of Animal Biosciences* 5:151–70. doi: 10.1146/annurev-animal-022516-022849.

- Salak-Johnson, J. L., and J. J. McGlone. 2007. "Making Sense of Apparently Conflicting Data: Stress and Immunity in Swine and Cattle1." *Journal of Animal Science* 85(suppl\_13):E81–88. doi: 10.2527/jas.2006-538.
- Sandals, W. C., R. A. Curtis, J. F. Cote, and S. W. Martin. 1979. "The Effect of Retained Placenta and Metritis Complex on Reproductive Performance in Dairy Cattle -- a Case Control Study." *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne* 20(5):131–35.
- Santos, J. E. P., and E. S. Ribeiro. 2014. "Impact of Animal Health on Reproduction of Dairy Cows." *Animal Reproduction* 11(3):254–69.
- Schüller, L. K., I. Michaelis, and W. Heuwieser. 2017. "Impact of Heat Stress on Estrus Expression and Follicle Size in Estrus under Field Conditions in Dairy Cows." *Theriogenology* 102:48–53. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.004>.
- Skibieli, Amy L., Maya Zachut, Bruno C. do Amaral, Yishai Levin, and Geoffrey E. Dahl. 2018. "Liver Proteomic Analysis of Postpartum Holstein Cows Exposed to Heat Stress or Cooling Conditions during the Dry Period." *Journal of Dairy Science* 101(1):705–16. doi: 10.3168/jds.2017-13258.
- Spiers, Donald E. 2012. "Physiological Basics of Temperature Regulation in Domestic Animals." Pp. 17–34 in *Environmental Physiology of Livestock*.
- Stone, A. E., B. W. Jones, C. A. Becker, and J. M. Bewley. 2017. "Influence of Breed, Milk Yield, and Temperature-Humidity Index on Dairy Cow Lying Time, Neck Activity, Reticulorumen Temperature, and Rumination Behavior." *Journal of Dairy Science* 100(3):2395–2403. doi: 10.3168/jds.2016-11607.
- Stott, G. H., and R. J. Williams. 1962. "Causes of Low Breeding Efficiency in Dairy Cattle Associated with Seasonal High Temperatures." *Journal of Dairy Science* 45(11):1369–75. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(62)89628-3.
- Summer, Andrea, Isabella Lora, Paolo Formaggioni, and Flaviana Gottardo. 2019. "Impact of Heat Stress on Milk and Meat Production." *Animal Frontiers* 9(1):39–46. doi: 10.1093/af/vfy026.
- Tao, S., and G. E. Dahl. 2013. "Invited Review: Heat Stress Effects during Late Gestation on Dry Cows and Their Calves." *Journal of Dairy Science* 96(7):4079–93. doi: 10.3168/jds.2012-6278.
- Thom, Earl Crabill. 1959. "The Discomfort Index." *Weatherwise* 12(2):57–61.
- Thompson, I. M., and G. E. Dahl. 2012. "Dry-Period Seasonal Effects on the Subsequent Lactation." *The Professional Animal Scientist* 28(6):628–31.
- Tian, He, Weiyu Wang, Nan Zheng, Jianbo Cheng, Songli Li, Yangdong Zhang, and Jiaqi Wang. 2015. "Identification of Diagnostic Biomarkers and Metabolic Pathway Shifts of Heat-Stressed Lactating Dairy Cows." *Journal of Proteomics* 125:17–28.

- Tian, He, Nan Zheng, Weiyu Wang, Jianbo Cheng, Songli Li, Yangdong Zhang, and Jiaqi Wang. 2016. "Integrated Metabolomics Study of the Milk of Heat-Stressed Lactating Dairy Cows." *Scientific Reports* 6(1):24208.
- Țogoe, Dorin, and Nicoleta Andreea Mincă. 2024. "The Impact of Heat Stress on the Physiological, Productive, and Reproductive Status of Dairy Cows." *Agriculture (Switzerland)* 14(8). doi: 10.3390/agriculture14081241.
- De Vries, A., and C. A. Risco. 2005. "Trends and Seasonality of Reproductive Performance in Florida and Georgia Dairy Herds from 1976 to 2002." *Journal of Dairy Science* 88(9):3155–65. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72999-4.
- Yousef, Mohamed K. 1984. *Stress Physiology in Livestock. Vol 1; Basic Principles ... Vol 3; Poultry*. Boca Raton, Fla. SE - [1 volume]: CRC Press.
- Zimbelman, R. B., R. P. Rhoads, M. L. Rhoads, G. C. Duff, L. H. Baumgard, and RJ2009 Collier. 2009. "A Re-Evaluation of the Impact of Temperature Humidity Index (THI) and Black Globe Humidity Index (BGHI) on Milk Production in High Producing Dairy Cows." Pp. 158–69 in *Proceedings of the Southwest Nutrition Conference*. USDA Cooperative State Research, Education, and Extension Service (CSREES ....

## ESTUDIO 1

Artículo 1: Forecasting reproductive performance in Holstein heifers and cows in a hot environment: a time-series analysis.



## Forecasting reproductive performance in Holstein heifers and cows in a hot environment: a time-series analysis

Elizabeth Pérez-Reboloso<sup>1</sup> · José E. García<sup>3</sup> · Juan L. Morales<sup>1</sup> · María G. Calderón<sup>1</sup> · Alan S. Alvarado<sup>1</sup> · Ulises Macías-Cruz<sup>2</sup> · Leonel Avendaño-Reyes<sup>2</sup> · Miguel Mellado<sup>3</sup>

Received: 9 April 2024 / Accepted: 7 March 2025  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2025

### Abstract

This study aimed to predict the pregnancy rate (PR) and number of services per pregnancy (SP) in a large high-input dairy herd in a prolonged high ambient temperature zone. Also, the impact of climatic conditions on reproductive performance was assessed. An autoregressive integrated moving average (ARIMA) model was used in data fitting to predict future monthly PR and SP using data from 2014 to 2020. The highest predicted PR for cows was in January (35.3%; 95% CI=30.5–40.1), and the lowest was in August (12.5%; 95% CI=7.5–17.6). Temperature-humidity index (THI) and PR were significantly negatively correlated in the same month ( $r=0.7$ ) and 2.5 months earlier and 2.5, 5, and 7.5 months later. The predicted highest SP for cows was in September (6.2; 95% CI=4.8–7.7) and the lowest for March (2.8; 95% CI=1.3–4.2). The predicted highest PR in heifers was in January (62.2%; CI=51.6–72.9) and the lowest in May (52.3%; 37.9–66.7). The cross-correlation between THI and PR in heifers was not significantly correlated in the same month, but significantly negative correlations occurred 5, 7.5, and 10 months earlier. SP in heifers were related to seasonality, with the predicted maximum SP occurring in May (1.9; CI=1.2–2.6) and the minimum in February (1.6; CI=1.0–2.2). It was concluded that weather strongly influenced the monthly reproductive performance rhythms of Holstein cows and heifers. Also, ARIMA models robustly forecasted reproductive outcomes of dairy cows and heifers in a hot desert climate.

**Keywords** Conception rate · Fertility · Heat stress · Services per pregnancy · Temperature-humidity index

### Introduction

Heat stress has numerous deleterious effects on dairy cows, particularly in subtropical/tropical regions worldwide (Rhoads 2023). Heat stress reduces estrus expression and detection (Schüller et al. 2017), alters follicular development and function (Roth and Wolfenson 2016; De Rensis et al. 2021), hampers the maturation and development of the ovulating oocyte (Roth 2017), and causes early embryonic death (Schüller et al. 2017; Nanas et al. 2021). Heat stress also alters the blood flow to the ovaries before ovulation

(Honig et al. 2016), ovarian steroid concentrations (Roth and Wolfenson 2016), PGE2 and PGF2 $\alpha$  secretion in bovine endometrial stromal cells (Sakai et al. 2018), luteal function and blood progesterone concentration (Wolfenson et al. 2002), reduction of ROS neutralization (Christen et al. 2018), and follicle fluid composition (Shehab-El-Deen et al. 2010; Alves et al. 2014). All these physiological responses of dairy cows to thermal environment reduce cows' pregnancy rate (PR) (Mellado et al. 2013; Schüller et al. 2014).

Many studies agree that seasonal influences are a source of substantial variation in breeding efficiency in dairy cows in warm environments (Mellado et al. 2013, 2014). In northern Mexico, in particular, it is the country's largest dairy hub in an area with severe and prolonged heat stress, which markedly jeopardizes cow's fertility, with serious long-term implications for dairy business (Rodríguez-Venegas et al. 2022). Thus, it is convenient to analyze patterns of reproductive metrics of Holstein cows in zones of intense and prolonged heat stress to predict future reproductive performance. Despite the reports describing the seasonal trends in

✉ Miguel Mellado  
mmellbosq@yahoo.com

<sup>1</sup> Department of Veterinary Science, Autonomous Agrarian University Antonio Narro, Torreon, Mexico

<sup>2</sup> Institute of Agricultural Sciences, Autonomous University of Baja California, Mexicali, Mexico

<sup>3</sup> Department of Animal Nutrition, Autonomous Agrarian University Antonio Narro, Saltillo, Mexico



monthly pregnant cows in the literature (De Vries and Risco 2005; Refsdal 2007), only a few studies have attempted to report how these metrics are distributed across the year. Also, limited information exists on the impact of heat stress on nulliparous heifers. This information is helpful for management planning and decision-making because seasonal fluctuations of reproductive efficiency in dairy cows alter cash flows throughout the year. Therefore, the present study aimed to assess how heat stress provokes seasonal trends and patterns of PR and services per pregnancy (SP) in cows and heifers in a high-input dairy herd. We hypothesized that trends calculated from time series are accurate forecasting methods to describe seasonality of PR and SP of Holstein cows and heifers in a location with a severe and prolonged heat stress.

## Material and methods

### General herd information

The study was authorized by the Autonomous Agrarian University Antonio Narro Animal Care Advisory Committee (project #3001–2419). This retrospective cohort study considered a single commercial dairy herd (2560–3300 milking cows) in Northeastern Mexico (25° N), comprising PR and SP for cows and heifers from 2014 to 2020. The average annual rainfall is 210 mm, and the mean annual temperature is 22.7 °C. The monthly temperature-humidity index ranged from 71.6 to 94.7 units. Cows were kept in open, dirt-based pens with soil/dry manure substrate. Cows had shades in the middle of the corrals and feed bunks. The shaded feed bunk was fitted with sprinkler nozzles and fans, which were turned on at an air temperature  $\geq 25$  °C.

