

Efecto de un sistema de enfriamiento conductivo estratégico sobre la tasa de preñez bajo un tratamiento modificado de OvSynch en ganado lechero bajo estrés por calor

Por

Angélica M. Alvarado Narváez

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

INDUSTRIA PECUARIA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO  
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2015

Aprobado por:

\_\_\_\_\_  
Jaime E. Curbelo Rodríguez, PhD, PAS.  
Miembro, Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Héctor L. Sánchez Rodríguez, PhD.  
Miembro, Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
John Fernández Van-Cleve, PhD.  
Presidente, Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
David Padilla Vélez, PhD.  
Representante Escuela Graduada

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
José R. Latorre, PhD.  
Director de Departamento

\_\_\_\_\_  
Fecha

## **ABSTRACT**

This study evaluated the effects of a strategic conductive cooling system (SCCS) on the pregnancy rate of dairy cattle in an ovulation synchronization program during two seasons, autumn and summer. Cows were distributed according to milk production, days in milk, lactation number, weight and type of hair (slick or normal), while heifers were grouped by weight and hair type. All animals underwent an altered OvSynch synchronization protocol and assigned to one of two groups: SCCS and no-SCCS. After the synchronization protocol, all animals were inseminated at fixed time. Pregnancy confirmation was made 32 days following insemination. No significant differences in pregnancy rates were observed among seasons with 39 and 29% pregnancy rate in autumn and summer, respectively. No significant differences in pregnancy rates between SCCS and control group were observed (36 versus 30%, respectively). Heifers showed a higher pregnancy rate ( $P = 0.0013$ ) than cows (49 versus 17%, respectively).

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de un sistema de enfriamiento conductivo estratégico (SECE) sobre la tasa de preñez en bovinos lecheros bajo programa alterado de sincronización de ovulación (OvSynch) en dos épocas. Las vacas fueron distribuidas de acuerdo a producción de leche, número de lactancias, peso y tipo de pelo, y las novillas agrupadas por peso y tipo de pelo. Estas fueron asignados a uno de dos grupos: SECE y no-SECE. Luego de finalizado el protocolo de sincronización, los animales fueron inseminados a tiempo fijo. La preñez fue confirmada a los 32 días pos-inseminación. No hubo diferencia significativa en la tasa de preñez entre otoño y verano, con 39% y 29, respectivamente. Tampoco se observó una diferencia significativa en la tasa de preñez entre animales bajo SECE y grupo testigo (36% versus 30%, respectivamente). Las novillas presentaron una tasa de preñez mayor ( $P=0.0013$ ) realtivo a las vacas (49% versus 17%, respectivamente).

## DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis padres Vilma Narváez Rodríguez y Ángel M. Alvarado Rodríguez, por su trabajo, sacrificio y dedicación para darnos a mi y a mi hermana lo mejor y sacarnos adelante. Porque aún en altas y bajas siempre fueron nuestro ejemplo y base para que alcanzáramos nuestras metas. A mi hermana y amiga Vilmarie Alvarado Narváez, por brindarme su apoyo en todo este proceso y por siempre estar ahí cuando la necesitaba. Padres, gracias por inculcarme luchar por lo que uno quiere y gracias por creer en mí y hacer de mi la persona que soy hoy día. Igual va dedicado a mis familiares allegados y amistades que me apoyaron durante el camino.

## AGRADECIMIENTOS

Primero y sobretodo quiero agradecerle a Dios, por darme la fuerza y paciencia para llevar a cabo este trabajo, y cumplir una meta más. Gracias por darme la fortaleza y guiarme para no fracasar.

Quiero agradecerle además al Dr. John Fernandez Van Cleve por aceptar ser mi presidente de comité graduado, ayudarme y guiarme en este proceso. Aunque comencé un trabajo a tiempo completo durante este proceso, nunca dejó de creer en mí y mis capacidades como estudiante del Colegio. Quiero además agradecerle a los miembros del comité graduado, al Dr. Jaime Curbelo por toda su ayuda, responder a mis preguntas, aclarar mis dudas e impulsarme a dar el máximo en todo momento. Al Dr. Héctor Sánchez por ayudarme con los estadísticos del trabajo, por su humildad y su disposición siempre que le pedía ayuda aún teniendo trabajo por hacer. Un especial agradecimiento además al Dr. Melvin Pagán por ayudarme en el proceso de colección y crio-preservación del semen que utilicé en este experimento, porque a pesar de ser días largos de trabajo, me ayudó hasta lo último y siempre estuvo pendiente del progreso del trabajo. También agradezco a los profesores y amigos Dr. Guillermo Ortiz y Dr. Esbal Jiménez por sus consejos durante este proceso.

Quiero agradecerle al Agrónomo Rafy López, por haber accedido a que utilizáramos a Mambrú, para propósitos de este estudio. Le agradezco además a todos los empleados de la vaquería (Héctor Santana, Ricardo Montañez, Edwin Vega, David Martinez, Francisco Roura, Fernando Bracero, Miguel Alemañy, Eduardo, Carmelo Vargas, José Ruiz, José “Cachancho” Ángel Feliciano), por ayudarme y apoyarme mientras estaba en la vaquería. Un especial agradecimiento a Héctor Santana quien

fue la persona encargada de inseminar todos los animales del proyecto. Al igual le agradezco a los estudiantes Luis Rodriguez, Zoé Crespo y Marcela Marrero que me ayudaron mientras estaban trabajando en la vaquería.

Por último y no menos importante le agradezco a mi amiga Elena Reyes, que a pesar de la distancia sabía que podía y puedo contar con ella, y a esas amistades inigualables que hice a través de esta aventura. Un especial agradecimiento a Dannamarie Acevedo y a Karen Espino por ayudarme en la realización del experimento y acompañarme durante esos largos días. Al igual que a Amaris Guzmán y a Laura Morales por su amistad, apoyo y momentos inolvidables, en fin a todas las personas que de una forma u otra contribuyeron para que esta experiencia haya sido una inolvidable.

## TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT	ii
RESUMEN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
TABLA DE CONTENIDO	vii
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE GRÁFICAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
A: Industria Lechera en Puerto Rico	4
B: Impacto del Estrés por Calor en Ganado Lechero	5
B.1. Estrés por Calor	5
B.2. ITH (Índice de Temperatura y Humedad)	8
B.3. Mecanismos de Regulación de Temperatura en Bovinos	10
B.4. Efectos del Estrés por Calor sobre la Producción	14
B.5. Efectos del Estrés por Calor sobre la Reproducción	15
C. Estrategias para Minimizar el Efecto del Estrés por las Altas Temperaturas Ambientales	19

C.1. Mejoramiento Genético	19
C.1.1 Cruces con <i>Bos taurus indicus</i>	19
C.1.2 Bovinos Lecheros de Pelo Corto	21
C.2. Modificaciones Ambientales para Abatir el Estrés por Calor	23
C.3. Sincronización de Ovulación	26
MATERIALES Y MÉTODOS	29
A. Descripción del Lugar	29
B. Descripción de Experimento	29
B.1. Diseño Experimental	29
B.2. Parámetros Ambientales	34
B.3. Análisis de Estadístico	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS	49

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Modos de Flujo de Calor.	13
Tabla 2	Promedios de Temperatura Ambiental, Humedad Relativa e ITH Durante Otoño y Verano.	36
Tabla 3	Efecto de la Época del Año Sobre la Tasa de Preñez.	38
Tabla 4	Tasa de Preñez de Animales Evaluados Durante dos Épocas Experimentales.	40
Tabla 5	Efecto de un Sistema de Enfriamiento Conductivo sobre la Tasa de Preñez Independiente a Época.	42
Tabla 6	Tasa de Preñez entre Vacas y Novillas comparando diferentes Variables	46

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1	Índice de Temperatura y Humedad, Humedad Relativa (%) y Temperatura Ambiental (°C) durante la Época de Otoño.	36
Gráfica 2	Índice de Temperatura y Humedad, Humedad Relativa (%) y Temperatura Ambiental (°C) durante la Época de Verano.	37

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Clasificación de Estrés por Calor según la Temperatura Ambiental y la Humedad Relativa (NUGASUR- LANUTRICIÓN DEL FUTURO)	9
Figura 2	Esquema Flujo de Calor en Ganado Lechero; adaptada de “Extension Americas Research-Based Learning Network.	11
Figura 3	Diagrama de Efecto de Estrés por Calor en Ganado lechero; adaptada de Rensis y Scaramuzzi, 2003.	18
Figura 4	“Efecto de la Suplementación con Niacina Encapsulada y Mojaduras Repetidas sobre la Temperatura Interna y Externa de Vacas Lecheras en el Trópico Húmedo” (Fernández Van Cleve et al., 2011).	25
Figura 5	Localización Geográfica del Experimento.	29
Figura 6	Protocolo de Enfriamiento Durante Periodo Experimental.	32
Figura 7	Protocolo de Sincronización de Ovulación	32
Figura 8	Sistema de Hormonas Utilizado para el Programa de Sincronización de Ovulación Panel (a); Imagen Protocolo de Enfriamiento Panel (b); Imagen Inseminación Artificial a Tiempo Fijo Panel (c); Imagen Colección de Muestras de Sangre de Vena Coccígea para Determinar Preñez Panel (d)	33
Figura 9	Termómetro Ambiental U23-01 Hobo t °/hr Logger (Onset®; Computer Corporation Massachusetts, USA).	34

## INTRODUCCIÓN

Las principales razas lecheras utilizadas en Puerto Rico, como Holstein, Brown Swiss y Jersey, son oriundas de regiones templadas. Se ha encontrado que las altas temperaturas, especialmente las de verano, reducen tanto la eficiencia productiva (West, 2003) como la reproductiva (Jordan, 2003) en el ganado lechero. Siendo Puerto Rico una isla tropical, el uso de estas razas, sin llevar a cabo prácticas de manejo para abatir el estrés por calor, ha puesto en riesgo la viabilidad de la industria lechera. Uno de los indicadores de estrés por calor es el índice de temperatura y humedad (ITH). Un ITH por encima de 68 se considera el punto donde bovinos lecheros produciendo más de 35 kg/día (77 lbs/día) comienzan a experimentar estrés hipertérmico (Zimbelman, 2009). Puerto Rico es una isla donde las altas temperaturas y humedad predominan durante todo el año, es decir, los animales sufren de estrés por calor crónico. Además de la temperatura y la humedad, hay otros factores climáticos que influyen el grado de estrés por calor, como lo son la radiación y la velocidad del viento (Jordan, 2003). Un ambiente adverso interrumpe la homeostasis del animal, lo cual puede indirectamente afectar su eficiencia reproductiva y disminuir su fecundidad (Correa-Calderón et al., 2005). El estrés asociado a altas temperaturas afecta la duración del celo, la calidad del calostro, la tasa de concepción, las funciones uterinas, el estatus endocrino, el crecimiento y desarrollo folicular, el desarrollo embrionario temprano y el crecimiento fetal (Jordan, 2003).

Uno de los métodos comúnmente utilizados para disminuir el efecto de las altas temperaturas sobre la reproducción en bovinos es la sincronización de ovulación. Esta

práctica reduce grandemente la necesidad de detectar celos, por lo tanto, haciendo la tasa de preñez más consistente (Jordan, 2003). Este método se ha estudiado extensamente durante la última década en hatos lecheros de todo el mundo (Bruno et al., 2013). La sincronización de ovulación tiene como objetivo principal mejorar los resultados de inseminación artificial, disminuir los intervalos entre inseminaciones, reducir los días abiertos, y mejorar el desempeño reproductivo en general (Bruno et al., 2013). El método más común de sincronización de ovulación es el Ovsynch, siendo este el primer protocolo de sincronización exitoso para vacas lecheras lactantes (Williams et al., 2002; Rivera et al., 2004).

Otra práctica utilizada para mitigar los efectos del estrés hipertérmico es la modificación ambiental, como atomizadores de agua, y abanicos (Correa-Calderón et al., 2005). Por tal razón el objetivo principal del presente estudio fue evaluar el efecto de un sistema de enfriamiento conductivo estratégico sobre la tasa de preñez de bovinos lecheros sometidos a un programa de sincronización de ovulación durante dos épocas del año, otoño y verano.

