



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**RELACIÓN ENTRE TEMPERATURA AMBIENTAL Y
TASA DE CONCEPCIÓN EN VACAS LECHERAS DE LA
ZONA CENTRAL DE CHILE**

SEBASTIÁN PEÑA FRÍAS

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

Profesor Guía: Dr. Mario Duchens A.

**SANTIAGO, CHILE
2010**



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



RELACIÓN ENTRE TEMPERATURA AMBIENTAL Y TASA DE CONCEPCIÓN EN VACAS LECHERAS DE LA ZONA CENTRAL DE CHILE

SEBASTIÁN PEÑA FRÍAS

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : MARIO DUCHENS A.
PROFESOR CONSEJERO: HERNAN AGÜERO E.
PROFESOR CONSEJERO: LUIS MORAGA B.

SANTIAGO, CHILE
2010

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Summary	3
3. Introducción	5
4. Revisión Bibliográfica	7
4.1. Termorregulación	7
4.2. Zona de Termo-Neutralidad	8
4.3. Estrés Calórico	9
4.4. Indicadores de Estrés Calórico	9
4.4.1. Índice Temperatura-Humedad	10
4.4.2. Herramientas de Última Generación	11
4.5. Efectos del Estrés Calórico	11
4.5.1. Efectos sobre el Consumo de Alimentos	11
4.5.2. Efectos sobre la Producción de Leche	12
4.5.3. Efectos sobre la Fisiología Reproductiva	12
4.5.3.1. Duración e Intensidad del Estro	13
4.5.3.2. Desarrollo Folicular	13
4.5.3.3. Calidad del Ovocito	14
4.5.3.4. Desarrollo Embrionario-Fetal	14
4.5.4. Efecto sobre las Variables Reproductivas	15
4.5.4.1. Tasa de Concepción	15
4.5.4.2. Otras Variables Reproductivas	17
4.6. Estrategias para Disminuir los Efectos del Estrés Calórico	17
5. Objetivos	19
5.1. Hipótesis	19
5.2. Objetivo General	19
5.3. Objetivos Específicos	19
6. Materiales y Métodos	20
6.1. Población en Estudio y Manejo del Rebaño	20
6.2. Recolección y Procesamiento de la Información	21
6.3. Análisis de Resultados	21

7. Resultados	23
7.1. Distribución Mensual de las Inseminaciones de Vacas y Vaquillas	23
7.2. Distribución Mensual de la Temperatura Ambiental	24
7.2.1. Temperatura del Día de la IA	24
7.2.2. Temperaturas de los 3 días previos y posteriores a la IA	25
7.3. Efecto de la Temperatura Ambiental sobre la Fertilidad	25
7.3.1. Efecto de la Temperatura Máxima Ambiental de los 10 días antes de la IA, el día de la IA y de los 10 días Posteriores a la IA	25
7.3.2. Efecto de la Temperatura Máxima Ambiental del día de la IA	31
7.3.3. Temperatura Máxima Promedio de los 3 días anteriores y 3 días posteriores a la IA	32
7.3.4. Tasa de Concepción el día de la IA: Análisis según Rangos de Temperatura Máxima Ambiental	34
7.3.5. Efecto del Número Ordinal de Parto en la Tasa de Concepción de Vacas y Vaquillas	36
8. Discusión	38
8.1. Implicancias	44
9. Conclusiones	48
10. Bibliografía	49

1- RESUMEN

La mayoría de los sistemas de producción de leche se localizan en zonas donde la temperatura ambiental frecuentemente sobrepasa la zona de confort térmico de la especie bovina, afectando negativamente la producción y la fertilidad. El objetivo de este estudio fue analizar la relación de la temperatura máxima ambiental de los días previos, el día de la inseminación artificial (IA) y los días posteriores a la IA con la tasa de concepción (TC), de vacas lecheras de la Zona Central de Chile. Además se estudió el efecto que podrían provocar otros factores productivos sobre la tasa de concepción.

El estudio se realizó en una lechería de la Región de Valparaíso, ubicada en el Valle de Aconcagua, con aproximadamente 700 vacas en ordeña y una producción de 10.900 litros por lactancia (madurez equivalente) con tres ordeñas diarias. Las vacas estaban en confinamiento permanente en patios de tierra con acceso parcial a sombra. Se analizó la información proveniente de 2.048 inseminaciones realizadas en vaquillas y vacas en un período de 2 años, entre los meses de septiembre y marzo. Se registró la temperatura máxima ambiental (°C) para cada uno de los 10 días previos a la IA, el día de la IA y los 10 días posteriores a la IA y su resultado. La gestación se determinó por ultrasonografía transrectal 30 a 36 días después de la IA. La asociación entre el resultado de la IA y la temperatura máxima ambiental, se analizó a través de un modelo de regresión logística, utilizando el programa estadístico SAS®. Para cada IA se consideraron los efectos de la temperatura máxima ambiental, y de factores productivos como número ordinal de parto (0, 1, 2 y ≥ 3), producción de leche al día de la IA y los días en leche al momento de la IA.

En vacas, la temperatura elevada en cualquier día antes, en el día, y después de la IA, se relacionó significativamente a una disminución en la probabilidad de concepción. En vaquillas este efecto no fue significativo. En vacas, el efecto más significativo fue el de la temperatura máxima ambiental del mismo día de la IA. En general, por cada grado de aumento de la temperatura ambiental máxima, el riesgo de concepción disminuyó en 3,4%. Al agregar los factores productivos, el riesgo de concepción, disminuyó en un 3,7% por cada grado de aumento en la temperatura máxima ambiental del día de la IA. Ajustando por máxima temperatura ambiental, los “odds ratios” para preñez fueron 0,49; 0,39 y 0,32 en vacas con 1,

2 y ≥ 3 partos, comparadas con la observada en vaquillas. En vacas, al agrupar las IA dentro de rangos de temperatura máxima ambiental, la TC disminuyó progresivamente ($\leq 18^{\circ}\text{C}$: 37,6%; 18-23 $^{\circ}\text{C}$: 34,3%; 23,1-28 $^{\circ}\text{C}$: 29,1%; 28,1-32 $^{\circ}\text{C}$: 28,4%; $>32^{\circ}\text{C}$: 25,6%). No se observó efecto significativo de la producción de leche y los días en leche el día de la IA por sí solos en la probabilidad de preñez.

En conclusión, la temperatura máxima ambiental elevada del día de la IA, pero también dentro de los días previos y posteriores, afectó negativamente la probabilidad de concepción. Este efecto fue menos evidente y no significativo en vaquillas y más detrimental en vacas de una o más lactancias. Por lo tanto, como recomendación en vacas lecheras de alta producción, se deben proveer las condiciones ambientales necesarias para disminuir los efectos del estrés calórico sobre la fertilidad.

2- SUMMARY

A majority of milk production systems are located in areas where the ambient temperature exceeds the bovine physiological limits, thus affecting production and fertility. The aim of this study was to relate the maximum ambient temperature of the previous days, the day of the artificial insemination (AI) and the days after AI, with the conception rate (CR) in lactating Holstein cows in central Chile. Besides, it aimed to determinate the effect of other productive factors on the relationship between maximum ambient temperature and fertility. The study was conducted in a dairy farm in the Aconcagua Valley, in Central Chile, with about 700 milking cows and 10.900 liters per lactation (mature equivalent) in three daily milkings. The cows were housed in drylots with partial access to shade. The statistical analysis included information from 2048 inseminations performed in heifers and cows in a 2-year period, between September and March. The maximum ambient temperature (°C) was recorded for each day between the 10 days prior to the AI, the day of AI and the 10 days after AI. Pregnancy was determined by transrectal ultrasonography 30 to 36 days after AI. The association between the outcome of the AI and the maximum ambient temperature was analyzed using the SAS® statistical software, with logistic regression models. The model included the effects of maximal ambient temperature, number of lactation (0, 1, 2 and ≥ 3), and milk production and days in milk at the time of AI. In cows, the high ambient temperature on any day prior to, the day of, and any day after the AI was related to a decrease in the probability of conception. In heifers this effect was not significant. In cows, the most significant effect on fertility was that of the maximal ambient temperature on the very day of the AI: for every degree of increase in the maximum ambient temperature that day, the risk of conception decreased by 3.4%. When production factors were added to the model, the risk of conception decreased by 3.7%. Adjusting the data for maximum ambient temperature, the odds ratio to become pregnant at AI was 0.49; 0.39 and 0.32 for cows with 1, 2 and ≥ 3 lactations, respectively, as compared to that of heifers. Grouping data within 5 temperature ranges, the CR progressively decreased as the maximum ambient temperature in the day of AI increased ($\leq 18^{\circ}\text{C}$: 37.6%; 18-23°C: 34.3%; 23.1-28°C: 29.1%; 28.1-32°C: 28.4%; $> 32^{\circ}\text{C}$: 25.6%). There was no significant effect on milk production and days in milk at day of AI on the likelihood of pregnancy.

In conclusion, the high maximal ambient temperature on the day of the AI, but also the one on the previous and latter days, negatively affected the probability of conception. This effect was less evident and non significant in heifers and more detrimental in cows of one or more lactations. As a recommendation, high-producing dairy cows should be provided with appropriate confort conditions in order to minimize the effects of heat stress on fertility.

3- INTRODUCCIÓN

La temperatura ambiental juega un papel importante en la productividad de los animales. La máxima productividad, se puede alcanzar cuando los animales se encuentran dentro de un rango de temperatura ambiental, en el cual existe un balance entre la producción de calor y la pérdida de éste. Este rango de temperatura ambiental, se conoce como zona de termo-neutralidad y es característico para cada especie animal y estado fisiológico.

Para la vaca adulta la zona de termo-neutralidad se encuentra entre los 5 °C y 25 °C de temperatura ambiental. En esta zona el bovino puede mantener su estado de homeostasis, sin un uso excesivo de la energía para termoregular, manteniendo su temperatura normal entre los 38 °C y 39 °C. Por lo tanto, una mayor cantidad de energía se encuentra disponible para producción. Bajo los 5 °C o sobre los 25°C, el apetito del animal puede ser influenciado por el medio ambiente, aunque el grado de este efecto puede ser influenciado por diversos factores como: cantidad y tipo de alimento ofrecido, el largo del pelaje y el nivel productivo del rebaño.

El estrés calórico (EC), se entiende como el resultado de un balance negativo entre la cantidad neta de energía eliminada por el animal hacia el medio ambiente y la cantidad de energía calórica producida por el animal, producto de una combinación de factores ambientales y propios del animal. Por esta razón, la temperatura corporal del animal se eleva provocando variados efectos fisiológicos.

Diversos estudios han demostrado los efectos negativos del estrés calórico en la reproducción de las vacas de lechería. El estrés calórico altera la duración e intensidad del estro, el crecimiento y desarrollo folicular, los mecanismos luteolíticos y la tasa de concepción.

Las pérdidas económicas por causa del estrés calórico en la industria lechera de EEUU, se encuentran entre los 900 y 1.500 millones de dólares anuales. Estas pérdidas, son atribuidas a la disminución en la producción de leche y la eficiencia reproductiva, aumento en las infecciones mamarias e incremento en la mortalidad.

El estrés calórico es importante de tener en cuenta por la gran cantidad de lecherías que en el mundo se sitúan en ambientes donde las condiciones de temperatura se encuentran fuera de los rangos de la zona de termo-neutralidad propia del bovino. Las condiciones climáticas existentes en Chile, permiten suponer que el EC puede ser particularmente importante en la zona central, sobre todo en los meses de primavera y verano, donde las temperaturas superan fácilmente los 25 °C a la sombra.

Desde un punto de vista medioambiental, en los últimos años, se ha tomado mayor conciencia pública sobre el cambio climático y el calentamiento global. Aunque son innumerables las acciones para detener éste fenómeno, es dable pensar que nos encontraremos a futuro en un ambiente con mayores temperaturas ambientales promedio. Por lo tanto, los efectos del estrés calórico van a ir aumentando en magnitud, si el calentamiento global continúa.

Considerando la importancia del tema y la carencia de antecedentes nacionales el EC en bovinos de lechería, se diseñó el presente trabajo con el objetivo de evaluar el afecto de la alta temperatura ambiental sobre la TC de vacas lecheras de la zona central de Chile. Además, se investigó este efecto asociado con otras variables, como el número ordinal de parto, la producción de leche y los días en lactancia.

4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. TERMORREGULACIÓN

La mayoría de las poblaciones animales viven en regiones donde la temperatura ambiental influencia en forma adversa la producción de leche (Collier *et al.*, 2006). St-Pierre *et al.* (2003) estimaron que las pérdidas totales en los Estados Unidos (USA), a causa del estrés calórico (EC), promedian los 2.400 millones de dólares en todas las especies estudiadas, incluyendo la producción bovina de leche. Este efecto es preponderante en el sudeste de este país, que se caracteriza por tener un clima subtropical húmedo y está sujeto a periodos extensos de altas temperaturas ambientales (West, 2003).

Es ampliamente reconocido que la estación más calurosa del año tiene un gran impacto sobre la producción lechera, incluyendo: crecimiento, reproducción y lactancia. Sin embargo, para mejorar la productividad, se ha priorizado mejorar el ambiente y el manejo nutricional, priorizando en la genética, el aumento en la producción de leche, sin considerar la resistencia a estresores ambientales (Collier *et al.*, 2006).

Los mamíferos mantienen la temperatura corporal interna más alta que la temperatura ambiental, para así dejar una gradiente de temperatura de modo que ésta fluya del organismo hacia el exterior, por medio de 4 vías: conducción, convección, radiación y evaporación. Tres de estas rutas (conducción, convección y radiación), son conocidas como vías sensibles de pérdida calórica y requieren de una gradiente termal para operar. El cuarto camino (evaporación) trabaja en un rango de vapor/presión y es conocida como pérdida insensible de calor (Collier *et al.*, 2006). Esta es la principal vía de disipación de calor en el ganado. Es influenciada por la humedad relativa y la velocidad del viento, y por factores fisiológicos como la frecuencia respiratoria, densidad y actividad de las glándulas sudoríparas (Blackshaw y Blackshaw, 1994). Esto se puede comprobar si se comparan vacas Holstein que poseen el gen Slick-Hair (pelo corto) con las que no lo poseen; las primeras son capaces de resistir en mejor forma las alzas de temperatura ambiental, puesto que su pelaje es corto, liso y brillante. Dichos animales son capaces de mantener baja su temperatura corporal, incrementando la conducción y convección del calor hacia el exterior, y disminuyendo la absorción de radiación

solar (Dikmen *et al.*, 2008). Bajo condiciones de alta temperatura ambiental, el ganado *Bos indicus* tiene una mejor capacidad regulatoria que el ganado *Bos taurus*, dada sus diferencias en la tasa metabólica, consumo de agua y materia seca, frecuencia de transpiración, y características de pelaje y color (Blackshaw y Blackshaw, 1994; Beatty *et al.*, 2006).