Lactating cows were fed a total mixed ration based on corn silage, alfalfa hay, and grain concentrate twice daily (equal quantities;  $\approx 08:00$  and  $16:00$  h), with an expected 3% refusal of the total amount offered daily. Throughout the study, diets contained at least 18% CP, 31% NDF, and an NEL of 1.67 Mcal/kg adjusted for 23 kg of DMI. The ration met the requirements of 650 kg Holstein cows producing 36 kg of milk with 3.5% fat (NRC 2001). Cows had ad libitum access to water. Cows were milked three times daily at 01:00, 09:00, and 17:00 h. The herd's annual daily milk yield ranged from 27.6 to 33.0 kg/day. Time for dry off was 60 days to the due calving date or daily milk yield  $< 18$  kg.

### Reproductive management

Calves were vaccinated against brucellosis, and cows were immunized against pathogenic Clostridia, bovine respiratory syncytial virus, infectious bovine rhinotracheitis,

parainfluenza 3, bovine viral diarrhea, and leptospirosis (five serovars).

Estrus was detected by direct observation twice daily. Cows in estrus were artificially inseminated after the 50-day voluntary waiting period (the economically optimal; Burgers et al. 2022), following the a.m./p.m. guideline. The Ovsynch program was used in all repeat-breeding cows. Frozen-thawed semen from 13 dairy bulls from the USA was used.

Pregnancy diagnoses were performed at  $45 \pm 3$  days from their last recorded artificial insemination by transrectal palpation of the uterine contents. Gestation was confirmed at approximately 80 days post-insemination. The reproductive variables included PR and SP. PR was calculated as the number of cows confirmed pregnant at 80 days post-insemination, divided by the number of cows inseminated. SP (only pregnant cows) was defined as the number of successful services divided by the total number of services.

### Meteorological data

Seven-year climatic records (from 2014 to 2020) were obtained from an official meteorological station located approximately 2-km away from the dairy farm. The data comprised hourly ambient temperature (°C) and relative humidity (%) measurements. This information was used to calculate THI using the following equation: Temperature-humidity index (THI) =  $(0.8 \times \text{ambient temperature}) + [(\% \text{ relative humidity} / 100) \times (\text{ambient temperature} - 14.4)] + 46.4$  (Mader et al. 2006).

### Statistical analyses

We set out a back-testing framework for two years of forecasting using a time series approach to predict the reproductive performance of cows and heifers. Statgraphics Centurion XV software (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA) was employed to select a forecasting model after comparing multiple models and picking one that maximized the specified information criterion. A typical practice of this procedure is to choose an autoregressive integrated moving average (ARIMA) model (p, p-1 form). The final automatic model selection was based on the lowest value of the Akaike information criterion. The autocorrelation function (ACF) and partial autocorrelation function (PACF) of model residuals were used to confirm autoregressive and moving average parameters and evaluate the goodness of fit. Cycles of 30 days were chosen as the measurement unit to analyze the month effect on PR and SP.

ARIMA is a mixture of auto-regressive and moving average, represented by p, d, and q. Where p represents the number of lag observations incorporated in the model, d denotes the number of times raw observations undergo differencing,



and  $q$  is the degree of moving average. The model is as follows (Kotu and Deshpande 2019).

$$Y_t = \phi_1 y_{t-1} + \phi_2 y_{t-2} + \dots + \phi_1 y_{t-p} + \epsilon_t + \theta_1 \epsilon_{t-1} + \theta_2 \epsilon_{t-2} + \dots + \theta_1 \epsilon_{t-q}$$

where  $Y(t)$  denotes the value of the series in the time  $t$ ;  $\epsilon(t)$  the residual through time  $t$ ;  $\phi$  and  $\theta$  are its corresponding coefficients. The Box-Jenkins procedure was used to estimate  $p$ ,  $d$ , and  $q$  values.

The Wessa software (2024) was employed to calculate the cross-correlation between reproductive variables and THI over time for univariate time series. Also, the association between the variables analyzed and months was assessed using the CurveExpert Professional 2.5.6 software (Hyams Development, Madison, AL, USA). For all statistical analyses, values with  $P < 0.05$  were regarded as statistically significant.

## Results and discussion

ACF and PACF showed the stationary nature of PR of cows over time, and the model fits the data reasonably well. This study predicted seasonal dynamics of PR in lactating Holstein cows and nulliparous heifers with high accuracy from ARIMA modeling. A well-defined trend for this trait was evident over the seven years (Fig. 1A). Predicted PR of cows was highest in January (35.3%; 95% CI= 30.5–40.1) and the

lowest in August (12.5%; 95% CI= 7.5–17.6). PR in cows was depressed 22 percentage points, with increased THI

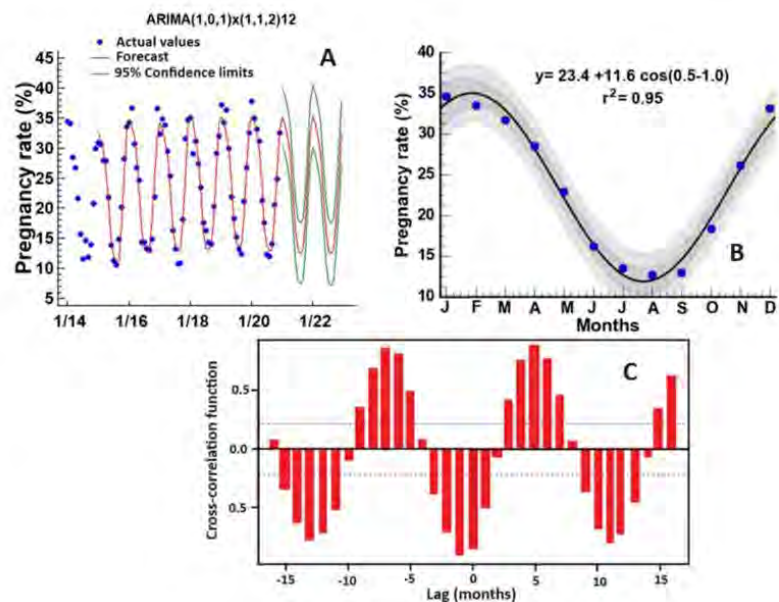
during spring, summer, and fall, which closely aligns with data of Morton et al. (2007), who observed a 23-percentage points reduction in conception rate in a temperate climate.

This PR seasonality in intensive dairy operations has also been well-documented across the United States (Jordan 2003; Huang et al. 2008) and Northern Mexico (Mellado et al. 2013). Thermal stress's impact on cows' reproductive performance is complex and multifactorial. Additionally, the effect of heat stress is intricate because even one-time exposure to heat stress results in a negative response that can last for several weeks (Kamal et al. 2018), and long-lasting residual effects of heat stress during the dry period are expressed several months later (Rodríguez-Godina et al. 2024).

Hyperthermia affects PR commencing with the developing oocyte throughout later stages and its fertilization competence, the estrus behavior, early embryo development and implantation, and even fetus survival in more advanced development stages (Sammad et al. 2020). Our observations suggest that all these effects concurred to reduce PR with intense heat load.

Figure 1B shows how monthly PR of cows plummeted in the summer and fall months. However, declination of PR

**Fig. 1** **A** The time series for the monthly pregnancy rate of cows. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. **B** The association between monthly pregnancy rate and months of the year. Dark bands are 95% confidence interval for estimated values. Light bands are 95% confidence interval for actual values. **C** Cross-correlation function of the time series of monthly temperature-humidity index and monthly pregnancy rate of cows from 2014 to 2020. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant ( $P < 0.05$ ) cross-correlation coefficients



started in spring, which means that ambient temperatures in spring months in the study site were high enough to hamper pregnancy success in cows, and this heat stress was constant and additive as the year progressed. THI (input variable) and PR (output variable) were significantly negatively correlated in the same month, 2.5 months earlier and 2.5, 5, and 7.5 months later (Fig. 1C), reaffirming the strong negative influence of thermal stress with residual and enduring effects on PR, as it has been previously described (Jordan 2003; Djelailia et al. 2020).

The time plot showed that series for SP were stationary for cows (Fig. 2A). The predicted highest number of SP for cows was in September (6.2; 95% CI=4.8–7.7) and the lowest for March (2.8; 95% CI=1.3–4.2). Services administered to cows in the present study were remarkably high but coincide with previous reports in this zone (Luna et al. 2023), reflecting thermal subfertility of cows in this zone. Dairy herd managers in the study site tolerate >5 services, and yet, repeat breeder cows do not seem to become unprofitable due to adequate milk yield in involuntary lactations >450 days (Mellado et al. 2016). SP is directly related to the PR in a herd, and in the present study, PR in summer was <15%, which explains, in part, the high SP.

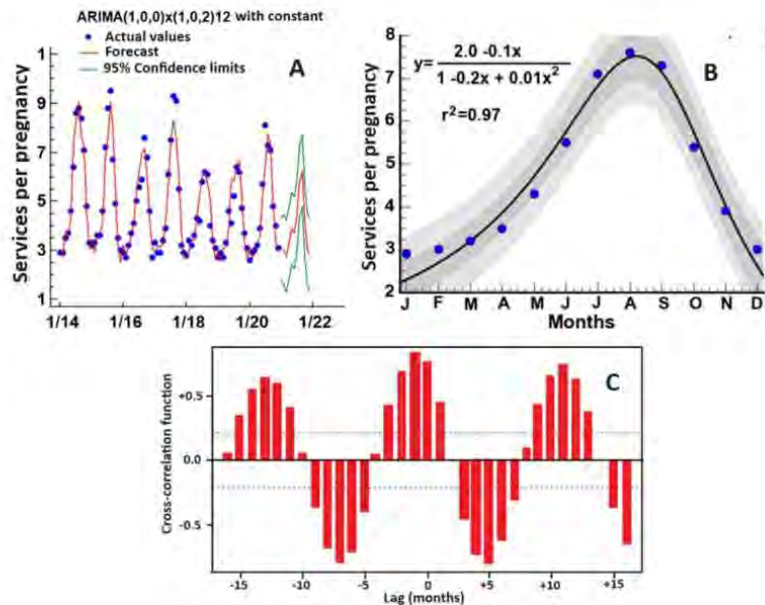
Figure 2B showed that, for cows, SP had a marked seasonal periodicity, peaking during summer and fall months. The steady increase in SP from May to September indicates that failures to conceive start to accumulate from the beginning of spring, which is reflected in the peculiarly high SP

in the autumn. A possible partial solution to reduce SP in dairy operations in the study site is to extend the voluntary waiting period (70–80 days) for cows calving in spring, as an extended voluntary waiting period improves reproductive functions in cows and heifers (Siatka et al. 2017; Edwards-Rasmussen et al. 2023).