## **OBJETIVOS**

- Evaluar el efecto de un sistema de enfriamiento conductivo estratégico sobre la tasa de preñez en ganado lechero,
- Evaluar un tratamiento modificado de sincronización de ovulación durante dos épocas del año, otoño y verano,
- Comparar tasas de preñez entre novillas y vacas bajo un tratamiento modificado de sincronización de ovulación.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **A. Industria Lechera en Puerto Rico**

Actualmente la industria lechera es la principal empresa agrícola de Puerto Rico. Para el año fiscal 2012-2013, el valor del ingreso bruto agrícola ascendió a 929.7 millones de dólares de los cuales 212.7 millones correspondieron a la producción de leche, lo que constituye un 22.9% del total del ingreso en la isla, generando alrededor de 25,00 empleos directos e indirectos (Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera, 2010-2011). La industria lechera es afectada por varios factores como la genética, la composición y naturaleza de los alimentos, enfermedades y factores climáticos como la temperatura y la humedad. Las altas temperaturas pueden afectar el desempeño productivo (West, 2003) y reproductivo (Jordan, 2003) en hatos lecheros bovinos. En Puerto Rico, las altas temperaturas predominan durante todo el año, por lo que el clima se ha convertido en uno de los principales problemas de la industria, con un efecto directo sobre los animales, provocando estrés por calor severo durante periodos prolongados de tiempo. Estos efectos serán aún más evidentes en el futuro a medida que los cambios climáticos continúen (O'Brien et al., 2009). Las altas temperaturas ambientales representan un problema mayor en la industria lechera en Puerto Rico, ya que las principales razas que se utilizan son oriundas de clima templado, como la Holstein, Pardo Suiza y Jersey. Estudios han reportado que en Estados Unidos se pierden alrededor de \$900 millones por año, como consecuencia del estrés hipertérmico (St-Pierre et al., 2004; Collier et al., 2006). Es por esto que es de suma importancia conocer el efecto que pueden tener estas condiciones climáticas adversas sobre el ganado en Puerto Rico, para tomar decisiones de manejo más

propicias y tener varias estrategias que ayuden a disminuir los efectos negativos de las altas temperaturas.

## ***B. Impacto del estrés por calor en el ganado bovino***

### ***B.1. Estrés por calor***

El estrés térmico puede ser crónico o agudo y se define como cualquier situación climatológica que provoque una respuesta adaptativa en el animal causando alteraciones en su homeostasis (West, 2003). Este ocurre cuando un determinado ambiente que rodea al animal cambia, por ejemplo, un aumento en la temperatura ambiental (Moghaddam et al., 2009). Un animal entra en estrés por calor cuando es incapaz de mantener efectivamente su temperatura corporal. En condiciones de altas temperaturas ambientales, la capacidad termo-regulatoria de la vaca es insuficiente, por lo tanto la temperatura corporal del animal aumentará (O'Brien et al., 2009).

El estrés hipertérmico ocurre a consecuencia de factores ambientales tales como la alta temperatura, alta humedad relativa (Al Katanani et al., 1999) y la radiación solar (Bohmanova et al., 2007). Uno de los síntomas que presenta el ganado lechero expuesto a estrés hipertérmico es una alteración en la tasa metabólica de equilibrio normal (Du Preez, 2000). Dentro de los animales de la finca, la vaca *Bos taurus* en lactancia es la más sensible a las altas temperaturas ambientales, debido a la carga metabólica asociada a la síntesis de leche (Moghaddam et al., 2009). De hecho estudios en ganado lechero bovino han reportado que por cada 0.45 kg de leche producida, se generan 10 Kcal de calor metabólico por hora (Correa-Calderón et al., 2005).

El estrés causado por las altas temperaturas del aire induce cambios metabólicos y afecta directa e indirectamente los parámetros nutricionales, fisiológicos, de salud y de comportamiento (Allen et al., 2015). Cuando una vaca se encuentra en estrés por calor la temperatura de su piel, la del interior de su cuerpo y su tasa respiratoria aumentarán, mientras que su consumo de materia seca y producción de leche disminuirán, causando una disminución en su desempeño reproductivo y un pobre funcionamiento del sistema inmune (West, 2003). Otros cambios que se han observado son una disminución en la actividad física y en el consumo selectivo (alimentos con mayor densidad energética), con el fin de reducir la producción de calor metabólico (García, 2006). Se ha observado además que animales sufriendo de estrés por altas temperaturas ambientales, aumentan su consumo de agua (NRC, 1981), por lo tanto es bien importante proveerles agua limpia y fresca en todo momento.

En el ganado lechero, el principal reto en climas cálidos es disipar el calor producido durante procesos metabólicos, el cual aumenta a medida que el desempeño productivo del animal aumenta. Vacas lactantes produciendo entre 18.5 y 31.6 kg/día de leche, producen 27.3 y 48.5%, respectivamente, más calor que vacas horras (Purwanto et al., 1990). Además, la raza tiene una influencia sobre la capacidad termoregulatoria. Estudios han revelado que las razas Jersey y Pardo Suiza son más termotolerantes o se ven menos afectadas cuando se encuentran en estrés por calor que animales de la raza Holstein (Ragsdale et al., 1951).

Los animales sufriendo de estrés por calor presentarán cambios en comportamiento. En un estudio realizado por Allen y colaboradores (2015), animales en estrés por calor pasaron más tiempo parados, relativo a contemporáneos sin estrés.

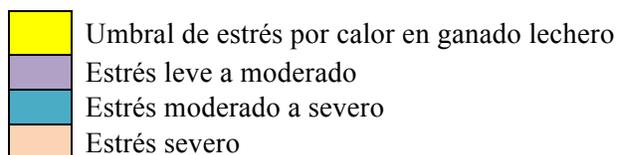
El mencionado estudio se realizó en los estados de Arizona, California y Minnesota, donde los animales de Arizona que estuvieron expuestos a mayores valores de ITH ( $\geq 72$ ) pasaron un número mayor de horas al día parados (12.6 horas/día) relativo a animales de Minnesota y California (11.5 y 11.3 horas/día), respectivamente. Este factor es crítico cuando se están manejando vacas altas productoras, ya que este comportamiento tendrá un efecto negativo sobre la producción de leche debido a que limita el flujo de sangre hacia la ubre (Allen et al., 2015). Además, los animales que pasan más tiempo parados serán más susceptibles a laminitis (Allen et al., 2015).

Por otra parte, otro de los efectos de las altas temperaturas ambientales sobre el ganado lechero es el desempeño de la cría luego del nacimiento. Estudios han revelado que becerras nacidas de vacas que sufrieron de estrés por calor durante la gestación presentarán menor peso al nacimiento, menor eficiencia de absorción de inmunoglobulinas tipo G y menor desempeño reproductivo en su vida futura, relativo a sus contemporáneas donde sus madres no experimentaron estrés hipertérmico (Tao y Dahl, 2013). Estos autores atribuyen estas respuestas al efecto del estrés por calor sobre el desarrollo y funcionamiento adecuado de la placenta. Flujo sanguíneo de animales bajo estrés por calor, se redistribuye. Este aumenta en la periferia, con el propósito de intercambiar calor con el ambiente, al llegar mayor flujo de sangre a la periferia, no llegan las concentraciones ideales de los nutrientes esenciales para el buen funcionamiento de la placenta.

## ***B.2. Índice de Temperatura y Humedad***

El índice de temperatura y humedad (ITH) es uno de los métodos más prácticos y utilizados para evaluar el estrés por calor en el ganado bovino (Du Preez, 2000). El ITH toma en consideración el efecto combinado de la temperatura del aire y la humedad relativa generando un rango de valores indicativos del grado de estrés por calor que el ganado está experimentando (Bohmanova et al., 2007). Diferentes especies de animales pueden presentar diferentes niveles de tolerancia al estrés por calor. Por ejemplo, una vaca puede tolerar mayores temperaturas ambientales a baja humedad relativa, en comparación con los porcinos. Esto debido a que el ganado puede disipar mayor cantidad de calor a través de la evapotranspiración, en comparación con los cerdos quienes lo hacen a través del jadeo, ya que estos carecen de glándulas sudoríparas (Bohmanova et al., 2007). Se ha reportado que un ITH menor a 70 se considera como la zona termoneutral en el ganado lechero bovino (West, 2003). Sin embargo, cuando el ITH alcanza un valor de 72, el ganado lechero de menor producción comienza a experimentar estrés por calor; entre 72 y 77 experimenta estrés moderado y cuando es mayor a 77 el animal experimenta estrés de calor severo (Kadzere et al., 2002). Sin embargo estos valores varían en la literatura.

DAIRY COW TEMPERATURE HUMIDITY INDEX (THI)																			
		Humidity %																	
Temp °F	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90
72	64	65	65	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	69	70	70	70	71	71
74	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73
76	66	67	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75
78	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	76	76
80	68	69	69	70	70	71	72	72	73	74	75	75	76	76	77	78	78	79	79
82	69	69	70	70	71	72	73	73	74	75	75	76	77	77	78	79	79	80	80
84	70	70	71	72	73	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	80	81	82	83
86	71	71	72	73	74	74	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84
88	72	72	73	74	75	76	76	77	78	79	80	81	81	82	83	84	85	86	86
90	72	73	74	75	76	77	78	79	79	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88
92	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	85	86	87	88	89	90
94	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	86	86	87	88	89	90	91	92
96	75	76	77	78	79	80	81	82	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
98	76	77	78	80	80	82	83	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
100	77	78	79	81	82	83	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	96	98
102	78	79	80	82	83	84	85	86	87	89	90	91	92	94	95	96	97	98	100
104	79	80	81	83	84	85	86	88	89	90	91	93	94	95	96	98	99	100	101
106	80	81	82	84	85	87	88	89	90	91	93	94	95	97	98	99	101	102	103
108	81	82	83	85	86	88	89	90	92	93	94	96	97	98	100	101	103	104	105
110	81	83	84	86	87	89	90	91	93	95	96	97	99	100	101	103	104	106	107



**FIGURA 1:** ESCALA DE ESTRÉS POR CALOR SEGÚN LA TEMPERATURA AMBIENTAL Y LA HUMEDAD RELATIVA (COLLIER ET AL; 2012)

Estudios recientes han demostrado que el ganado lechero comienza a experimentar estrés hipertérmico a un ITH menor de 70 (**Figura 1**). Zimbelman y colaboradores (2009), tomando en consideración las diferencias en el nivel de producción de leche del ganado actual (35 kg/día) en comparación con la de hace 55 años (15.5 kg/día; cuando se extendió el ITH a los bovinos), concluyeron que actualmente el ganado lechero comienza a experimentar estrés por calor a un ITH de 68.

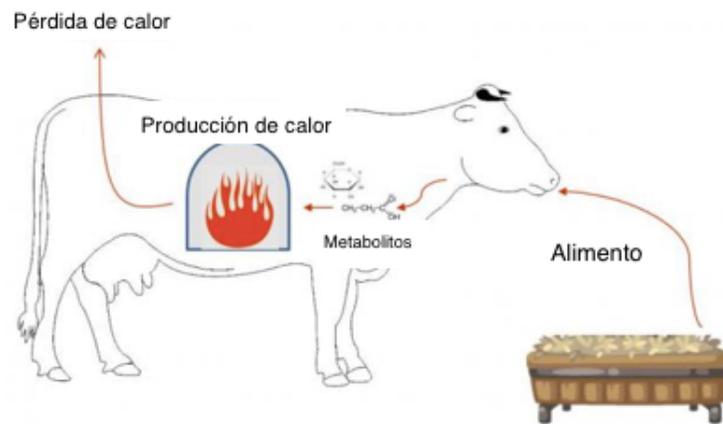
El ITH está negativamente correlacionado al consumo de materia seca y a la producción de leche. Bouraoui et al. (2002), encontraron que a medida que el ITH aumenta de 68 a 78 el consumo de materia seca y el volumen de leche producida disminuyen 1.73 y 4 kg, respectivamente. De la misma manera que se altera el consumo de materia seca y la producción de leche, estos encontraron que el por ciento de proteína en la leche disminuye significativamente, lo cual atribuyen a la disminución en consumo de alimento y energía.