4.2. ZONA DE TERMO-NEUTRALIDAD

El bovino es un animal homeotermo, el cual mantiene relativamente constante su temperatura corporal, balanceando el calor proveniente del metabolismo con el recibido desde el ambiente (NRC, 1981). La zona de termo-neutralidad (ZTN), se utiliza para evaluar la relación existente entre los animales y su ambiente térmico. Se puede definir como *el rango de temperatura ambiental donde la energía de mantención y producción, compensa la pérdida de calor al ambiente, sin requerir un incremento en la tasa metabólica del animal* (NRC, 2001). Por lo tanto, es el rango de temperatura ambiental que promueve la maximización de la producción, con el menor estrés posible para el animal. El rango más aceptado para una vaca adulta lactante fluctúa entre los 5 °C a 20 °C (NRC 2001), aunque este rango puede ser influenciado por diversos factores como el nivel productivo del rebaño, la cantidad y tipo de alimento ingerido, la longitud del pelaje o la humedad relativa del predio. (NRC, 1981). Es un hecho que las vacas de raza *Bos taurus* son más resistentes a los ambientes fríos que a los ambientes cálidos. Se ha estimado que una vaca adulta, produciendo 30 litros/día de leche, puede resistir ambientes hasta de -40 °C (Webster, 1974, citado por NRC, 1981). De la misma forma, Berman *et al.* (1985) señalan que el punto crítico superior de temperatura ambiental para la vaca adulta sería de 25 °C, límite el cual se producirían los mayores efectos sobre la producción y reproducción de los animales.

Los ambientes extremadamente fríos o calientes, incrementan o disminuyen los requerimientos normales de mantención, dado que la homeostasis se ve comprometida fuera de los rangos de termo-neutralidad (Gwazdauskas, 1985). En ambientes extremadamente fríos (-40 °C) el animal entra en un balance energético negativo y la energía que utilizaría para producción, la usa para generar calor. En ambientes por sobre la ZTN, la energía disponible

para mantención la utiliza para disipar el exceso de calor, en desmedro de la producción de leche (NRC, 2001).

4.3. ESTRÉS CALÓRICO

La producción y acumulación del calor, acompañada de una dificultad en la capacidad de disipación a causa de las condiciones medio ambientales, provoca en la vaca una sobrecarga de calor al punto que la temperatura corporal aumenta y la productividad del animal declina (West, 2003). El estrés calórico (EC) resulta de un balance negativo entre la cantidad total de energía que fluye desde el animal a su entorno y la cantidad de energía calórica producida por él (St-Pierre *et al.*, 2003). Esto ocurre cuando la temperatura del ambiente es más alta que la ZTN del animal (Armstrong, 1994). En una situación de EC, la diferencia entre la temperatura corporal y la ambiental disminuye, reduciendo aún más la capacidad de perder calor por parte del animal (NRC, 2001).

Las temperaturas ambientales cálidas generan un EC en el ganado productor de leche. Aunque estos efectos son más severos en climas cálidos, los animales en regiones con climas relativamente moderados, también están expuestos a períodos de EC (Armstrong, 1994). El estudio del EC ha sido abordado primordialmente por equipos de investigación de los Estados Unidos y Australia, en forma conjunta e independiente, debido fundamentalmente a la importancia que este problema alcanza en esos países (Arias *et al.*, 2008). Al contrario, en Chile, los intentos han sido mínimos. Mansilla (1996) y Jahn *et al.* (2002) evaluaron el efecto de la temperatura ambiental sobre el rendimiento productivo en vacas de lechería y encontraron resultados similares a los descritos en otros estudios alrededor del mundo.

4.4. INDICADORES DE ESTRÉS CALÓRICO

Los cambios en la temperatura corporal de los animales, son los indicadores definitivos de EC, aunque estos datos no siempre están disponibles (Jordan, 2003). Por lo tanto, para medir el nivel de EC que afecta a los animales, se utilizan diversos indicadores que combinan temperatura ambiental, humedad relativa del aire, velocidad del aire y radiación solar (Bohmanova *et al.*, 2007).

4.4.1. ÍNDICE TEMPERATURA-HUMEDAD

La mayoría de los estudios en el ganado, se han centrado en dos factores temperatura y humedad relativa, dado que la cantidad radiación solar recibida por el animal y la velocidad del viento no están disponibles públicamente (St-Pierre *et al.*, 2003). Se ha desarrollado un índice para ser utilizado como monitor de la seguridad climática y pérdidas relativas al EC. El Índice de Temperatura y Humedad (“Temperature Humidity Index”, THI), representa los efectos combinados de la temperatura del aire y la humedad relativa del aire, asociado a un nivel de EC (Bohmanova *et al.*, 2007). El THI ha sido comúnmente usado para estimar los efectos del EC en producción y reproducción (Ravagnolo *et al.*, 2000; West *et al.*, 2003). Se ha determinado que los valores críticos para el mínimo, promedio y máximo THI son 64, 72 y 76, respectivamente (Igono *et al.*, 1992). Hay un acuerdo general en que los efectos más significativos del EC se observan desde alrededor de un THI de 72 (Armstrong, 1994). Ravagnolo *et al.* (2000) reportaron que la máxima temperatura ambiental y la mínima humedad relativa son las variables más críticas para cuantificar el EC, pueden ambas variables ser combinadas en el THI. De acuerdo a estos autores, la producción de leche declinó en 0,2 kg por unidad de incremento del THI, cuando el valor de THI es sobre 72.

García-Ispuerto *et al.* (2007), comparando la utilidad del THI con la máxima temperatura ambiental, concluyeron que el uso de la temperatura ambiental y la humedad relativa del aire para medir el grado de EC que afecta a los animales, es de mayor utilidad cuando los planteles lecheros cuentan con medidas para paliar tales efectos. Para lecherías que no cuentan con estas herramientas, el uso de la máxima temperatura ambiental entrega mayor información.

Para efectos de trabajo existen tablas y rangos que permiten predecir eventuales riesgos de estrés; sin embargo, el THI carece de importantes datos climáticos como radiación solar y velocidad del viento. Tampoco incluye factores de manejo o genotipo (Gaughan *et al.*, 2008); además, subestima los efectos reales del EC en el ganado (Collier *et al.*, 2006).

4.4.2. HERRAMIENTAS DE ÚLTIMA GENERACIÓN

El uso de termografía infrarroja por medio de pistola, puede ser una herramienta de bajo costo para estimar la temperatura del momento en la piel del animal. Si la temperatura de la piel está bajo los 35 °C, el diferencial térmico entre el centro y la superficie del animal es suficientemente amplio para que los animales efectivamente utilicen las 4 vías de intercambio de calor (Collier *et al.*, 2006).

El seguimiento de la temperatura corporal en tiempo real por medio de dispositivos adosados a implantes intravaginales que contienen progesterona, parece ser una buena herramienta para su uso práctico en la medición de la temperatura corporal en lecherías. Este dispositivo mide la temperatura del centro del animal cada 60 segundos y durante las 24 horas del día, registrando la temperatura a través de todas las áreas de la lechería (Van Baale *et al.*, 2005).

4.5. EFECTOS DEL ESTRÉS CALÓRICO

El incremento en la temperatura ambiental y el alza de la temperatura rectal por sobre el umbral crítico, está relacionado a una disminución en el consumo de materia seca, deterioro en la eficiencia de producción de leche y la eficiencia reproductiva (Jordan 2003; West 2003).

4.5.1. EFECTOS SOBRE EL CONSUMO DE ALIMENTOS

Muchos de los efectos negativos sobre la producción lechera a causa del EC, están dados por una disminución en el consumo de materia seca (St-Pierre *et al.*, 2003; Collier *et al.*, 2006) Esta disminución del consumo se explica por mecanismos directos, como una reducción de la motilidad ruminal, con lo cual aumentan el tiempo de retención y el efecto sobre la saciedad (NRC, 2001), o por un efecto indirecto sobre el sistema nervioso central que evoca una respuesta en vías del control de la temperatura corporal.

Por otra parte, el EC provoca una disminución en la actividad física del animal, e incrementos en la frecuencia respiratoria y en el flujo sanguíneo periférico. En conjunto, estos efectos

disminuyen la irrigación sanguínea hacia los órganos internos, especialmente el hígado y las vísceras, reduciendo la cantidad de nutrientes que llega a ellos y alterando el metabolismo. Estas respuestas tienen un efecto negativo en la producción y reproducción de los animales (West, 2003).

4.5.2. EFECTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE

El EC provoca una disminución en la producción de leche y una disminución en la eficiencia de producción lechera (West, 2003). Washburn *et al.*, (2002) señalan que al aumentar el nivel de producción, los efectos negativos del EC se vuelven más agudos y su efecto residual continúa por más tiempo. A medida que la producción de leche por animal se incrementa, aumenta el gasto de energía metabólica, haciendo a los animales más susceptibles al EC (Collier *et al.*, 2006). Además, la importancia del EC para la industria lechera se ha hecho más evidente con el transcurso del tiempo, por un gran cambio en el ambiente productivo y porque los animales de mejor potencial genético producen más calor corporal, dada su gran tasa de actividad metabólica, reduciendo las ganancias de las lecherías que se encuentran sometidas a periodos de alta temperatura ambiental (West, 2003).

Por otra parte, West (2003) sostiene que al aumentar el mérito genético para producción de leche, la fertilidad se afecta negativamente debido a alteraciones en los procesos fisiológicos (metabolismo y producción de hormonas) o consanguinidad (inbreeding). Huang *et al.* (2008) informan que la tasa de concepción (TC) declina, a medida que la producción de leche aumenta en los meses más cálidos del año.

4.5.3. EFECTOS SOBRE LA FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA

Cuando las vacas de lechería son sometidas a un EC, la eficiencia reproductiva disminuye. El EC reduce la duración y la intensidad del estro, altera el desarrollo folicular y el desarrollo embrionario-fetal (Jordan, 2003).

4.5.3.1. Duración e intensidad del estro

Ha sido bien documentado que el EC disminuye la duración e intensidad del estro en las vacas de lechería (Gangwar *et al.*, 1965). Hace 50 años, Hall *et al.* (1959), examinando la duración promedio del estro en vacas de lechería en el estado de Louisiana (USA), encontraron que la duración del estro era menor en el verano que en el invierno.

El EC causa una baja detección de celo por parte del personal de la lechería. Aunque en parte este efecto sería hormonal, se debe también a la disminución en la actividad física del animal. El estado de letargia inducido por el EC, atenúa la expresión del estro y es un mecanismo adaptativo del animal para limitar la producción de calor (Hansen y Aréchiga, 1999). Por lo tanto, en épocas de mayores temperaturas ambientales, la incidencia de anestros y estros silentes aumenta. Además, existe una reducción en el número de inseminaciones y un aumento en aquellas inseminaciones que dan resultado negativo a la preñez (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

La actividad de monta de las vacas en estro disminuye a medida que la temperatura ambiental aumenta. En climas fríos la actividad estral es mayor que en climas cálidos. Se ha demostrado que las vacas que se encuentran en climas fríos, tienen una mayor actividad de monta entre las 06:00 y 17:59 horas. Además, su actividad estral es mayor entre las 12:00 y 17:59 horas en comparación a la de vacas ubicadas en climas cálidos (Pennington *et al.*, 1985). En Virginia (USA), Nebel *et al.* (1997) reportaron que las vacas tenían 4,5 montas por estro en verano, contra 8,6 montas por estro en invierno.

4.5.3.2. Desarrollo folicular

EL EC retrasa la selección y alarga la onda folicular, además de tener efectos potenciales negativos en la calidad del ovocito. El EC aceleraría el decrecimiento de tamaño del folículo dominante de la primera onda folicular y aceleraría la emergencia del segundo folículo dominante (preovulatorio). Esto lleva a un incremento en el número de folículos grandes en vacas sometidas a EC. Además, disminuye las concentraciones plasmáticas de estradiol durante la segunda mitad de la primera onda folicular y tendería a disminuir la concentración

plasmática de inhibina (Wolfenson *et al.*, 1995). La disminución en la concentración de inhibina circulante, se ve reflejada porque proviene desde una baja foliculogénesis, debido a una gran proporción de folículos pequeños y de tamaño medio (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

Después que las vacas se someten a un EC por más de 30 días, se incrementaría el diámetro folicular y el número de folículos por sobre los 9 mm de diámetro (codominancia folicular), lo cual se asocia a una disminución de la progesterona plasmática (Torres-Junior *et al.*, 2008). En vacas lactantes expuestas a EC, se ha asociado el patrón de crecimiento folicular con una disminución en la concentración sérica de estradiol, desde el día 11 del ciclo hasta el día 21. En promedio, la luteolisis se retrasó 9 días en vacas sometidas a EC (Wilson *et al.*, 1998a). En vaquillas se observó que el EC inhibe el crecimiento y la función del folículo dominante, produciendo inclusive hasta 3 ondas foliculares en los animales sometidos al experimento (Wilson *et al.*, 1998b).

4.5.3.3. Calidad del ovocito

La calidad de los ovocitos disminuye en aquellas vacas sometidas EC. Cuando se recolectaron ovocitos desde vacas sacrificadas en matadero durante los meses más calidos del año, la proporción de ovocitos y embriones que se habían desarrollado como blastocitos en el día 8 posterior a la inseminación fué menor comparado a aquellos recolectados en los meses más fríos del año (Al-Katanani *et al.*, 2002).

4.5.3.4 Desarrollo embrionario-fetal

Una clave importante para el desarrollo embrionario es el microambiente formado en el oviducto y útero. Perturbaciones en este microambiente pueden alterar la función celular y provocar errores en el desarrollo (Hansen, 2007). Estos cambios pueden inhibir el desarrollo embrionario e incrementar las pérdidas embrionarias (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

Como respuesta al aumento de la temperatura ambiental, la perfusión periférica aumenta para eliminar el exceso de calor del cuerpo de la vaca. Por esta causa, disminuye el riego sanguíneo de los órganos internos, incluido el útero. En vacas sometidas a EC, la tasa de riego sanguíneo intrauterino disminuye comparada a aquellas que se encuentran en ambiente dentro de la ZTN del bovino, lo cual puede causar efectos negativos en la implantación y desarrollo del concepto (Roman-Ponce *et al.*, 1977).

La producción de embriones por superovulación se ve afectada por el EC. La disminución en el número de embriones transferibles está dada por una reducida respuesta a la superovulación, baja tasa de fertilización y reducida calidad de los embriones (Hansen *et al.*, 2001). La sobrevivencia embrionaria al EC, depende de su genotipo, estado de desarrollo, exposición a moléculas regulatorias y su estado redox (Hansen, 2007). Se encuentra cierta diferencia en el desarrollo embrionario-fetal entre la especie *Bos taurus* y *Bos indicus*. En un experimento realizado por Camargo *et al.* (2007), al comparar el estado de segmentación de 8-16 células y la tasa de blastocitosis, éstas fueron mayores en el ganado *Bos indicus*, lo que se explicaría porque el ganado índico es más resistente al calor que el ganado europeo debido a la selección natural.

