



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DEL ESTRÉS CALÓRICO EN LA CALIDAD DE LOS
EMBRIONES DE OVEJAS PELIBUEY Y SUFFOLK**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

ABIGAIL TABAREZ ROJAS

TUTOR:

DR. ANTONIO I. PORRAS ALMERAYA

COMITÉ TUTORAL:

**DR. JOEL HERNÁNDEZ CERÓN
DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ**

MÉXICO, D. F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

Abigail Tabarez Rojas

Nunca consideres el estudio como una obligación,
sino como una oportunidad para penetrar en el bello y
maravilloso mundo del saber.

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor principal, el Dr. Antonio Porras Almeraya por darme la oportunidad de ingresar a este proyecto de investigación y por la orientación que me ha brindado durante estos dos años.

A los miembros del jurado, los doctores Joel Hernández Cerón, Carlos Gutiérrez Aguilar, Jaime Gallegos Sánchez, Salvador Romo García y Antonio Porras Almeraya. Gracias por las observaciones y aportaciones al presente trabajo.

Al Dr. Javier Hernández por su valiosa asesoría para realizar el trabajo de campo.

Al Dr. Javier Valencia por su colaboración en la evaluación de los embriones.

A las doctoras Ana Rodríguez, Susana Rojas y Ana Maria Rosales por su disposición y enseñanza en el laboratorio de embriones.

A la Dra. Clara Murcia y Dr. Gerardo Perera por su ayuda en el laboratorio de endocrinología.

Al Dr. Humberto Vaquera por el apoyo brindado en la realización del análisis estadístico.

Al Dr. Efrén Estrada Paqui por su apoyo incondicional.

Al personal del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) por haberme dado la oportunidad de realizar el trabajo de campo en este centro.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación Tecnológica (PAPIIT) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Estrés.....	3
2.1.1 Tipos de estrés.....	4
2.1.2 Causas de estrés.....	5
2.2 Estrés calórico.....	6
2.2.1 Respuesta fisiológica del animal al calor.....	6
2.2.1.1 Pérdida de calor.....	7
2.2.1.2 Equilibrio del fluido.....	8
2.2.1.3 Sistema respiratorio.....	8
2.2.1.4 Sistema cardiovascular.....	8
2.2.1.5 Sistema digestivo.....	9
2.2.2 Respuesta reproductiva de la hembra al calor.....	10
2.2.2.1 Desarrollo folicular y conducta estral.....	11
2.2.2.2 Desarrollo embrionario temprano e influencia del genotipo en la termotolerancia de los embriones.....	12
2.2.2.3 Cuerpo lúteo.....	15
III.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
3.1 Ubicación del área de estudio.....	20
3.2 Animales experimentales.....	20
3.3 Manejo de los animales.....	20
3.4 Colección embrionaria.....	22
3.5 Análisis estadístico.....	22
IV.- RESULTADOS.....	23
V.- DISCUSIÓN.....	28
VI.- LITERATURA CITADA.....	33

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución de las ovejas en los grupos testigo y estrés calórico.....	20
Cuadro 2. Esquema de superovulación en ovejas Pelibuey y Suffolk.....	21
Cuadro 3. Promedio de la temperatura rectal en ovejas Pelibuey y Suffolk de los grupos estrés calórico y testigo.....	24
Cuadro 4. Promedio de la frecuencia respiratoria de ovejas Pelibuey y Suffolk de los grupos estrés calórico y testigo.....	25
Cuadro 5. Regresión prematura de cuerpo lúteo en ovejas del grupo de estrés calórico y testigo.....	25
Cuadro 6. Estructuras totales y porcentaje de ovocitos fertilizados, embriones transferibles y blastocistos en ovejas de los grupos estrés calórico y testigo.....	26
Cuadro 7. Estructuras totales y porcentaje de ovocitos fertilizados, embriones transferibles y blastocistos en ovejas Pelibuey y Suffolk en estrés calórico.....	27
Cuadro 8. Número de células promedio en etapa de mórula y en etapa de blastocisto en los grupos de estrés calórico y testigo.....	27
Cuadro 9. Número de células promedio en etapa de mórula en ovejas Pelibuey y Suffolk en el grupo de estrés calórico y testigo.....	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperatura rectal en ovejas sometidas a estrés calórico durante los días 2 al 6 posestro.....	23
Figura 2. Frecuencia respiratoria de ovejas bajo estrés calórico durante los días 2 al 6 posestro.....	24
Figura 3. Niveles plasmáticos de progesterona en ovejas con regresión prematura de cuerpo lúteo (estrés calórico) y función lútea normal (testigo).....	26

RESUMEN

Se probó si la exposición a estrés calórico reduce la proporción de embriones transferibles y de embriones que llegan a la etapa de blastocisto en ovejas y además, si éste efecto es menor en las ovejas adaptadas al clima cálido (Pelibuey) que en las no adaptadas (Suffolk). Se utilizaron 32 ovejas, las cuales tuvieron una esponja intravaginal con FGA durante 10 días. Dos días antes de retirar la esponja se superovularon con FSH. El día 2 del ciclo estral (estro=día 0), las ovejas se asignaron a dos tratamientos: 1) Estrés calórico (n=16; 8 Pelibuey y 8 Suffolk), desde el día 2 y hasta el día 6 del ciclo permanecieron durante 6 h al día en una cámara climática a una temperatura de 37.5 ± 2.5 °C y 25% de humedad relativa (HR) 2) Testigo (n=16; 8 Pelibuey y 8 Suffolk), se alojaron a temperatura ambiente durante todo el estudio (18 ± 3 °C con 50% de HR). Se registró la temperatura rectal (TR) y la frecuencia respiratoria (FR) durante el periodo de exposición. Se tomó una muestra de sangre diariamente del día 0 hasta el día 7 y se determinaron las concentraciones de progesterona. En el día 7 se colectaron los embriones mediante laparotomía media ventral. Se comparó la TR y la FR mediante análisis de varianza. El porcentaje de ovejas con regresión lútea prematura se analizó mediante una comparación de dos proporciones binomiales. La cantidad de embriones transferibles y blastocistos se analizaron mediante una comparación de medias de dos poblaciones Poisson independientes. La TR y la FR fue más alta ($P < 0.01$) en las ovejas del grupo de estrés calórico (39.1 ± 0.1 °C y 97.5 ± 6.4 resp/min) que en grupo testigo (38.7 ± 0.1 °C y 49.9 ± 4.1 resp/min). Las proporciones de embriones transferibles [55% (73/132) grupo de estrés calórico vs 69% (98/142) grupo testigo] y de embriones que llegaron a la etapa de blastocisto [34% (45/132) grupo de estrés calórico vs 42% (60/142) grupo testigo] fueron similares entre tratamientos ($P > 0.05$) y no se encontraron diferencias entre razas ($P > 0.05$). Una mayor proporción ($P < 0.05$) de las ovejas del grupo de estrés calórico (26.7%) tuvieron regresión prematura del cuerpo lúteo que en el grupo testigo (0%). Se concluye que la exposición de ovejas a un estrés calórico durante 6 horas a partir del día 2 al 6 postestro no afectó los porcentajes de embriones transferibles ni de embriones que llegaron a la etapa de blastocisto y no se encontraron diferencias entre las razas Pelibuey y Suffolk. El estrés calórico aumentó la proporción de ovejas con regresión prematura del cuerpo lúteo.

Palabras clave: Ovejas, embriones, estrés calórico, cuerpo lúteo

ABSTRACT

Here was tested if the exposition to a heat stress reduces the proportion of transferable embryos and of embryos that reached the blastocyst stage in sheep and whether this effect is smaller in adapted sheep to the warm climate (Pelibuey) than in those not adapted (Suffolk). Thirty-two sheep were used, which had a vaginal sponge with FGA during 10 days. Two days before the sponge was removed they were superovulated with FSH. The second day of the estrous cycle (estrus=day 0), the sheep were assigned to two treatments: 1) heat stress (n=16; 8 Pelibuey and 8 Suffolk), from the day 2 to day 6 of the cycle, sheep remained during 6 h per day in a climatic room (37.5 + 2.5 °C and 25% of relative humidity (HR) 2) control (n=16; 8 Pelibuey and 8 Suffolk), they were housed at ambient temperature during the whole study (18 + 3 °C with 50% of HR). The rectal temperature (TR) and respiration rate (RR) were registered. A blood sample was taken daily from day 0 to day 7 and the progesterone concentrations were determined by RIA. In day seven the embryos were recovered by mid-ventral laparotomy. The TR and the RR were analyzed by ANOVA. The percentage of sheep with premature luteal regression was analyzed by a test of a comparison of two binomial proportions. The proportions of transferable embryos and blastocysts were analyzed by a test of a comparison of two populations independent Poisson. The TR and RR were higher ($P < 0.01$) in the sheep of the heat stress group (39.1 + 0.1 °C and 97.5 + 6.4 resp/min) than in control group (38.7 + 0.1 °C and 49.9 + 4.1 resp/min). The proportions of transferable embryos [55% (73/132) heat stress group vs 69% (98/142) control group] and of embryos that reached to the blastocyst stage [34% (45/132) heat stress group vs 42% (60/142) control group] were similar between treatments ($P > 0.05$) and there were not differences between breeds ($P > 0.05$). A higher proportion ($P < 0.05$) of sheep of the heat stress group (26.7%) had premature regression of the corpus luteum than in the control group (0%). It is concluded that the exposition of sheep to a heat stress during 6 hours starting from the day 2 to the 6 after estrus did not affect the percentages of transferable embryos neither of embryos that reached the blastocyst stage and there were not differences between Pelibuey and Suffolk ewes. The heat stress increased the proportion of sheep with premature regression of the corpus luteum.