A pesar de que el ITH se considera la medida más práctica para estimar el estrés en el ganado, se recomienda sustituir el ITH, ya que es una medida que solo considera la temperatura del aire y la humedad relativa. Según revisado por Berman et al. (2008), investigadores sugieren que el ITH se cambie por ecuaciones que consideren otros elementos del animal y del ambiente tales como velocidad del aire, calor radiante, producción de calor metabólico, densidad del pelaje, pérdidas de calor por la piel y postura.

### ***B.3. Mecanismos de regulación de temperatura en bovinos***

Todos los animales de la finca son homeotermos, o sea, regulan su temperatura corporal dentro un rango estrecho para mantener homeostasis (Berman, 2011). No obstante, la fisiología interna en el ganado lechero trabaja similar a una caldera. Las vacas pueden quemar combustible en forma de metabolitos los cuales son derivados de los alimentos y utilizan parte de la energía en el combustible para realizar las diferentes funciones de mantenimiento, reproducción y producción. Parte del calor generado como consecuencia de la utilización de estos metabolitos se pierde en el

ambiente por los diferentes mecanismos termoregulatorios del animal. Sin embargo, cuando la vaca no puede disipar parte del calor generado al ambiente, esta comienza a acumularlo, resultando en estrés hipertérmico (Extension Americas Research- based Learning Network; **Figura 2**).



**FIGURA 2:** ESQUEMA FLUJO DE CALOR EN GANADO LECHERO; ADAPTADA DE “EXTENSION AMERICAS RESEARCH-BASED LEARNING NETWORK”.

Cuando los animales comienzan a reaccionar a un estrés por las altas temperaturas ambientales se activan una serie de mecanismos para mantener su homeotermia y evitar que se vean afectados sus procesos fisiológicos. La temperatura corporal es controlada a través de mecanismos que regulan la producción de calor metabólico e intercambio de calor corporal con el medioambiente (Berman, 2011). La habilidad para regular su temperatura corporal es una adaptación evolutiva que le permite a los homeotermos funcionar, a pesar de los cambios en temperatura ambiental. Sin embargo, los rumiantes no mantienen estricta homeotermia cuando se

encuentran bajo estrés por calor (Silanikove, 2000). Cuando se habla del bienestar del animal bajo estrés por calor, estos presentan respuestas fisiológicas (sudoración y jadeo), hormonales (cortisol, y actividad de las tiroides) y de comportamiento (disminuyen consumo de materia seca) ante situaciones de estrés por las altas temperaturas (Silanikove, 2000).

Para reducir los efectos adversos del calor sobre la fisiología animal, este es intercambiado entre la vaca y el ambiente. La disipación del calor corporal en exceso en los animales es a través de rutas evaporativas y no evaporativas (Berman, 2011). La estrategia termorreguladora básica de un mamífero es mantener su temperatura corporal interna mayor a la ambiental, generando por ende un gradiente termal el cual permite un flujo de calor de mayor a menor temperatura. Según Collier et al. (2006), para lograr mantener un flujo de calor desde el interior del cuerpo hasta el ambiente, los bovinos utilizan cuatro rutas básicas de intercambio de calor (conducción, convección, radiación y evaporación; **Tabla 1**). Conducción, convección y radiación se consideran mecanismos sensibles de pérdida de calor los cuales requieren un gradiente termal (Burgos et al., 2007). Dependiendo de la magnitud de este gradiente, será la velocidad a la cual se intercambia la temperatura a través de las mencionadas rutas de intercambio (Burgos et al., 2007). Estas rutas de pérdida de calor son las principales cuando la temperatura ambiental es menor de 35°C; una vez la temperatura del aire excede estos valores, la principal ruta para disipar calor es la pérdida de calor por evaporación (Burgos et al., 2007; Berman, 2008).

La vaca pierde calor corporal normalmente de forma evaporativa a través del sudor y el jadeo (Burgos et al., 2007, Berman, 2011). Este mecanismo de pérdida de



A una humedad relativa alta se pierde muy poco calor a través de la evaporación (Berman, 2008). Cuando los animales son expuestos a elevada temperatura del aire y humedad relativa, su habilidad para disipar el calor metabólico se ve seriamente comprometida. Este intercambio de calor a través del sudor, también dependerá de la densidad y morfología de las glándulas sudoríparas (Berman, 2011).

#### ***B.4. Efectos del estrés por calor sobre la producción***

Uno de los principales efectos de las altas temperaturas en ganado lechero es la disminución en la producción de leche, la cual puede disminuirse desde 10 hasta 25% durante los meses de verano (Correa-Calderón et al., 2005). La zona termoneutral en ganado lechero se encuentra entre 5 a 25°C de temperatura ambiental. Estudios han demostrado una disminución en producción de leche asociado a estrés por calor en razas Holstein, Pardo Suiza y Jersey, siendo la última la menos sensible a las altas temperaturas, relativo a las primeras dos (Correa-Calderón et al., 2005). Sin embargo, otros estudios aseguran que el mantenimiento de una alta producción de leche en climas cálidos depende más del alivio al estrés por calor que a la raza (Berman, 2011). Además del volumen de leche producida, la composición de la leche también se ve afectada. Una de las razones principales por las cuales los bovinos lecheros disminuyen su producción se debe a la reducción en el consumo voluntario de materia seca y al aumento en los requerimientos de energía de mantenimiento (NRC, 1981). Este patrón de reducir el consumo de materia seca que presenta el rumiante cuando las altas temperaturas prevalecen, se relaciona a una respuesta de comportamiento con el objetivo de reducir la producción de calor como resultado de los procesos de

digestión, fermentación bacteriana en el rumen y otros procesos metabólicos (Beede y Collier, 1986). O'Brien y sus colaboradores (2009), reportaron que esta disminución en consumo de materia seca afecta la disponibilidad de nutrientes esenciales para la síntesis de leche. Sin embargo, a pesar de que la mayoría de los estudios atribuyen la disminución en producción de leche a la reducción en consumo voluntario, se ha demostrado que la disminución en consumo de nutrientes es responsable de solo el 35 al 50% de la disminución observada en producción de leche. El restante 50% es debido a mecanismos independientes a este como la absorción de glucosa (O'Brien et al., 2009).

#### ***B.5. Efectos del estrés por calor sobre la reproducción***

Un factor aún más importante que el volumen de producción de leche, que puede representar el grueso de la rentabilidad de la industria lechera y que a su vez se ve seriamente afectado por las altas temperaturas ambientales, es la reproducción. La reproducción del animal ha sido bien estudiada a través del tiempo y se ha demostrado que el estrés por calor es el principal factor responsable de la baja fecundidad en ganado lechero, especialmente durante los meses de verano (Moghadamm et al., 2009). Como se ha mencionado anteriormente, la reducción en eficiencia reproductiva está influenciada por factores ambientales que determinan la magnitud del estrés, además de factores internos de la vaca que determinan su habilidad de regular su temperatura corporal (Al-Katanani et al., 1999). Se ha encontrado que el estrés asociado a altas temperaturas ambientales está directamente relacionado a fallas en la expresión del estro, por lo tanto en la detección de celos y en la fecundidad, donde

ambos disminuyen durante el estrés hipertérmico (Collier et al., 2006; Berman, 2011). Se ha señalado además que el estrés por calor está asociado a: alteraciones en el ciclo estral, la calidad del calostro, la tasa de concepción, la función uterina, el balance endocrino, el crecimiento y desarrollo folicular, el desarrollo embrionario y el crecimiento del feto (Jordan, 2003). Sin embargo, según revisado por Berman (2011), los efectos de las altas temperaturas sobre la detección del estro han sido parcialmente aliviados con el desarrollo de la inseminación artificial a tiempo fijo, la cual permite que los animales sean inseminados independiente de la detección de celo.

Las vacas en lactación son más susceptibles al estrés por calor debido a que su habilidad de disipar calor corporal se ve comprometida a causa de la alta producción de calor asociado a la síntesis de leche (Wilson et al., 1988). Otros estudios han reportado una asociación entre el ITH y la tasa de concepción. Huang y colaboradores (2008), reportaron que a medida que el ITH aumenta, la tasa de concepción disminuye. Animales que fueron expuestos a ITH > 70 (verano) y < 57 (otoño) presentaron una tasa de concepción de 46.5% versus 62.0%, respectivamente.

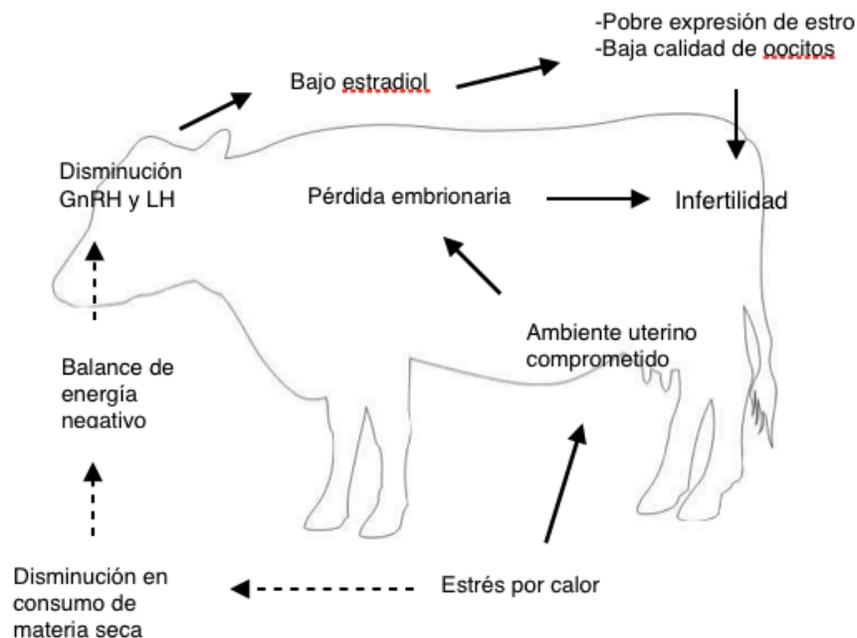
El efecto que tienen las altas temperaturas sobre la función del folículo pudiera ser el resultado de cambios a nivel folicular o de las hormonas de la pituitaria que controlan el desarrollo de los folículos (Hansen, 2009). Se ha encontrado que células foliculares en cultivo expuestas a temperaturas elevadas experimentan una reducida producción de esteroides (Wolfenson et al., 1995). Badinga y colaboradores, (1993) encontraron que los folículos de vacas bajo estrés por calor fueron de menor diámetro y con menor contenido foliculae que aquellos que pertenecían a animales del grupo testigo. Otra de las consecuencias del estrés por calor en ganado lechero es el

aumento en el número de folículos medianos y pequeños, que parece ser debido a una disminución en la concentración de inhibina y un aumento en la secreción de la hormona estimuladora del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) (Roth et al., 2000), además de la supresión de la dominancia de folículos (Wolfenson et al., 1995).

Por otra parte, el desarrollo embrionario también se ve afectado por las altas temperaturas. El embrión es susceptible a elevadas temperaturas uterinas; sin embargo, el impacto disminuye a medida que este avanza en su desarrollo (Hansen, 2009). Ealy et al. (1993), encontraron que la exposición de vacas lactantes a estrés hipertérmico en el primer día después del estro, cuando los embriones se encuentran en la etapa de una a dos células, reduce la proporción de embriones que se desarrollaron en la etapa de blastocito en el día 8 después del estro. Sin embargo, exposición a estrés por calor en los días 3 (8-16 células), 5 (mórula) y 7 (blastocitos) pos-inseminación, no tuvo efecto sobre la proporción de embriones que se desarrollaron a blastocitos al día 8. Por lo tanto, es probable que el embrión no sea capaz de desarrollarse durante sus primeros tres días cuando la temperatura corporal de la madre aumenta según aumenta la temperatura ambiental (Hansen, 2009). Los embriones desarrollan termo-tolerancia a medida que avanzan en su desarrollo, lo cual es inducida luego de ser expuestos a altas temperaturas (Paula- Lopes y Hansen, 2002). Sin embargo, este fenómeno no ocurre hasta el día 4 de su desarrollo (Paula-Lopes y Hansen, 2002). La adquisición de la capacidad termo tolerante envuelve la síntesis de la proteína “heat-shock-70” (HSP70). Esta proteína estabiliza las proteínas intracelulares y los organelos, inhibe la apoptosis o muerte celular y es inducida por

temperaturas elevadas tan temprano como en la etapa de desarrollo de dos células (Edwards y Hansen, 1996).