4.5.4. EFECTO SOBRE LAS VARIABLES REPRODUCTIVAS

4.5.4.1. Tasa de concepción

El EC puede afectar negativamente la TC, que se calcula con *el número de inseminaciones que resultan positivos a la preñez dividida por el número de inseminaciones en un periodo determinado* (Fetrow *et al.*, 1990). La TC disminuye a medida que la estación más calurosa del año se hace presente. En un estudio realizado en Estados Unidos, comparando la TC entre los estados de New York (NY) y Georgia (GA), se comprobó que la TC disminuye a medida que se avanza hacia zonas más tropicales. Durante el invierno la TC fue similar entre los dos estados, pero en verano la TC disminuyó en forma importante en GA, manteniéndose baja desde Mayo hasta Diciembre (Huang *et al.*, 2008).

Los efectos negativos del EC sobre la reproducción han sido vistos desde los 42 días antes de la inseminación artificial (IA), hasta los 40 posteriores a la IA (Jordan, 2003). Si las vacas se exponen a un periodo de alta temperatura ambiental durante 6 días antes del servicio, el día del servicio y hasta 7 días posterior a este, la TC disminuye (García-Ispuerto *et al.*, 2007; Morton *et al.*, 2007). En vacas expuestas a periodos de EC entre los 40 a 20 días antes de la IA, se han descrito asociaciones negativas en la TC, al compararlas con aquellas vacas no expuestas a periodos de EC (Chebel *et al.*, 2004). El efecto negativo del EC sobre la TC sería más preponderante cuando se produce el día de la IA, seguido de los días 2 y 5 antes de la IA, y los 5 días posteriores a la IA (Ravagnolo y Misztal, 2002).

Al revisar la literatura referente a la relación entre la TC del ganado lechero y la temperatura ambiental, se desprende que no existe consenso respecto a desde que grado o rango de temperatura ambiental la fertilidad disminuye notoriamente. Los efectos negativos del EC sobre la TC se han observado a partir de los 25 °C de temperatura ambiental (Berman *et al.*, 1985). También se ha propuesto que temperaturas superiores a 27 °C en el día del servicio, se relacionarían a una disminución en la TC del ganado (Cavestany *et al.*, 1985). Se ha comprobado que, vacas expuestas a temperaturas del orden de 29 °C, durante un periodo prolongado antes de la IA, muestran un descenso en los valores de la TC, esto es especialmente en los meses de primavera y verano (Chebel *et al.*, 2004). Inclusive, si la máxima temperatura ambiental está por sobre los 31 °C y se mantiene por 3 días antes de la IA, la fertilidad disminuye considerablemente (García-Ispuerto *et al.*, 2007). En un estudio realizado por Badinga *et al.* (1985), la TC de vacas lactantes disminuyó bruscamente a partir de los 31 °C de temperatura ambiental; sin embargo, en vaquillas, la TC disminuyó a partir de los 35 °C.

En el año 1976 Ingrahan *et al.*, publicaron los resultados de un estudio realizado en Hawaii, donde determinaron que la TC declinó desde 66% a 35%, cuando el THI para el periodo en estudio aumentó desde 68 a 78. El THI para el segundo día posterior a la IA, tendría una mayor correlación con la disminución de la TC. Otros autores concluyen que la TC disminuye cuando el $\text{THI} \geq 72$ (Morton *et al.*, 2007), y existiendo acuerdo en que a partir de este valor, los efectos del EC sobre la reproducción se hacen más patentes (Armstrong, 1994).

El EC también posee un efecto retardado sobre la fertilidad del ganado bovino. En países de climas cálidos la tasa de concepción se ve reducida inclusive en otoño, cuando las temperaturas ambientales han disminuido. Este efecto crónico del EC afectaría la producción de esteroides y las características foliculares en folículos de tamaño medio y pre-ovulatorios (Roth *et al.*, 2001).

4.5.4.2. Otras variables reproductivas

Al-Katanani *et al.*, (1999), analizando el efecto de la temperatura del aire durante 10 días antes, en el día de la IA y durante 10 días después del servicio, sugieren que el EC antes de, en el día, y después del servicio, está asociado a una baja en la tasa de no retorno a los 90 días. Las vacas que durante 10 días antes del servicio, se enfrentan a temperaturas mayores a los 20°C, tienen menores probabilidades de quedar preñadas que aquellas que se encuentran en ambientes con temperaturas menores o iguales a 20°C.

De acuerdo a los resultados de otro estudio, el THI para el día de la IA, ejerció el mayor efecto en la tasa de no retorno a los 45 días, seguido de los 2 días pre-IA, 5 días pre-IA y los 5 días post-IA, pero no habría relación con el THI a los 10, 20 y 30 días después de la IA. La tasa de no retorno a los 45 días mostró una disminución significativa a partir del THI 68 (Ravagnolo y Misztal, 2002).

4.6. ESTRATEGIAS PARA DISMINUIR LOS EFECTOS DEL ESTRÉS CALÓRICO

Las estrategias más efectivas para paliar los efectos negativos del EC sobre la eficiencia productiva y/o reproductiva, consisten en maximizar las rutas de intercambio de calor de la vaca con el ambiente (Collier *et al.*, 2006). Estas incluyen el uso de sombreaderos, corrales con ventilación mejorada, y la adición de ventiladores y aspersores que incrementan las pérdidas de calor por parte del cuerpo de la vaca (West, 2003). Una de las primeras estrategias es proteger a la vaca de la radiación solar directa/indirecta, ya que cuando se utilizan en forma correcta, los sombreaderos disminuyen la frecuencia respiratoria y la temperatura corporal de

las vacas, sobretodo en aquellas horas del día cuando se produce el “peak” de temperatura ambiental (Brown-Brandl *et al.*, 2005). El patio de espera es donde las vacas experimentan el mayor EC. El uso de aspersores y ventiladores, puede incrementar la producción de leche (0,8 kg/vaca) y disminuir la temperatura corporal (1,95°C), si son instalados apropiadamente (Collier *et al.*, 2006). Armstrong *et al.* (1999) informaron que las vacas alojadas en cubículos, tienen un bajo porcentaje de incremento de su frecuencia respiratoria cuando cuentan con aspersores y ventiladores. Recomiendan que además los cubículos sean construidos de tal forma que también maximicen la mayor ventilación posible.

Las mismas estrategias destinadas a disminuir los efectos negativos del EC sobre la producción de leche, se utilizan para mejorar la eficiencia reproductiva. Mientras se disponga de sombreadero y/o ventiladores en los corrales y en el patio de espera, mejorarían las posibilidades de preñez en el verano (Thompson *et al.*, 1996). Al-Katanani *et al.* (2002), comparando la calidad ovocitaria de vacas no-lactantes durante el verano y el invierno, recomiendan un manejo de la temperatura ambiental durante 42 días antes de la ovulación, para mitigar el impacto negativo del EC. En un experimento realizado en el Bearden Dairy Research Center de la Universidad del estado de Mississippi (USA), Younas *et al.* (1993) encontraron una tendencia de aumento en el “peak” pre-ovulatorio de LH y la respuesta del celo en vacas que se encontraban bajo ventilación por medio de ventiladores adosados al techo de los establos durante el verano. Esto, se explica porque las vacas sometidas a ventilación durante el verano disminuyen su temperatura rectal, diluyendo el efecto negativo del EC sobre la fertilidad.

Además, se promueve el uso de la sincronización de celo e inseminación a tiempo fijo, dado que puede reducir las pérdidas en la eficiencia reproductiva a causa de una pobre detección del estro; así como el uso de la transferencia de embriones que puede incrementar la tasa de preñez, al evitar el periodo que los embriones pueden estar más expuestos al EC (1-2 días posterior al servicio) (Hansen y Aréchiga, 1999).

5- OBJETIVOS

5.1. HIPÓTESIS

La temperatura ambiental elevada afecta negativamente la tasa de concepción en vacas Holstein de la zona central de Chile.

5.2. OBJETIVO GENERAL

Estudiar la relación entre temperatura máxima ambiental y la probabilidad de concepción en vacas Holstein de la zona central de Chile.

5.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de la temperatura máxima ambiental antes, en el día y después de la inseminación artificial sobre la probabilidad de concepción de vaquillas y vacas en lactancia.

Determinar los efectos de la producción de leche, el número ordinal del parto y los días en leche sobre la probabilidad de concepción.

6- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. POBLACIÓN EN ESTUDIO Y MANEJO DEL REBAÑO

Se analizaron datos derivados de 2.058 inseminaciones realizadas en un período de 2 años, entre los meses de septiembre y marzo, en un plantel lechero de la zona central de Chile ubicado en la Región de Valparaíso, específicamente en el Valle del Aconcagua. Esta zona se caracteriza por presentar un clima templado cálido con lluvias invernales, estación seca prolongada y grandes amplitudes térmicas. Las precipitaciones se concentran en invierno, dejando al menos 7 meses con cantidades inferiores a 40 mm y produciéndose nevadas invernales solo en forma ocasional (Dirección Meteorológica de Chile, 2009).

El rebaño estudiado del predio está formado por un total de aproximadamente 850 vacas masa. Durante el periodo estudiado, los animales se mantuvieron en un sistema intensivo de producción y en corrales de tierra. Se realizaban tres ordeñas diarias y la producción promedio de leche del predio era 10.900 kg ME. El manejo alimentario comprendía distintas raciones según nivel productivo, edad (vacas primíparas y vacas multíparas) y condición productiva (vacas en lactancia, secas, preparto, post parto temprano). La ración entregada consistía en alimentos voluminosos como heno y soiling de alfalfa, y ensilaje de maíz, suplementado con concentrados. Las raciones estuvieron de acuerdo con los estándares del NRC (NRC, 2001).

Respecto al manejo reproductivo, los partos ocurrían en maternidades individuales, observados por el personal encargado y con asistencia si fuese necesario. Los terneros eran separados de las madres dentro de las primeras 24 horas después del parto. Se realizaba un control ginecológico a las vacas 24 a 38 días después del parto. Estos incluían un examen de útero y ovarios mediante palpación rectal, y examen de secreción uterina/vaginal a través de examen manual vía vaginal.

Los servicios se realizaban exclusivamente a través de IA. En vaquillas las inseminaciones se iniciaban con una edad mínima de 15 meses y un peso igual o superior a 370 kg. En las vacas las inseminaciones se iniciaban luego de un periodo de espera voluntario post parto de 50 a 60

días. Los celos, para ambos tipos de animal, eran detectados por observación periódica visual, la cual se realizaba 2 o 3 veces en el día. Además, se complementaba con ayudas a la detección como pinturas o parches en la base de la cola, los que son activados con la monta. Las vaquillas o vacas en celo, eran inseminadas aproximadamente 4 a 12 horas posterior a la detección del estro. Aquellas hembras que no repetían celo eran examinadas mediante ultrasonografía, desde los 30 días después de la inseminación, con el objetivo de diagnosticar la gestación.

6.2. RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Se recopiló información de cada vaca relativa a: identificación, número ordinal del parto, fechas de las inseminaciones realizadas, el resultado del diagnóstico de gestación de las vacas producto de las inseminaciones incluidas en el estudio, producción de leche al día de la inseminación, días en leche al momento de la IA y la variable climática temperatura máxima ambiental, para cada día desde 10 días antes de la IA hasta 10 días después de la IA. El servicio individual fue la unidad de análisis y el resultado, si hubo o no concepción. La temperatura ambiental, medida en grados Celsius (°C), fue obtenida de los registros derivados del mismo plantel de estudio.

6.3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se evaluaron las asociaciones entre tasa de concepción con las fuentes de variación temperatura máxima ambiental, número ordinal de parto (NOP), producción de leche al día de la inseminación y días en leche (DEL) al momento de la IA. La información se analizó a través de regresión logística, utilizando el programa de análisis estadístico SAS® y de acuerdo al siguiente modelo:

$$p = \frac{1}{1 + e^{(-\alpha - \beta_i T_i - \beta_j N_j - \beta_k P_k - \beta_l D_l)}}$$

Y = Presencia de preñez (0: No; 1: Sí)

p = Probabilidad de que $Y = 1$

α = Intercepto

β_i = Parámetro de temperatura máxima ambiental

T_i = Efecto de i -ésima temperatura máxima ambiental

β_j = Parámetro de NOP

N_j = Efecto del k -ésimo NOP

β_k = Parámetro de producción de leche al día de la inseminación

P_k = Efecto del l -ésima producción de leche al día de la inseminación

β_l = Parámetro de DEL al momento de la IA

D_l = Efecto del n -ésimo DEL al momento de la IA

Se analizó la información obtenida en dos formas: un modelo que consideró a la temperatura ambiental como única variable (modelo 1) y un modelo donde el modelo 1 se ajusta por factores productivos (modelo 2).

La temperatura para ambos modelos se investigó como variable independiente en dos formas: primero se consideró a la temperatura como variable continua, donde se estableció si el riesgo de concepción es lineal en función de la variable temperatura máxima ambiental. En segundo lugar, como análisis descriptivo, se consideró a la temperatura máxima ambiental como variable discreta, creando 5 rangos de temperatura máxima ambiental, las clases fueron: <18 °C, 18-23 °C, 23,1-28 °C, 28,1-32 °C y >32 °C. Adicionalmente se establecieron 7 nuevas clases: <20 °C, 20-23 °C, 23,1-26 °C, 26,1-29 °C, 29,1-32 °C, 32,1-35 °C, >35 °C., para seguir el mismo patrón de estudio.

Los valores de temperatura utilizados en los diferentes modelos fueron: a) la temperatura el día de la inseminación, b) la temperatura de los días previos a la inseminación y c) la temperatura en días posteriores a la inseminación. Los resultados se expresaron como, tasa de concepción y como razón de riesgo de preñez (tasa de cambio en la probabilidad de preñez con respecto a las no preñadas) con sus respectivos intervalos de confianza.

7- RESULTADOS

7.1. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS INSEMINACIONES DE VACAS Y VAQUILLAS

Un total de 2.058 IA fueron incluidas en el análisis estadístico. De estas inseminaciones, 1.641 IA (79,7%) correspondieron a vacas de 1 o más partos, y 417 IA (20,3%) a vaquillas.

Cuando los datos se distribuyeron según el resultado de preñez (TC), se observó que 710 IA (34,5%) dieron resultado positivo al diagnóstico de gestación. Por el contrario, 1.348 IA (65,5%), se diagnosticaron como no preñadas. En vacas un 30% (492 IA) dieron resultado positivo y un 70% (1.149 IA) fueron negativas al diagnóstico ultrasonográfico de gestación. En vaquillas se observó que un 52,3% (218 IA) fueron positivas al diagnóstico de gestación y un 47,7% (199 IA) mostró resultado negativo a la preñez.

El Cuadro 1 muestra la TC distribuida por el mes de las vacas y vaquillas según el mes en que se realizó el servicio.