Key words: sheep, embryos, heat stress, corpus luteum

I. INTRODUCCIÓN

El estrés provocado por una temperatura ambiental elevada limita el potencial reproductivo de los animales; en bovinos se ha demostrado que reduce la expresión de la conducta estral (De Rensis y Scaramuzzi, 2003), afecta la calidad de los folículos ováricos y disminuye la capacidad esteroidogénica de las células foliculares (Badinga *et al.*, 1993; Wolfenson *et al.*, 1995; Wolfenson *et al.*, 1997; Guzeloglu *et al.*, 2001; Roth *et al.*, 2001b; Bridges *et al.*, 2005). Además, disminuye el potencial de los ovocitos para desarrollar un embrión viable (Al-katanani *et al.*, 2002; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Chebel *et al.*, 2004) y provoca anomalías en el desarrollo embrionario, lo que en conjunto reduce la fertilidad (Hansen *et al.*, 2001; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; García-Ispuerto *et al.*, 2006).

En ovejas se ha observado que las altas temperaturas aumentan la longitud del ciclo estral (Sawyer, 1979b; Naqvi *et al.*, 2004), reducen el número de hembras que manifiestan estro (Sawyer, 1979b) así como, la duración del estro (Naqvi *et al.*, 2004). Sawyer (1979a) demostró que el número de ovejas que concibieron y parieron se redujo cuando fueron sometidas a estrés calórico, siendo el periodo más crítico los tres primeros días después de la inseminación.

Ealy *et al.* (1993) determinaron que los embriones de bovino son más resistentes a los efectos adversos del estrés calórico materno conforme progresa la gestación; así, la viabilidad y desarrollo embrionario se reduce en aquellos embriones que reciben estrés calórico en el día uno comparado con los embriones de los días tres, cinco y siete de la gestación.

Por otro lado, Paula-Lopes *et al.* (2003) encontraron diferencias raciales en la resistencia de los embriones al estrés calórico, en este estudio, los embriones de la raza Brahman fueron más resistentes al estrés calórico que los embriones de las razas Holstein y Angus. Resultados similares también fueron reportados por Hernández-Cerón *et al.* (2004) quienes observaron que los embriones de las razas adaptadas a los climas tropicales (Brahman y Romosinuano) son más resistentes a las temperaturas elevadas que los embriones de razas no adaptadas (Angus). Hansen *et al.* (2004) indicaron que esto probablemente se

debe a que durante su evolución, el ganado *Bos indicus* ha adquirido genes que le confieren termotolerancia a nivel celular y fisiológico; a nivel celular la adaptación genética se puede reflejar en menor inhibición del desarrollo embrionario en ganado *Bos indicus* que en *Bos taurus*.

Es probable que en ovinos suceda algo similar, ya que las ovejas de pelo por su origen en el continente Africano se han adaptado al calor húmedo y seco (Gatenby, 1986; Valencia *et al.*, 1990), desarrollando características tales como menor número de glándulas sebáceas, mayor grosor de la epidermis, presencia de pelo, color claro de la piel e incremento en la sudoración, que en conjunto contribuyen a su habilidad para regular la temperatura corporal en condiciones de estrés calórico (Berruecos *et al.*, 1975; Gatenby, 1986). Además, las células de las ovejas Pelibuey producen mayores concentraciones de la Proteína de Choque Térmico 70 (HSP-70) que las ovejas de la raza Suffolk en condiciones de estrés térmico *in vitro* (Montero *et al.*, 2006).

Por lo tanto, resulta interesante determinar si la exposición a temperaturas ambientales altas durante el periodo posovulatorio afecta el desarrollo embrionario en la oveja y conocer si hay diferencias genéticas en la susceptibilidad a dicho efecto. En el presente estudio se probó si la exposición a un estrés calórico durante el periodo posovulatorio reduce la proporción de embriones transferibles y de embriones que llegan a la etapa de blastocisto en la oveja y si éste efecto adverso es menor en las ovejas adaptadas al clima cálido (Pelibuey) que en las no adaptadas (Suffolk).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ESTRÉS

Después de varias décadas de investigación acerca del estrés y a pesar de que el concepto es usado ampliamente, no se ha establecido una definición universalmente aceptable por que el concepto como tal es abstracto y puede tener diferentes interpretaciones (Broom y Johnson, 1993; Clark *et al.*, 1997). Los primeros reportes sobre la definición de estrés son desde 1440 en el diccionario de ingles de Oxford, en él se define como una presión física ejercida en un objeto, sin embargo, esta definición también corresponde a la tensión de una carga o de un peso (Broom y Johnson, 1993). Aproximadamente hace 150 años Claude Bernard introdujo el concepto de ambiente fisiológico interno y estableció el principio de equilibrio fisiológico interior dinámico que es esencial para mantener al organismo en un ambiente externo. En 1930, Canon definió a este equilibrio como homeostasis y describió al estrés como un sistema simpato-adreno-medular, que refuerza la regulación homeostática cuando es amenazada por una variedad de estímulos adversos (Clark *et al.*, 1997; Ferin, 2006). Posteriormente Hans Selye citado por Veissier y Boissy (2006), definió al estrés como una respuesta inespecífica del cuerpo y/o una consecuencia biológica por la exposición a cambios externos tales como patógenos o ambiente físico severo. Además mencionó que el eje endocrino hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) tiene un papel central en la respuesta a un estresor (Ferin, 2006).

Definiciones más recientes señalan al estrés como la inhabilidad de los animales para hacer frente al ambiente o incluso la inaptitud de adaptarse al ambiente o a reproducirse efectivamente (Borrel *et al.*, 2007). También se ha descrito al estrés como un fenómeno del exterior y una respuesta individual a algunos factores externos (Clark *et al.*, 1997). Sin embargo, el término más utilizado es el que define al estrés como una respuesta biológica de un individuo cuando percibe una amenaza de su homeostasis (Johnson *et al.*, 1992; Clark *et al.*, 1997; Borrel *et al.*, 2007).

Adicionalmente, Selye definió otros conceptos tales como, *estresor* que es la amenaza, fuerzas perturbadoras o eventos que disturbán y causan estrés (Johnson *et al.*, 1992; Clark *et al.*, 1997; Borrel *et al.*, 2007). El término estresor también se usa para referirse a un ambiente extremo o a las condiciones psicosociales que causan estados tales como ansiedad, conflicto, excitación, diestrés mental, frustración y amenaza a la seguridad (Clark *et al.*, 1997). A las fuerzas que están listas para neutralizar los efectos de los estresores y que restablecen la homeostasis son llamadas *respuesta adaptativa* (Johnson *et al.*, 1992). El término *euestrés* es definido como un estrés bueno. Esto involucra que un estímulo puede no ser dañino y tiene una respuesta inicial que beneficia el confort de los animales, el bienestar y/o la reproducción y son funciones que mantienen el estado de homeostasis. El estrés que no es perjudicial para el animal y que evoca una respuesta que en ningún momento es dañina o útil en el bienestar, confort o reproducción de un animal puede llegar a terminar en un *estrés neutral*. El *diestrés* ocurre cuando un animal no se adapta o habitúa satisfactoriamente. El *sobreestrés* describe una respuesta al daño pero el animal se adapta satisfactoriamente (Clark *et al.*, 1997).

2.1.1 Tipos de estrés

De acuerdo a la duración del estresor, el estrés puede resultar en agudo ó crónico (Moberg, 2000; Tilbrook *et al.*, 2000; Dobson *et al.*, 2001). Los mecanismos fisiológicos utilizados para estos dos tipos de estrés son similares. Sin embargo, el estrés agudo se debe a una exposición breve a un estresor y aunque la exposición sea leve, el costo biológico del estresor puede ser suficiente para alterar las funciones biológicas e inducir estrés innecesario. El estrés agudo rompe la función biológica fundamentalmente por dos diferentes mecanismos de acción: rompiendo los eventos biológicos críticos o desviando los recursos biológicos fuera de otras funciones biológicas (Moberg, 2000).