Se puede inhibir la apoptosis celular utilizando inhibidores de la enzima caspasa, la cual se caracteriza por mediar la ruptura de proteínas (Paula-Lopes y Hansen 2002). Por lo tanto, si la apoptosis se limita a las células más dañadas del embrión, se puede facilitar que este se siga desarrollando a pesar de haber sido expuesto a temperaturas altas extremas. En el ganado bovino, la inducción de apoptosis por temperaturas elevadas no se produce hasta la etapa de 8 a 16 células, en el día 4 luego de la inseminación artificial (Hansen, 2009).



**FIGURA 3:** DIAGRAMA DEL EFECTO DE ESTRÉS POR CALOR EN GANADO LECHERO; ADAPTADA DE RENSIS Y SCARAMUZZI, 2003.

Efectos similares ocurren sobre la función de la placenta y el desarrollo fetal. Estudios en ovinos han reportado que el estrés por calor reduce el peso del feto y de la placenta, además de reducir las hormonas de la placenta (Wallace et al., 2005). Esta disminución en hormonas placentarias, como el lactógeno de la placenta, puede causar reducción en la producción de leche en la lactancia futura (Collier et al., 1982).

### ***C. Estrategias para disminuir el efecto del estrés por altas temperaturas ambientales***

#### ***C.1. Mejoramiento genético***

##### ***C.1.1 Cruces con *Bos indicus****

Uno de los principales retos que han tenido los ganaderos en Puerto Rico es mantener la eficiencia productiva y reproductiva de su ganado lechero. Sin embargo, esto se ha visto limitado debido a que las principales razas utilizadas en la isla son provenientes de países con climas templados, por lo que la temperatura local es el principal factor que afecta su desempeño. Por lo tanto, una de las estrategias utilizadas para mitigar los efectos negativos de las altas temperaturas ha sido el mejoramiento genético el cual se logra a través de la modificación del genotipo de un individuo. Una práctica común que se utiliza en otros países de climas tropicales es el cruce con animales de raza *Bos taurus indicus* (cebú), ya que estos presentan una excelente adaptación a regiones geográficas donde las altas temperaturas ambientales prevalecen (Perotto et al., 2010). Sin embargo, a pesar de su adaptación a las altas temperaturas ambientales, estos animales presentan niveles bajos de producción, razón por la cual se cruzan con animales de la raza *Bos taurus taurus* o razas europeas (e.g., Girolando de Brasil, Jamaican Hope). Por el contrario, las razas bovinas

europeas presentan una mayor producción de leche aunque demuestren pobre adaptación a climas tropicales, donde usualmente prevalecen las altas temperaturas, pobre calidad de forrajes y alta exposición a parásitos (Perotto et al., 2010). Por esto, la principal razón de producir estos cruces es mejorar la producción de leche sin sacrificar las características termo tolerantes.

Perotto et al. (2010), en Brasil, encontraron que animales provenientes de cruces Holstein x Cebú promediaron una menor producción de leche y una reducción en la duración de la lactancia relativo a la raza Holstein pura. La producción de leche a los 275 d y ajustada a 305 d fue de 2,812 y 2,657 kg, respectivamente. Estos indicaron que uno de los factores influyentes sobre esta baja producción, fue la proporción de la raza Holstein en el cruce y el mérito genético de los toros Holstein utilizados. No obstante, aunque animales provenientes de estos cruces no presentan una excelente producción de leche, estos siguen siendo una alternativa para mejorar la genética de los animales.

Por otra parte, la termorregulación no ha sido la única característica positiva que presentan estos cruces con animales de razas *Bos taurus indicus*. Según otros investigadores, aquellos animales provenientes de estos cruces entre razas cebuinas y europeas presentan una mayor resistencia a infecciones parasitarias, tales como las garrapatas, un problema común en climas tropicales (Veríssimo et al., 2002).

### **C.1.2 Bovinos lecheros de pelo corto (Pelonas)**

Ganado de pelo corto, o comúnmente conocido en Puerto Rico como ganado “pelón” o “slick hair” ha sido una alternativa estudiada durante los últimos años, ya que tienden a presentar superior adaptación a los climas tropicales. En un estudio realizado por Olson y colaboradores (2003), se reportó la presencia de un gen que codifica para pelaje corto en ganado *Bos taurus taurus*. Este gen también ha sido identificado en ganado de la raza Senepol y en ganado de la raza Carora, la cual fue desarrollada por cruces de toros Pardo Suizo importados con vacas criollas de Venezuela (Dikmen et al., 2008). Posteriormente este gen fue introducido a la raza Holstein a través del cruce entre razas mencionadas anteriormente (Dikmen et al., 2008). Estudios han reportado la presencia del gen de pelo corto en el ganado Holstein, demostrando además superior tolerancia a elevadas temperaturas y mayor producción de leche que sus contemporáneos de pelo normal, durante los meses de verano (Dikmen et al., 2014).

Olson et al. (2003), reportaron que el ganado vacuno con pelaje corto presenta una habilidad termo-regulatoria superior cuando se compara con ganado vacuno de pelo normal bajo condiciones de estrés por las altas temperaturas ambientales. En uno de sus estudios, animales de pelo corto presentaron menor temperatura rectal en los seis días de colección de datos, manteniéndose en una variación entre de 38.8 y 39.6° C versus sus contemporáneos de pelo normal, los cuales presentaron variaciones en temperatura rectal entre 39.3 y 40.0°C, durante los meses de diciembre y agosto, respectivamente. La tasa respiratoria de estos animales de pelo corto también fue menor que sus contemporáneos pelo regular ( $P < 0.05$ ).

Olson et al. (2003), además evaluó la producción de leche y encontró que, aunque la producción láctea de animales 75% Holstein de pelo corto no fue igual a la de animales 100% Holstein, estas presentaron una producción significativamente mayor ( $P < 0.02$ ) que el resto de los grupos en el estudio. Cuando se comparó la producción de leche de cruces Holstein por Senepol con fenotipo pelo corto en contraste con fenotipo de pelo largo, encontraron que estas produjeron 6,389 y 5,579 kg, respectivamente; una diferencia de 810 kg. Al ajustar la leche a 305 días en progenies provenientes de cruces de vacas Carora por Holstein de pelo corto, encontraron que la producción de leche fue mayor a la de animales de pelo normal (5,526 versus 5,115 kg, respectivamente).

Dikmen y colaboradores (2008), coincidieron con los resultados de Olson. Estos utilizaron 20 vacas Holstein x Senepol: la mitad presentaba pelaje corto y la otra mitad pelaje normal. Estos encontraron que las vacas de pelo corto presentaron mejor regulación de temperatura corporal que sus contemporáneas de pelo largo. Además encontraron que las Holstein de pelo corto presentaron una pérdida mayor de calor por evaporación en ambientes donde el ITH fluctuó entre 81.4 y 84.4 versus los animales de pelo normal. Estos autores le atribuyen esta mayor capacidad termorreguladora a una menor tasa metabólica, a un aumento en la pérdida de calor por evaporación, una capacidad superior de transferencia de calor a la superficie ó una combinación de estas adaptaciones.

## ***C.2. Modificaciones ambientales para abatir el estrés por calor***

Otra de las estrategias implementadas y de las más comunes para disminuir los efectos de las altas temperaturas en hatos lecheros es la modificación del ambiente que rodea la vaca con el fin de disminuir la magnitud del estrés hipertérmico. Estas deben minimizar la temperatura interna de la vaca, para que esta no tenga que ajustar sus procesos fisiológicos y por ende comprometer sus funciones corporales como el desempeño productivo y reproductivo. Entre las diferentes modificaciones ambientales que presentan un beneficio al ganado para mitigar los efectos de estrés por calor están los sistemas de enfriamiento evaporativo (atomizadores de agua) y ventilación forzada (abanicos) (Correa Calderón, 2005). El método más económico de mitigación de estrés por calor que el ganadero puede ofrecerle a los animales es la sombra. Es importante que se les ofrezca a los animales áreas de descanso con sombra para proveer al ganado un ambiente favorable que permita a estos llevar a cabo el proceso de termorregulación apropiado. Se estima que la carga de calor se puede reducir de un 30 a un 50% cuando se utilizan estructuras con sombras diseñadas adecuadamente (Collier et al., 2006). Estudios han demostrado temperaturas rectales más bajas (38.9 y 39.4°C), menor tasa respiratoria (54 y 82 respiraciones/min) y un aumento en la producción de leche (alrededor de 10%) en vacas bajo sombra comparado a las que no tienen sombra, respectivamente.

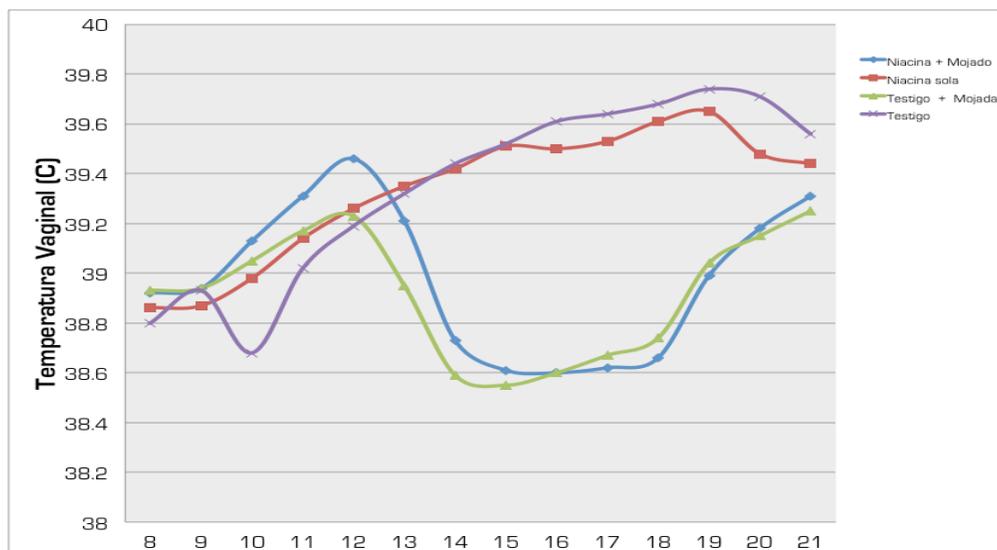
Por otra parte, enfriamiento conductivo con agua también ha sido utilizado para enfriar el ganado y lograr reducir los efectos de la carga de calor. Por ejemplo, el 40% de los grandes operadores en Nueva Zelanda utilizan aspersores mientras las vacas esperan para ser ordeñadas y el 62% de las industrias lácteas con más de 500 vacas

en los Estados Unidos utilizan aspersores, rociadores o evaporación para aumentar la capacidad de disipación de calor corporal (Legrand et al., 2011). Además de utilizar agua, existen vaquerías que combinan distintos sistemas de enfriamiento, como por ejemplo agua y ventilación forzada (Berman, 2008). Se espera que la combinación de estos dos sistemas de enfriamiento sea más efectivo sobre el animal. Sin embargo, hay que tener en consideración diferentes factores que pueden mejorar la eficiencia de estos métodos, como por ejemplo, frecuencia del mojado, velocidad del aire y duración de la ventilación forzada (Berman, 2008). La ventilación forzada aumenta la eliminación de calor por convección, pero es más efectivo cuando el efecto de la temperaturas de aire sobre el animal es menor. Usualmente se utiliza enfriamiento evaporativo, pero hay que tener en cuenta que la evaporación de la gota de agua dependerá del tamaño esta (Bucklin et al., 1992), al igual que de las condiciones ambientales. Una gota pequeña aumentará la necesidad de mojar por más tiempo, lo que aumentará especialmente la humedad relativa del ambiente que rodea al animal, por lo tanto, puede reducir la tasas de evapotranspiración (Berman, 2008). En un experimento realizado por Khongdee y colaboradores (2006), evaluaron el desempeño de animales bajo sistemas de enfriamiento, encontrando que la producción de leche fue mayor en animales bajo sistema de enfriamiento relativo a animales sin este (9.60 versus 8.28 kg/día). Cuando se estudió el desempeño reproductivo de los animales, encontraron que los animales que pertenecían al grupo testigo presentaron mayor cantidad de días abiertos, por lo tanto, una mejor eficiencia reproductiva en animales bajo sistema de enfriamiento (203 versus 152 días, respectivamente). Estos sistemas reducen el efecto adverso de la alta temperatura, por lo tanto inhibe factores que

pueden afectar el crecimiento y desarrollo folicular en el periodo pre-ovulatorio (Khongdee et al., 2006).