The cross-correlation function analysis between the monthly THI and SP showed a significant positive association on the same month and the previous 2.5 months (lags +1; Fig. 2C) and the subsequent 2.5, 5, and 7.5 months, which implied a strong delayed and ensuing effect of warmer months on higher SP. Also, the environmental heat stress seemed to have carry-over effects on SP in Holstein cows, extending far beyond the period of exposure, given that in winter, SP were around 3 (insemination efficiency of 0.33), which is above the typical SP in high-input dairy farms in a temperate climate (Siatka et al. 2017).

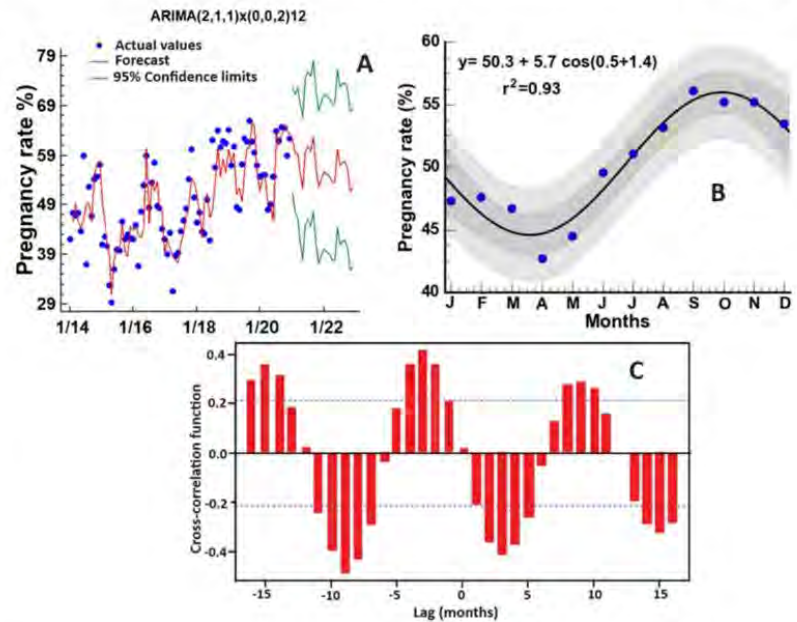
This study's time series plot of the monthly PR in heifers showed a steady trend across years (Fig. 3A). The predicted highest PR in heifers was in January (62.2%; CI=51.6–72.9) and the lowest in May (52.3%; 37.9–66.7). It was a lower impact of heat stress on heifer fertility than cows' PR, as has been previously reported (Mellado et al. 2023) because heifers generate far less metabolic heat than cows and display a greater heat dissipation efficiency; therefore, they are less sensitive to heat stress, as milk production elevates metabolic heat production (West 2003; Wang et al. 2020). Figure 3B shows that PR was lowest in the spring months

**Fig. 2** **A** The time series for the monthly services per pregnancy of cows. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. **B** The association between monthly services per pregnancy and months of the year. Dark bands are 95% confidence interval for estimated values. Light bands are 95% confidence interval for actual values. **C** Cross-correlation function of the time series of monthly temperature-humidity index and monthly services per pregnancy of cows from 2014 to 2020. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant ( $P < 0.05$ ) cross-correlation coefficients





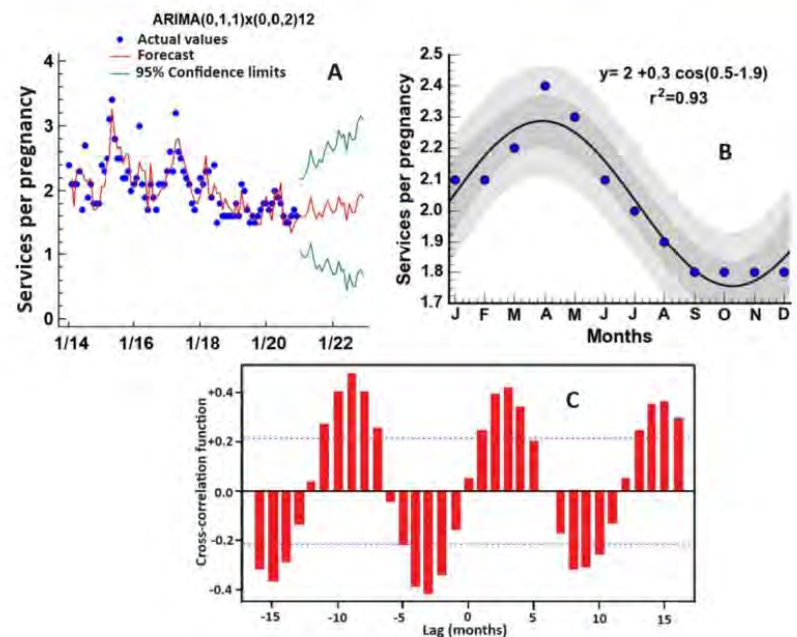
**Fig. 3** **A** The time series for the monthly pregnancy rate of heifers. Each point denotes the mean value of a single herd from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. **B** The association between monthly pregnancy rate of heifers and months of the year. Dark bands are 95% confidence interval for estimated values. Light bands are 95% confidence interval for actual values. **C** Cross-correlation function of the time series of monthly temperature-humidity index and monthly pregnancy rate of heifers from 2014 to 2020. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant ( $P < 0.05$ ) cross-correlation coefficients



and highest in the fall months. These results align with a previous study in the same study site, where P/AI for heifers serviced with conventional semen was 10 percentage points higher in winter than in summer (Mellado et al. 2014). The

effect of month of breeding was smaller than that for cows, as previously reported (Kuhn et al. 2006). In contrast to cow fertility, heifer CR is nearly as good in the hotter months as in cooler months (Kuhn et al. 2006; Nishisozu et al. 2023).

**Fig. 4** **A** The time series for the monthly services per pregnancy of heifers. Each point denotes the mean value of a single herd from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. **B** The association between monthly services per pregnancy of heifers and months of the year. Dark bands are 95% confidence interval for estimated values. Light bands are 95% confidence interval for actual values. **C** Cross-correlation function of the time series of monthly temperature-humidity index and monthly services per pregnancy of heifers from 2014 to 2020. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant ( $P < 0.05$ ) cross-correlation coefficients



Yet, cooling dairy heifers after AI increases PR in hot days (Moghaddam et al. 2009).

However, in the present study, the predicted lowest PR was in May, which indicated that, although heifers are more heat resistant than cows (Wang et al. 2020), they are still susceptible to seasonal PR depression. The cross-correlation plot between THI and PR of heifers showed that these variables were not significantly correlated in the same month but significantly positively correlated at 5, 7.5, and 10 months earlier (Fig. 3C). These data showed that cooler ambient temperatures in the subsequent months following conception were critical for the optimum reproductive performances of Holstein heifers in a hot environment.

The ARIMA model evidenced SP seasonality, with the predicted maximum SP occurring in May (1.9; CI= 1.2–2.6) and the minimum in February (1.6; CI= 1.0–2.2; Fig. 4A). The lowest SP happened in the autumn months, and the highest in April (Fig. 4B). Given that the number of SP is directly related to PR in a dairy herd, the lesser chance of heifers conceiving in the spring and summer months was reflected in increased SP in the warmer months. Heifers are more tolerant of heat stress than lactating cows because of the fewer changes in body temperature, which consequently present greater early embryonic development under heat stress than lactating cows (Sartori et al. 2002). However, in previous studies measuring reproductive variables in heifers under heat stress, the thermal strain has not been as intense as the one in the present study; the high heat load in summer led to more services required for pregnancy.

The THI and monthly SP in heifers were not significantly correlated in the same month, but the correlations were significant and positive 2.5 to 10 months earlier (Fig. 4C). These results highlight the positive influence of cooler months post-services on maintaining pregnancy in nulliparous heifers, reflected in fewer SP.

## Conclusions

The ARIMA models fitted the marked dynamic nature of reproductive performance of Holstein cows and nulliparous heifers in a zone of severe and prolonged heat stress with adequate prediction accuracy. It comprehensively combined the synchronous and lagged effects of meteorological factors and integrated the autocorrelation and seasonality of pregnancy rate and services per pregnancy. The ARIMA models demonstrated the valid potential of time series modeling of retrospective data to forecast future reproductive events trends and patterns in dairy herds in hot environments. These models suggested that climatic conditions were the most important factor in predicting Holstein cattle's reproductive performance.

In addition, the study reaffirmed the determinant role of thermal stress both before and after the month of breeding

on the pregnancy rate and services per pregnancy in this hot environment. This study stresses the utility of forecasting methods to know the lead-time for assist in preparedness and early cautioning intervention to alleviate hyperthermia's impact on Holstein cattle's reproductive performance.

**Author contribution** MM designed and drafted the manuscript. MM and JEG carried out the statistical analysis. ASA and EPR processed the data. UMC and LAR revised the manuscript and reviewed the pertinent literature. JLM, and MCG collected and cured the data. All authors revised the manuscript and approved the submitted version.

**Funding** This study was financially supported by the Autonomous Agrarian University Antonio Narro (grant (3001–2419).

**Data availability** Data used in the present study are available from the corresponding author upon reasonable request.

**Code availability** Not applicable.

## Declarations

**Ethics approval** Even though this was a retrospective study, the Institutional Animal Care and Use Committee of the Autonomous Agrarian University Antonio Narro approved the procedures and management applied to calves used in the present study.

**Conflict of interest** None of the authors of this article has a personal or financial relationship with other people or organizations that could inappropriately influence the content of the article.