Se ha observado que durante el estrés agudo, se incrementa marcadamente en el sistema porta-hipofisiario la amplitud y sincronización de pulsos del factor liberador de corticotropina (CRF) y arginina vasopresina (AVP), resultando en

el aumento de la secreción episódica de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y cortisol (Tilbrook *et al.*, 2000; Tsigos y Chousos, 2002).

Por otro lado, la exposición a una serie de estresores agudos da lugar en la mayoría de los animales a un estrés crónico y se asume que un animal se encuentra bajo estrés crónico cuando experimenta un estrés continuo a largo plazo (Ladewig, 2000; Moberg, 2000). Para la mayoría de los animales el estrés crónico resulta indudablemente de las experiencias a una serie de estresores agudos los cuales son acumulativos en un costo biológico que fuerza al animal a presentar un estado pre-patológico y posiblemente a situaciones patológicas (Moberg, 2000).

Un organismo que es sujeto a largos periodos de estrés puede cambiar su respuesta a los estresores en el tiempo. Algunas respuestas disminuyen por que sufre adaptación principalmente a nivel cognoscitivo (respuesta de comportamiento). Otras respuestas pueden ser suprimidas, retornar a lo normal (secreción basal de cortisol) o se pueden incrementar por un proceso llamado desensibilización (respuesta del cortisol a nuevos estresores o a los cambios de la hormona ACTH). Esta situación depende del tipo de exposición; cuando se expone en forma repetida a un estresor leve o de corta duración, es más probable que resulte en una disminución gradual de la respuesta al estrés que una exposición repetida a un estrés severo (Ladewig, 2000) y se podría llegar a una respuesta adaptativa que depende de la calidad (física o emocional), fuerza, y duración (agudo, crónico) del estímulo, así como la constitución y estado del organismo (Johnson *et al.*, 1992).

2.1.2 Causas de estrés

Existen varios estresores que provocan estrés, por ejemplo estresores psicológicos, que tienen efectos de emoción y pueden resultar en miedo, ansiedad o frustración, estresores inmunológicos (infección, administración de citocinas o endotoxinas), estresores cardiovasculares y finalmente los estresores físicos (transporte, ejercicio, esquila, lesiones) incluyendo disturbios del medio ambiente interno (anoxia, hipoglucemia) y medio ambiente externo extremo (calor o frío), también se debe mencionar que los estresores pueden

actuar en combinación y son activadores potentes del eje HPA (Johnson *et al.*, 1992; Tilbrook *et al.*, 2000).

2.2 ESTRÉS CALÓRICO

El estrés calórico es aquel estado al que llega el organismo animal al no poder mantener su temperatura corporal dentro de los límites fisiológicos que permitan índices satisfactorios de producción y de reproducción. El estrés calórico depende de muchos factores ligados al medio ambiente, como la radiación solar, la temperatura, la humedad y la circulación del aire, pero está vinculada también al animal mismo a través de su genotipo o su nivel de producción (Chemineau, 1993).

2.2.1 Respuesta fisiológica del animal al calor

Los animales domésticos pertenecen al subgrupo de vertebrados homeotérmicos. Los animales homeotérmicos cuentan con un mecanismo termorregulador que les permite mantener en condiciones normales, una temperatura corporal interna constante dentro de un rango reducido independiente de los cambios considerables de la temperatura ambiental (Thatcher, 1983; Swenson y Reece, 1999; Cunningham, 2003). La termorregulación tiene mayor prioridad sobre cualquier otra de las funciones productivas de los animales domésticos, tales como lactación, crecimiento y reproducción. Por lo tanto, ésta es la causa básica del comportamiento reducido de los animales domésticos durante el estrés por calor (Thatcher, 1983).

Todos los animales homeotérmicos tienen una zona de comodidad o de neutralidad térmica, esta zona es el ambiente preferido para la producción óptima sin cambios en el metabolismo basal (Thatcher 1983, Ruckebusch *et al.*, 1994; Kadzere *et al.*, 2002), dicha zona esta limitada por las temperaturas críticas altas y bajas. La zona de neutralidad térmica en términos de temperatura ambiente, está entre 13 y 25 °C para becerros, 0 y 15 °C para vacas y cerdos y de -2 a 20 °C para ovejas (Thatcher, 1983; Yousef, 1985; Ruckebusch *et al.*, 1994; Kadzere *et al.*, 2002). Dentro de la zona, ajustes

como distribución vascular, pelaje o comportamiento son usados con éxito para mantener la homeotermia (Thatcher, 1983).

2.2.1.1 Pérdida de calor

Los animales intercambian calor con el medio ambiente a través de mecanismos sensibles de pérdida de calor que requieren un gradiente térmico para operar, estos mecanismos son la conducción, convección y radiación, también se pierde calor por evaporación de agua de la piel y de las vías respiratorias, estas se clasifican como pérdida insensible de calor y no requieren de gradiente térmico (las ovejas pierden calor principalmente por evaporación de agua en el tracto respiratorio) y finalmente el calor se puede perder a través de la excreción de heces y orina (Brockway *et al.*, 1965; Thatcher, 1983; Ruckebusch *et al.*, 1994; Swenson y Reece, 1999).

La *conducción* se presenta por intercambio directo entre un animal y cualquier superficie (particularmente el piso) con la que esté en contacto. El cambio calórico por *convección* es la transferencia de calor mediante el movimiento del aire o del agua (Thompson, 1973; Thatcher, 1983; Echeverría y Miazzo, 2002; Bavera y Beguet, 2003). Siendo el flujo sanguíneo, el principal medio convectivo de transferencia de calor hacia el exterior del cuerpo o superficie de la piel. La *radiación* es el intercambio de calor entre dos objetos que no están en contacto. El calor fluye desde un objeto más caliente a uno más frío. Un animal en confinamiento puede perder calor por radiación cuando la temperatura de las paredes y del techo son más bajas que la temperatura del animal (Thatcher, 1983; Ruckebusch *et al.*, 1994; Swenson y Reece, 1999; Echeverría y Miazzo, 2002).

El movimiento de calor hacia la superficie y su disipación se ven afectados en gran parte por las propiedades aislantes de la piel. Este es afectado por la cantidad de flujo sanguíneo a través de los vasos de la superficie, densidad de la capa de grasa, espesor de la cubierta del pelo y piloerección. Cuando la temperatura ambiental es mayor que la temperatura corporal normal del animal, éste debe confiar en la pérdida de calor *evaporativa* y disminuir el calor en el

metabolismo a fin de mantener la homeotermia (Thatcher, 1983; Echeverría y Miazzo, 2002).

2.2.1.2 Equilibrio del fluido

El agua corporal tiene una función central en el enfriamiento evaporativo. Los aumentos en la pérdida de calor por evaporación requieren una expansión del volumen del plasma para mover más agua hacia la superficie del cuerpo por evaporación. Estos requerimientos de agua son reunidos mediante el aumento en el consumo de agua, retención de agua fecal y renal (Thatcher, 1983; Thompson, 1973).

2.2.1.3 Sistema respiratorio

En el ganado que es expuesto a temperaturas ambientales altas hay un incremento subsecuente en la frecuencia respiratoria. Este incremento en el índice respiratorio aumenta la pérdida de calor por evaporación en las vías respiratorias altas (Hales y Webster, 1967; Thompson, 1973).

El jadeo efectúa el enfriamiento evaporativo de la sangre en la mucosa nasal por movimientos rápidos del aire en la mucosa húmeda de la región turbinada vasodilatada de la nasofaringe. En los ovinos hay dos tipos de jadeo: el jadeo de primera fase que implica una inspiración poco profunda, principalmente a través de la nariz. La exposición a un calor más severo, causa un cambio hacia un tipo de respiración más lenta y profunda, con la boca abierta, llamada jadeo de segunda fase (Hales y Webster, 1967; Thompson, 1973; Echeverría y Miazzo, 2002). La mayor parte de los animales domésticos jadean cuando se sobrecalientan a un punto donde la temperatura rectal se eleva por encima de 39 a 41 °C. Los ovinos pueden tolerar altas temperaturas ambientales (43.4 °C y mayores), si la humedad relativa es por debajo de 65% (Ruckebusch *et al.*, 1994).

2.2.1.4 Sistema cardiovascular

Durante el estrés por calor se presentan ajustes en el sistema cardiovascular. Los ajustes comprenden redistribución del gasto cardiaco a favor de los tejidos

esenciales para la disipación de calor (Ruckebusch *et al.*, 1994), incremento en el volumen sanguíneo central y vasodilatación periférica (Thompson, 1973). El estrés por calor moderado en ovinos (0.5 °C más en temperatura corporal profunda), provoca que el flujo de sangre sea mayor a la piel, región nasal y músculos respiratorios, mientras que el flujo de sangre es menor en músculos no respiratorios y en la mayor parte de los órganos abdominales (Ruckebusch *et al.*, 1994).