Por otra parte, estudios han revelado un efecto positivo en la progenie de animales que fueron expuestos a un sistema de enfriamiento durante el periodo horro. Según revisado por Thatcher et al. (2010), novillas nacidas de animales bajo estrés por calor durante el periodo horro y que fueron expuestas a un sistema de enfriamiento, produjeron 5.3 libras más de leche por día, que novillas nacidas de vacas sin sistema de enfriamiento.

Fernández Van Cleve y colaboradores (2011), realizaron un estudio en la vaquería de la Estación Experimental Agrícola de Lajas con el propósito de determinar el efecto del enfriamiento conductivo combinado con la suplementación con Niacina, sobre la temperatura externa e interna y la tasa respiratoria en el ganado lechero. Estos encontraron que con un sistema de duchado intensivo los animales pueden disminuir cerca de 1.0°C de temperatura interna y superficial (**Figura 4**).



**FIGURA 4:** “EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON NIACINA ENCAPSULADA Y MOJADURAS REPETIDAS SOBRE LA TEMPERATURA INTERNA Y EXTERNA DE VACAS LECHERAS EN EL TRÓPICO HÚMEDO” (FERNANDEZ VAN CLEVE ET AL., 2011)

### **C.3. Sincronización de ovulación**

El estrés por las altas temperaturas reduce las concentraciones de estradiol en el plasma durante la etapa de proestro del ciclo estral, afectando la duración y la intensidad de los celos (Wilson et al., 1998). Esto incide sobre el número de vacas que pueden ser detectadas en celo durante los meses cálidos (Moghaddam et al., 2009). Por tal razón, una de las estrategias utilizadas para disminuir los efectos de las altas temperaturas ambientales sobre la reproducción es la sincronización de la ovulación (Angulo et al., 2004). Este es un método muy práctico, ya que elimina la necesidad de detectar celos, por lo tanto, las tasas de preñez pueden ser más consistentes (Jordan, 2003). Este método ha sido estudiado extensivamente durante la última década en hatos lecheros de todo el mundo (Bruno et al., 2013). El programa de sincronización de ovulación más común, denominado OvSynch, fue el primer protocolo de sincronización diseñado para vacas lecheras lactantes que tuvo éxito (Williams et al., 2002; Rivera et al., 2004). La sincronización de ovulación tiene como objetivo principal mejorar el éxito de la inseminación artificial (IA), disminuir los intervalos entre inseminaciones, reducir los días abiertos, y mejorar el desempeño reproductivo en general (Bruno et al., 2013).

El programa de OvSynch es un protocolo de tratamiento hormonal utilizado para inseminar artificialmente, a tiempo fijo y sin necesidad de detección de celos, un grupo de animales simultáneamente. Se ha encontrado que este protocolo reduce los días abiertos, aumenta la tasa de preñez y permite un control de la primera y subsiguientes inseminaciones (Peters, 2003). Este programa combina la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) y prostaglandina F 2- $\alpha$  (PGF) en un tiempo y horario específico. Por ejemplo, el protocolo comienza con una inyección de GnRH, a los 7 días más tarde se administra una inyección de PGF, seguido por una

inyección adicional de GnRH 48 horas más tarde, inseminando los animales de 12 a 18 horas luego de la segunda inyección de GnRH (Williams et al., 2002; Peters, 2003). Se han realizado experimentos para determinar la hora específica a la que debe ser inyectada esta última dosis de GnRH. Peter y colaboradores (2003), encontraron que la administración de GnRH 24 horas o menos después de la inyección con PGF puede reducir la tasa de preñez cuando se implementa inseminación artificial; posiblemente debido a una regresión prematura del cuerpo lúteo. Por otra parte, otros estudios han modificado el programa de Ovsynch para determinar su efecto sobre la tasa de preñez. Angulo et al. (2004), evaluaron el desempeño reproductivo de búfalas sometidas a dos tratamientos de sincronización de ovulación. Un grupo de animales fue sometido al protocolo OvSynch mientras que el otro grupo obtuvo una dosis adicional de PGF 12 días antes de comenzar el protocolo de OvSynch (Ovsynch modificado). La tasa de preñez promedio para ambos grupos fue de 55.6%. El grupo de animales sometido a OvSynch y OvSynch modificado presentaron tasas de preñez de 44.4 y 66.7%, respectivamente. Aunque no hubo diferencia ( $P>0.05$ ) se observó una discrepancia porcentual (22.3%) a favor del protocolo Ovsynch modificado. Uno de los principales retos que enfrentan los productores de búfalos es la detección de estros, problema similar que enfrentan los ganaderos localmente. Por lo tanto este estudio prueba la importancia que tiene un programa de sincronización de ovulación para maximizar la capacidad reproductiva de un hato.

A pesar del éxito de este protocolo de sincronización, se ha encontrado que novillas lecheras no responden satisfactoriamente a este programa de sincronización e inseminación a tiempo fijo. Novillas bajo este programa presentan tasas de concepción

de un 20 a un 40% menos que aquellas inseminadas al momento de detectar celo (Rivera et al., 2004). Varios estudios han evaluado la efectividad de la sincronización de ovulación utilizando GnRH, sin embargo los resultados han sido inconsistentes (Rivera et al., 2004). En un intento para evaluar la efectividad de sincronización de celo en novillas utilizando GnRH, Rivera y colaboradores (2004) compararon un protocolo de sincronización de Ovsynch seguido por inseminación a tiempo fijo con un sistema de manejo estándar de inseminación artificial luego de removida la tiza marcadora de celo. Ellos encontraron que protocolos de sincronización utilizando GnRH y PGF pueden mejorar el rendimiento de fertilidad en novillas, siempre y cuando se optimice la eficiencia de la inseminación artificial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *A. Descripción del lugar*

La investigación se llevó a cabo en la Vaquería de la Subestación Experimental Agrícola del Recinto Universitario de Mayagüez, ubicada en la carretera 303 en Lajas (**Figura 5**), al suroeste de la isla con una elevación de 26 metros sobre el nivel del mar y una precipitación mensual promedio de 61 mm.



**FIGURA 5:** LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL EXPERIMENTO.

### *B. Descripción del experimento*

#### *B.1. Diseño experimental*

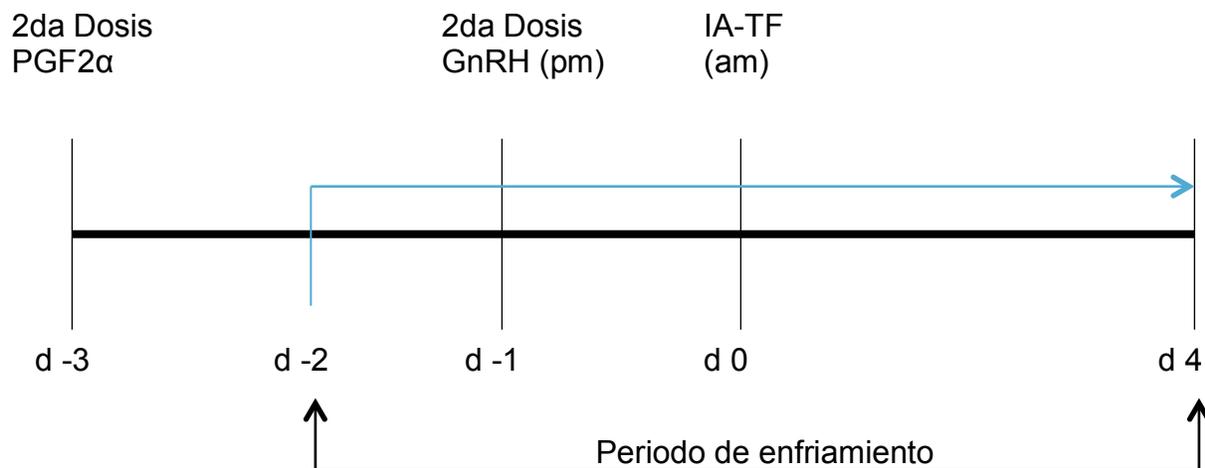
Se realizaron ensayos en dos épocas del año (otoño y verano), ambos con una duración de 22 días. En el primer ensayo realizado en otoño (del 4 al 25 de noviembre del 2013) se utilizaron 38 animales agrupados según su estado de paridad, novillas (n=28) y vacas (n=10), distribuidos aleatoriamente en ambos grupos, tratamiento o testigo. En el ensayo de verano (del 28 de Julio al 18 de Agosto, 2014), se utilizaron 55 animales, 19 eran novillas y 36 eran vacas. En ambos ensayos las vacas fueron agrupadas de acuerdo a producción de leche, días en leche, número de lactancia, peso vivo y tipo de pelo, mientras que las novillas fueron seleccionadas por peso corporal y tipo de pelo. Todos los animales fueron agrupados y asignados aleatoriamente a uno

de dos grupos, el experimental el cual constó de 19 animales en otoño y 27 animales en verano, y el grupo testigo compuesto por 19 y 28 animales en otoño y verano, respectivamente. Todos los animales del estudio fueron sometidos a un protocolo modificado de sincronización de ovulación OvSynch utilizando PGF, comercialmente conocida como Lutalyse (dinoprost tromethamine 5mg/mL; Pfizer Animal Health, NY, USA) y GnRH, comercialmente conocida como Factrel (Gonadorelin Hydrochloride; 50 mg/mL; Fort Dodge Animal Health, Iowa, USA) (**Figura 8a**). El protocolo utilizado para la sincronización del celo fue el OvSynch modificado, el cual constó de una inyección de PGF 7 días antes del comienzo del protocolo OvSynch. Este último está basado en una inyección de GnRH seguido por una de PGF 7 días más tarde seguido de una dosis adicional de GnRH 16-18 horas posterior a la inyección de PGF (**Figura 7**). Dieciséis a dieciocho horas luego de la segunda inyección de GnRH (día -1 con respecto al día de inseminación) todos los animales fueron inseminados a tiempo fijo, irrespectivo de las señales de celo (ITF; día 0).