## References

- Alves BG, Alves KA, Martins MC, Braga LS, Silva TH, Alves BG, Santos RM, Silva TV, Viu MAO, Beletti ME, Jacomini JO, Gambarini ML (2014) Metabolic profile of serum and follicular fluid from postpartum dairy cows during summer and winter. *Reprod Fertil Dev* 26(6):866
- Burgers EEA, Kok A, Goselink RMA, Hogeveen H, Kemp B, Van Knegsel ATM (2022) Revenues and costs of dairy cows with different voluntary waiting periods based on data of a randomized control trial. *J Dairy Sci* 105(5):4171–4188
- Christen F, Desrosiers V, Dupont-Cyr BA, Vandenberg GW, Le François NR, Tardif JC, Dufresne F, Lamarre SG, Blier PU (2018) Thermal tolerance and thermal sensitivity of heart mitochondria: mitochondrial integrity and ROS production. *Free Radical Biol Med* 116:11–18
- De Vries A, Risco CA (2005) Trends and seasonality of reproductive performance in florida and georgia dairy herds from 1976 to 2002. *J Dairy Sci* 88(9):3155–3165
- De Rensis F, Saleri R, Garcia-Ispuerto I, Scaramuzzi R, López-Gatius F (2021) Effects of heat stress on follicular physiology in dairy cows. *Animals* 11(12):3406
- Djelailia H, Bouraoui R, Jemmali B, Najjar T (2020) Effects of heat stress on reproductive efficiency in Holstein dairy cattle in the North African arid region. *Reprod Domest Anim* 55(9):1250–1257
- Edvardsson-Rasmussen A, Båge R, Holtenius K, Strandberg E, Von Brömssen C, Åkerlind M, Kronqvist C (2023) A randomized



- study on the effect of an extended voluntary waiting period in primiparous dairy cows on fertility, health, and culling during first and second lactation. *J Dairy Sci* 106(12):8897–8909
- Honig H, Ofer L, Kaim M, Jacobi S, Shinder D, Gershon E (2016) The effect of cooling management on blood flow to the dominant follicle and estrous cycle length at heat stress. *Theriogenology* 86(2):626–634
- Huang C, Tsuruta S, Bertrand JK, Misztal I, Lawlor TJ, Clay JS (2008) Environmental effects on conception rates of Holsteins in New York and Georgia. *J Dairy Sci* 91(2):818–825
- Jordan ER (2003) Effects of heat stress on reproduction. *J Dairy Sci* 86:E104–E114
- Kamal R, Dutt T, Patel M, Dey A, Bharti PK, Chandran PC (2018) Heat stress and effect of shade materials on hormonal and behavioral response of dairy cattle: a review. *Trop Anim Health Prod* 50:701–706
- Kotu V, Deshpande B (2019) Time series forecasting. In: *Data science*, pp 395–445. Elsevier
- Kuhn MT, Hutchison JL, Wiggins GR (2006) Characterization of Holstein heifer fertility in the United States. *J Dairy Sci* 89:4907–4920
- Luna M, Encina J, Álvarez P, García JE, Mellado J, Mellado M (2023) Effect of reproductive indices and bovine somatotropin on milk yield in Holstein cows experiencing climatic sub-fertility. *Mljekarstvo* 73(3):155–163
- Mader TL, Davis MS, Brown-Brandt T (2006) Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J Anim Sci* 84:712–719
- Mellado M, Sepúlveda E, Meza-Herrera CA, Véliz FG, Arévalo JR, Mellado J, de Santiago A (2013) Effects of heat stress on reproductive efficiency of high yielding Holstein cows in a hot-arid environment. *Revista Colomb Cien Pec* 26:193–200
- Mellado M, Sepúlveda E, Macías-Cruz U, Avendaño L, García JE, Véliz FG, Rodríguez A (2014) Effects of month of breeding on reproductive efficiency of Holstein cows and heifers inseminated with sex-sorted or conventional semen in a hot environment. *Trop Anim Health Prod* 46(1):265–269
- Mellado M, Flores JM, De Santiago A, Veliz FG, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, García JE (2016) Extended lactation in high-yielding Holstein cows: characterization of milk yield and risk factors for lactations >450 days. *Livest Sci* 189:50–55
- Mellado M, Treviño LM, Chavez MI, Véliz FG, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, García JE (2023) Fertility of Holstein cows and heifers submitted to timed artificial insemination and receiving one or two doses (12 h apart) of semen. *Reprod Domest Anim* 58(1):39–47
- Moghaddam A, Karimi I, Pooyanmehr M (2009) Effects of short-term cooling on PR of dairy heifers under summer heat stress. *Vet Res Commun* 33(6):567–575
- Morton JM, Tranter WP, Mayer DG, Jonsson NN (2007) Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: critical periods of exposure. *J Dairy Sci* 90:2271–2278
- Nanas I, Chouzouris TM, Dovolou E, Dadouli K, Stamperna K, Kateri I, Barbagianni M, Amiridis GS (2021) Early embryo losses, progesterone and pregnancy associated glycoproteins levels during summer heat stress in dairy cows. *J Therm Biol* 98:102951
- Nishisozu T, Singh J, Abe A, Okamura K, Dochi O (2023) Effects of the temperature-humidity index on conception rates in Holstein heifers and cows receiving in vitro-produced Japanese black cattle embryos. *J Reprod Dev* 69(2):72–77
- NRC (National Research Council) (2001) *Nutrients requirements of dairy cattle*, 7th edn. National Academy of Sciences. Washington, DC, p 408
- Refsdal AO (2007) Reproductive performance of Norwegian cattle from 1985 to 2005: trends and seasonality. *Acta Vet Scand* 49(1):5
- Rhoads ML (2023) Review: Reproductive consequences of whole-body adaptations of dairy cattle to heat stress. *Animal* 17:100847
- Rodríguez-Godina U, García JE, Morales JL, Contreras V, Véliz FG, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, Mellado M (2024) Effect of heat stress during the dry period on milk yield and reproductive performance of Holstein cows. *Int J Biometeorol* 68:883–890
- Rodríguez-Venegas R, Meza-Herrera CA, Robles-Trillo PA, Angel-García O, Rivas-Madero JS, Rodríguez-Martínez R (2022) Heat stress characterization in a dairy cattle intensive production cluster under arid land conditions: an annual, seasonal, daily, and minute-to-minute, big data approach. *Agriculture* 12(6):760
- Roth Z (2017) Effect of heat stress on reproduction in dairy cows: insights into the cellular and molecular responses of the oocyte. *Annu Rev Anim Biosci* 5(1):151–170
- Roth Z, Wolfenson D (2016) Comparing the effects of heat stress and mastitis on ovarian function in lactating cows: basic and applied aspects. *Domest Anim Endocrinol* 56:S218–S227
- Sakai S, Hagihara N, Kuse M, Kimura K, Okuda K (2018) Heat stress affects prostaglandin synthesis in bovine endometrial cells. *J Reprod Dev* 64(4):311–317
- Sammad A, Umer S, Shi R, Zhu H, Zhao X, Wang Y (2020) Dairy cow reproduction under the influence of heat stress. *J Anim Physiol Anim Nutr* 104(4):978–986
- Sartori R, Sartor-Bergfeldt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC (2002) Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 85(11):2803–2812
- Schüller LK, Burfeind O, Heuwieser W (2014) Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology* 81(8):1050–1057
- Schüller LK, Michaelis I, Heuwieser W (2017) Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows. *Theriogenology* 102:48–53
- Shehab-El-Deen MAMM, Leroy JLMR, Fadel MS, Saleh SYA, Maes D, Van Soom A (2010) Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. *Anim Reprod Sci* 117(3–4):189–200
- Siatka K, Sawa A, Krezel-Czopek S, Piwczynski D, Bogucki M (2017) Effect of some factors on number of services per conception in dairy cows. *J Vet Sci Technol* 8:5
- Wang J, Li J, Wang F, Xiao J, Wang Y, Yang H, Li S, Cao Z (2020) Heat stress on calves and heifers: a review. *J Anim Sci Biotechnol* 11(1):79
- Wessa P (2024) Free statistics software. Office for research development and education, version 1.2.1. <https://www.wessa.net/>. Accessed 1 Aug 2024
- West JW (2003) Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci* 86(6):2131–2144
- Wolfenson D, Sonego H, Bloch A, Shaham-Albalancy A, Kaim M, Folman Y, Meidan R (2002) Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells. *Domest Anim Endocrinol* 22:81–90

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

## ESTUDIO 2

### Artículo 2:

Original article

**Time series modeling of retained placenta, metritis, and ketosis in Holstein cows and heifers and their association with climate variables in a hot-arid zone**

**E. Pérez-Reboloso <sup>1</sup>, J.E. García <sup>3</sup>, J.L. Morales <sup>1</sup>, M.G. Calderón <sup>1</sup>, A.S. Alvarado <sup>1</sup>,  
U. Macías-Cruz <sup>2</sup>, L. Avendaño-Reyes <sup>2</sup>, J. Mellado <sup>3</sup>, M. Mellado <sup>3\*</sup>**

<sup>1</sup> *Department of Veterinary Science, Autonomous Agrarian University Antonio Narro,  
Torreon, Mexico*

<sup>2</sup> *Institute of Agricultural Sciences, Autonomous University of Baja California, Mexicali,  
Mexico*

<sup>3</sup> *Department of Animal Nutrition, Autonomous Agrarian University Antonio Narro,  
Saltillo, Mexico*

Running title: Seasonality of puerperal diseases in cows

\*Correspondence author: Miguel Mellado, Department of Animal Nutrition, Autonomous Agrarian University Antonio Narro, Saltillo, Mexico. E-mail: melladomiguel07@gmail.com

**ABSTRACT:** This study aimed to predict the monthly percentage of Holstein cows and heifers in a high-input dairy farm presenting retained placenta (RP), puerperal metritis (PM), and clinical ketosis (CK). An autoregressive integrated moving average model was used to predict future monthly cases of these diseases based on time series data. These puerperal diseases occurred from a single dairy farm (2560-3300 milking cows across seven years, 2014 to 2020). The highest predicted RP for cows was in May (11.3%; 95% CI = 6.3-16.4), and the lowest was in November (5.4%; 95% CI = 0.5-10.4). The highest predicted occurrence of PM for cows was in July (17.0; 95% CI = 12.1-21.8), and the lowest was in March (7.3; 95% CI = 2.5-12.1). The highest predicted occurrence of CK in cows was in

June (3.0%; 95% CI = 1.8-4.3), and the lowest in November (1.1%; 95% CI = -0.1-2.4). For heifers, the highest predicted occurrence of RP was in August (20.6%; 95% CI= 11.0-23.1), and the lowest in December (10.5%; 95% CI= 7.9-13.0). In heifers, the predicted occurrence of PM was highest in July (18.8%; 95% CI = 15.2-21.4) and lowest in February (8.2%; 95% CI = 5.7-10.8). The projected occurrence of CK in heifers was highest in May (2.7%; 95% CI = 0.9-4.5) and lowest in December (0.7%; 95% CI= -1.1-2.5). It was concluded that the weather had a strong influence on the rhythms of monthly diseases associated with periparturient diseases in cows and heifers.

**Keywords:** dairy cows, heat stress, periparturient diseases, temperature-humidity index, trend analysis.

## INTRODUCTION

Common diseases in postpartum dairy cows that hamper the establishment of pregnancy include periparturient disorders (dystocia and retained placenta) (Funnell and Hilton, 2016), metabolic diseases (ketosis and fatty liver) (Overton et al., 2017), and uterine diseases (metritis and endometritis) (Gilbert, 2019). Puerperal metritis (PM), in particular, is a significant disease for the dairy industry globally due to its high prevalence (approximately 20%; De Oliveira et al., 2020), reduced milk yield, associated economic losses, and impact on animal welfare (Pérez-Báez et al., 2021). Additionally, uterine infections in dairy farms result in decreased profits due to increased health costs and higher involuntary culling rates (De Oliveira et al., 2020).