Otros ajustes cardiovasculares son el uso de mecanismos contrarios de intercambio para enfriar alguna parte determinada del organismo, como el cerebro y los testículos (Thatcher, 1983). Varias especies de mamíferos como ovejas, cabras, cerdos y antílopes utilizan la red carótida para bajar la temperatura que llega al cerebro. En estas especies la red carótida es una red bilateral de arterias en la principal arteria que abastece al cerebro. Las delgadas paredes y la gran superficie del área de los vasos de la red carótida permiten a la sangre arterial más caliente el intercambio rápido con la sangre venosa fresca, facilitando la entrada de sangre arterial fresca al cerebro y así refrescarlo. El cerebro además se refresca sustancialmente al reducir la pérdida evaporativa de agua en el tracto respiratorio y por consiguiente conserva el agua del cuerpo (Fuller *et al.*, 2007).

2.2.1.5 Sistema digestivo

En temperaturas termoneutrales el consumo de alimento voluntario y el metabolismo no varía con la temperatura ambiente. Sin embargo, en temperaturas elevadas, tanto el consumo de alimento como el metabolismo basal se reducen (Thompson, 1973; Thatcher, 1983; Silanikove, 2000; Bavera y Beguet, 2003).

La depresión en el consumo voluntario de alimento por hipertermia se cree que es debida a diversos factores. Uno es el efecto negativo directo de la temperatura sobre el centro del apetito en el hipotálamo. Una segunda causa es la reducción en la motilidad intestinal y rumia lo cual conduce al llenado intestinal deprimiendo el apetito (Alvarez y Johnson, 1973; Thompson, 1973; Thatcher, 1983; Silanikove, 2000).

2.2.2 Respuesta reproductiva de la hembra al calor

Las hembras domésticas son expuestas a una gran variedad de estresores relacionados con el ambiente y el manejo. Como consecuencia, la habilidad reproductiva puede ser comprometida a través de mecanismos que actúan en el hipotálamo, pituitaria, ovario y útero. La respuesta al estrés induce diversas reacciones neuroendocrinas que pueden decrecer la probabilidad de que un animal se reproduzca (Tilbrook *et al.*, 2000; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Borrel *et al.*, 2007).

Los mecanismos por los cuales el estrés calórico altera las concentraciones de las hormonas reproductivas circulantes no son conocidos, pero se ha observado que altas concentraciones de cortisol inhiben la frecuencia de pulsos de la hormona luteinizante (LH) por la inhibición de la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la fase folicular de las ovejas (Macfarlane *et al.*, 2000; Tilbrook *et al.*, 2000; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Borrel *et al.*, 2007). Sin embargo, los efectos del estrés calórico en las concentraciones de LH en la sangre periférica son inconsistentes. Algunos estudios indican que las concentraciones no cambian (Gwazdauskas *et al.*, 1981), otros reportan un incremento (Roman-Ponce *et al.*, 1981) y también existen reportes en donde las concentraciones decrecen (Wise *et al.*, 1988). El estrés calórico afecta el patrón de secreción de LH, al decrecer la amplitud y frecuencia de pulsos de LH (Gilad *et al.*, 1993; Dobson y Smith, 2000; Smith y Dobson, 2002; De Rensis y Scaramuzzi, 2003). Varias investigaciones reportan que los niveles de LH en la vaca son decrecientes por efecto del estrés calórico, lo que hace suponer que en el verano los folículos dominantes desarrollados con bajas concentraciones de LH resultan en una secreción reducida de estradiol, por lo tanto llevan a una pobre expresión del estro y como consecuencia una reducida fertilidad (Dobson y Smith, 2000; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Smith *et al.*, 2003; Borrel *et al.*, 2007).

La información publicada en bovinos acerca de las concentraciones sanguíneas de la hormona foliculoestimulante (FSH) e inhibina sugiere que la FSH es incrementada por el estrés calórico y esto puede ser debido a un

decremento en la producción de inhibina por los folículos comprometidos (Wolfenson *et al.*, 1995; Roth *et al.*, 2000; Wolfenson *et al.*, 2000).

El efecto del estrés calórico en las concentraciones plasmáticas de progesterona es aún más controversial debido a que se ha reportado incremento (Roth *et al.*, 2001b; Bridges *et al.*, 2005), decremento (Howell *et al.*, 1994; Wolfenson *et al.*, 2000) o sin cambio (Guzeloglu *et al.*, 2001) en las concentraciones sanguíneas de esta hormona durante el caluroso verano en vacas lecheras. Las diferencias en las concentraciones de progesterona pueden deberse a que no se han tomado en cuenta algunos factores que afectan las concentraciones de progesterona en sangre, como la secreción de progesterona suprarrenal, hemodilución o hemoconcentración, tipo de estrés calórico (agudo o crónico), factores genéticos asociados con la producción de leche (alta o baja producción de leche, así como etapa de lactación), edad y/o estado metabólico (diferencias en la ingestión de materia seca; Wolfenson *et al.*, 2000; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Borrel *et al.*, 2007).

Si los niveles de progesterona en plasma se reducen por el estrés calórico esto tiene consecuencias en la fertilidad. Bajas concentraciones de progesterona durante la fase lútea en el ciclo estral previo a la concepción pueden desarrollar folículos comprometidos, llevando a la maduración de ovocitos anormales y a la muerte embrionaria temprana (Ahmad *et al.*, 1995). En la concepción, la concentración baja de progesterona también puede llevar a fallas en la implantación (De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

2.2.2.1 Desarrollo folicular y conducta estral

Se ha observado en bovinos que el estrés calórico retrasa la selección folicular, reduce el grado de dominancia de los folículos seleccionados (Badinga *et al.*, 1993; Wolfenson *et al.*, 1995) y alarga la oleada folicular, esto se traduce en capacidad reducida de esteroidogénesis en las células de la teca y de la granulosa, falla en las concentraciones de estradiol sanguíneo (Wolfenson *et al.*, 1997; Roth *et al.*, 2001b; Bridges *et al.*, 2005) y efectos potencialmente adversos en la calidad de los ovocitos (Roth *et al.*, 2001a; Roth *et al.*, 2001b).

El incremento de la temperatura y humedad reducen la intensidad y la duración de la conducta estral en las vacas (Hansen *et al.*, 2001; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Borrel *et al.*, 2007). En ovejas se ha observado que las altas temperaturas reducen el porcentaje de hembras que presentan estro (Sawyer, 1979b), la duración del mismo (Naqvi *et al.*, 2004) e incrementa la duración del ciclo estral (Sawyer, 1979b; Naqvi *et al.*, 2004).

Es probable que la expresión del estro sea reducida por una letargia física experimentada en vacas estresadas con calor. En el verano, la actividad motora y otras manifestaciones del estro son reducidas y la incidencia de anestro y de ovulación silenciosa se incrementa (Hansen *et al.*, 2001; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Borrel *et al.*, 2007) pero también el mecanismo por el cual el estrés calórico reduce la expresión del estro puede ser en parte hormonal dado que hay estudios en los que se menciona que el estrés calórico reduce las concentraciones circulantes de estradiol (Roth *et al.*, 2001b; Bridges *et al.*, 2005).

La elevada temperatura ambiental reduce severamente la fertilidad en vacas lecheras inseminadas. El decremento en las tasas de concepción durante el verano puede ubicarse en un rango de entre 10 y 30% comparado con el invierno (Wolfenson *et al.*, 2000; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Chebel *et al.*, 2004; Borrel *et al.*, 2007). El mecanismo preciso de este efecto no ha sido identificado. Sin embargo, podría estar relacionado con los niveles decrecientes de estradiol, a la vez por la secreción incrementada de FSH probablemente por la baja secreción de inhibina por parte de los folículos pequeños (Roth *et al.*, 2000).

2.2.2.2 Desarrollo embrionario temprano e influencia del genotipo en la termotolerancia de los embriones

La formación de gametos en el macho y en la hembra es muy sensible a fallar a causa de la temperatura elevada con pronunciadas consecuencias, llegando a reducir en los machos la cantidad y calidad de los espermatozoides y a un decremento en la fertilidad de las hembras por la interferencia en la producción

de ovocitos fértiles (Hansen *et al.*, 2001; Al-katanani *et al.*, 2002; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Barros *et al.*, 2006; Borrel *et al.*, 2007).

Hay varios mecanismos por los que el estrés calórico puede comprometer la calidad del ovocito; puede reducir la magnitud de la oleada preovulatoria de LH y de estradiol (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Borrel *et al.*, 2007; Hansen, 2007b), por daño en el desarrollo folicular o quizás por efectos directos de la temperatura ambiental elevada en el ovocito que pueden llevar a la ovulación de un ovocito viejo con bajo potencial para la fertilización (Hansen *et al.*, 2001; Sartori *et al.*, 2002; Hansen, 2007b). Estudios *in vitro* señalan que el estrés calórico provoca que menos ovocitos fertilizados lleguen a la etapa de blastocisto (Roth y Hansen, 2004; Sakatani *et al.*, 2004; Schrock *et al.*, 2007).