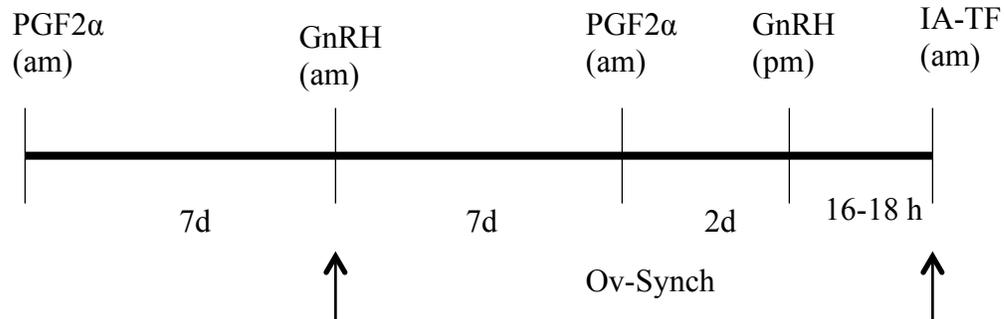
El grupo tratamiento fue expuesto a un periodo de enfriamiento conductivo, desde dos días antes de la inseminación a tiempo fijo (día -2), hasta 4 días luego de la inseminación (**Figura 6**). Estos animales fueron duchados completamente por aproximadamente 5 minutos desde las 1000 hasta las 1700 horas, a intervalos de 30 minutos, dentro de un rancho de sombra (**Figura 8b**), similar a experimento realizado por Fernández-Van Cleve et al., (2011). El grupo testigo permaneció en los predios sin recibir protocolo de enfriamiento alguno durante el periodo experimental. Luego de la segunda dosis de GnRH, todos los animales fueron inseminados artificialmente por un solo inseminador (**Figura 8c**), utilizando semen de un toro genotípicamente pelón,

perteneciente a la vaquería el Remanso al noroeste de la isla. Una vez acabado el tratamiento de mojado, todos los animales eran enviados a sus respectivos predios y se manejaban de la misma manera. La confirmación de preñez fue realizada por muestras de sangre (2 ml) colectadas de la vena coccígea en todos los animales 32 días pos ITF (**Figura 8d**). Las muestras de sangre fueron enviadas a un laboratorio (CFLA, LLC<sup>®</sup>; Saint Cloud, FL, USA) donde se le realizó la prueba de ByoPRYN (ByoPRYN PSB), la cual consiste en identificar la presencia de la Proteína Específica de la Preñez (PSPB, por sus siglas en inglés) que es producida de forma exclusiva por la placenta temprano en la gestación.

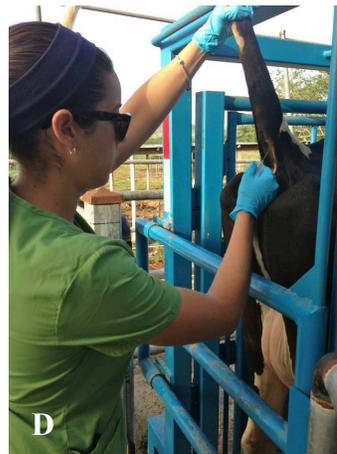
Durante ambas épocas, los animales fueron alimentados según los protocolos de alimentación de la Estación Experimental (concentrado y ensilaje) y recibieron agua *ad libitum* durante los periodos experimentales.



**FIGURA 6:** PROTOCOLO DE ENFRIAMIENTO DURANTE PERIODO EXPERIMENTAL.



**FIGURA 7:** PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE OVULAVIÓN.



**FIGURA 8:** PRODUCTOS HORMONALES UTILIZADOS PARA EL PROGRAMA DE SINCRONIZACIÓN DE OVULACIÓN PANEL (A); IMAGEN DE PROTOCOLO DE ENFRIAMIENTO PANEL (B); IMAGEN DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE LOS ANIMALES PANEL (C); IMAGEN DE COLECCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE DE VENA COCCÍGEA PARA DETERMINAR PREÑEZ PANEL (D)

### **B.2. Parámetros ambientales:**

Datos de temperatura y humedad relativa se obtuvieron utilizando termómetros ambientales (U23-01 HOBO T°/HR Logger (Onset®; Massachusetts, USA) colocados en dos lugares del área donde se alojaron los animales del estudio, uno en el rancho con sombra (“freestall”) y otros dos en dos predios de la estación (**Figura 9**). Los instrumentos se fueron programados para tomar lecturas cada 15 minutos, desde el cuarto día (primera semana) del comienzo del experimento hasta el día después de la finalización del periodo experimental. Estas medidas de temperatura ambiental (TA) y humedad relativa (HR) se utilizaron para calcular el índice de temperatura y humedad (ITH) durante el periodo experimental utilizando la siguiente fórmula (Bernabucci et al., 2014):

$$\text{ITH} = \text{TA}^{\circ}\text{F} - (0.55 - (0.55 * \text{HR}/100)) * (\text{TA}^{\circ}\text{F} - 58.8)$$



**Figura 9:** TERMÓMETRO AMBIENTAL U23-01 HOBO T °/HR LOGGER (ONSET®; MASSACHUSETTS, USA).

### **B.3. Análisis de Estadístico:**

Se realizó un diseño factorial 2x2x2 completamente aleatorizado, donde se tomó en cuenta la paridad (vaca o novilla), tipo de pelo (pelona o pelo normal) o tratamiento (mojada o no-mojada). Se realizó una prueba de Chi-Cuadrado, utilizando el

procedimiento PROC FREQ de SAS, para analizar los resultados (SAS University Edition: 2014 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Las interacciones dobles de etapa reproductiva con tipo de pelo, etapa reproductiva con tratamiento, tipo de pelo con tratamiento y la triple interacción de etapa reproductiva con tipo de pelo y tratamiento fueron incluidas en el modelo original. Sin embargo, al no haber un efecto significativo, fueron excluidas del modelo final del experimento.

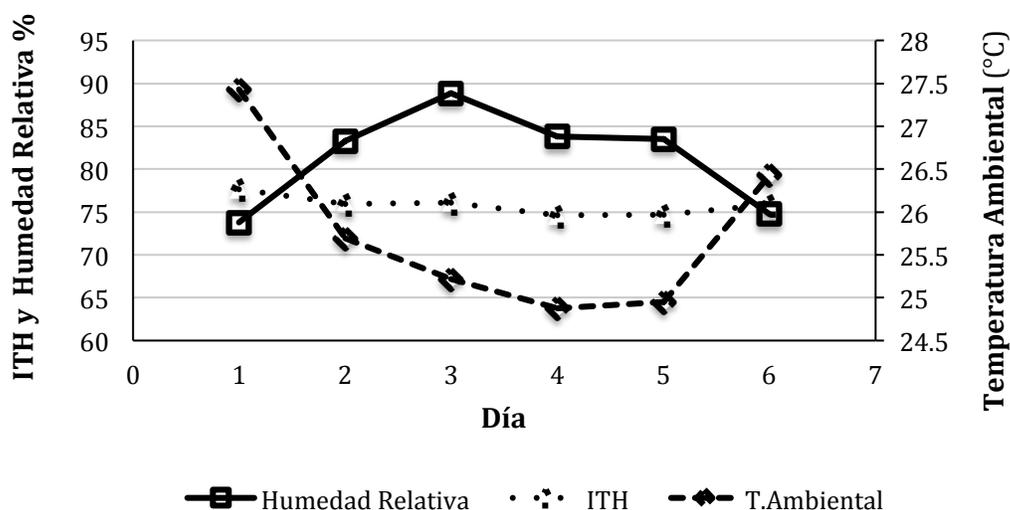
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. Temperatura Ambiental

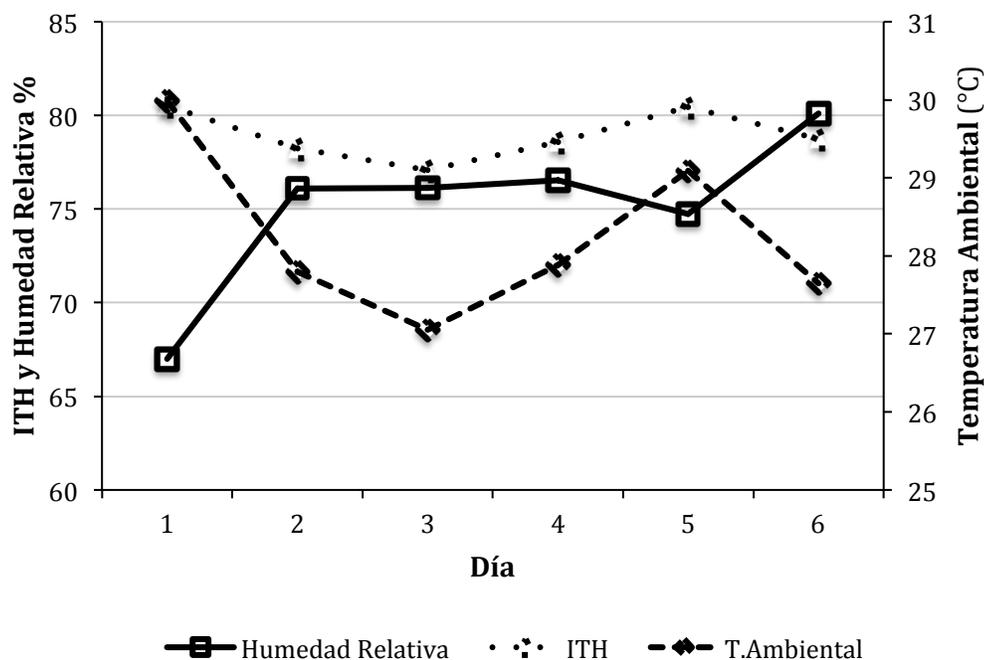
La temperatura ambiental, la humedad relativa y el ITH fueron analizados comparando ambas épocas. Para la época de otoño, se observó una temperatura ambiental promedio de  $25.6 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  mientras que en verano fue de  $28.1 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  ( $P < 0.0001$ ; **Tabla 2**). La humedad relativa fue de  $81.9 \pm 1.3$  y  $75.7 \pm 1.3\%$ , ( $P = 0.0002$ ), mientras que el ITH fue de  $75.67 \pm 0.36$  y  $78.81 \pm 0.34$  ( $P < 0.0001$ ) para las épocas de otoño y verano, respectivamente (**Tabla 2**).

**Tabla 2:** Promedios de temperatura ambiental, humedad relativa e índice de temperatura y humedad durante otoño y verano

	Otoño	Verano	Valor P
Temperatura Ambiental ( $^{\circ}\text{C}$ )	$25.6 \pm 0.3$	$28.1 \pm 0.3$	$<0.0001$
Humedad Relativa (%)	$81.9 \pm 1.3$	$75.7 \pm 1.3$	$0.0002$
ITH	$75.7 \pm 0.4$	$78.8 \pm 0.3$	$<0.0001$



**GRÁFICA 1:** ÍNDICE DE TEMPERATURA Y HUMEDAD, HUMEDAD RELATIVA (%) Y TEMPERATURA AMBIENTAL ( $^{\circ}\text{C}$ ) PROMEDIO DURANTE EL OTOÑO.



**GRÁFICA 2:** ÍNDICE DE TEMPERATURA Y HUMEDAD, HUMEDAD RELATIVA (%) Y TEMPERATURA AMBIENTAL (°C) PROMEDIO DURANTE EL VERANO.

### ***B. Tasa de preñez general***

La tasa de preñez general, independiente de época, tratamiento, estado reproductivo y tipo de pelo fue de 33%. Para las condiciones de alta temperatura y alta humedad relativa que prevalecen en la Isla durante la mayor parte del año y para el ITH promedio reportado durante los periodos experimentales los cuales fueron 75.8 y 78.8 durante otoño y verano, respectivamente (**Tabla 2**), donde ambos exceden el ITH mínimo establecido para comodidad (~68-72), esta tasa de preñez es considerada alta. Es posible que este desempeño reproductivo que mostraron los animales sea debido al protocolo modificado de OvSynch utilizado. Esto coincide con un estudio realizado por Angulo et al. (2004), donde evaluaron el desempeño reproductivo de búfalas sometidas a dos tratamientos de sincronización de ovulación. Un grupo fue sometido a OvSynch

sin ningún tipo de modificación y el otro, al igual que en este experimento, se le añadió una dosis adicional de PGF, pero en lugar de 7 días antes fue 12 días antes de comenzar OvSynch. La tasa de preñez general fue de 55.6%. El grupo de animales sometido a OvSynch no modificado presentó una tasa de preñez de 44.4%, mientras que los del grupo de OvSynch modificado presentaron una tasa de preñez 66.7%. Estos autores no encontraron diferencias significativas entre las tasas de preñez obtenidas con los dos tratamientos, no obstante, sí observaron una diferencia porcentual a favor del protocolo Ovsynch modificado.

### **C. Tasa reproductiva por época del año**

Se evaluó el efecto de época sobre la tasa de preñez independiente de las demás variables. Se encontró que los animales en el otoño presentaron un mayor desempeño reproductivo, comparado con los animales de verano (39 y 29%, respectivamente), aunque esta diferencia no fue significativa. Según revisado por De Rensis y Scaramuzzi (2003), esto coincide con otros experimentos que han demostrado que animales inseminados durante meses calientes, presentan menor eficiencia reproductiva, que fluctúa entre los 20 a 30% comparado con meses de otoño.