Seasonality, characterized by periodic surges in disease incidence, is common among many infectious diseases in dairy cattle. Uterine infections, for instance, show a higher incidence and persistence during the hot season compared to the cold season (Molinari et al., 2022). Likewise, a higher incidence of retained placenta (RP) has been observed in summer compared to other seasons (Kamel et al., 2022). Holstein cows calving in summer present a higher risk of severe ketosis than those calving in winter (Jeong et al., 2018; Ha et al., 2023). Thus, seasonality occurs not only in uterine infectious diseases but also in metabolic diseases postpartum in dairy cows and heifers, such as ketosis, which, depending on geography, flares



up more consistently at certain times of the year. However, the pattern of periparturient diseases has not been well deciphered and explained.

Seasonal variation in the occurrence of some infectious diseases is attributable to seasonal variations in the immune system's response, which is reduced with thermal stress (Bagath et al., 2019; Dahl et al., 2020). Additionally, numerous direct and indirect pathways exist through which climate can influence diseases associated with calving (Pinedo et al., 2020). No literature has been reported on the time series relationship between periparturient diseases and month of the year in zones of intense and prolonged thermal stress. Therefore, we hypothesized that the occurrence of RP, PM, and clinical ketosis (CK) would fluctuate across calving months. In addition, it was hypothesized that the association between the occurrence of periparturient diseases and climatic conditions is influenced by delay or preceding heat stress events. Therefore, this study aimed to analyze the seasonal patterns of RP, PM, and CK in Holstein heifers and cows within an intensive dairy operation in a hot environment, with the goal of developing an appropriate model to predict future periparturient disease cases using the ARIMA model. Another objective was to assess the time lag between the occurrence of periparturient diseases and the climatic conditions throughout the year.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **General herd information**

The study was approved by the Animal Care Committee of the Autonomous Agrarian University Antonio Narro (project #3001-2419). For this retrospective study, a single commercial dairy herd (2560-3300 milking Holstein cows across seven years) in Northern Mexico (25° N). The mean annual temperature is 22.7 °C, and the average annual rainfall is 210 mm. Surveillance for RP, PM, and CK in cows and heifers was conducted from January 1, 2014, through December 31, 2020, in a high-input dairy herd. RP was defined as fetal membranes not being ejected within 24 h after parturition. PM was defined as cows with an enlarged uterus and a fetid, watery, mucopurulent red-brown uterine discharge, depression, anorexia, and reduced milk yield within 21 days after parturition. Cows presenting PM were treated with 50 mg/mL of ceftiofur (Zoetis, Mexico City, CDMX) for three days. CK was defined as cows presenting anorexia, nervousness, decreased milk production, loss of body

condition extreme loss of body condition, and presenting  $\geq 3.0$  mmol/L from a single measure of BHBA from a small drop of blood obtained from the tail vein and using the Novavet blood ketone meter (Woodley Veterinary Diagnostics, Lancashire, UK), using a 22-gauge needle and a vacuum tube.

Cows were held in open pens with dry manure substrate. Cows were provided with shades in the middle of the pens and feed bunks. The shaded feed bunk was equipped with sprinkler nozzles and fans, which were activated at an air temperature of  $\geq 25$  °C. Lactating cows were fed as a group a total mixed ration (TMR) based on corn silage, alfalfa hay, and grain concentrate twice daily (equal quantities;  $\approx 08:00$  and  $16:00$  hours), with an approximately 3% refusal of the total feed offered daily. Throughout the study, diets contained at least 18% CP, 31% NDF, and a  $NE_L$  of 1.67 Mcal/kg adjusted for 23 kg of DMI. The forage-to-concentrate ratio was 50:50, and the ration was designed to meet the nutrient requirements of 650 kg Holstein cows producing 35 kg of 3.5% fat-corrected milk (NRC, 2001). Cows had ad libitum access to water. Cows were milked three times daily at 01:00, 09:00, and 17:00 h. The herd's annual daily milk yield varied from 27.6 (summer) to 33.0 kg/day (winter). For dry cows, the diet was designed to meet the nutrient requirements indicated by NRC (2001). Time for dry off was 60 days to the due calving date or daily milk yield  $< 18$  kg.

#### **Meteorological data**

Seven-year climatic records (from 2014 to 2020) were obtained from an official meteorological station located approximately 2-kilometer away from the dairy farm. The data comprised hourly ambient temperature (°C) and relative humidity (%) measurements. This information was used to calculate THI using the following equation: Temperature-humidity index (THI) =  $(0.8 \times \text{ambient temperature}) + [\% \text{ relative humidity} / 100 \times (\text{ambient temperature} - 14.4)] + 46.4$ .

#### **Statistical analyses**

We developed a back-testing framework for one year of forecasting, using a time series approach to predict the occurrence of retained placenta, puerperal metritis, and clinical ketosis in cows and heifers. Statgraphics Centurion XV software (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA) was used to select a forecasting model by comparing multiple

models and choosing one that maximized the specified information criterion. A typical practice for this procedure is to select an autoregressive integrated moving average (ARIMA) model in the form of (p, p-1). The final automatic model selection was based on the lowest value of the Akaike information criterion. The autocorrelation function (ACF) and partial autocorrelation function (PACF) of model residuals were used to confirm autoregressive and moving average parameters and evaluate the goodness of fit. Cycles of 30 days were chosen as the measurement unit to analyze the monthly occurrence of RP, PM, and CK.

ARIMA is a combination of auto-regressive and moving average components, represented by p, d, and q. Where p represents the number of lag observations incorporated in the model, d denotes the number of times raw observations undergo differencing, and q is the degree of moving average. The general multiplicative seasonal ARIMA model was:

$$X_t = \Phi_1 X_{t-1} + \dots + \Phi_p X_{t-p} + a_t - \theta_1 a_{t-1} - \dots - \theta_q a_{t-q}$$

Where  $\Phi$ 's (phis) signify the autoregressive parameters to be estimated,  $\theta$ 's (thetas) are the moving average parameters to be determined; the original series is represented by X's, and a's are unknown random errors that are presumed to follow a normal probability distribution. The Box-Jenkins method was employed to estimate p, d, and q values. The Wessa software (2025) was used to calculate the cross-correlation between reproductive variables and THI over time for univariate time series. For all statistical analyses,  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## RESULTS

### Retained placenta

The average (7 years) prevalence of RP observed in the present study was 11.1% for cows and 13.2% for heifers. The autocorrelation function (ACF) and the partial autocorrelation function (PACF) showed the stationarity nature of RP of cows over time, and the model fits the data reasonably well (Figure 1A). Predicted RP of cows was highest in May (11.3%; 95% CI= 6.3-16.4) and lowest in November (5.4%; 95% CI= 0.5-10.4). In the case of heifers, the

highest predicted RP was in August (20.6%; 95% CI= 11.0-23.1), and the lowest was in December (10.5; 95% CI= 7.9-13.0).

For cows, THI (input variable) and RP (%) (output variable) were significantly positively correlated in the same month (Figure 1B). Correlations were significant and positive for these variables at lags +1, +2, and -1, indicating that THI and monthly RP in cows were positively correlated 2.5 and 5 months before parturition, as well as 2.5 months after parturition. These results demonstrate the robust and durable positive influence of heat stress preceding calving on RP. For heifers, results of cross-correlation function analysis between the monthly THI and RP showed a significant positive association in the same month and the previous 2.5 and 5 months (lags +1, +2; Figure 4B). There was a significant positive association between THI and RP 2.5 months after calving, implying a delayed and enduring effect of warmer months on higher RP.

### **Puerperal metritis**

The overall incidence of PM was 11.3% for cows and 13.3% for heifers. Regarding the monthly incidence of PM in cows, Figure 2A showed that series were stationary. The predicted PM of cows was highest in July (17.0; 95% CI = 12.1-21.8) and lowest in March (7.3; 95% CI = 2.5-12.1). Time series shape of the monthly RP incidence in heifers in the present study showed a steady trend across years (Figure 4A). The forecasted highest monthly PM occurrence was in July (18.8%; 95% CI = 15.2-21.4), and the lowest in February (8.2%; 95% CI = 5.7-10.8). The cross-correlation plot between THI and the monthly incidence of PM in cows showed that these variables were significantly correlated in the same month, as well as 2.5 and 5 months before calving and 2.5 months after parturition (Figure 2B). The cross-correlation plot between THI and the monthly incidence of metritis in heifers showed that these variables significantly correlated in the same month, as well as 2.5, 5, and 7.5 months before and 2.5 months after calving (Figure 5B).

### **Clinical ketosis**

The average incidence of CK for cows was 1.4%, and for heifers, 1.8%. CK in cows presented a manifest seasonal cyclicity, peaking in May and June (Figure 3A). The predicted CK in cows was highest in May (1.8%; 95% CI = 0.9-2.7) and lowest in February (1.2%; 95% CI = 0.3-2.1). Predicted CK in heifers was highest in May (2.7%; 95% CI= 0.9-4.5) and lowest in December (0.7%; 95% CI= -1.1-2.5; Figure 6A).

The cross-correlation plot between THI and CK in cows showed that these variables significantly correlated in the same month and at 2.5, 5-0, and 7.5 months before parturition (Figure 3B). These data showed that warmer ambient temperatures in the previous months following parturition were critical for the occurrence of CK in a hot environment. Likewise, Figure 6B showed that, for heifers, THI (input variable) and CK (output variable) were significantly positively correlated in the same month and at 2.5 and 5 months before parturition.

## DISCUSSION

### Retained placenta

The incidence of RP in the current study is well within the normal range (9.4-22.6%) reported across different breeds, management systems, and countries (Chebel, 2021; Magata et al., 2021). One of the objectives of this study was to characterize the seasonal dynamics of RP in Holstein cows and heifers in a hot environment. The time plot revealed that the series were fixed (Figure 4A), indicating that, analogous to cows, the season of calving noticeably affects the incidence of RP over other seasons. Similarly, Kamel et al (2022), using large data from high-input Holstein dairy farms in a hot climate, observed a greater RP in cows in summer than in other seasons. The highest rate of RP in summer may be attributed to the influence of heat stress, which prevents placenta expulsion, as observed in the study zone, where RP increased exponentially with THI > 80 (Mellado et al., 2023). The effect of heat stress on the incidence of PR cases may also be attributed to the shorter gestation periods of cows during the warm season compared to those calving during the cool season (Tao and Dahl, 2013), as shorter gestations are associated with an increased incidence of RP (Mahnani et al., 2021). Heat stress also alters the placenta of late-gestation heat-stressed dairy cows, which present lower cotyledon numbers and tend to have a lower cotyledon surface area than cows cooled during the last two months of gestation (Casarotto et al., 2025).