El mecanismo por el cual el estrés calórico decrece el desarrollo embrionario es probablemente multifactorial. El estrés calórico afecta el tracto reproductivo, esto es por un decremento del flujo sanguíneo en el útero y un incremento en la temperatura uterina (Roman-Ponce *et al.*, 1978). Estos cambios inhiben el desarrollo embrionario, reduciendo la probabilidad de implantación del embrión e incrementando la pérdida embrionaria temprana (Dreiling y Carman, 1991; Hansen *et al.*, 2001; De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Barros *et al.*, 2006; García-Ispuerto *et al.*, 2006; Vasconcelos *et al.*, 2006).

El estrés calórico también puede alterar la secreción endometrial de prostaglandinas, llevando a una luteolisis prematura y pérdida embrionaria (Putney *et al.*, 1988b; Putney *et al.*, 1989b; Aréchiga, 2004). La alta temperatura ambiental afecta la predivisión del estado embrionario pero la magnitud de los efectos decrece conforme los embriones se desarrollan (Wolfenson *et al.* 2000; De Rensis y Scaramuzzi, 2003).

Se ha observado que el estrés calórico puede afectar la viabilidad de los embriones en etapa de mórula y blastocisto (Monty y Racowsky, 1987). Sin embargo, se ha demostrado que la exposición de vacas a estrés calórico en el día 1 después del estro afecta la viabilidad y desarrollo del embrión pero esto no sucede cuando el estrés calórico es impuesto en los días 3, 5 o 7 (Ealy *et al.*, 1993). Por lo que, embriones de dos células son más susceptibles cuando se someten a estrés calórico que los embriones en estadios de desarrollo más

avanzados como son mórula o blastocisto (Sugiyama *et al.*, 2003; Barros *et al.*, 2006; Hansen, 2007a; Hansen, 2007b).

En ovejas, se ha visto que el estrés térmico provoca la producción de embriones de calidad pobre, además reduce el porcentaje de embriones transferibles (Naqvi *et al.*, 2004) y reduce el número total de células por embrión (Putney *et al.*, 1988a; Putney *et al.*, 1989a; Sakatani *et al.*, 2004).

En la oveja se ha identificado que el período de sensibilidad es durante los primeros 16 días; esto demuestra que es durante los estados tempranos del desarrollo embrionario, antes de la implantación, que el embrión es sensible a un aumento de la temperatura uterina inducida por el estrés térmico. Al parecer, una vez implantado el embrión, este se vuelve menos sensible a las variaciones térmicas del tracto genital, al menos hasta la mitad de la gestación, cuando el desarrollo fetal puede ser afectado nuevamente por altas temperaturas (Chemineau, 1993).

Por otro lado, se ha observado que la fertilidad es superior en razas adaptadas al trópico (*Bos indicus*) durante el estrés calórico esto se debe principalmente a la habilidad de animales de estas razas a regular la temperatura corporal en respuesta al estrés calórico (Carvalho *et al.*, 1995; Hansen *et al.*, 2001; Hansen, 2004). Ciertas razas adaptadas al trópico son también más resistentes a nivel celular, protegiendo a los embriones de la elevada temperatura ambiental (Hansen *et al.*, 2001; Hansen, 2004; Hansen, 2007a). Por ejemplo, el incremento de la apoptosis en embriones por el estrés calórico fue mas grande en vacas Angus y Holstein (*Bos taurus*) que en vacas Brahman y Senepol (*Bos taurus*; Paula-Lopes *et al.*, 2003). Se ha demostrado que las vacas Holstein y Angus tienen más bajo porcentaje de ovocitos normales y bajo porcentaje de ovocitos fertilizados que desarrollaron a las fases de 8 células, mórula y blastocisto que las vacas Brahman cuando son expuestas a estrés térmico (Rocha *et al.*, 1998; Paula-Lopes *et al.*, 2003).

Estudios *in vitro* también han mostrado que embriones de *Bos indicus* sometidos a estrés calórico en estados tempranos del desarrollo son capaces de sobrevivir comparado a embriones de *Bos taurus* (Barros *et al.*, 2006).

Las condiciones ambientales no necesariamente llevan a la muerte embrionaria por que dentro del embrión existen los mecanismos para conservar componentes importantes de la función celular ante el estrés. Si un embrión sobrevive a un estrés ambiental depende de su herencia genética, de la fase de desarrollo y de la presencia de moléculas citoprotectivas (HSP-70) en el microambiente que alteran la función celular para proporcionar protección ante los estímulos adversos. Así, el embrión expuesto a estrés se puede ajustar con éxito al ambiente adverso y puede continuar el desarrollo o no puede ajustarse y morir como resultado de necrosis o apoptosis (Hansen, 2007a).

2.2.2.3 CUERPO LÚTEO

El cuerpo lúteo (CL) es una glándula endocrina transitoria localizada en el ovario y formado de las paredes del folículo después de la liberación del ovocito (Wiltbank, 1994; Milvae *et al.*, 1996; Sangha *et al.*, 2002; Webb *et al.*, 2002; Arosh *et al.*, 2004). Es una glándula endocrina dinámica, que muestra variaciones en tamaño, estructura y actividad esteroidogénica en diferentes estados del ciclo estral y gestación (Sangha *et al.*, 2002).

Regresión del cuerpo lúteo

Luteolisis se define como la lisis o fallecimiento estructural del CL (Milvae *et al.*, 1996; Niswender *et al.*, 2000). En las ovejas el diámetro máximo del CL es alcanzado 6-9 días después de la ovulación y entonces la regresión inicia entre los días 13 y 16 (Sangha *et al.*, 2002). Durante la luteolisis, se presentan dos eventos estrechamente relacionados. Primero, hay una pérdida de la capacidad de sintetizar y secretar progesterona conocida como regresión lútea funcional probablemente mediada por prostaglandinas, seguida por la pérdida o involución de las células que conforman el CL, conocida como regresión lútea estructural. Los cambios morfológicos que ocurren después de que el CL disminuye la producción de progesterona son asociados con la muerte celular programada (apoptosis) de las células lúteas (McCracken *et al.*, 1999; Niswender *et al.*, 2000; Diaz *et al.*, 2002; Goyeneche *et al.*, 2003; Arosh *et al.*, 2004).

En la mayoría de los mamíferos (vacas, ovejas, cerdas), la luteolisis depende de la presencia del útero. Se acepta que la prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) es un factor originado del útero que inicia la luteolisis en la mayoría de las especies no primates (Milvae *et al.*, 1996; McCracken *et al.*, 1999; Niswender *et al.*, 2000; Diaz *et al.*, 2002; Sangha *et al.*, 2002; Arosh *et al.*, 2004). El inicio de la luteolisis por la $PGF2\alpha$ en muchas especies, parece ser un efecto local entre cada cuerno uterino y su ovario ipsilateral. Se ha postulado que la $PGF2\alpha$ ingresa a la arteria ovárica por la vena útero-ovárica, por un mecanismo de intercambio de contracorriente. Esto permite a la $PGF2\alpha$ ir a la arteria ovárica sin entrar a la circulación pulmonar donde sería inactivada enzimáticamente en los pulmones (Milvae *et al.*, 1996; McCracken *et al.*, 1999; Niswender *et al.*, 2000).

Durante la regresión lútea, los descensos iniciales de progesterona en el suero no parecen deberse a la pérdida de células lúteas esteroideogénicas, ya que el número de células lúteas no desciende hasta después de que las concentraciones de progesterona en el suero han disminuido. La disminución de progesterona es más probable que sea a causa de un descenso en el flujo sanguíneo lúteo y por descenso en la capacidad esteroideogénica de cada una de las células lúteas (Niswender *et al.*, 2000; Sangha *et al.*, 2002).