Cuadro 1. Tasa de concepción (TC) distribuida por mes de servicio para vacas y vaquillas

Mes	Vacas	n	Vaquillas	n	Total
SEP	32,3%	393	50,0%	84	477
OCT	32,0%	400	51,6%	95	495
NOV	35,0%	350	53,6%	97	447
DIC	23,4%	401	54,5%	110	511
ENE	20,7%	82	44,8%	29	111
FEB	ND ¹	ND	ND	ND	ND
MAR	13,3%	15	100,0%	2	17
Total	30,0%	1.641	52,3%	417	2.058

¹ND: información no disponible

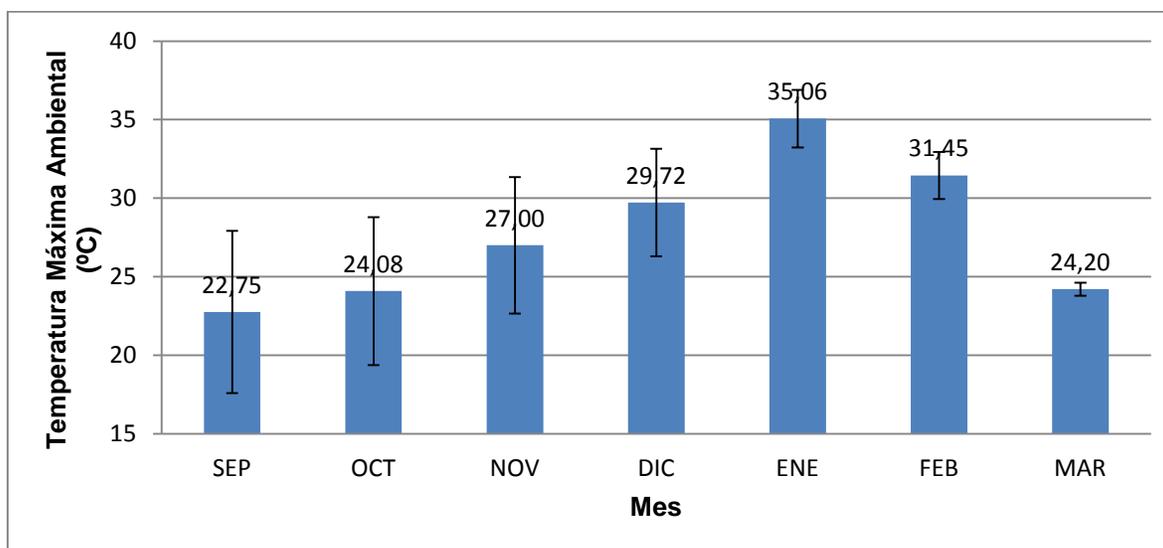
7.2. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL

7.2.1. TEMPERATURA DEL DÍA DE LA IA

En vacas, la temperatura máxima ambiental más alta registrada para el día de la IA fue de 37,5 °C y la más baja 11,0 °C. En vaquillas, la temperatura máxima ambiental más alta registrada para el día de la IA fue de 37,3 °C y la más baja alcanzó a 15 °C.

En la Figura 1 se muestra el promedio (\pm DE) de las temperaturas máximas ambientales, distribuidas por mes dentro del periodo de estudio, observándose el aumento de la temperatura ambiental desde septiembre hasta enero, para luego disminuir en el mes de marzo.

Figura 1. Promedios mensuales (\pm DE) de temperaturas máximas ambientales en el día de la IA para vacas y vaquillas en conjunto



7.2.2. TEMPERATURAS DE LOS 3 DÍAS PREVIOS Y POSTERIORES A LA IA

En vacas, la temperatura máxima ambiental para los 3 días anteriores a la IA fue de $26,5 \pm 4,8$ °C, alcanzando en los 3 días posteriores a la IA a $27,0 \pm 4,7$ °C. Para las vaquillas, los valores correspondientes a los 3 días previos y 3 días posteriores a la IA fueron $26,6 \pm 5,1$ °C y $27,1 \pm 4,7$ °C, respectivamente.

7.3. RELACIÓN ENTRE LA TEMPERATURA AMBIENTAL Y LA TASA DE CONCEPCIÓN

7.3.1. EFECTO DE LA TEMPERATURA MÁXIMA AMBIENTAL DE LOS 10 DÍAS ANTES DE LA IA, EL DÍA DE LA IA Y LOS 10 POSTERIORES A LA IA

El análisis realizado con la información de vacas y vaquillas en conjunto (sin considerar los otros factores de variación), mostró efectos significativos de la temperatura máxima ambiental sobre la TC en la mayoría de los días estudiados. En algunos, el valor no fue significativo, pero se aproximó al límite de significancia. Las menores relaciones correspondieron a los días 6 y 10 posteriores a la IA, mientras que el mayor efecto se observó en el día de la IA y el día - 3 (Cuadro 2).

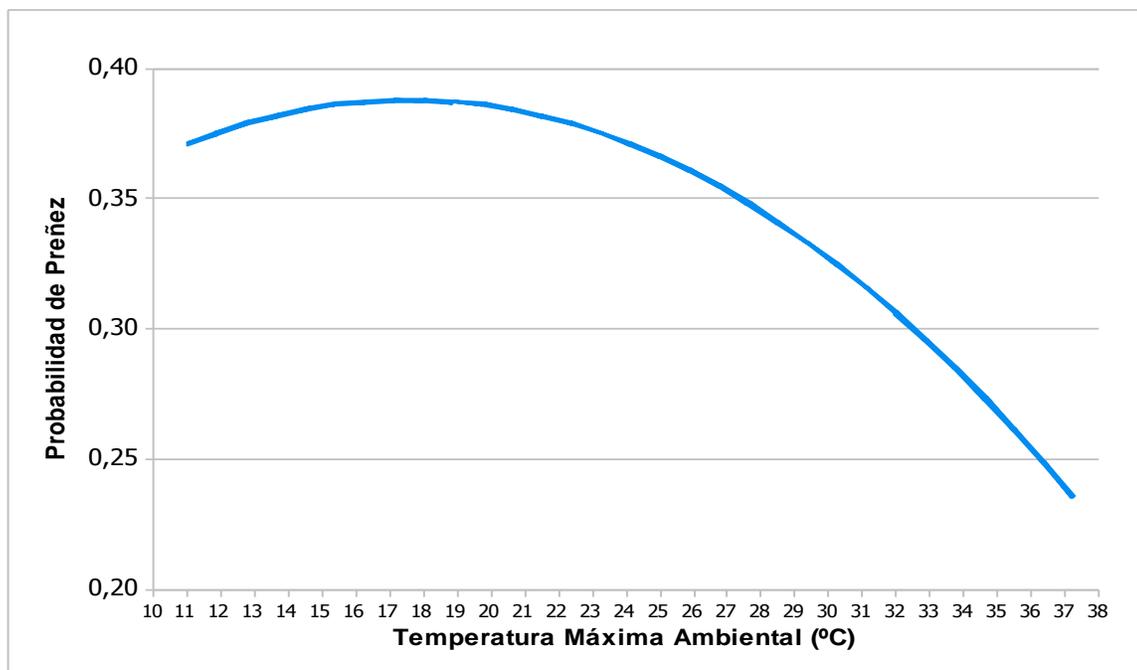
En general, de acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 2, por cada grado de aumento en la temperatura máxima ambiental, en el día de la IA, el riesgo de concepción disminuyó en un 2,8% (p=0,008).

Cuadro 2. Efecto de la variable temperatura máxima ambiental medida como razón de riesgo de preñez (“odds ratio”) de los 10 días previos a la IA (días -10 al -1) el día de la IA (día 0) y los 10 días posteriores a la IA (días 1 al 10) en la tasa de concepción de vacas y vaquillas en conjunto

DIA	Odds ratio	Intervalo de Confianza 95%	p
-10	0,984	0,968 - 0,999	0,035
-9	0,984	0,969 - 0,999	0,038
-8	0,981	0,966 - 0,997	0,022
-7	0,988	0,972 - 1,003	0,120
-6	0,988	0,971 - 1,005	0,155
-5	0,988	0,971 - 1,004	0,135
-4	0,986	0,971 - 1,003	0,099
-3	0,974	0,959 - 0,990	0,001
-2	0,981	0,966 - 0,997	0,023
-1	0,982	0,966 - 0,998	0,024
0	0,972	0,956 - 0,988	0,008
1	0,976	0,960 - 0,992	0,040
2	0,978	0,962 - 0,995	0,011
3	0,985	0,968 - 1,003	0,094
4	0,98	0,963 - 0,996	0,016
5	0,982	0,966 - 0,999	0,034
6	0,99	0,974 - 1,005	0,189
7	0,979	0,964 - 0,995	0,011
8	0,981	0,965 - 0,997	0,020
9	0,986	0,969 - 1,002	0,093
10	0,989	0,971 - 1,006	0,202

La Figura 2 ilustra el efecto de la temperatura máxima ambiental del día de la IA sobre la probabilidad de preñez de vacas y vaquillas en conjunto.

Figura 2. Efecto de la temperatura máxima ambiental del día de la IA en la probabilidad de preñez para vacas y vaquillas en conjunto



De acuerdo a la figura anterior, a medida que la temperatura máxima ambiental del día de la IA aumenta, la probabilidad de preñez inicialmente se incrementa en aproximadamente un 2%, para luego disminuir a partir de los 18°C en aproximadamente un 20%.

El análisis de la información de vacas y vaquillas por separado, demostró que existe un efecto significativo de la temperatura ambiental en el día de la IA, sobre la fertilidad de las vacas de 1 parto o más, el cual se observaría después en la mayoría de los días previos y posteriores a la IA (Figura 3). En cambio, en las vaquillas, no se encontró una relación significativa entre la temperatura máxima ambiental y la probabilidad de preñez (Figura 4). El día de la IA continuó siendo el día de mayor relación entre la temperatura máxima ambiental y la fertilidad para ambos tipos de animal, pero en vaquillas este efecto no fue significativo ($p=0,26$). En ambos grupos de animales hubo una tendencia a la disminución de la razón de riesgo de preñez antes

de la IA, y de aumento posterior a la IA, aunque en vaquillas esta tendencia no fue significativa.

Figura 3. Efecto de la variable temperatura máxima ambiental, medida como razón de riesgo de preñez (“odds ratio”, OR) de los 10 días previos a la IA (días -10 al -1) el día de la IA y los 10 días posteriores a la IA (días 1 al 10) en vacas. El asterisco (*) indica efecto significativo ($p \leq 0,05$)

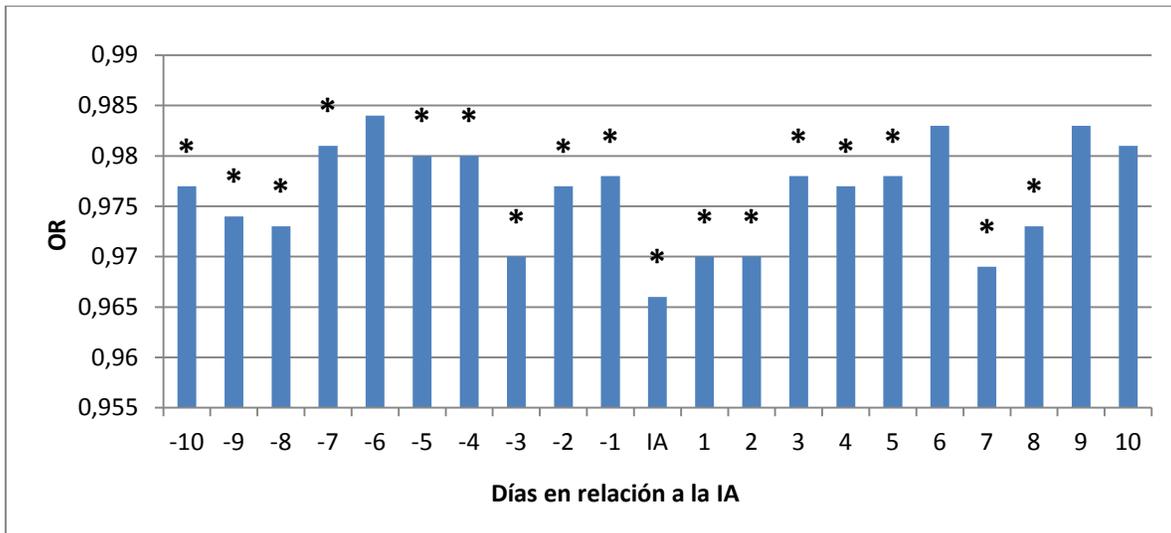
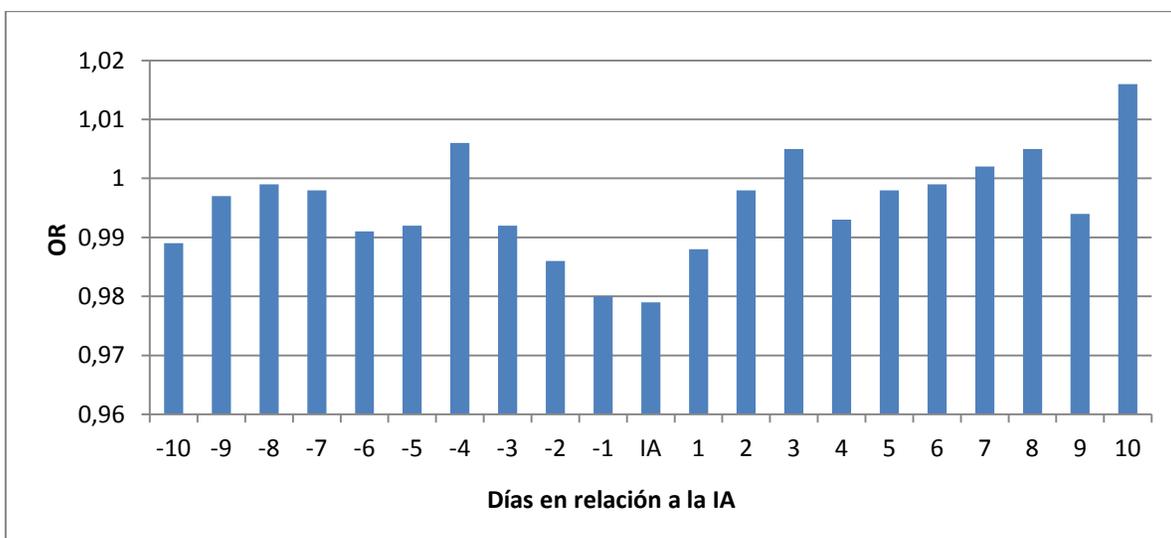


Figura 4. Efecto de la variable temperatura máxima ambiental medida, como razón de riesgo de preñez (“odds ratio”, OR) de los 10 días previos a la IA (días -10 al -1) el día de la IA y los 10 días posteriores a la IA (días 1 al 10) en vaquillas ($p > 0,05$)



Para vacas y vaquillas, se obtuvieron las siguientes funciones de acuerdo al modelo estadístico para el día de la IA, sin ajustar por factores productivos.