The current study's maximum THI was 89.6, indicating the severity of the heat load experienced by the heifers and cows. This distress could have triggered physiological changes in cows experiencing heat stress, which in turn influence oxidative stress, immune responses, and hormonal imbalances (Hashem and Amer, 2008; Chauhan et al., 2021). This response may hinder the capacity of heifers and cows to detach the placenta after delivery from the uterine caruncle. Lengthy fetal membranes expulsion is more frequent in heat-stressed cows than in non-stressed cows (Seyed Almoosavi et al., 2021). High ambient temperature in dairy cows limits oxygen metabolism (Zeng et al., 2023), and oxidative imbalance increases RP (Li et al., 2022).

This study establishes the importance of heat stress in late gestation and the occurrence of RP in heifers and cows. Research on the effects of long-lasting thermal stress prepartum on RP is scarce. The current study aimed to investigate the impact of heat stress on RP at critical stages of gestation. Although observational studies have limitations, such as the presence of confounders and the variable of interest, the current results indicate that cows and heifers exposed to heat stress before and during calving were associated with an increased rate of RP.

### **Puerperal metritis**

The incidence of puerperal metritis in the current study falls within the range of 10.8 to 34.4% PM for cows in high-input dairy systems (Benzaquen et al., 2007; Vieira-Neto et al., 2016; McNeel et al., 2017). Data from the present study demonstrated that severe and prolonged heat stress was an important predisposing factor for having puerperal metritis in both cows and heifers. This finding is in line with Gernand et al. (2019), who reported a positive association between the occurrence of PM and increased ambient temperature following parturition in dairy cows. Also, the incidence of PM has been higher in cows calving in the cool season than in cows calving in the warm season (Giuliodori et al., 2017; Jeong et al., 2018), regardless of vaginal microbiome (Moliniari et al., 2022). The evidence indicates that as temperature and humidity rise, they affect the host's response to the pathogen micro-biome, leading to uterine infections in cows. High ambient temperatures depress the immune system, increasing the risk of disease incidence (Lacetera, 2019) due to the increased



multiplication of pathogenic microorganisms (Quintana et al., 2020). Additionally, higher incidence of metritis under hot-humid conditions may be due to the multiplication of pathogen carriers and the dysbiosis of the uterine microbiota, characterized by decreased richness and a surge in Bacteroidetes and Fusobacteria (Galvão et al., 2019).

These data showed that warmer ambient temperatures in the months before and after parturition were critical for preventing metritis in both cows and heifers in a hot environment. Data from Mellado et al (2023) indicated that the breakpoint for a noticeable increase in puerperal metritis incidence was a THI value >85 (moderate to severe heat stress). These data suggest that high ambient temperatures diminish the quantity and activity of specific immune cells in dairy cows; thus, heifers and cows undergoing prolonged thermal stress seem to decrease their capacity to combat uterine infections far before and after parturition, making them more susceptible to uterine pathogens (Giannone et al., 2023).

Heifers presented a higher incidence of PM than multiparous herd mates (13.3 vs. 11.3%) because of greater calving difficulties in nulliparous cows (Ghavi Hossein-Zadeh and Ardalan, 2011), which raises the probability of puerperal pathogens contamination and uterine lesions (Galvão, 2013), or a dysbiosis of the uterine microbiota (Jeon and Galvão, 2018), leading to the occurrence of metritis.

### **Clinical ketosis**

The incidence of CK in the current study falls within the range reported for high-input dairy herds in various countries (0.7-3.5%; Berge and Vertenten, 2014). The higher incidence of CK in cows and heifers during the warmest months aligns with previous studies, which found that cows calving in summer tended to have a higher risk of ketosis than those calving in other seasons (Jeong et al., 2017). In fact, as thermal stress increases (THI > 80), the incidence of CK markedly increases (Mellado et al., 2023).

Heat stress decreases feed intake, which consequently leads to alterations in energy metabolism, particularly during the transition period (Chang-Fung-Martel *et al.*, 2021), a condition associated with ketosis (Pérez-Báez et al., 2019). The present study provides evidence that high ambient temperatures predispose heifers and cows to presenting CK,

which highlights the association between blood hyperketonemia after calving and lower milk yield, poorer reproductive performance, and higher culling rates of cows (Guliński, 2021).

In the present study, dry cows are not subjected to cooling systems; therefore, the physiological effects of acute heat stress during late gestation manifest after calving, demonstrating long-term carry-over effects of late-gestation heat stress on the occurrence of CK. Thermal stress induces immunosuppression, increasing the influx of endotoxins and vulnerability to metabolic illnesses (Baungard and Rhoads, 2013; Koch et al., 2019).

## CONCLUSIONS

The ARIMA model demonstrated a marked dynamic occurrence of RP, PM, and CK in Holstein heifers and cows, with high prediction accuracy in zones of acute and prolonged heat stress. It comprehensively combined the synchronous and lagged effects of meteorological factors, integrating the autocorrelation and seasonality of these puerperal diseases. The ARIMA models confirmed the potential of time series modeling of retrospective data to forecast the upcoming occurrence of RP, PM, and CK in dairy cows in areas with high ambient temperatures.

In addition, the study reaffirmed the determinant role of heat stress before calving on the incidence of RP, PM, and CK in this hot environment. This study highlights the usefulness of forecasting puerperal disorders to assist in preparedness and early intervention, thereby alleviating periparturient diseases in Holstein cattle in hot environments.

In addition, the study reaffirmed the determinant role of heat stress before calving on the incidence of RP, PM, and CK in this hot environment. This study highlights the usefulness of forecasting puerperal disorders to assist in preparedness and early intervention to alleviate periparturient diseases in Holstein cattle in hot environments.

## Funding

This research work was funded by the Autonomous Agrarian University Antonio Narro, project #3001-2419.

## Data availability



The datasets used in the current study are available from Dr. M. Mellado (email: melladomiguel07@gmail.com) upon reasonable request.

### Competing interests

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.

### REFERENCES

- Bagath M, Krishnan G, Devaraj C, Rashamol VP, Pragna P, Lees AM, Sejian V (2019) The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. *Research in Veterinary Science* 126: 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.011>
- Baumgard LC, Rhoads RP (2013) Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Review of Animal Bioscience* 1(1): 311-337. <https://doi.org/10.1146/annurev-Animalal-031412-103644>
- Benzaquen ME, Risco CA, Archbald LF, Melendez P, Thatcher MJ, Thatcher WW (2007) Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90(6): 2804-2814. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-482>
- Berge AC, Vertenten G (2014) A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of Dairy Science* 97(4): 2145-2154. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7163>
- Casarotto LT, Jones HN, Chavatte-Palmer P, Laporta J, Peñagaricano F, Ouellet V, Bromfield J, Dahl GE (2025). Late-gestation heat stress alters placental structure and function in multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science* 108(1): 1125-1137. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25529>
- Chang-Fung-Martel J, Harrison MT, Brown JN, Rawnsley R, Smith AP, Meinke H (2021) Negative relationship between dry matter intake and the temperature-humidity index

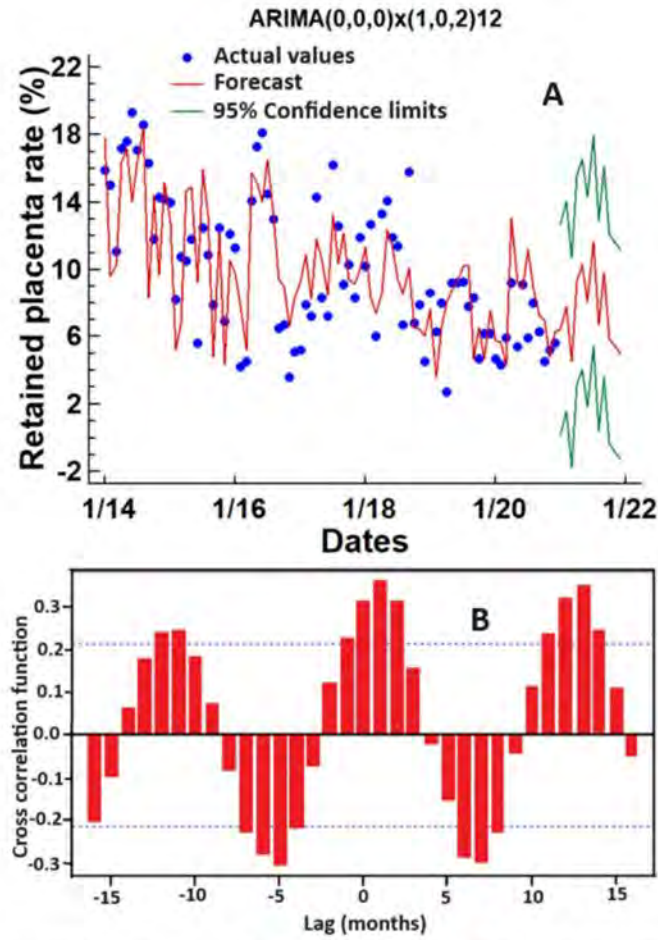
- with increasing heat stress in cattle: A global meta-analysis. *International Journal of Biometeorology* 65(12): 2099-2109. <https://doi.org/10.1007/s00484-021-02167-0>
- Chauhan SS, Rashamol VP, Bagath M, Sejian V, Dunshea FR (2021) Impacts of heat stress on immune responses and oxidative stress in farm Animalals and nutritional strategies for amelioration. *International Journal of Biometeorology* 657: 1231-1244. <https://doi.org/10.1007/s00484-021-02083-3>
- Chebel RC (2021) Predicting the risk of retained fetal membranes and metritis in dairy cows according to prepartum hemogram and immune and metabolic status. *Preventive Veterinary Medicine* 187: 105204. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105204>
- Dahl GE, Tao S, Laporta J (2020) Heat stress impacts immune status in cows across the life cycle. *Frontiers in Veterinary Science* 7: 116. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00116>
- De Oliveira EB, Cunha F, Daetz R, Figueiredo CC, Chebel RC, Santos JE, Risco CA, Jeong KC, Machado VS, Galvão KN (2020) Using chitosan microparticles to treat metritis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 103(8): 7377-7391. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18028>
- Funnell BJ, Hilton WM (2016) Management and prevention of dystocia. *Vet Clin North Am Food Animal Prac* 32: 511–522. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.016>
- Galvão KN (2013) Uterine diseases in dairy cows: understanding the causes and seeking solutions. *Animal Reproduction* 10: 228-238.
- Galvão KN, Bicalho RC, Jeon SJ (2019) Symposium review: The uterine microbiome associated with the development of uterine disease in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 102(12): 11786-11797. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17106>
- Gernand E, König S, Kipp C (2019) Influence of on-farm measurements for heat stress indicators on dairy cow productivity, female fertility, and health. *Journal of Dairy Science* 1027: 6660-6671. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16011>
- Ghavi Hossein-Zadeh N, Ardalan M (2011) Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Veterinary Research Communication* 35(6): 345-354. <https://doi.org/10.1007/s11259-011-9479-5>
- Giannone C, Bovo M, Ceccarelli M, Torreggiani D, Tassinari P (2023) Review of the heat stress-induced responses in dairy cattle. *Animals* 13(22): 3451. <https://doi.org/10.3390/ani13223451>