**Tabla 3:** Efecto de época del año sobre tasa de preñez

Grupos	No. Examinados	No. Preñadas	Tasa de Preñez (%)	Valor P
Ensayo I	38	15	39	<b>0.2964</b>
Ensayo II	55	16	29	

Con el propósito de observar más detalladamente el efecto de la época del año sobre la tasa de preñez, se evaluaron los animales de cada época por separado (**Tabla 4**). Durante la época de otoño no se observaron diferencias significativas entre grupos, con un 42% versus 37% de tasa de preñez para el grupo experimental en comparación con el testigo, respectivamente. (**Tabla 4**). Sin embargo, durante la época de verano, aunque tampoco se pudo observar una diferencia significativa, el resultado fue inverso, donde el grupo testigo presentó mayor desempeño reproductivo en contraste con los animales del grupo experimental (36 versus 22%; respectivamente). Estos resultados podrían explicarse debido al hecho que la capacidad termorreguladora del ganado lechero está basada principalmente en evapotranspiración y no conducción (Dikmen et al., 2008); saturar con agua la superficie de estos podría reducir su capacidad de disipar calor adecuadamente.

Al analizar la tasa de preñez por estado reproductivo (vacas en comparación con novillas) se encontró que durante la época de otoño no se observó una diferencia significativa (**Tabla 4**), aunque las novillas presentaron un desempeño reproductivo superior (43%) comparado con las vacas (30%). Durante la época de verano las novillas presentaron un mayor desempeño reproductivo (58%) que las vacas (14%), el cual resultó ser altamente significativo ( $P=0.0006$ ; **Tabla 4**). La alta tasa de preñez observada en novillas durante el verano sugiere que exponerlas a un sistema de enfriamiento, diferente al evaluado a este estudio, combinado con un buen programa de sincronización de ovulación ayuda a mejorar el desempeño reproductivo durante los meses más calientes del año.

Cuando se evaluaron los animales por tipo de pelo, se encontró que durante la época de otoño los animales pelones presentaron una tasa de preñez de 50% comparado con los animales de pelaje normal con un 31%, aunque esta diferencia no fue significativa (**Tabla 4**). Sin embargo, en la época de verano se encontró una diferencia significativa en la tasa de preñez ( $P=0.0362$ ; **Tabla 4**) entre pelonas (n=14, todas eran vacas) y no pelonas (n=41, n=22 vacas y n=19 novillas), con 7% y 37%, respectivamente. Días en leche, estado productivo o el número de lactancias (edad) de los animales, pudieron haber sido una posible causa para que las pelonas presentaran menor tasa de preñez durante la época de verano. Además que según encontrado en este estudio, las novillas presentan mayor capacidad reproductiva comparado con las vacas y en el caso de la época de verano, ninguna de las novillas eran pelonas.

**Tabla 4:** Tasa de preñez de animales evaluados durante las épocas de invierno y verano

Grupos	No. Examinados	No. Preñadas	Tasa de Preñez (%)	Valor P
<b>Otoño</b>				
Testigo	19	7	37	<b>0.7400</b>
Experimental	19	8	42	
Vaca	10	3	30	<b>0.4752</b>
Novilla	28	12	43	
Pelona	10	5	50	<b>0.2819</b>
No Pelona	26	8	31	
<b>Verano</b>				
Testigo	28	10	36	<b>0.2707</b>
Experimental	27	6	22	
Vaca	36	5	14	<b>0.0006</b>
Novilla	19	11	58	
Pelona	14	1	7	<b>0.0362</b>
No Pelona	41	15	37	

Al-Katanani y colaboradores (2002), encontraron que animales que fueron expuestos a estrés por calor durante 42 días, periodo que representa el tiempo que le toma a un folículo desarrollarse desde la etapa antral hasta el periodo pre-ovulatorio, bajo un sistema de enfriamiento durante los meses de verano, no presentaron un buen desempeño reproductivo, específicamente en la calidad del ovocito. Este grupo de animales no presentó una diferencia significativa en comparación con animales que no tuvieron un sistema de enfriamiento, por lo tanto enfriar los animales por 42 d no presentó un alivio de efecto de temporada.

Al no haber una diferencia significativa entre épocas (**Tabla 3**), se evaluaron todos los animales como un solo grupo (**Tabla 5**). Es posible que la razón por la cual no se observó una diferencia significativa entre épocas fue porque, aunque el ITH en ambas temporadas fue significativamente diferente, ambos valores caen dentro de la misma clasificación de estrés hipertérmico (**Figura 1**). Razas lecheras comienza a mostrar signos de estrés por calor cuando la temperatura ambiental alcanza los 22°C (Collier et al., 2012). Tanto en otoño como en verano la temperatura ambiental promedio fue superior a 22°C (22.6°C y 28.1°C, respectivamente). Por lo tanto, la prevalencia de altas temperaturas a través del año pudo haber influenciado la respuesta de los animales en este experimento. Como estas condiciones de estrés por calor se mantienen durante gran parte del año, no se deben producir cambios drásticos en las respuestas fisiológicas del animal, y por ende no se deberían observar cambios en el consumo de materia seca, desempeño productivo o reproductivo de los animales.

**Tabla 5:** Efecto de sistema de enfriamiento conductivo sobre tasa de preñez independiente de la época

Grupos	No. Examinados	No. Preñadas	Tasa de Preñez (%)	Valor P
Experimental	47	17	36	<b>0.5575</b>
Testigo	46	14	30	
Vaca	46	8	17	<b>0.0013*</b>
Novilla	47	23	49	
Pelona	24	6	25	<b>0.4000</b>
No Pelona	67	23	34	

#### ***D. Tasa Reproductiva por tratamiento***

Animales pertenecientes al grupo experimental presentaron una tasa de preñez de 36% versus el grupo testigo que presentó una tasa de 30%, siendo esta diferencia no significativa (**Tabla 5**). Esto coincide parcialmente con estudios previos donde se ha encontrado que animales que fueron sometidos a un sistema de enfriamiento mostraron mejor desempeño reproductivo (Khongdee et al., 2006). Estos reportaron que animales en el grupo testigo presentaron mayor cantidad de días abiertos que aquellos sometidos a un protocolo de enfriamiento por evaporación. Estos sistemas pueden ayudar a mitigar el estrés hipertérmico y por ende reducir sus efectos adversos como reducción en el crecimiento y desarrollo folicular durante el periodo pre-ovulatorio observado en el ganado bovino lechero (Khongdee et al., 2006).

En adición, estos resultados concuerdan con otros estudios donde la tasa de preñez de tres grupos de novillas Holstein; dos bajo uno de dos sistemas de enfriamiento (aspersores o la combinación de aspersores y abanicos) y el tercer grupo con función de testigo (Moghaddam et al., 2009). Estos encontraron que animales bajo sistema de enfriamiento, específicamente los que estaban bajo la combinación de aspersores y abanicos, presentaron una mayor tasa de concepción (56.7%) versus

animales sin sistema de enfriamiento (23.3%;  $P<0.05$ ). Por su parte animales que estuvieron expuestos solo a aspersores presentaron una tasa de preñez intermedia (40%), sin diferencias significativas a los dos grupos antes mencionados.

#### ***E. Tasa de preñez y tipo de pelaje***

No se observó diferencia significativa en la tasa de preñez entre animales de pelo normal y pelonas (34% versus 25%; respectivamente) (**Tabla 5**). Estos resultados no coinciden con estudios previos donde animales de pelo corto presentan una mejor termorregulación y una mejor tasa de preñez (Dikmen et al., 2008). Considerando que el objetivo principal de este experimento no era evaluar diferencias en la tasa de preñez por fenotipo del pelo, las pruebas se caracterizaron por una gran diferencia en cantidad de animales entre grupos de pelonas y no pelonas ( $n=24$  y  $n=67$ ; respectivamente). Además los animales identificados como pelonas no fueron genotipificados, por lo tanto esa caracterización de tipo de pelo se obtuvo de forma visual (basado en características del pelaje como poco pelo en la borla, rabo y visibilidad de arrugas en el cuello).

#### ***F. Tasa de preñez y etapa reproductiva***

Se observaron tasas de preñez de 49% y 17% para las novillas y vacas, respectivamente ( $P=0.0013$ ). Esta diferencia se puede atribuir a varios factores asociados al desempeño reproductivo de los bovinos. Primero, la capacidad reproductiva superior que tienen las novillas en comparación con las vacas (Moghadamm et al., 2009). Es importante reconocer además que las vacas tienen una carga metabólica adicional relacionada a la producción de calor asociado a la

síntesis de leche (Wilson et al., 1998). En adición, la tasa de concepción de las vacas, en contraste con la de las novillas, es influenciada a mayor grado por la temperatura ambiental (Badinga et al., 1985). Según estos autores, las vacas comienzan a experimentar una disminución en la eficiencia reproductiva desde los 30°C, mientras que las novillas resisten hasta los 35°C. Es posible, además, que el protocolo alterado de sincronización de ovulación utilizado en este experimento combinado con el sistema de enfriamiento, haya tenido un efecto positivo sobre la tasa de preñez de las novillas. Esto coincidiría con los resultados de Moghaddam y colaboradores (2009), donde estudiaron y evaluaron la tasa de preñez de tres grupos de novillas Holstein sincronizadas, dos de estos bajo uno de dos sistemas de enfriamiento, aspersores ó aspersores + abanicos y el tercer grupo sin sistema de enfriamiento. Estos investigadores encontraron que animales bajo sistema de enfriamiento, específicamente los que estaban bajo aspersores + abanicos, presentaron una mayor tasa de concepción (56.7%) en contraste con animales sin sistema de enfriamiento (23.3%) ( $P < 0.05$ ).

La diferencia significativa encontrada entre las tasas de preñez de las vacas en comparación con las novillas, motivó a que se ajustaran los datos para evaluar el efecto de la etapa reproductiva sobre las diferentes variables estudiadas (**Tabla 6**). Para esto se ajustaron los datos para animales evaluados en otoño separado de los evaluados en verano. Como antes mencionado, cuando se analizaron los resultados de animales en otoño, se encontró que las novillas presentaron una tasa de preñez numéricamente mayor (43%) que las vacas (30%). Sin embargo, esto no fue significativamente diferente (**Tabla 6**). Al evaluar el efecto de la etapa reproductiva sobre la tasa de

preñez en la época de verano, se encontró una diferencia altamente significativa ( $P=0.0006$ ; **Tabla 6**), donde las novillas presentaron un desempeño superior (58%) que las vacas (14%). Para evaluar el efecto de la edad del animal sobre la tasa de preñez, se ajustaron los datos en animales testigo eliminando los animales pertenecientes al grupo tratamiento (mojados), y se encontró una diferencia significativa ( $P=0.0438$ ) entre vacas y novillas, presentando las novillas una mayor capacidad reproductiva comparado con las vacas (50 versus 22%; respectivamente). De igual manera se evaluó el efecto de enfriamiento conductivo sobre la etapa reproductiva ,en este caso excluyendo los datos de los animales del grupo testigo. Se encontró una diferencia significativa ( $P=0.0104$ ), donde las novillas nuevamente presentaron una tasa de preñez mayor a las vacas (52 versus. 13%, respectivamente). Finalmente, se ajustaron los datos para evaluar el efecto de la edad de los animales sobre la tasa de preñez según el pelaje. Cuando se evaluaron solo los animales no pelones, se encontró una diferencia significativa en la tasa de preñez ( $P=0.0223$ ) donde las novillas presentaron mayor desempeño reproductivo en comparación con las vacas (44 versus 19%; respectivamente,). Al evaluar la tasa de preñez en los animales pelones también se encontró una diferencia significativa ( $P=0.0015$ ; **Tabla 6**), donde nuevamente las novillas presentaron una mayor tasa de preñez comparado con las vacas (75 versus 15%; respectivamente).