Vacas:

$$p = \frac{1}{1 + e^{(-0,0685 + 0,0349)}}$$

Vaquillas:

$$p = \frac{1}{1 + e^{(-0,6681 + 0,0215)}}$$

Al graficar ambas funciones para la temperatura máxima ambiental del día de la IA, en vacas se observa que a medida que la temperatura máxima ambiental aumenta, la probabilidad de preñez disminuye y la pendiente de la curva tiende a hacerse mayor alrededor de los 25 °C (Figura 5). Mientras que en bajas temperaturas la probabilidad de preñez es de alrededor de 38%, a temperaturas superiores a los 30 °C, durante el día de la IA, se refleja en una disminución de la fertilidad, alcanzando después valores cercanos del 20%. En vaquillas la relación entre ambas variables es distinta, por que a medida que aumenta la temperatura ambiental, en un primer momento, la probabilidad de preñez se incrementa, pero a partir de los 24 °C la probabilidad disminuye hasta valores del orden de un 35% (Figura 6). Adicionalmente, la fertilidad en vaquillas siempre es mayor que en vacas, para cada rango de temperatura máxima ambiental, aunque no se asoció de manera estadísticamente significativa con la temperatura máxima ambiental.

Figura 5. Efecto de la temperatura máxima ambiental del día de la IA en la probabilidad de preñez de las vacas

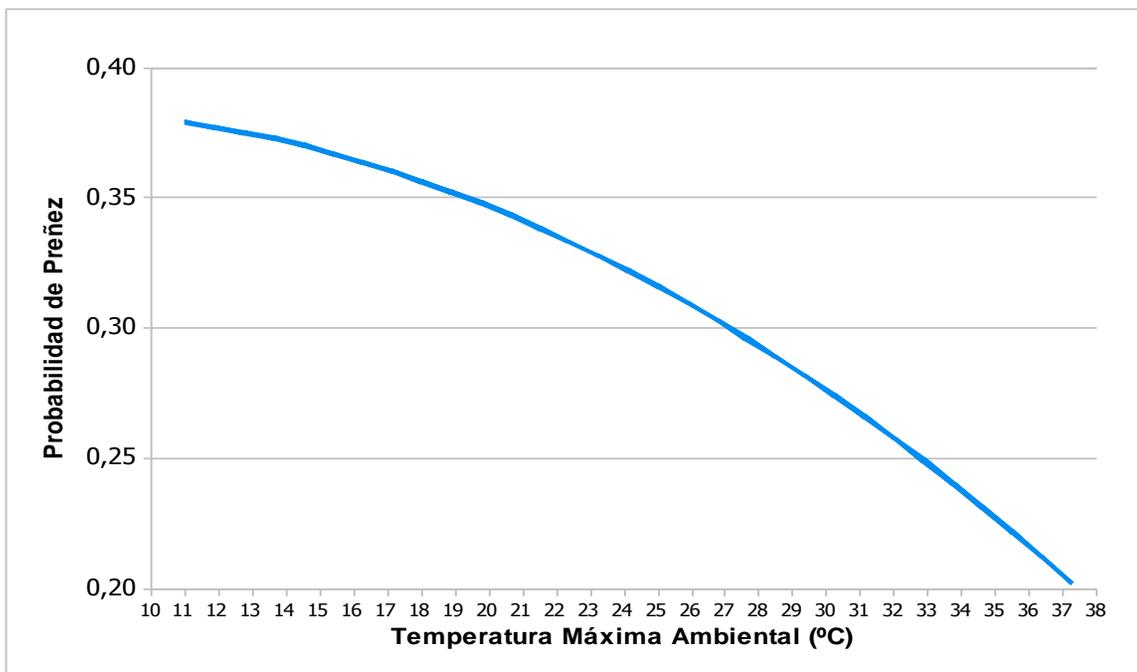
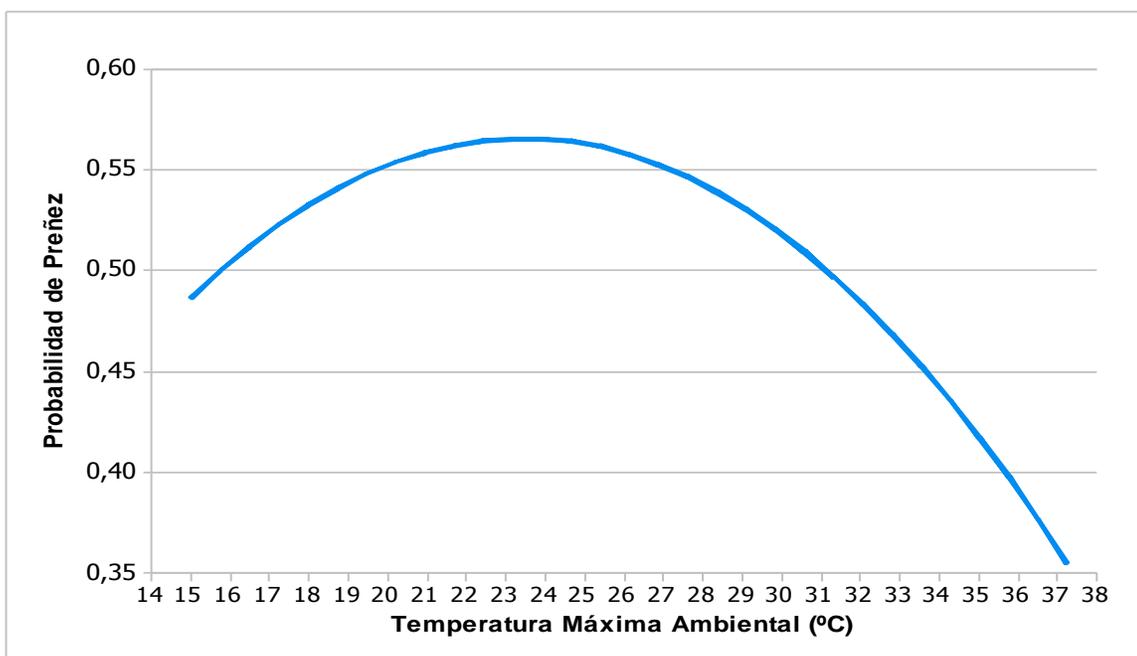


Figura 6. Efecto de la temperatura máxima ambiental del día de la IA en la probabilidad de preñez de las vaquillas



7.3.2. EFECTO DE LA TEMPERATURA MÁXIMA AMBIENTAL DEL DÍA DE LA IA

En vacas, en el modelo 1, sin considerar los factores productivos (número ordinal de parto, producción de leche y días en lactancia), pudo determinarse que la probabilidad de concepción disminuyó 3,4% ($p=0,0004$), por cada grado de aumento en la temperatura máxima ambiental del día de la inseminación (Cuadro 3).

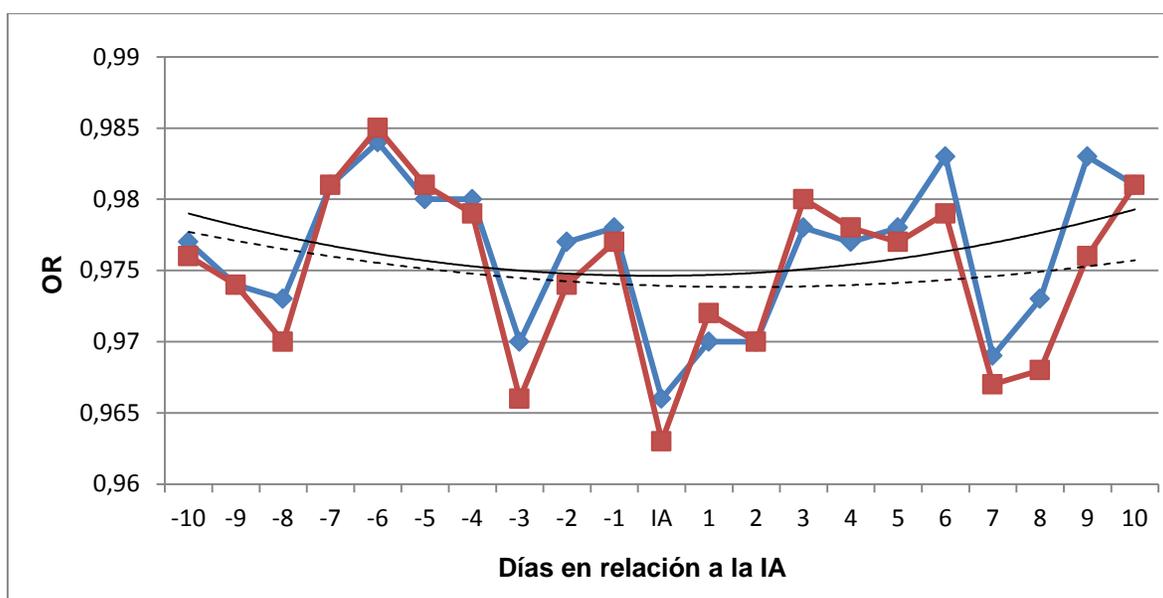
Al aplicar el modelo 2, que considera los factores productivos recién señalados, se encontró que la probabilidad de preñez disminuyó 3,7% ($p=0,0003$), por cada grado de aumento de la temperatura máxima ambiental en el mismo día de la IA. Las vacas de 3 o más partos, tuvieron 33,5% menos probabilidades de concebir que las de primer parto ($p=0,01$). Las vacas de 2 partos, fueron un 18,1% menos fértiles que las de 1 parto, pero esta diferencia no fue significativa ($p=0,97$). No se observó un efecto significativo de la producción de leche ni de los días en leche al momento de la inseminación artificial, sobre la probabilidad de preñez (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de la temperatura máxima ambiental medida como razón de riesgo de preñez (“odds ratio”) para la temperatura máxima ambiental del día de la IA sin ajustar por factores productivo (modelo 1) y ajustado por factores productivos (modelo 2); días en leche (DEL), producción de leche el día de la IA (PDIA) y número ordinal de parto (NOP) para vacas

	EFECTO	Odds Ratio	Intervalo de Confianza 95%	P
Modelo 1	T° día de la IA	0,966	0,947-0,985	0,0004
Modelo 2	T° día de la IA	0,963	0,944-0,983	0,0003
	DEL	1,000	0,998-1,001	0,507
	PDIA	1,004	0,990-1,017	0,587
	NOP ≥ 3 v/s 1	0,665	0,498-0,887	0,010
	NOP 2 v/s 1	0,819	0,601-1,117	0,970

La Figura 7 muestra la probabilidad de preñez medida, como razón de riesgo de preñez, de acuerdo al aumento de la temperatura máxima ambiental de cada día, antes y después de la IA. Para el modelo 1 (azul) y el modelo 2 (rojo), se agrega una línea de tendencia que muestra que la probabilidad de concepción disminuye en los días más cercanos al día de la IA y, en forma inversa, a medida que se aleja del día de la IA, la probabilidad aumenta. Este efecto es más evidente en el caso del modelo 2.

Figura 7. Línea de tendencia polinómica para la razón de riesgo de preñez para vacas (“odds ratio”, OR), de acuerdo a la temperatura máxima ambiental de cada día entre los 10 días previos y los 10 días posteriores a la IA, para el modelo 1 (línea continua) y el modelo 2 (línea discontinua)



En la Figura 7 se observó que la línea de tendencia polinómica para el modelo 2 está más cercana a 0 (cero) y tiende a ser más aplanada en los días posteriores a la IA.

7.3.3. EFECTO DE LA TEMPERATURA MÁXIMA PROMEDIO DE LOS 3 DÍAS ANTERIORES Y POSTERIORES A LA IA

En el análisis estadístico resultante del modelo 1, se observó que en vacas, por cada grado de aumento de la temperatura promedio de los 3 días previos a la IA, la probabilidad de preñez disminuyó en un 3,4% ($p=0,002$) y, en la misma forma, bajó un 3,5% ($p=0,002$), en los 3 días

posteriores a la IA. En vaquillas, a pesar de que se encontró una disminución en el riesgo relativo de preñez para ambos promedios, este efecto no fue significativo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de la variable temperatura máxima ambiental promedio de los 3 días previos a la IA de los 3 días posteriores a la IA (días 1 al 3 en relación a la IA) medidas como razón de riesgo de preñez (“odds ratio”), para vacas y vaquillas

	Efecto	Odds Ratio	Intervalo de Confianza 95%	P
Vacas	T°PreIA (-3 a -1)	0,966	0,945-0,987	0,002
	T°PostIA (1 a 3)	0,965	0,943-0,986	0,002
Vaquillas	T°PreIA (-3 a -1)	0,983	0,946-1,021	0,379
	T°PostIA (1 a 3)	0,996	0,957-1,038	0,864

Los resultados del modelo 2 muestran que la probabilidad de preñez disminuyó un 3,7% por cada grado de aumento en el promedio de la temperatura máxima ambiental de los 3 días anteriores a la IA ($p=0,001$). El riesgo de concepción disminuyó un 3,3% ($p=0,004$), por cada grado de aumento en el promedio de la temperatura máxima ambiental en los 3 días posteriores a la IA. Las vacas de 3 o más partos, fueron menos propensas a quedar preñadas que las vacas de 1 parto. En las vacas de 2 partos, este efecto no fue significativo. La producción de leche y los días en leche al momento de la inseminación, no se relacionaron significativamente en este modelo (Cuadro 5).

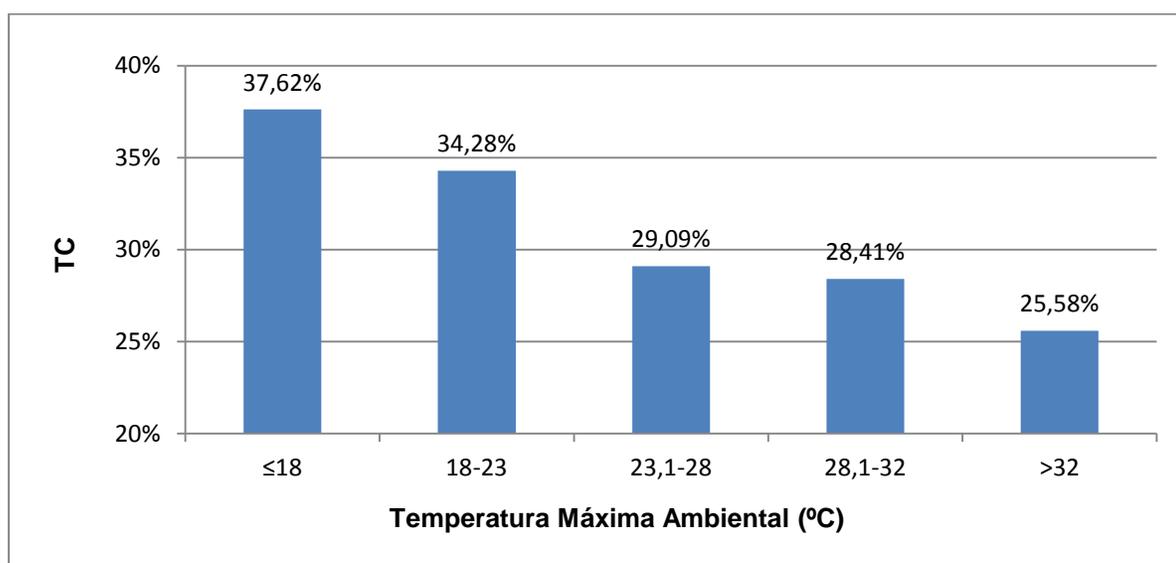
Cuadro 5. Efecto de la variable temperatura máxima ambiental promedio de los 3 días previos a la IA y de los 3 días posteriores a la IA medidas como razón de riesgo de preñez (“odds ratio”) en un modelo ajustado por factores productivos como días en leche (DEL), producción de leche al día de la IA (PDIA) y número ordinal de parto (NOP) para vacas

EFECTO	Días previos a la IA			Días posteriores a la IA		
	Odds Ratio	Intervalo de Confianza 95%	P	Odds Ratio	Intervalo de Confianza 95%	P
T°díaIA	0,963	0,941-0,985	0,001	0,967	0,944-0,989	0,004
DEL	1,000	0,998-1,001	0,542	1,000	0,998-1,001	0,533
PDIA	1,004	0,990-1,017	0,586	1,003	0,990-1,017	0,637
NOP ≥ 3 v/s 1	0,658	0,493-0,878	0,007	0,667	0,500-0,890	0,010
NOP 2 v/s 1	0,823	0,604-1,121	0,912	0,821	0,603-1,117	0,972

7.3.4. EFECTO DE LA TEMPERATURA MÁXIMA AMBIENTAL SOBRE LA TASA DE CONCEPCIÓN EL DÍA DE LA IA: ANÁLISIS SEGÚN RANGOS DE TEMPERATURA MÁXIMA AMBIENTAL

Al agrupar la temperatura máxima ambiental del día de la IA en 5 rangos, se observó que en vacas la TC desciende en forma más o menos lineal, en la medida que aumenta la temperatura máxima ambiental. (Figura 8).