Una de las interrogantes acerca de la luteolisis es cuál es la señal que inicia la liberación de $PGF2\alpha$. En rumiantes aparentemente es controlada indirectamente por las hormonas esteroideas ováricas $17-\beta$ estradiol y progesterona, se ha propuesto que hacia el final de la fase lútea la pérdida de acción de progesterona ocurre en el hipotálamo y en el útero debido a la reducción catalítica (regulación baja) de receptores para progesterona por la progesterona, la pérdida de acción de la progesterona podría permitir la acción del $17-\beta$ estradiol (derivado del folículo preovulatorio en desarrollo) centralmente en el hipotálamo y periféricamente en el útero. La acción de los estrógenos a nivel central causa que el generador de pulsos de oxitocina hipotalámica pudiera alterar su frecuencia y produce una serie de episodios intermitentes de secreción de oxitocina y en el útero los estrógenos regulan los receptores endometriales para oxitocina. La interacción de la oxitocina

neurohipofisiaria con receptores de oxitocina en el endometrio provoca la secreción uterina de pulsos luteolíticos de $\text{PGF2}\alpha$. La $\text{PGF2}\alpha$ inicia entonces un circuito de retroalimentación positiva de oxitocina lútea adicional y de $\text{PGF2}\alpha$ de origen lúteo y uterino (Milvae *et al.*, 1996; McCracken *et al.*, 1999; Niswender *et al.*, 2000; Sangha *et al.*, 2002). La oxitocina lútea es producida principalmente por las células lúteas grandes (CLG) aunque también se ha reportado que existen comunicaciones intracelulares entre CLG y células lúteas pequeñas (CLP) en la secreción de progesterona y oxitocina (Sangha *et al.*, 2002).

La $\text{PGF2}\alpha$ puede sintetizarse en el CL de la mujer, cerda, oveja, vaca y roedores. Durante la fase lútea tardía del ciclo estral, la $\text{PGF2}\alpha$ de origen periférico puede estimular la síntesis de $\text{PGF2}\alpha$ en el CL de ovejas (Niswender *et al.*, 2000).

La $\text{PGF2}\alpha$ reduce el flujo sanguíneo al CL y de esta manera puede provocar luteolisis al privar a la glándula de nutrientes, sustratos para la esteroidogénesis y de soporte luteotrópico. La $\text{PGF2}\alpha$ causa degeneración de células endoteliales lúteas, provocando una reducción marcada en la densidad capilar, reduciendo por lo tanto el flujo sanguíneo al parénquima lúteo (Milvae *et al.*, 1996; Niswender *et al.*, 2000; Sangha *et al.*, 2002). Recientemente, se ha implicado a la endotelina-1 como una posible mediadora de los efectos de la $\text{PGF2}\alpha$ sobre el flujo sanguíneo. La endotelina-1 es un potente vasoconstrictor, además inhibe la actividad esteroidogénica de poblaciones enriquecidas de células lúteas esteroidogénicas (Milvae *et al.*, 1996; Niswender *et al.*, 2000; Diaz *et al.*, 2002).

La $\text{PGF2}\alpha$ estimula una serie de cambios morfológicos en las células lúteas esteroidogénicas (pequeñas y grandes), los cambios morfológicos son evidentes hasta 24-36 horas después de la exposición a la $\text{PGF2}\alpha$, aunque la capacidad esteroidogénica de las células se reduce bastante para este momento. La $\text{PGF2}\alpha$ actúa uniéndose a receptores transmembranales acoplados a la proteína G localizados en las CLG (Niswender *et al.*, 2000).

La $\text{PGF2}\alpha$ puede disminuir la síntesis de progesterona por mecanismos intracelulares incluyendo baja regulación de receptores para hormonas

luteotrópicas, disminución de la absorción celular de colesterol, disminución en el transporte de colesterol a través de la célula y/o a través de las membranas mitocondriales y disminución en la actividad de las enzimas esteroidogénicas que se requieren para la biosíntesis de progesterona. La $\text{PGF2}\alpha$ también podría reducir la respuesta del tejido lúteo a las hormonas luteotrópicas (Milvae *et al.*, 1996; Niswender *et al.*, 2000; Diaz *et al.*, 2002).

Hay evidencia de un rol crítico del sistema inmune en el proceso de luteolisis. Los leucocitos infiltran el CL durante la luteolisis. Los eosinófilos, como los macrófagos, se acumulan en el CL en regresión antes de la baja en los niveles séricos de progesterona, en respuesta a un factor quimiotáxico no caracterizado. Los macrófagos realizan tres funciones durante las etapas tempranas de la luteolisis: 1) fagocitosis de células lúteas degenerativas, 2) inhibición de la esteroidogénesis mediada por citocinas y 3) estimulación de la secreción de $\text{PGF2}\alpha$ por el CL (Niswender *et al.*, 2000; Webb *et al.*, 2002).

La atracción e infiltración de los leucocitos dentro del parénquima lúteo provoca un aumento en la producción de citocinas (particularmente IL-1, $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IFN-}\gamma$) y las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad que estimulan finalmente la síntesis de $\text{PGF2}\alpha$ lútea y activa los macrófagos. En resumen, las células inmunes y citocinas participan en la luteolisis mediante la regulación de la síntesis de $\text{PGF2}\alpha$, la esteroidogénesis y la fagocitosis (Niswender *et al.*, 2000; Diaz *et al.*, 2002; Webb *et al.*, 2002).

Regresión prematura del cuerpo lúteo

La función lútea inadecuada o anormal ocurre en varias situaciones fisiológicas en los rumiantes domésticos y han sido categorizadas en dos grupos: el primer grupo incluye el CL que tiene un periodo de vida corto y se presenta en la pubertad (Foster *et al.*, 2006a; Foster *et al.*, 2006b), posparto (Copelin *et al.*, 1989), inicio de la estación reproductiva (Hunter, 1991) y en la superovulación (Mejía *et al.*, 2000). El segundo grupo incluye el CL que tiene el periodo de vida normal pero con secreción reducida de progesterona, esto se presenta después de la ovulación inducida por la hormona liberadora de gonadotropinas (Hunter, 1989).

La fase lútea anormal se caracteriza por ciclos estrales de duración corta (7-10 días) con decremento en las concentraciones de progesterona después de los días 5 y 6 comparados con animales que tienen fase lútea de longitud normal (Garverick *et al.*, 1992).

Se ha observado que el número total y tamaño de células pequeñas o grandes es bajo en los CL de vida corta. Sin embargo, el CL de vida corta en la vaca no es más sensible a los efectos luteolíticos de la $\text{PGF}_2\alpha$ (Garverick *et al.*, 1992).

Los mecanismos asociados con la función lútea anormal pueden incluir: 1) Un inadecuado desarrollo folicular preovulatorio debido a que el CL es una continuación de la maduración folicular. Durante la fase folicular es importante preparar adecuadamente a las células foliculares para la luteinización y secreción de progesterona, la alteración del microambiente del folículo preovulatorio puede dañar la habilidad de las células foliculares para secretar progesterona y como consecuencia provocar una función lútea anormal; 2) Un decremento en el soporte luteotrópico. En la fase lútea la secreción de progesterona depende del equilibrio entre los estímulos luteotrópicos y luteolíticos, la función lútea anormal puede ser debida ya sea a un estímulo luteotrópico inadecuado o a la incapacidad del tejido lúteo para responder a un estímulo luteotrópico y 3) Un estímulo luteolítico prematuro puede estar involucrado en la función lútea anormal. Específicamente, la luteolisis prematura puede resultar de un aumento o descarga prematura de $\text{PGF}_2\alpha$ desde el útero o quizás de una mayor sensibilidad del tejido lúteo a la $\text{PGF}_2\alpha$ (Garverick y Smith, 1986; Hunter, 1991; Garverick *et al.*, 1992).

El mecanismo por el cual el momento de la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ en rumiantes se adelanta durante el ciclo estral corto no es claro, sin embargo podría deberse a incrementos en las concentraciones de estradiol debidas a una onda de crecimiento folicular que puede inducir una luteolisis prematura en las ovejas (Silvia *et al.*, 1991) o también podría ser por la presencia de receptores de oxitocina durante la fase lútea temprana (Roberts y McCracken, 1976; Hunter, 1991; Garverick *et al.*, 1992).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del área de estudio

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) y en el Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. El CEPIPSA esta ubicado en el kilómetro 29 de la carretera federal México-Cuernavaca, delegación Tlalpan, Distrito Federal a 2800 msnm, 19° 13' de latitud norte y 99° 8' longitud oeste. El clima de la región es de tipo c(w) (w) b (ij) que corresponde a semifrío-semihúmedo, con el 86 % de las lluvias en los meses de Mayo a Octubre, dando una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm al año y una temperatura media anual de 10 °C (García, 1981).