- Gilbert RO (2019) Symposium review: Mechanisms of disruption of fertility by infectious diseases of the reproductive tract. *Journal of Dairy Science* 102: 3754–3765. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15602>
- Giuliodori MJ, Magnasco M, Magnasco RP, Lacau-Mengido IM, de la Sota, RL (2017) Purulent vaginal discharge in grazing dairy cows: Risk factors, reproductive performance, and prostaglandin F2 $\alpha$  treatment. *Journal of Dairy Science* 100: 3805-3815. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11373>
- Guliński P (2021) Ketone bodies – causes and effects of their increased presence in cows' body fluids: A review. *Veterinary World* 14(6): 1492-1503. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1492-1503>
- Ha S, Kang S, Jeong M, Han M, Lee J, Chung C, Park J (2023) Characteristics of Holstein cows predisposed to ketosis during the post-partum transition period. *Veterinary Medicine and Science* 9(1): 307-314. <https://doi.org/10.1002/vms3.1006>
- Hashem MA, Amer HA (2008) Hormonal and biochemical anomalies in dairy cows affected by retained fetal membranes. *International Journal of Veterinary Medicine* 185: 1517-1519.
- Jeong JK, Choi IS, Moon SC, Lee SC, Kang HG, Jung YC, Park SB, Kim IH (2017) Risk factors for ketosis in dairy cows and associations with some blood metabolite concentrations. *Journal of Veterinary Clinics* 34(4): 255-260. <https://doi.org/10.17555/jvc.2017.08.34.4.255>
- Jeon SJ, Galvão KN (2018) An advanced understanding of uterine microbial ecology associated with metritis in dairy cows. *Genomics Information* 16(4): e21. <https://doi.org/10.5808/GI.2018.16.4.e21>
- Kamel ER, Ahmed HA, Hassan FM (2022) The effect of retained placenta on the reproductive performance and its economic losses in a Holstein dairy herd. *Iraqi Journal of Veterinary Science* 36(2): 359-365. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2021.130287.1791>
- Koch F, Thom U, Albrecht E, Weikard R, Nolte W, Kuhla B, Kuehn C (2019) Heat stress directly impairs gut integrity and recruits distinct immune cell populations into the bovine intestine. *Proceedings of the National Academy of Science* 116(21): 10333-10338. <https://doi.org/10.1073/pnas.1820130116>

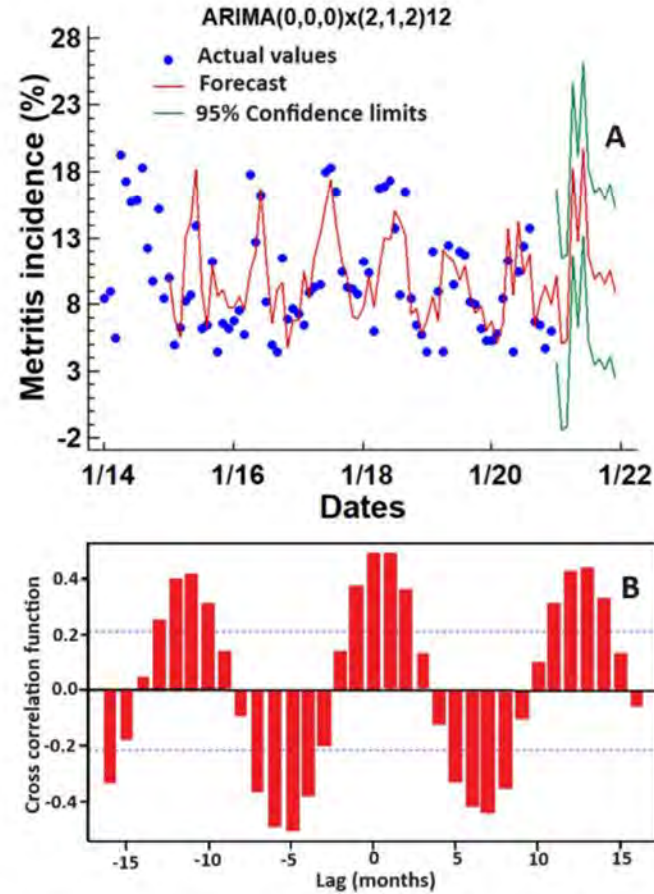
- Lacetera N (2019) Impact of climate change on Animal health and welfare. *Animal Front*, 91: 26-31. <https://doi.org/10.1093/af/vfy030>
- Li Y, Wen C, Yang Y, Zhao Z, Gao C, Li C, Huang M (2022) Potential prognostic markers of retained placenta in dairy cows identified by plasma metabolomics coupled with clinical laboratory indicators. *Veterinary Quarterly* 42(1): 199-212. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2145619>
- Magata F, Sone A, Watanabe Y, Deguchi Y, Aoki T, Haneda S, Ishii M (2021) Prevention of retained fetal membranes and improvement in subsequent fertility with oxytocin administration in cows with assisted calving. *Theriogenology* 176: 200-205. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.09.037>
- Mahnani A, Sadeghi-Sefidmazgi A, Ansari-Mahyari S, Ghorbani GR, Keshavarzi H (2021) Farm and cow factors and their interactions on the incidence of retained placenta in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 159: 87-97. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.10.007>
- McNeel AK, Reiter BC, Weigel D, Osterstock J, Di Croce FA (2017) Validation of genomic predictions for wellness traits in US Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 100(11): 9115–9124.
- Mellado M, Herrera CD, De Santiago A, Veliz FG, Mellado J, García JE (2023) Effect of heat stress and body condition score on the occurrence of puerperal disorders in Holstein cows. *Spanish Journal of Agricultural Research* 21(2): e0501. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12323>
- Molinari PCC, Dahl GE, Sheldon IM, Bromfield JJ (2022) Effect of calving season on metritis incidence and bacterial content of the vagina in dairy cows. *Theriogenology* 191: 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.001>
- NRC (National Research Council) (2001) *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* 7th ed National Academy of Sciences, Washington, DC, p 408.
- Overton TR, McArt JAA, Nydam DV (2017) A 100-year review: Metabolic health indicators and management of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 100: 10398–10417. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13054>
- Pérez-Báez J, Risco CA, Chebel RC, Gomes GC, Greco LF, Tao S, Thompson IM, Do Amaral BC, Zenobi MG, Martinez N, Staples CR, Dahl GE, Hernández JA, Santos JEP,

- Galvão KN (2019) Association of dry matter intake and energy balance prepartum and postpartum with health disorders postpartum: Part II Ketosis and clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 102(10): 9151-9164. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15879>
- Pérez-Báez J, Silva TV, Risco CA, Chebel RC, Cunha F, De Vries A, Santos JEP, Lima FS, Pinedo P, Schuenemann GM, Bicalho RC, Gilbert RO, Rodriguez-Zas S, Seabury CM, Rosa G, Thatcher WW, Galvão KN (2021) The economic cost of metritis in dairy herds. *Journal of Dairy Science* 104(3): 3158-3168. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19125>
- Pinedo P, Santos JEP, Chebel RC, Galvão KN, Schuenemann GM, Bicalho RC, Gilbert RO, Rodriguez Zas S, Seabury CM, Rosa G, Thatcher WW (2020) Early-lactation diseases and fertility in 2 seasons of calving across US dairy herds. *Journal of Dairy Science* 103(11): 10560-10576. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17951>
- Quintana AR, Seseña S, Garzón A, Arias R (2020) Factors affecting levels of airborne bacteria in dairy farms: A review. *Animals* 103: 526. <https://doi.org/10.3390/ani10030526>
- Seyed Almoosavi SMM, Ghoorchi T, Naserian AA, Khanaki C, Drackley JK, Ghaffari MH (2021) Effects of late-gestation heat stress independent of reduced feed intake on colostrum, metabolism at calving, and milk yield in early lactation of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 104(2): 1744-1758. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19115>
- Tao S, Dahl GE (2013) Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science* 96(7): 4079-4093. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6278>
- Vieira-Neto, A, Lima, FS, Santos, JEP, Mingoti, RD, Vasconcellos, GS, Risco, CA, Galvao, KN (2016) Vulvovaginal laceration as a risk factor for uterine disease in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 99: 4629–4637. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10872>
- Wessa P (2025) Free Statistics Software, Office for Research Development and Education, version 121, URL <https://www.wessa.net/>, URL [https://www.wessa.net/rwasp\\_crosswasp/](https://www.wessa.net/rwasp_crosswasp/)
- Zeng J, Cai J, Wang D, Liu C, Sun C, Liu, J (2023) Heat stress affects dairy cow health status through blood oxygen availability. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 14(1): 112. <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00915-3>

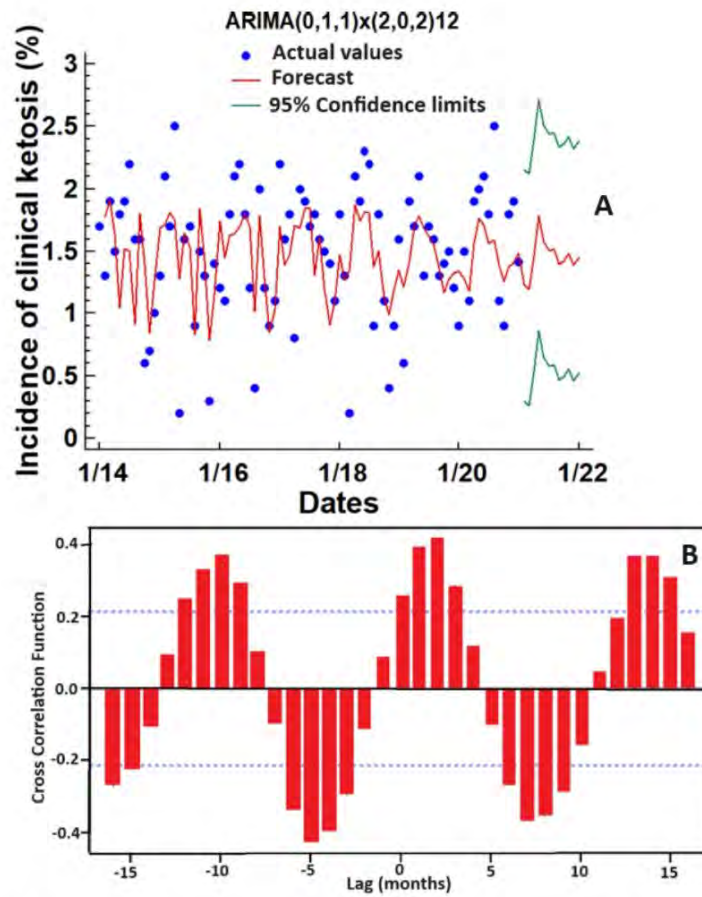




**Fig. 1.** A: The time series for monthly retained placenta rate in Holstein cows. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. B: Cross-correlation function of the time series of the monthly temperature-humidity index and the proportion of monthly retained placenta in cows. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant cross-correlation coefficients.