Figura 8. Tasas de concepción (TC) para 5 rangos de temperatura máxima ambiental en el día de la IA en vacas



En vaquillas, no se observó esta relación entre el aumento del rango de temperatura máxima ambiental al día de la IA y la disminución de la TC (Cuadro 6); encontrando valores algo menores en los rangos externos de temperatura máxima ambiental.

Cuadro 6. Tasas de concepción para 5 rangos de temperatura máxima ambiental en el día de la IA en vaquillas

Rango (°C)	Vaquillas	n
<18	45,4%	22
18-23	55,4%	74
23,1-28	54,9%	144
28,1-32	53,1%	113
>32	43,7%	64

Al agrupar las observaciones esta vez en 7 clases de temperatura máxima ambiental al día de la IA, se aprecia en la Figura 9 (vacas) y Figura 10 (vaquillas), una tendencia similar, donde en la medida que la temperatura máxima ambiental del día de la IA aumenta, la TC disminuye progresivamente, tanto en vacas y como en vaquillas. En ambos casos esta tendencia es relativamente lineal (Figuras 9 y 10).

Figura 9. Tasas de concepción para 7 rangos de temperatura máxima ambiental para el día de la IA en vacas

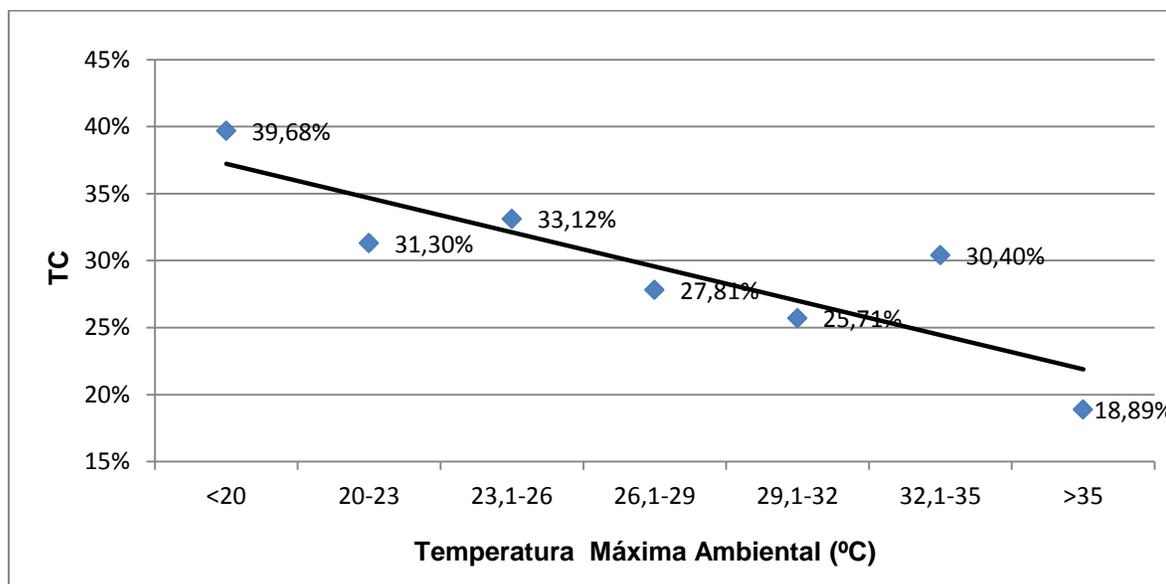
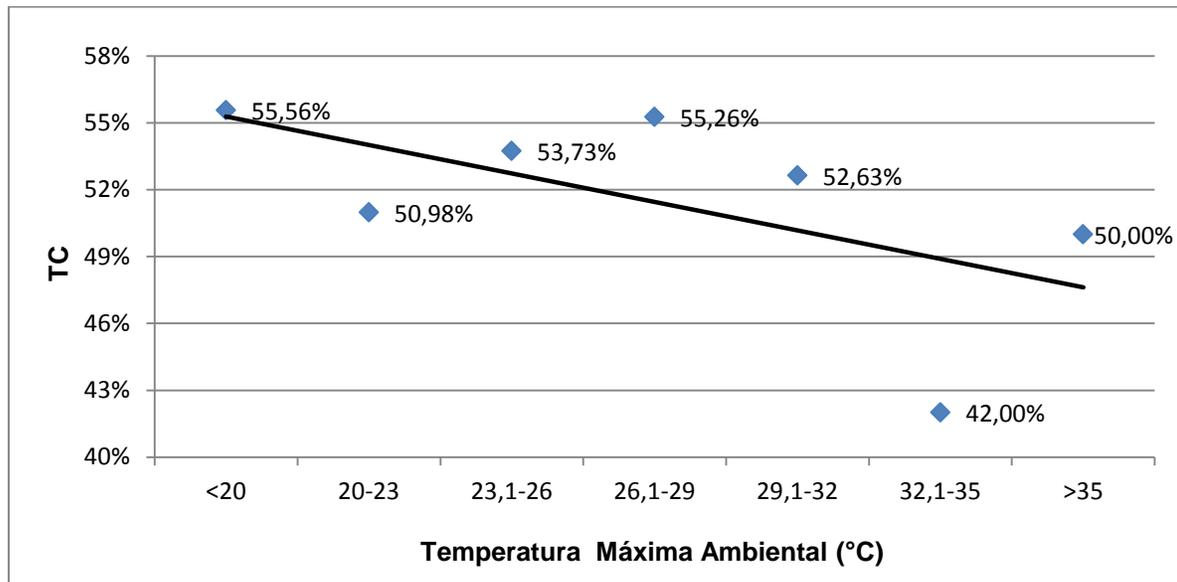


Figura 10. Tasas de concepción para 7 rangos de temperatura máxima ambiental para el día dda IA en vaquillas

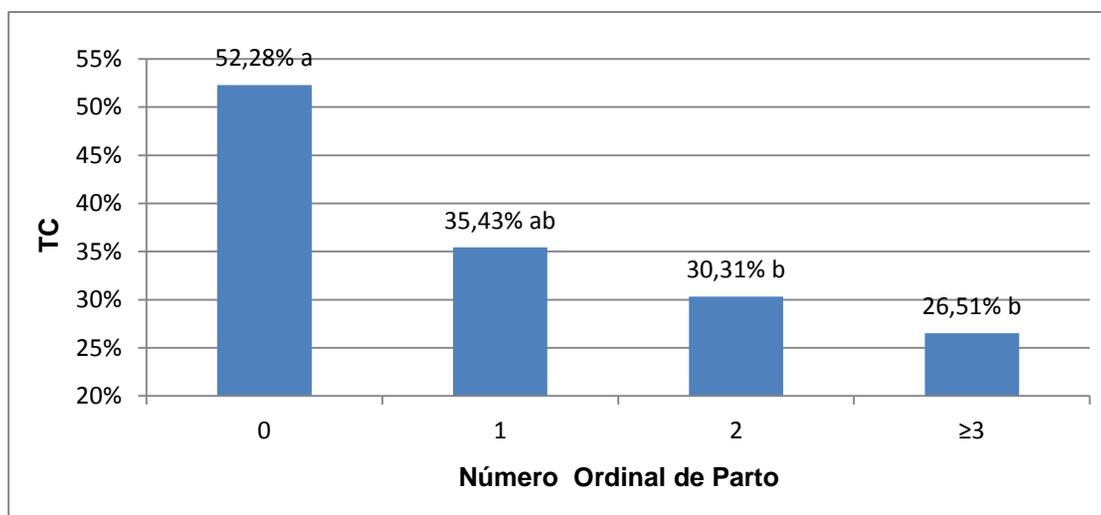


Al igual que lo evidenciado en análisis previos (Figura 8 y Cuadro 6), la comparación ambos gráficos (Figura 9 y 10), muestra que a un mismo rango de temperatura máxima ambiental, la línea de tendencia de la TC para vacas se ubica en un nivel más bajo que en vaquillas.

7.3.5. EFECTO DEL NÚMERO ORDINAL DE PARTO EN LA TASA DE CONCEPCIÓN DE VACAS Y VAQUILLAS

En la Figura 11 se muestra la relación entre el NOP y la TC. Se observa una disminución de la TC a medida que aumenta el número ordinal de parto. La mayor fertilidad se presenta en vaquillas, y disminuye progresivamente en los grupos de mayor edad.

Figura 11. Tasas de concepción según número ordinal de parto en vaquillas (0) y vacas de 1, 2 y ≥ 3 partos



a,b: letras distintas, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Las vacas de 3 partos o más tuvieron 67,7% menos probabilidades de quedar preñadas que las vaquillas ($p < 0,0001$). De la misma forma las vacas de 2 partos tuvieron un 60,8% menos probabilidades de concebir en comparación con las vaquillas ($p = 0,006$). En las vacas de primer parto, a pesar de que tuvieron un 51,5% menos probabilidades de quedar preñadas que las vaquillas, esta diferencia no fue significativa ($p = 0,813$) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto del número ordinal de parto (NOP) medida como relación de riesgo de preñez (odds ratio) comparado con un nivel base NOP=0 para vacas de 1, 2 y 3 partos o más

Efecto	Odds Ratio	Intervalo de confianza 95%	p
NOP 1 v/s 0	0,489	0,372 - 0,643	0,813
NOP 2 v/s 0	0,392	0,296 - 0,518	0,006
NOP ≥ 3 v/s 0	0,323	0,251 - 0,416	<0,0001

8- DISCUSIÓN

La fertilidad, evaluada en este estudio como tasa de concepción, se observó fuertemente afectada a causa de la temperatura máxima ambiental. En la zona geográfica en que se realizó el trabajo, existe un predominio del clima de tipo templado cálido. La primavera y el verano se caracterizaron por una baja humedad relativa, con variaciones térmicas de hasta 20°C y la temperatura media alcanza los 25°C (Dirección Meteorológica de Chile, 2009). De acuerdo a los datos obtenidos en el estudio, la temperatura máxima ambiental promedio de los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero sobrepasó la temperatura media de esta zona (25° C), límite superior de la ZTN de bovino (Berman *et al.*, 1985).

El análisis realizado (Figura 3), durante los 10 días previos a la IA, en el día de la IA y los 10 días posteriores a la IA, demostró generalmente una relación significativa, entre la temperatura máxima ambiental y la fertilidad de las vacas. Como se observa en la Figura 3, la mayor disminución de la probabilidad de preñez se produjo por efecto de la temperatura máxima ambiental en el día de la IA, seguido de los días 7, 1 y 2 posteriores a la IA y el día 3 antes de la IA. En vaquillas, no se encontró un efecto significativo de la temperatura máxima ambiental sobre la tasa de concepción (Figura 4).

Estos datos concuerdan con lo observado por otros estudios como el de Ravagnolo y Misztal (2002) quienes concluyen que en vacas los mayores efectos de las altas temperaturas ambientales sobre la fertilidad se producen en el día de la IA, y entre los 5 días anteriores y 5 días posteriores a la IA. Wilson *et al.* (1998b) observaron que el efecto de la temperatura ambiental sobre la fertilidad era mayor en vacas que en vaquillas, lo cual concordaría con los resultados obtenidos de este estudio.

En la Figura 5 puede observarse como disminuye la probabilidad de preñez a medida que aumenta la temperatura máxima ambiental del día de la IA. A partir de los 25°C, la pendiente de la curva se hace más pronunciada, denotando una drástica disminución de la probabilidad de fertilización a partir de dicha temperatura. Este comportamiento de la fertilidad en relación a la temperatura máxima ambiental, coincide con lo informado en la mayoría de los estudios internacionales (Collier *et al.*, 2006).

En vaquillas esta situación fue diferente, dado que la figura mostró que a medida que la temperatura máxima ambiental se acercó alrededor de los 25°C, la probabilidad de preñez aumentó y a partir de dicho valor, comenzó a disminuir (Figura 6), descenso que se hizo más evidente cuando la temperatura máxima ambiental superó los 30 °C. Este tipo de relación entre la temperatura máxima ambiental y la fertilidad, puede ser por efecto de la amplitud térmica de la zona de estudio (Dirección Meteorológica de Chile, 2009), puesto que a temperaturas máximas ambientales menores que 20-25 °C, es posible que la temperatura mínima ambiental haya sido del orden de 0-5 °C.

Dado que las vaquillas aun son animales jóvenes, no regularían su temperatura corporal de la misma forma que los animales adultos a temperaturas por debajo la ZTN. Por lo tanto, la disminución de la probabilidad de fertilización a bajas temperaturas ambientales, puede ser un efecto del frío sobre los órganos periféricos. La disminución de la irrigación periférica para mantener la temperatura corporal del centro del animal, influiría también en aquellos órganos internos más periféricos, entre ellos los ovarios. Al aumentar la temperatura ambiental, este efecto sería menor y la fertilidad mejoraría, pero hasta cierto punto, dado que de la misma forma que la temperatura ambiental afecta la fertilidad de las vacas de 1 parto o más, la probabilidad de preñez disminuye a partir de los 25°C en vaquillas, pero este efecto es menos aparente que el observado, y no resultó estadísticamente significativo. En cambio, las vacas sometidas a temperaturas ambientales bajo la ZTN, termoregularían apropiadamente, por lo que no afectaría la fertilidad, dado que son animales plenamente desarrollados (Wilson *et al.*, 1998a).