3.2 Animales experimentales

Se utilizaron 32 ovejas, 16 de raza Pelibuey y 16 de raza Suffolk, con condición corporal 3 en una escala de 0 a 5 (Russel *et al.*, 1969). Las ovejas fueron alimentadas con una dieta a base de heno de avena con melaza, ensilado de maíz, y concentrado comercial. Todas las ovejas estaban ciclando al inicio del estudio, esto se confirmó mediante la detección de calores y ultrasonografía. Las ovejas se dividieron aleatoriamente en 2 grupos (testigo y estrés calórico), cada grupo estuvo integrado por 16 ovejas: 8 Pelibuey y 8 Suffolk (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de las ovejas en los grupos testigo y estrés calórico

Grupo testigo		Grupo estrés calórico		TOTAL
Pelibuey	Suffolk	Pelibuey	Suffolk	
8	8	8	8	32

3.3 Manejo de los animales

Todas las ovejas se sincronizaron con esponjas intravaginales impregnadas con 40 mg de Acetato de Fluorogestona (FGA; Chrono Gest, Intervet) por un periodo de 10 días. El esquema de superovulación inició dos días antes del retiro de la esponja, se utilizó una dosis total de 180 mg de Hormona Folículo

Estimulante de origen porcino (Folltropin-V, Bioniche) para ovejas Pelibuey y 200 mg para ovejas Suffolk, aplicada por vía intramuscular, cada 12 horas durante 4 días en esquema decreciente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Esquema de superovulación en ovejas Pelibuey y Suffolk

DÍA DE APLICACIÓN DE FSH *	PELIBUEY		SUFFOLK	
	Mañana (mg)	Tarde (mg)	Mañana (mg)	Tarde (mg)
8	40	30	50	40
9	30	20	30	30
10	20	20	20	10
11	10	10	10	10

* El día 1 corresponde al programa de sincronización

Al momento de retirar la esponja se aplicaron 0.075 mg de cloprostenol, análogo sintético de prostaglandina F2 α (Prosolvín C, Intervet) y veinticuatro horas después se realizó la detección de estro dos veces al día, utilizando un carnero cubierto con mandil. A las hembras que presentaron estro conductual se les dio monta dirigida con un semental de la misma raza cada 8 horas, mientras permanecieron receptivas; ocho horas después de la última monta se colocó una esponja intravaginal con FGA. El día de la primera monta se consideró como día cero. Durante los días 2 a 6 postestro las ovejas del grupo de estrés calórico se introdujeron en una cámara de control climático, a una temperatura de 35 a 40 °C con humedad relativa de 20 a 30 %, durante 6 h (de 12 a 18 PM) [índice temperatura humedad (THI) = 82 estrés severo (Moran, 2005)]. Después de este manejo, las ovejas regresaron a sus corrales a temperatura ambiente. Se registró la temperatura rectal y la frecuencia respiratoria tres horas después del ingreso a la cámara de control climático.

Las ovejas del grupo testigo permanecieron en su corral a una temperatura ambiente de 15 – 21 °C con 47 – 54% de humedad relativa (THI = 63 sin estrés; Moran, 2005). En los días 2 a 6 postestro también se les tomó la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal.

En todas las ovejas se tomaron muestras de sangre por punción de la vena yugular cada 24 horas a partir del día 0 al 7 postestro, para determinar los

niveles plasmáticos de progesterona mediante radioinmunoanálisis en fase sólida (Coat-A-Count, DPC,USA), con una sensibilidad del ensayo de 0.1 ng mL⁻¹ y un coeficiente de variación intra-ensayo de 13.63%.

Se consideró que ocurrió regresión prematura del cuerpo lúteo si las concentraciones de progesterona se elevaron a más de 1 ng mL⁻¹ después del estro y regresaron a niveles basales el día 7 (Mejía *et al.*, 2000). Al momento de la colección embrionaria se hizo una evaluación visual de los cuerpos lúteos y aquellos que tuvieron un color blanquecino y eran de menor tamaño se clasificaron como cuerpos lúteos en regresión (Schiewe *et al.*, 1991).

3.4 Colección embrionaria

Los embriones se colectaron mediante laparotomía media ventral en el día 7 postestro. Las estructuras recuperadas fueron clasificadas de acuerdo con su calidad (Lindner y Wrigth, 1983). Después de la evaluación, los embriones se fijaron en paraformaldehído al 4 % y se conservaron en solución PBS/PVP a 4 °C para realizar posteriormente el conteo celular a través de una tinción nuclear (Hoechst 33342; Moreira *et al.*, 2001).

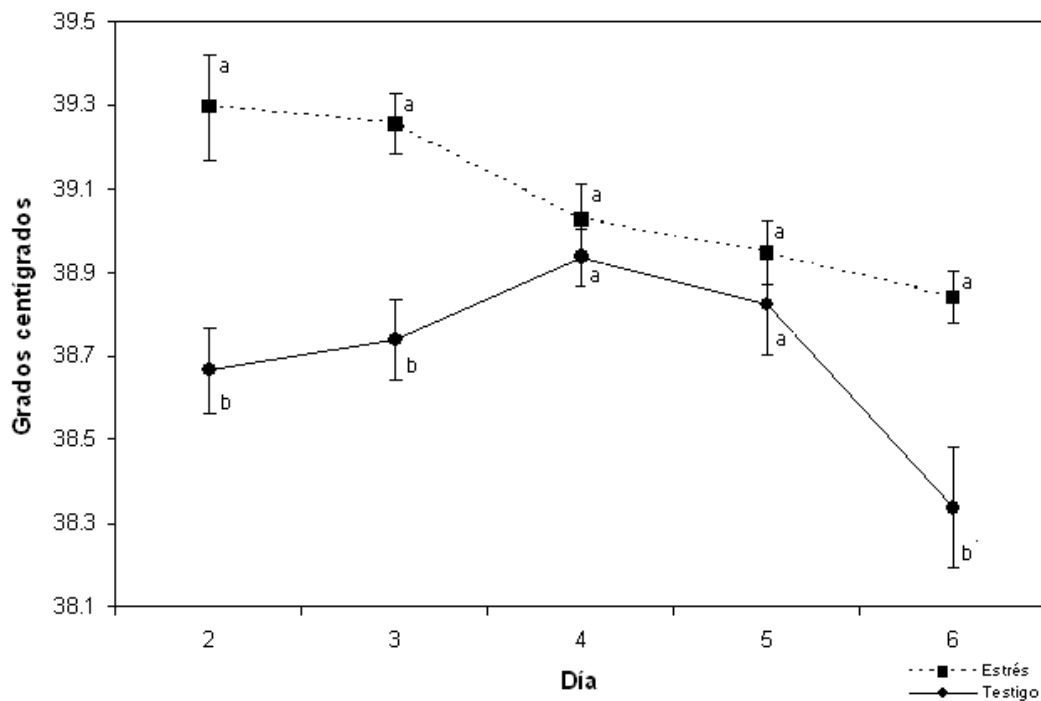
3.5 Análisis estadístico

Se comparó la temperatura rectal y frecuencia respiratoria entre tratamientos y entre razas mediante análisis de varianza para mediciones repetidas por el procedimiento Mixed del paquete estadístico SAS (SAS, 2003). La regresión de cuerpo lúteo de acuerdo a los niveles de progesterona se analizó mediante comparación de dos proporciones binomiales (Montgomery y Hines, 1993). El número de cuerpos lúteos en regresión presentes en el ovario, embriones transferibles y blastocistos se analizaron mediante comparación de medias de dos poblaciones Poisson independientes del paquete estadístico Minitab (Minitab, 2006) y el número de células embrionarias se comparó mediante análisis de varianza por el procedimiento General lineal models (SAS) (SAS, 2003), realizando la transformación de la variable de acuerdo a Federer (1955).

IV. RESULTADOS

Las ovejas del grupo de estrés calórico tuvieron una temperatura rectal (39.1 ± 0.1 °C) más alta ($P < 0.01$) que el grupo testigo (38.7 ± 0.1 °C). En la gráfica 1 se muestran los promedios de la temperatura rectal durante el periodo de estudio en las ovejas del grupo de estrés calórico y testigo.

Figura 1. Temperatura rectal en ovejas sometidas a estrés calórico durante los días 2 al 6 postestro.



Literales distintas entre grupos indica diferencia ($P < 0.05$)

Las ovejas Suffolk registraron mayor temperatura rectal que las ovejas de la raza Pelibuey tanto en el grupo de estrés calórico como en el testigo ($P < 0.01$). Las ovejas Suffolk y Pelibuey de los grupos de estrés calórico tuvieron mayor temperatura rectal que las ovejas de su misma raza correspondiente en el grupo testigo ($P < 0.01$; Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedio de la temperatura rectal en ovejas Pelibuey y Suffolk de los grupos estrés calórico y testigo.