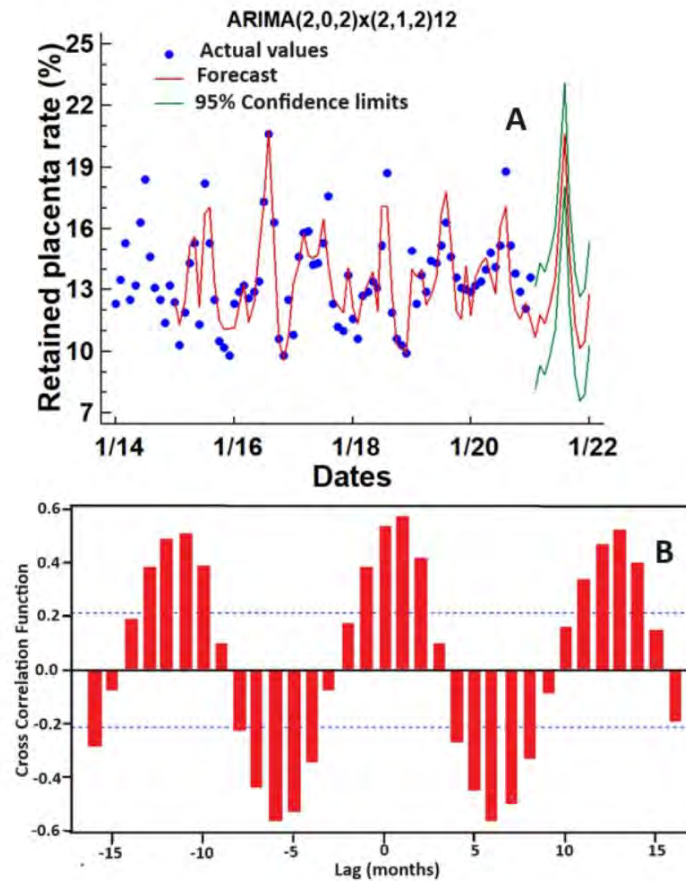


**Fig. 2.** A: The time series for the monthly average incidence rate of puerperal metritis in Holstein cows. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. B: Cross-correlation function of the time series of the monthly temperature-humidity index and monthly incidence of puerperal metritis in cows. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant cross-correlation coefficients.

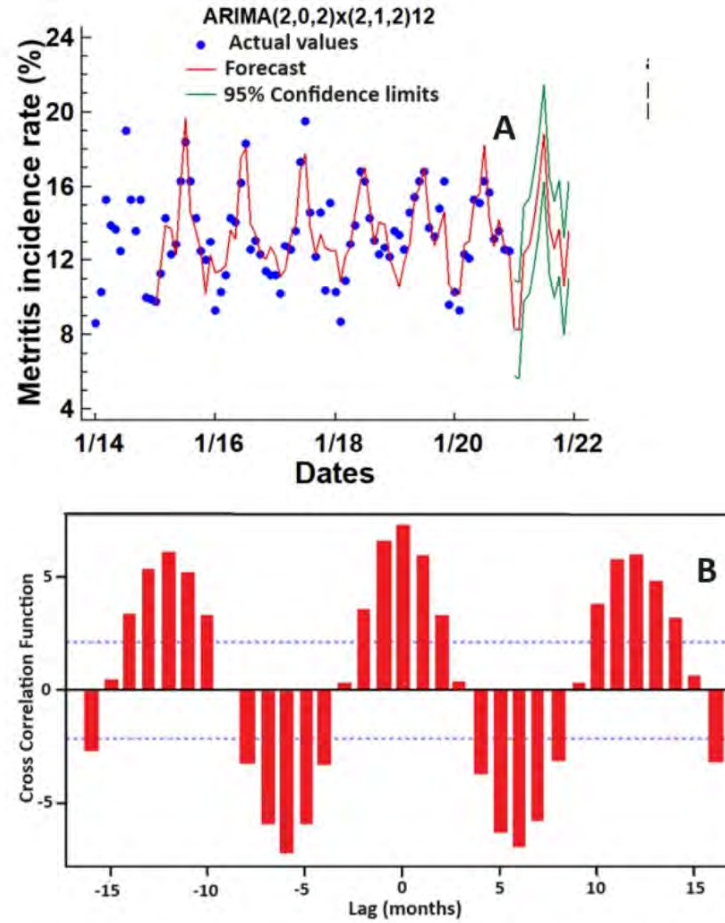


**Fig. 3.** A: The time series for the monthly average incidence rate of clinical ketosis in Holstein cows. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. B: Cross-correlation function of the time series of the monthly temperature-humidity index and the monthly incidence of clinical ketosis in cows. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant cross-correlation coefficients.

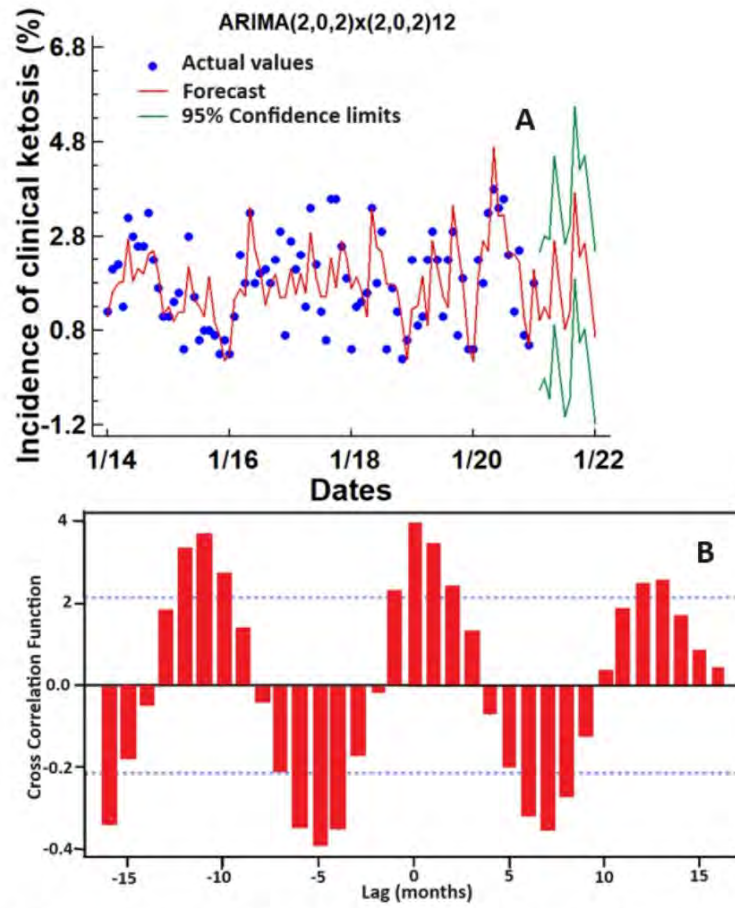




**Fig. 4.** A: The time series for the monthly retained placenta rate in Holstein heifers. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. B: Cross-correlation function of the time series of the monthly temperature-humidity index and the proportion of monthly retained placenta in heifers. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant cross-correlation coefficients.



**Fig. 5.** A: The time series for the monthly puerperal metritis rate in Holstein heifers. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. B: Cross-correlation function of the time series of the monthly temperature-humidity index and proportion of puerperal metritis rate in heifers. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant cross-correlation coefficients.



**Fig. 6.** A: The time series for the monthly average incidence rate of clinical ketosis in Holstein heifers. Each point denotes the mean value of a single herd (~2900 lactating cows) from 2014 to 2020. Values are fitted and predicted values. B: Cross-correlation function of the time series of the monthly temperature-humidity index and monthly incidence of clinical ketosis in heifers. The spikes denote the cross-correlation coefficients. The dashed lines represent the 95% confidence limits (CL). Spikes outside the CL are significant cross-correlation coefficients.

## **CONCLUSIONES GENERALES**

### **Estudio 1**

Los modelos ARIMA se ajustaron a la marcada naturaleza dinámica del desempeño reproductivo de las vacas Holstein y las vaquillas nulíparas en una zona de estrés térmico severo y prolongado, con una precisión de predicción adecuada. Combinaron de manera integral los efectos sincrónicos y retardados de los factores meteorológicos e integraron la autocorrelación y la estacionalidad de la tasa de preñez y los servicios por preñez. Los modelos ARIMA demostraron el potencial del modelado de series temporales de datos retrospectivos para pronosticar tendencias y patrones de eventos reproductivos futuros en hatos lecheros en ambientes cálidos. Estos modelos sugirieron que las condiciones climáticas fueron el factor más importante para predecir el desempeño reproductivo del ganado Holstein.

Además, el estudio reafirmó el papel determinante del estrés térmico, tanto antes como después del mes de reproducción, en la tasa de preñez y los servicios por preñez en este ambiente cálido. Este estudio destaca la utilidad de los métodos de pronóstico para conocer el tiempo de anticipación necesario para la preparación y la intervención temprana, con el fin de mitigar el impacto de la hipertermia en el desempeño reproductivo del ganado Holstein.

## Estudio 2

El modelo ARIMA demostró una marcada dinámica en la aparición de RP, PM y CK en novillas y vacas Holstein, con una alta precisión predictiva en zonas de estrés térmico agudo y prolongado. Combinó de forma integral los efectos sincrónicos y retardados de los factores meteorológicos, integrando la autocorrelación y la estacionalidad de estas enfermedades puerperales. Los modelos ARIMA confirmaron el potencial del modelado de series temporales de datos retrospectivos para pronosticar la aparición de RP, PM y CK en vacas lecheras en áreas con altas temperaturas ambientales.

Además, el estudio reafirmó el papel determinante del estrés térmico preparto en la incidencia de RP, PM y CK en este entorno cálido. Este estudio destaca la utilidad del pronóstico de trastornos puerperales para contribuir a la preparación y la intervención temprana, mitigando así las enfermedades periparto en el ganado Holstein en ambientes cálidos.

Además, el estudio reafirmó el papel determinante del estrés térmico preparto en la incidencia de RP, PM y CK en este entorno cálido. Este estudio destaca la utilidad de pronosticar los trastornos puerperales para ayudar en la preparación y la intervención temprana para aliviar las enfermedades periparto en el ganado Holstein en ambientes cálidos.