También, en el presente estudio, se observó que en las vacas la probabilidad de preñez disminuye por efecto de la temperatura máxima ambiental, desde los 10 días antes de la IA hasta el día previo a la IA (Figura 3). En este periodo, la vaca se encuentra en plena fase luteal de su ciclo estral y el cuerpo luteo (CL) está produciendo progesterona (P4), la cual prepara el ambiente uterino para un adecuado desarrollo embrionario temprano y la eventual implantación del concepto. Antes de que el CL entre en regresión y termine la fase luteal del ciclo estral (día -4 del presente estudio), los niveles de P4 se encuentran altos y pueden ser afectados a causa del EC (Senger, 1999). Los niveles de P4 disminuyen a causa del alza de la

temperatura ambiental (Wolfenson *et al.*, 1995), pero esto no está del todo claro, porque algunos autores sostienen que las concentraciones de P4 no varían (Roth *et al.*, 2000), mientras que otros señalan que la concentración de esta hormona aumenta (Trout *et al.*, 1998).

A pesar de esta variabilidad en los resultados, la eventual disminución en P4, puede ocasionar fallas en el desarrollo folicular, llevando a la producción de ovocitos anormales, fallas en la implantación y pérdidas embrionarias tempranas. Una explicación por la cual la probabilidad de concepción tiende a ser más alta entre los días -10 y -4 que en los días -3 al -1 (Figura 3), sería por el uso de implantes intravaginales de P4, los cuales mantendrían los niveles de esta hormona dentro de un rango aceptable hasta el inicio de la fase folicular del ciclo.

En los días cercanos a la IA, el efecto del EC sería más evidente, ya que la probabilidad de preñez expresa una mayor disminución que la observada en días más alejados (Figura 3). En este periodo, entre los días -3 y el día de la IA, la vaca se encuentra en la fase folicular de su ciclo estral. Esta fase se inicia desde la regresión del CL hasta la ovulación, momento en que los folículos pre-ovulatorio producen una gran cantidad de estradiol (E2). En este escenario, la P4 se encuentra en franco descenso, producto de la lisis del CL y E2 va en aumento hasta el momento del estro y la ovulación. Los folículos son reclutados para la ovulación y el tracto reproductor de la vaca se prepara para el celo, donde la vaca cambia de comportamiento en respuesta al alza de la concentración de E2 (Senger, 1999). Por lo tanto, este período previo cercano a la IA, fue más crítico que el anterior, lo que sería explicado porque la concentración plasmática de E2 disminuye a causa del EC (Wolfenson *et al.*, 1995), y este efecto es consistente en respuesta a la disminución en la amplitud y la frecuencia los pulsos de LH (Wise *et al.*, 1988). Por lo tanto, el EC puede retrasar la selección de folículos y alargar la onda folicular, lo cual tendrá efectos adversos en la calidad de los ovocitos, y en la producción de E2. Es así, que durante este periodo, menos folículos podrían ser reclutados o el ovocito resultante de la ovulación sería pobre de calidad y no podría ser fecundado. Estos eventos son importantes y explicarían la drástica disminución de la probabilidad de concepción entre el día -3 y a la IA, en el presente estudio.

El día de la IA, resultó ser el día en que la temperatura ambiental elevada produjo mayores efectos negativos sobre la probabilidad de concepción (Figura 3). Este día coincide con el estro y puede ser una causa importante de la disminución en la tasa de concepción observada en este estudio. El EC reduce la duración e intensidad del estro (Gangwar *et al.*, 1965), efecto que sería hormonal y, por otro lado, obedecería a una disminución en la actividad física del animal, en respuesta al alza de la temperatura ambiental. Por lo tanto, al momento de la IA, los inseminadores se enfrentan a una mayor cantidad de estros silentes y cortos en duración.

En los días posteriores a la IA, el espermatozoide debe traspasar el cervix, ser transportado por el oviducto, capacitarse, unirse al ovocito, sufrir la reacción acrosomal y finalmente penetrar la zona pelúcida para penetrar la membrana plasmática del ovocito. A pesar de que el espermatozoide se encuentre finalmente con el ovocito, la calidad de éste influye enormemente en la fertilidad posterior. Fecundado el ovocito, éste debe desarrollarse dentro de los confines de la zona pelúcida, y desarrollado el blastocito, salir de ella, implantarse y formar las membranas extraembrionarias; finalmente, debe haber un reconocimiento maternal de la preñez. En el periodo comprendido entre el día de la IA y los 3 días posteriores, el ovocito fecundado está viajando por el oviducto hacia el útero, desarrollándose de un estado de 2 células hasta el estado de 8 células al día 3 posterior a la IA. Durante los siguientes estados de desarrollo, la mórula ya ha llegado al útero, hasta que el blastocito emerge de la zona pelúcida alrededor del día 10 correspondiente al presente estudio (Senger, 1999). Antes de la implantación el EC afecta el desarrollo embrionario, pero este efecto es menor en la medida que el embrión se va desarrollando, (Ealy *et al.*, 1993). El microambiente formado por el oviducto y especialmente por el útero es clave para el desarrollo embrionario temprano. El ambiente intrauterino cambia a causa del EC, disminuye la cantidad de sangre que llega al útero y aumenta la temperatura intrauterina (Gwazdauskas *et al.*, 1975).

El efecto de la temperatura ambiental sobre la fertilidad, se podría deber más a una acumulación calórica que a un efecto agudo en un día determinado, dado que las temperaturas de un periodo están muy correlacionadas entre si. El EC sobre el animal produce un efecto de aclimatación, que ocurre en dos fases (aguda y crónica) y el tiempo para completar ambas fases puede ser de semanas más que de días (Collier *et al.*, 2006). El efecto del calor de un día

determinado o el promedio semanal son adecuados para describir el efecto del EC en la evaluación de la fertilidad de vacas lactantes (Morton *et al.*, 2007).

Se aisló el efecto de la temperatura ambiental del día de la IA y resultó que al agregar las variables productivas al modelo estadístico (número de lactancia, producción de leche y días en leche), la disminución de la fertilidad pasó de un 3,4% ($p=0,0004$) a un 3,7% ($p=0,0003$). Esto está de acuerdo con variados estudios que reportan que a medida que el nivel de producción lechera aumenta, la tasa de concepción disminuye (Huang *et al.*, 2008), el intervalo parto-preñez aumenta (Meléndez y Pinedo, 2007; Marti y Funk, 1994), aumenta el intervalo entre partos (Ojango y Pollot, 2001), aumentan los servicios por concepción (Dematawewa y Berger, 1998) y disminuye de tasa de preñez (Oseni *et al.*, 2004). Esto se debería principalmente a alteraciones en la producción de hormonas y su metabolismo (West, 2003).

Washburn *et al.* (2002) afirman que a medida que el nivel de producción de leche aumenta, los efectos negativos del EC se vuelven más agudos y su efecto residual continúa por más tiempo. Mientras el nivel de producción lechera aumenta, la depresión en la fertilidad sería más grande en magnitud y continuaría por más tiempo (Al-Katanani *et al.*, 1999).

El análisis de la TC, basados en las temperaturas máxima ambientales de los 3 días previos y los 3 días posteriores a la IA (Cuadros 4 y 5), mostró resultados similares a los obtenidos al estudiar la relaciones en la temperatura máxima ambiental del día de la IA y la TC (Cuadro 3; Figura 7), lo cual sería compatible con el análisis realizado para el periodo comprendido entre los 10 días previos a la IA, y los 10 posteriores a la IA (Figuras 3 y 4). Los resultados de dicho análisis, pueden resumirse en un efecto negativo y estadísticamente significativo de la temperatura máxima ambiental sobre la TC, durante los 3 días previos y posteriores a la IA, solamente en vacas. Al igual que para el día de la IA, el NOP fue el único factor incluido en el modelo que afectó significativamente la TC. En general, los resultados obtenidos en el presente estudio, coinciden con Morton *et al.* (2007) que observaron que la TC se vería reducida cuando las vacas se ven expuesta a periodos de alta temperatura ambiental entre los 5 días antes del servicio hasta los 6 días siguientes. Es posible, de acuerdo a los resultados de

este estudio, que los días más críticos relacionados a la disminución de la fertilidad, correspondan al período comprendido entre los 3 días antes y después de la IA. Cavestany *et al.* (1985) reportaron que cuando la temperatura ambiental, disminuye en cualquier magnitud, entre 1 a 3 días antes y después de la IA, se asocia a aumento de la tasa de preñez, cuando la temperatura del día de la IA estuvo sobre los 27 °C.

Por si solo, cada periodo pre y post IA, afectó significativamente la fertilidad, aunque el mayor efecto se registró para la variable promedio de temperaturas máximas ambientales de los 3 días previos a la IA, corregida por factores productivos. Esto es compatible con los resultados obtenidos por García-Ispuerto *et al.* (2007) que observaron que la tasa de concepción disminuyó significativamente en el período comprendido entre los 3 días antes de la IA y el día de la IA.

Como se señaló anteriormente, el único factor que afectó significativamente la TC, además de la temperatura máxima ambiental, fue el NOP de las vacas (Cuadros 3 y 5). Los animales de 3 o más partos mostraron una TC significativamente menor que las de primer parto, pero no se observaron diferencias significativas para la comparación entre vacas de 1 parto y de 2 o más partos.

El efecto del NOP sobre la fertilidad, evidenciado en este estudio, coincide con lo informado por Chebel *et al.* (2004), quienes compararon vacas primíparas con multíparas, resultando estas últimas menos fértiles que las primeras. Ello puede explicar porque la producción de leche de las vacas multíparas es mayor que la de las primíparas y poseen una alta tasa metabólica que lleva a hipertermia en los meses de mayor temperatura del año, afectando negativamente la fertilidad (Wilson *et al.*, 1998b), lo que se habría evidenciado al comparar las TC de vacas de 3 o más partos, con la de 1 parto, pero no en la de 2 partos (Cuadro 5). Además, tienen una mayor demanda de nutrientes para la síntesis de leche, afectando su estatus energético y por lo que son más propensas a enfermedades que deprimen la fertilidad posterior (Walsh *et al.*, 2007).

En este estudio no se demostró un efecto negativo de la temperatura máxima ambiental sobre la fertilidad de las vaquillas, lo que podría reflejar una mayor tolerancia al EC en comparación a animales de 1 o más partos y/o deberse en parte al bajo número de observaciones disponibles para esta categoría de animales en relación a las vacas, por lo que una cantidad muy reducida de vaquillas habrían sido expuestas a temperaturas elevadas. De hecho, los resultados presentados en el Cuadro 7, muestran que estos animales exhibieron una mayor fertilidad que las vacas, detectándose diferencias significativas en la TC entre vaquillas, y vacas de 2 o más partos.

Según Badinga *et al.* (1985), en vaquillas, la tasa de concepción empieza a disminuir bruscamente a partir de los 35°C de temperatura ambiental y al revisar los datos analizados en el presente estudio, pudo comprobarse que, solo el 3,6% de las vaquillas soportaron temperaturas máximas ambientales sobre ese valor el día de la IA, lo que podría constituir una explicación de la ausencia de relación entre la temperatura máxima ambiental y la TC en vaquillas. Adicionalmente, se podría tenerse presente que los efectos del EC sobre la fertilidad serían menores en las vaquillas que en las vacas, dado que las vaquillas tienen una menor tasa metabólica y producción interna de calor, por ser animales no productores de leche (Wilson *et al.*, 1998b).

8.1 IMPLICANCIAS

El impacto que tienen las altas temperatura ambientales sobre la fertilidad del ganado es enorme, por tanto el uso de cualquier método para aminorar el efecto negativo del EC, se justifica económicamente, aunque en un principio requieran de una alta inversión. Solo en el estado de Florida (USA), más del 50% de las horas del día en un año están por sobre la temperatura crítica para el inicio del EC (St-Pierre *et al.*, 2003). En la zona donde se realizó el estudio, los animales pueden enfrentarse en mayor o menor grado a temperaturas por sobre los 25°C, nivel al cual se inician los efectos más significativos del EC sobre el ganado bovino productor de leche (Berman *et al.*, 1985).

Si bien hay suficiente calor para causar EC durante los meses de mayor temperatura ambiental del año, hay conciencia de que el calentamiento global acentuará aun más este problema (West, 2003). En los últimos 60 años el calentamiento global se ha ido incrementando. En un informe reciente del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (“Internacional Panel on Climate Change”, IPCC), se concluye que es muy probable que el clima cambie, aumentando las temperaturas promedio a una escala local, regional y mundial (Pachauri y Reisinger, 2007). Todos estos cambios han sido resultado de la actividad antropogénica, donde se han incrementado los niveles atmosféricos de CO₂ y alterado las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo (Vitousek, 1994). Ante este escenario es probable que el promedio global de la temperatura superficial esté proyectada a incrementar en 1,4 a 5,8°C cubriendo todos los escenarios sobre un periodo desde 1990 al 2100 (Dirección Meteorológica de Chile, 2009). Prácticamente no hay estudios que entreguen datos o relaciones cuantificables entre factores climáticos, producción y economía de los sistemas agrícolas en Chile, que puedan orientar a seguir una estrategia para enfrentar el cambio climático y el calentamiento global (González y Velasco, 2008).

El establecimiento y la mantención de la preñez se dificultan en las vacas expuestas ubicadas en zonas de altas temperaturas ambientales, debido a una reducción en la tasa de detección del estro y una reducción en el número de animales inseminados que mantienen esa preñez (Hansen y Arechiga, 1999). En el presente estudio se pudo observar que a medida que aumenta la temperatura ambiental del día de la IA o del los 3 días previos o posteriores a la IA, se afecta negativamente la fertilidad de las vacas en lactancia. Solo en USA, se pierden anualmente 897 millones de dólares por efecto del EC en vacas de lecherías (St-Pierre *et al.*, 2003). De Vries (2006) estimó el costo de la preñez en vacas lecheras y predice que el valor promedio de una nueva preñez alcanza los 278 dólares, por el contrario el valor promedio debido a la pérdida de la gestación alcanzó los 555 dólares y este aumentó a medida que la gestación fue más avanzada.

Dado el alto costo que significa perder una gestación, en aquellos países donde el efecto del EC es preponderante durante el año, se han implementado medidas para paliar los efectos de la alta temperatura ambiental sobre el ganado bovino. En aquellas zonas donde estas medidas se

han implementado, se ha mejorado el confort de las vacas lecheras, lo que ha llevado a un aumento de la producción de leche y eficiencia reproductiva, además de la reducción de los costos relacionados a la pérdida de esa preñez (Collier *et al.*, 2006).

Son variadas las herramientas con que cuentan los productores para disminuir el impacto del EC sobre la eficiencia del ganado lechero. Entre las medidas esenciales se incluyen el uso de techos, cortinas abatibles e inclusive árboles para la protección solar de los animales. También se utilizan ventiladores y rociadores para disminuir la temperatura ambiental en los corrales, patios de espera o de salida de la sala de ordeña y, últimamente, sistemas de producción de niebla a alta presión para evitar las pérdidas evaporativas del ganado, sobretodo en las zonas áridas del mundo. El uso de aire acondicionado o de ventilación zonal del animal, han sido probadas con resultados poco satisfactorios desde el punto de vista económico (Collier *et al.*, 2006).