**Tabla 6:** Tasa de preñez entre vacas y novillas comparando diferentes variables

Grupos	Vacas		Novillas		Valor P
	No.	Tasa de Preñez (%)	No.	Tasa de Preñez (%)	
Ensayo I	10	<b>30</b>	28	<b>43</b>	<b>0.4752</b>
Ensayo II	36	<b>14</b>	19	<b>58</b>	<b>0.0006</b>
Experimental	23	<b>13</b>	23	<b>52</b>	<b>0.0104</b>
Testigo	23	<b>22</b>	24	<b>50</b>	<b>0.0438</b>
Pelona	20	<b>15</b>	4	<b>75</b>	<b>0.0015</b>
No Pelona	26	<b>19</b>	41	<b>44</b>	<b>0.0223</b>

## Conclusión y Recomendaciones

- En conclusión cuando se categorizó la tasa de preñez entre novillas y vacas, se observó una tasa de preñez significativamente mayor en novillas en comparación con las vacas ( $P=0.0013$ ). Estos resultados sugieren que exponer a las novillas a un sistema de enfriamiento combinado con un buen programa de sincronización de ovulación ayuda a elevar la tasa de preñez durante los meses más calientes del año. Por lo tanto, se puede decir que es costo eficiente no abandonar la práctica de inseminación de novillas durante la época de verano, ya que mostraron una alta tasa de preñez.
- Aunque no se observaron diferencias significativas, los animales evaluados durante la época de otoño presentaron un desempeño reproductivo superior que animales estudiados en verano.
- Basado en los resultados observados, se podría sugerir que la capacidad termorreguladora del ganado lechero está basada principalmente en evapotranspiración y no conducción; saturar con agua la superficie de estos reduce su capacidad de disipación de calor. Otros sistemas de enfriamiento deben considerarse bajo manejo del ganado lechero en regiones tropicales. Además, cabe mencionar que el método de enfriamiento seleccionado para este estudio ha sido asociado previamente como factor estresante en ganado lechero bovino (Legran et al., 2011). Niveles de cortisol en animales durante el periodo experimental deben ser evaluados.

- Futuros experimentos deben evaluar la utilización de termómetros intravaginales menos invasivos para registrar la temperatura del animal mientras permitan llevar a cabo la inseminación artificial, y poder evaluar el efecto de temperatura vaginal sobre la tasa de preñez.

## Referencias

1. Allen, J. D., Hall, L. W., Collier, R. J., Smith, J. F. 2015. Effect of core body temperature, time of day, and climate conditions on behavioral patterns of lactating dairy cows experiencing mild to moderate heat stress. *Journal of Dairy Science*. 98(1):118–127.
2. Al-Katanani, Y. M., Webb, D. W., Hansen, P. J. 1999. Factors affecting seasonal variation in 90-day nonreturn rate to first service in lactating Holstein cows in a hot climate. *Journal of Dairy Science*. 82(12):2611–2616.
3. Al-Katanani, Y. M., Paula-Lopes, F. F., Hansen, P. J. 2002. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 85(2):390–396.
4. Angulo, A., Muñoz, L., González, M., Daray, L. 2004. Synchronization of ovulation and artificial insemination in buffaloes at fixed time. *MVZ Córdoba*. 9:444-450.
5. Arias R. A., T.L. Mader, P.C. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y de leche. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40:7-22.
6. Badinga, L., Collier, R. J., Thatcher, W. W. & Wilcox, C. J. 1985. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. *Journal of Dairy Science*. 68:78–85.
7. Badinga, L., W.W. Thatcher, T. Diaz, M. Drost, D. Wolfenson. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 39:797- 810.
8. Beede, D. K. and R. J. Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *Journal of Animal Science*. 62(2):543-554.
9. Berman, A. 2004. Tissue and external insulation estimates and their effects on prediction of energy requirements and of heat stress. *Journal of Dairy Science*. 87(5):1400–1412.
10. Berman, A. 2008. Increasing heat stress relief produced by coupled coat wetting and forced ventilation. *Journal of Dairy Science*. 91(12): 4571–4578.
11. Berman, A. 2011. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? *Journal of Dairy Science*. 94(5):2147–2158.

12. 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*. 97:471-486.
13. Bohmanova, J., I. Misztal, and Cole, J.B. 2007. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *Journal of Dairy Science*. 90(4):1947-1956.
14. Bouraoui, R., M. Lahmar, A. Majdoub, M. N. Djemali, and Belyea R. 2002. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research*. 51(6):479-491.
15. Bruno, R. G. S., Farias, A. M., Hernández-Rivera, J. A., Navarrette, A. E., Hawkins, D. E., Bilby, T. R. 2013. Effect of gonadotropin-releasing hormone or prostaglandin F(2 $\alpha$ )-based estrus synchronization programs for first or subsequent artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 96(3): 1556–67.
16. Bucklin, R. A., Bray, D. R., and Beede, D. K. 1992. Methods to relieve heat stress for Florida dairies. Circular 782, Florida Cooperative Extension Service.
17. Burgos, R., Odens, L. J., Collier, R. J., Baumgard, L. H., Vanbaale, M. J. 2007. Cooling evaluation of different systems in lactating heat-stressed dairy cows in a semi-arid Environment. *The Professional Animal Scientist*. 23: 546–555.
18. Collier, R. J., Doelger, S. G., Head, H. H., Thatcher, W. W., Wilcox, C. J. 1982 Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cows. *Journal of Animal Science*. 54: 309–319.
19. Collier, R. J., Dahl, G. E., VanBaale, M. J. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 89(4): 1244–1253.
20. Collier, R.J., Hall L.W., Rungruang S. And R.B. Zimbleman. 2012. Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance. 23rd Florida Ruminant Nutrition Symposium Proceedings.
21. Correa-Calderon, A., D. V. Armstrong, D. E. Ray, S. K. DeNise, R. M. Enns, C. Howison, M. 2005. Productive and reproductive response of holstein and brown swiss heat stressed dairy cows to two different cooling systems. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 4: 572-578.

22. De Rensis, F., Scaramuzzi, R. J. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - A review. *Theriogenology*. 60(6): 1139–1151.
23. Du Preez, J. H. 2000. Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 67(4): 263–271.
24. Dikmen, S., Alava, E., Pontes, E., Fear, J. M., Dikmen, B. Y., Olson, T. A., Hansen, P. J. 2008. Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. *Journal of Dairy Science*. 91(9): 3395–3402.
25. Dikmen, S., Khan, F. A., Huson, H. J., Sonstegard, T. S., Moss, J. I., Dahl, G. E., Hansen, P. J. 2014. The SLICK hair locus derived from Senepol cattle confers thermotolerance to intensively managed lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 97(9): 5508–5520.
26. Ealy, A. D., Drost, M., Hansen, P. J. 1993 Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *Journal of Dairy Science*. 76: 2899–2905.
27. Edwards, J. L., Hansen, P. J. 1996. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two- cell embryos and compromises function of maturing oocytes. *Biology Reproduction*. 55: 340–346.
28. Garcia, A. 2006. Dealing with heat stress in dairy cows. ExEx4024. *Dairy Science*. South Dakota State University Extension, Brookings.
29. Hansen, P. J. 2009. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 364(1534): 3341–3350.
30. Huang, C., S. Tsuruta, J. K. Bertrand, I. Misztal, T. J. Lawlor, and Clay, J.S. 2008. Environmental Effects on Conception Rates of Holstein in New York and Georgia. *Journal of Dairy Science*. 91(2):818-825.
31. Fernandez-Van Cleve J., R. Collier, R. Machiavelli, E. Riquelme, P. Hansen. Efecto de la suplementación con niacina encapsulada y mojaduras repetidas sobre la temperatura interna y externa y la tasa respiratoria de vacas lecheras en el trópico húmedo. G30. Poster presentado en Memorias de la XXII Reunión ALPA, Montevideo, Uruguay. 2011
32. Informe anual de la Oficina reglamentación de la industria lechera. Año fiscal 2012-2013.

33. Jordan, E. R. 2003. Effects of heat stress on reproduction. *Journal of Dairy Science*. 104–114.
34. Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., Maltz, E. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livestock Production Science*, 77(1): 59–91.
35. Khongdee, S., Chaiyabutr, N., Hinch, G., Markvichitr, K., & Vajrabukka, C. 2006. Effects of evaporative cooling on reproductive performance and milk production of dairy cows in hot wet conditions. *International Journal of Biometeorology*. 50(5): 253–257.
36. Legrand, A., Schütz, K. E., & Tucker, C. B. 2011. Using water to cool cattle: behavioral and physiological changes associated with voluntary use of cow showers. *Journal of Dairy Science*. 94(7): 3376–3386.
37. Moghaddam, A., I. Karimi, and Pooyanmehr, M. 2009. Effects of Short-term Cooling on Pregnancy Rate of Dairy Heifers under Summer Heat Stress. *Veterinary Research Communications* 33: 567-575.
38. National Research Council. 1981. *Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Academy Press, Washington, D.C. Dr. Joe West, Extension Dairy Specialist, University of Georgia.
39. O'Brien, M. D., Rhoads, R. P., Sanders, S. R., Duff, G. C., Baumgard, L. H. 2009. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. *Domestic Animal Endocrinology*. 38(2): 86–94.
40. Olson, T. A., Lucena, C., Chase, C. C., Hammond, A. C. 2003. Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in Bos taurus cattle. *Journal of Animal Science*. 81: 80–90.
41. Paula-Lopes, F. F. Hansen, P. J. 2002. Heat-shock induced apoptosis in preimplantation bovine embryos is a developmentally regulated phenomenon. *Biology Reproduction*. 66: 1169–1177.
42. Perotto, D., Kroetz, I. A., Lázaro, J. 2010. Milk production of crossbred Holstein × Zebu cows in the northeastern region of Paraná State. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 39(4): 758–764.
43. Peters, M. W., Pursley, J. R. 2003. Timing of final GnRh of the Ovsynch potocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 60(6): 1197–1204.
44. Purwanto, B. P., Y. Abo, R. Sakamoto, F. Furumoto, And Yama- Moto, S. 1990. Diurnal patterns of heat production and heart rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. *Journal of Agricultural Science*. (Camb.). 114:139–142.

45. Rivera, H., H. Lopez, and Fricke, P.M. 2004. Fertility of holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed AI or Ai after removed tail chalk. *Journal Of Dairy Science*. 87: 2051-2061.
46. Roth, Z., Meidan, R., Braw-Tal, R., and Wolfenson, D. 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 120: 83–90.
47. Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*. 67: 1–18.
48. St-Pierre, N. R., B. Cobanov, and Schnitkey, G. 2003. Economic losses from heat stress by US livestock industries. *Journal of Dairy Science*. 86, Supplement(0):E52-E77.
49. Tao, S., & Dahl, G. E. 2013. Invited review: heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*. 96(7): 4079–93.
50. Thatcher, W. W., Flamenbaum, I., Block, J., & Bilby, T. R. 2010. Interrelationships of heat stress and reproduction in lactating dairy cows. *High Plains Dairy Conference*. 45-60.
51. Veríssimo, C. J., Nicolau, C. V. J., Cardoso, V. L., Pinheiro, M. G. 2002. Haircoat characteristics and tick infestation on Gyr (zebu) and crossbred (Holstein x Gyr) cattle. *Archivos de Zootecnia*, 51(195): 389–392.
52. Wallace j. M., Regnault T. R., Limesand S. W., Hay W. W., Jr, Anthony R. V. 2005. Investigating the causes of low birth weight in contrasting ovine paradigms. *The Journal of Physiology*. 565, 19–26.
53. West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 86(6),:2131–2144.
54. Williams, S. W., R. L. Stanko, M. Amstaldem, and Williams G.L. 2002. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in Bos Indicus-influenced Cattle Managed on the Texas Gulf Coast S. *Journal of Animal Science*. 80: 1173-178.
55. Wilson, S. J., R. S. Marion, J. N. Spain, D. E. Spiers, D. H. Keisler, and Lucy, M.C. 1998. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 81:2124–2131.

56. Wolfenson, D., Thatcher, W. W., Badinga, L., Savio, J. D., Meidan, R., Lew, B. J., Berman A. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction*. 52(5): 1106–1113.
57. Zimbelman. 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. *Proceedings of Southwest Nutrition Conference*: 158-169.