Por otra parte, la utilización de tecnologías como la sincronización de celos, inseminación a tiempo fijo y la transferencia de embriones, pueden ser herramientas beneficiosas para mejorar la fertilidad del ganado sometido a condiciones ambientales extremas (Jordan, 2003).

St-Pierre *et al.* (2003), determinaron los costos de los sistemas de mejoramiento ambiental y estimaron que cualquiera de estos sistemas se justifica económicamente; aunque su uso estaría restringido solamente a las vacas en lactancias, dado que en vaquillas no se justificaría económicamente. La inversión estimada por unidad de enfriamiento (para 50 m² de corral o 3.800 kg de peso vivo), para sistemas moderados (ventiladores) y altos (ventiladores y rociadores) fue de 250 y 310 dólares, respectivamente. Para sistemas intensos de enfriamiento, que involucran el uso de niebla a alta presión (enfriamiento evaporativo), el costo por unidad de enfriamiento para 120 m² de corral o 8.865 kg de peso vivo, fue de 6.000 dólares.

Faltan más estudios que investiguen el potencial uso de herramientas que permitan disminuir los efectos negativos que tienen las altas temperaturas ambientales sobre la fertilidad de las vacas de lechería. En algunas zonas calurosas de estos países, estas tecnologías han demostrado ser económicamente rentables, en consideración a las pérdidas evitadas a causa de

las fallas reproductivas en los meses de mayores temperaturas del año. La producción lechera en Chile, a pesar de no estar en una región tropical o sub-tropical, igualmente se vería afectada por períodos donde las temperaturas ambientales sobrepasan el límite fisiológico de la especie bovina. Quizás el uso que se les da a estas tecnologías no sea el mismo que se realiza en países más industrializados como EE.UU. Sin embargo, si se proporciona un mínimo de confort y protección de los animales frente al EC, sobre todo en verano, se estaría realizando una inversión que significará un aumento en la disponibilidad y en la producción de leche, con los respectivos beneficios económicos.

9- CONCLUSIONES

La probabilidad de concepción, medida como razón de riesgo de preñez, disminuye a medida que la temperatura ambiental aumenta, efecto que fue estadísticamente significativo en las vacas pero no en las vaquillas.

El incremento de la temperatura máxima ambiental en los días previos a la IA, en el día de la IA y durante los días posteriores a la IA, se asocia a una disminución significativa de la probabilidad de concepción en las vacas.

De los días considerados en este estudio, la temperatura máxima ambiental del día de la IA, fue la que mostró un mayor efecto sobre la probabilidad de preñez de las vacas.

En vaquillas, no se observó un efecto significativo de la temperatura máxima ambiental sobre la fertilidad, determinando adicionalmente una tasa de concepción significativamente mayor en comparación a vacas de 2 o más partos.

Independientemente de la temperatura máxima ambiental, la probabilidad de concepción disminuyó a medida que se incrementó el número ordinal de parto, estableciéndose diferencias significativas entre las tasas de concepción de animales de 1 parto y 3 partos o más.

La producción de leche y los días de lactancia al momento de la inseminación, no tuvieron un efecto significativo sobre la probabilidad de concepción.

10- BIBLIOGRAFÍA

AL-KATANANI, Y.; WEBB, D.; HANSEN, P. 1999. Factors affecting seasonal variation in 90-day nonreturn rate to first service in lactating Holstein cows in a hot climate. *J. Dairy Sci.* 82:2611-2616.

AL-KATANANI, Y.; PAULA-LOPES, F.; HANSEN, P. 2002. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85:390-396.

ARIAS, R.; MADER, T.; ESCOBAR, P. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.* 40:7-22.

ARMSTRONG, D. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044-2050.

ARMSTRONG, D.; HILLMAN, P.; MEYER, M.; SMITH, J.; STOKES, S.; HARNER, J. 1999. Heat stress management in freestall barns in the western US. Proceedings from the Western Dairy Management Conference. Las Vegas, NV. April 7-10. 232 p.

BADINGA, L.; COLLIER, R.; THATCHER, W.; WILCOX, C. 1985. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. *J. Dairy Sci.* 68: 78-85.

BEATTY, D.; BARNES, A.; TAYLOR, E.; PETHICK, D.; MCCARTHY, M.; MALONEY, S. 2006. Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged, continuous heat and humidity. *J. Anim. Sci.* 84:972-985.

BERMAN, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.; MARNEN, M.; HERZ, Z.; WOLFENSEN, D.; ARIELI, A.; GRABER, Y. 1985. Upper critical temperature and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68:1488-1495.

BLACKSHAW, J.; BLACKSHAW, A. 1994. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 34:285-295.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. 2007. Temperature-humidity indices as indicator of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947-1956.

BROWN-BRANDL, T.; EIGENBER, R.; HAHN, G.; NIENABER, J.; MADER, T.; SPIERS, D.; PARKHURST, A. 2005. Analyses of thermoregulatory responses of feeder cattle exposed to simulated heat waves. *Int. J. Biometeorol.* 49:285-296.

CAMARGO, L.; VIANA, J.; RAMOS, A.; SERAPIAˆO, R.; FERREIRA, W.; GUIMARAˆES, M.; DO VALE FILHO, V. 2007. Developmental competence and expression of the hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* dairy cows in a tropical environment. *Theriogenology* 68:626-632.

CAVESTANY, D.; EL WISHY, A.; FOOTE, R. 1985. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 68:1471–1478.

CHEBEL, R.; SANTOS, J.; REYNOLDS, J.; CERRI, R.; JUCHEM, S.; OVERTON, M. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 84:239–255.

COLLIER, R.; DAHL, G.; VAN BAALE, M. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244-1253.

DEMATAWEWA, C.; BERGER, P. 1998. Genetic and phenotypic parameters for 365-day yield, fertility, and survival in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 81:2700-2790.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - a review. *Theriogenology* 60:1139-1151.

DE VRIES. 2006. Economic value of pregnancy in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:3876-3885.

DIRECCIÓN METEOROLÓGICA DE CHILE. DGAC. 2009. Climas de Chile. Región de Valparaíso. Disponible en <http://www.meteochile.cl/>.

DIKMEN, S.; ALAVA, E.; PONTES, E.; FEAR, J.; DIKMEN, Y.; OLSON, T.; HANSEN, P. 2008. Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. *J. Dairy Sci.* 91:3395-3402.

EALY, A.; DROST, M.; ROBINSON O.; BRITT, J. 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse affects of maternal heat stress in cows. *J. Dairy Sci.* 76:2899-2905.

FETROW, J.; McCLARY, D.; HARMAN, R.; BUTCHER, K.; WEAVER, L.; STUDER, E.; EHRLICH, J.; ETHERINGTON, W.; GUTERBOCK, W.; KLINGBORG, K.; RENEAU, J.; WILLIAMSON, N. 1990. Calculating selected reproductive indices: recommendations of the American Association of Bovine Practitioners. *J. Dairy Sci.* 73: 78-90.

GANGWAR, P.; BRANTON, C.; EVANS, D. 1965. Reproductive and physiological response of Holstein heifers to controlled and natural climatic conditions. *J. Dairy Sci.* 48:222-227.

GARCÍA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F.; BECH-SABAT, G.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J.; NOGAREDA, C.; DE RENSIS, F.; LÓPEZ-BEJAR, M. 2007. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology* 67:1379-1385.

GAUGHAN, J.; MADER, T.; HOLT, S.; LISLE, A. 2008. A new heat load index for feedlot cattle. *J. Anim. Sci* 86: 226-234.

GONZÁLEZ, J.; VELASCO, R. 2008 Evaluation of the impact of climatic change on the economic value of land in agricultural systems in Chile. *Chilean J. Agric. Res.* 68:56-68.

GWAZDAUSKAS, F. 1985. Effects of climate on reproduction in cattle. *J. Dairy Sci.* 68:1568-1578.

GWAZDAUSKAS, F.; WILCOX, C.; THATCHER, W. 1975. Environmental and management factors affecting conception rate in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 55:88-92

HALL, J.; BRANTON, C.; STONE, E. 1959. Estrus, estrous cycles, ovulation time, time of service, and fertility of dairy cattle in Louisiana. *J. Dairy Sci.* 42:1086-1094.

HANSEN, P. 2007. Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology* 68S:S242-S249.

HANSEN, P.; ARÉCHIGA, C. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77:36-50.

HANSEN, P.; DROST, M.; RIVERA, R.; PAULA-LOPES, F.; AL-KATANANI, Y.; KRININGER, C.; CHASE, C. 2001. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology* 55:91-103.

HUANG, C.; TSURUTA, S.; BERTRAND, J. K.; MISZTAL, I.; LAWLOR, T. J.; CLAY, J. S. 2008. Environmental effects on conception rates of Holsteins in New York and Georgia. *J. Dairy Sci.* 91:818-825.

IGONO, M.; BJOTVEDT, G.; SANFOR-CRANE, H. 1992. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. *Int. J. Biometeorol.* 36:77-897.

JAHN, E.; ARREDONDO, S.; BONILLA, W.; DEL POSO, A. 2002. Efecto de la temperatura y la suplementación energética sobre la producción de leche en vacas lecheras a pastoreo. *Agric. Tec.* 62:245-254.

JORDAN, E. 2003. Effects of heat stress on reproduction. *J. Dairy Sci.* 86:E104-E114.

MANSILLA, V. 1996. Estudio preliminar de algunas variables climáticas sobre la eficiencia reproductiva en vacas Holstein Friesian en la provincia de Ñuble. Memoria de Título Médico Veterinario. Universidad de Concepción. Chile. 60 p.

MARTI, C.; FUNK, D. 1994. Relationship between production and days open at different levels of herd production. *J. Dairy Sci.* 77:1882-1890.

MELÉNDEZ, P.; DUCHENS, M.; PEREZ, A.; MORAGA, L.; ARCHBALD, L. 2008. Characterization of estrus detection, conception and pregnancy risk of Holstein cattle from the central area of Chile. *Theriogenology* 70:631-637

MELÉNDEZ, P.; PINEDO, P. 2007. The association between reproductive performance and milk yield in Chilean Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 90:184-192.

MORTON, J.; TRANTER, W.; MAYER, D.; JONSSON, N. 2007. Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: critical periods of exposure. *J. Dairy Sci.* 90:2271-2276.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1981. Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals. National Academy Press. Washington, D.C. 168 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: 7th revised edition. National Academy Press. Washington, D.C. 408 p.

NEBEL, R.; JOBST, S.; DRANSFIELD, S.; PANDOLFI, S.; BAILEY, T. 1997. Use of radio frequency data communication system, Heatwatch®, to describe behavioral estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* (abstract) 80:179.

OJANGO, J.; POLLOTT, G. 2001. Genetics of milk yield and fertility traits in Holstein-Friesian cattle on large-scale Kenyan farms. *J. Anim. Sci* 79:1742-1750.

OSANI, S., TSURUTA, S. MISZTAL, I. REKAYA, R. 2004. Genetic parameters for days open and pregnancy rates in US Holstein using different editing criteria. *J. Dairy Sci.* 87:4327-4333.

PACHAURI, R.; REISINGER, A. 2007. Cambio climático 2007: informe de síntesis. Contribución de los grupos de trabajo I, II y III al cuarto informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. IPCC, Ginebra, Suiza. 104 p.

PENNINGTON, J.; ALBRIGHT, J.; DIEKMAN, M.; CALLAHAN, C. 1985. Sexual activity of Holstein cows: seasonal effects. *J. Dairy Sci.* 68:3023-3030.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. 2002. Effect of heat stress on nonreturn rate in Holsteins: fixed-model analyses. *J. Dairy Sci.* 85:3101-3106.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I.; HOOGENBOOM, G. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J. Dairy Sci.* 83:2120-2125.

ROMAN-PONCE, H.; THATCHER, W.; BUFFINGTON, D.; WILCOX, C.; VAN HORN, H. 1977. Physiological and production responses of dairy cattle to a shade structure in a subtropical environment. *J. Dairy Sci.* 60:424-430.

ROTH, Z.; MEIDAN, R.; BRAW-TAL, R.; WOLFENSON, D. 2000. Immediate and delayed effect of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J. Reprod Fertil.* 120:83-90.

ROTH, Z.; MEIDAN, R.; SHAHAM-ALBALANCY, A.; BRAW-TAL, R.; WOLFENSON, D. 2001. Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction* 121:745–751.

SENGER, P. 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 1st revised edition. Current Conception Inc. Washington, D.C. 281 p.

ST-PIERRE, N.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, G. 2003. Economic losses from heat stress by US livestock industries. *J. Dairy Sci.* 86:E52-E77.

THOMPSON, J.; MAGEE, D.; TOMASZEWSKI, M.; WILKS, D.; FOURDRAINE, R. 1996. Management of summer infertility in Texas Holstein dairy cattle. *Theriogenology* 46:547–558.

TORRES-JÚNIOR, J.; PIRES, M.; FERREIRA, W.; VIANA, J.; CAMARGO, L.; RAMOS, A.; FOLHADELLA, I.; POLISSENI, J.; DE FREITAS, C.; CLEMENTE, C.; DE SÁ FILHO, M.; PAULA-LOPES, F.; BARUSELLI, P. 2008. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 69:155-166.

TROUT, J.; MCDOWELL, L.; HANSEN, P. 1998. Characteristic of the oestrus cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to stress. *J. Dairy Sci.* 81:1244-1250

VAN BAALE, M.; SMITH, J.; BROUK, M.; BAUMGARD, L. 2005. Evaluate the efficacy of your cooling system through core body temperature. *Hoards Dairyman: Western Dairy News.* Aug 5:W147-W148.

VITOUSEK, P. 1994. Beyond global warming: ecology and global change. *Ecology* 75:1861-1876.

WALSH, R.; WALTON, J.; KELTON, D.; LEBLANC, S.; LESLIE, K.; DUFFIELD, T. 2007. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2788-2796.

WASHBURN, S.; SILVIA, W.; BROWN, C.; McDANIEL, B.; McALLISTER, A. 2002. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J. Dairy Sci.* 85:244-251.

WEST, J. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.

WILSON, S.; MARION, R.; SPAIN, J.; SPIERS, D.; KEISLER, D.; LUCY, M. 1998a. Effects of controlled heat stress on ovarian function on dairy cattle. 1. Lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:2124-2131.

WILSON, S.; KIRBY, C.; KOENIGSFELD, A.; KEISLER, D.; LUCY, M. 1998b. Effects of controlled heat stress on ovarian function on dairy cattle. 2. Heifers. *J. Dairy Sci.* 81:2132-2138.

WISE, M.; ARMSTRONG, D.; HUBER, J.; HUNTER, R.; WIERSMA, F. 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J. Dairy Sci.* 71:2480-2485

WOLFENSON, D.; THATCHER, W.; BADINGA, L.; SAVIO, J.; MEIDAN, R.; LEW, B.; BRAW-TAL, R.; BERMAN, A. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52:1106-1113.

YOUNAS, M.; FUQUAY, J.; SMITH, A.; MOORE, A. 1993. Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J. Dairy Sci.* 76:430-436.