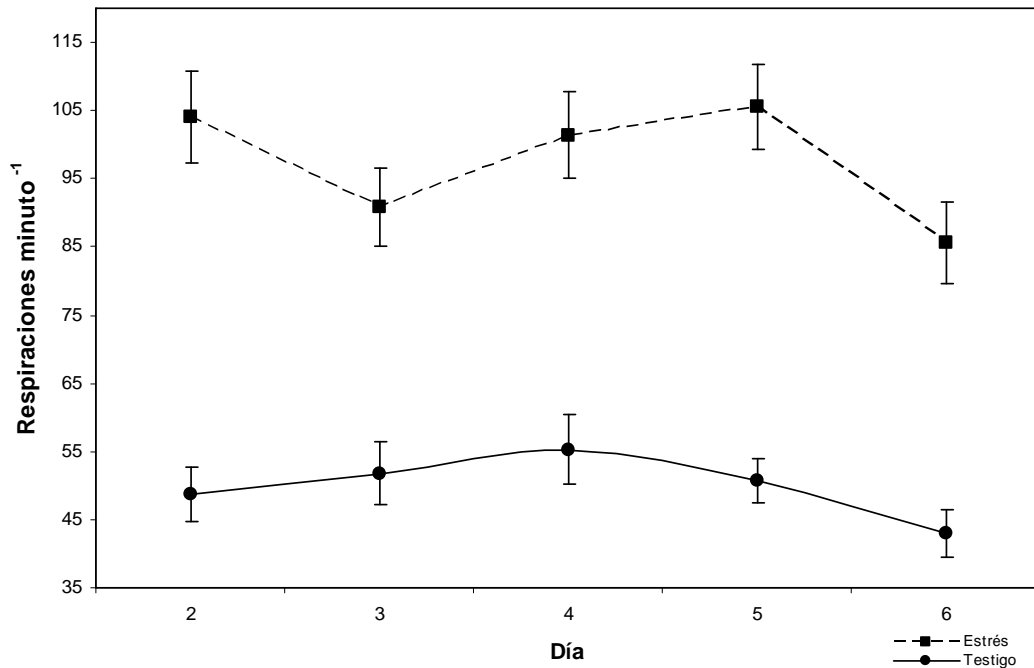
Grupo	Ovejas Pelibuey (°C)	Ovejas Suffolk (°C)
Estrés calórico	38.9 ^{a,c} ± 0.1	39.3 ^{b,c} ± 0.2
Testigo	38.5 ^{a,d} ± 0.2	38.9 ^{b,d} ± 0.2

a,b: Literales distintas en el mismo renglón indica diferencia (P<0.01)

c,d: Literales distintas en la misma columna indica diferencia (P<0.01)

La frecuencia respiratoria fue mayor en las ovejas del grupo de estrés calórico (P<0.01) que en el grupo testigo (97.5 ± 6.4 y 49.9 ± 4.1 respiraciones minuto^{-1}). En la gráfica 2 se presenta la frecuencia respiratoria durante los días 2 al 6 posastro en el grupo de estrés calórico y testigo.

Figura 2. Frecuencia respiratoria de ovejas bajo estrés térmico durante los días 2 al 6 posastro.



Literales distintas entre grupos indica diferencia (P<0.05)

Las ovejas Suffolk presentaron mayor frecuencia respiratoria que las ovejas Pelibuey tanto en el grupo de estrés calórico como en el grupo testigo (P<0.01).

Además, la frecuencia respiratoria dentro de razas fue mayor en las ovejas Suffolk y Pelibuey del grupo de estrés calórico que las ovejas de la misma raza en el grupo testigo ($P < 0.01$; Cuadro 4).

Cuadro 4. Promedio de la frecuencia respiratoria de ovejas Pelibuey y Suffolk de los grupos estrés calórico y testigo.

GRUPO	OVEJAS PELIBUEY (respiraciones minuto ⁻¹)	OVEJAS SUFFOLK (respiraciones minuto ⁻¹)
Estrés calórico	89.6 ^{a,c} ± 11.4	105.4 ^{b,c} ± 10.4
Testigo	41.7 ^{a,d} ± 5.4	58.1 ^{b,d} ± 7.4

a,b: Literales distintas en el mismo renglón indica diferencia ($P < 0.01$)
c,d: Literales distintas en la misma columna indica diferencia ($P < 0.01$)

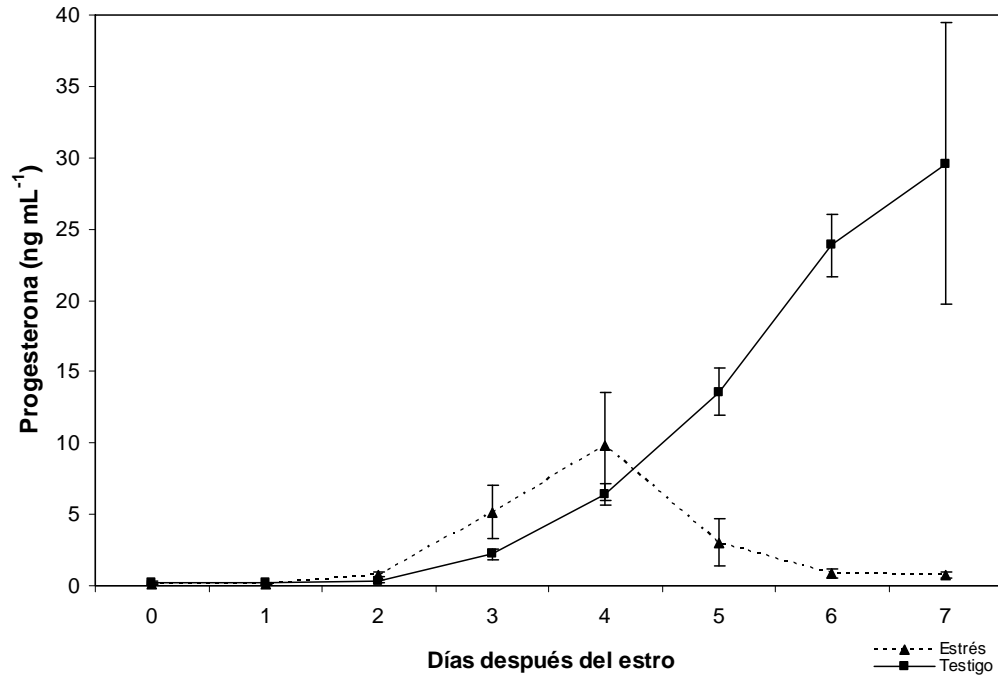
Por otro lado, la evaluación visual de los cuerpos lúteos (CL) durante la colección de embriones permitió detectar un mayor porcentaje de CL en regresión en las ovejas del grupo de estrés calórico (30.1%) que el grupo testigo (9.5%; $P < 0.01$; Cuadro 5). Además, los niveles de progesterona confirmaron los hallazgos de regresión prematura de CL de ovejas sometidas a estrés calórico ($P < 0.05$; Cuadro 5; Gráfica 3). No se presentaron diferencias entre las razas Pelibuey y Suffolk en ambos criterios de evaluación ($P > 0.05$).

Cuadro 5. Regresión prematura de cuerpo lúteo en ovejas del grupo de estrés calórico y testigo.

GRUPO	REGRESIÓN PREMATURA DE CUERPO LÚTEO*		REGRESIÓN PREMATURA DE CUERPO LÚTEO***	
	%	Relación**	%	Relación****
Estrés calórico	30.1 ^a	70/223	26.7 ^c	4/15
Testigo	9.5 ^b	24/253	0.0 ^d	0/16

a,b: Literales distintas en la misma columna indica diferencia ($P < 0.01$)
c,d: Literales distintas en la misma columna indica diferencia ($P < 0.05$)
* De acuerdo al conteo de CL en el ovario de manera visual
** No. de CL en regresión/No. total de CL
*** De acuerdo a los niveles de progesterona ($< 1 \text{ ng mL}^{-1}$)
**** No. de ovejas con CL en regresión/No. total de ovejas del grupo

Figura 3. Niveles plasmáticos de progesterona en ovejas con regresión prematura de cuerpo lúteo (estrés calórico) y función lútea normal (testigo).



El tratamiento con estrés calórico no afectó el porcentaje de embriones transferibles y embriones que llegaron a la etapa de blastocisto (Cuadro 6), asimismo no se presentaron diferencias entre la raza Suffolk y Pelibuey ($P>0.05$; Cuadro 7).

Cuadro 6. Estructuras totales y porcentaje de ovocitos fertilizados, embriones transferibles y blastocistos en ovejas de los grupos estrés calórico y testigo.

GRUPO	n	ESTRUCTURAS TOTALES *	OVOCITOS FERTILIZADOS (%)	EMBRIONES TRANSFERIBLES (%)	BLASTOCISTOS (%)
Estrés					
calórico	14	150	88 (132/150)	55 (73/132) ^a	34 (45/132) ^b
Testigo					
Testigo	16	163	87 (142/163)	69 (98/142) ^a	42 (60/142) ^b

Literales iguales en la misma columna indica que no hay diferencia ^a ($P=0.334$) ^b ($P=0.494$)
 * Incluye los ovocitos y todos los embriones colectados

Cuadro 7. Estructuras totales y porcentaje de ovocitos fertilizados, embriones transferibles y blastocistos en ovejas Pelibuey y Suffolk en estrés calórico.

GRUPO	n	ESTRUCTURAS TOTALES *	OVOCITOS FERTILIZADOS (%)	EMBRIONES TRANSFERIBLES (%)	BLASTOCISTOS (%)
Pelibuey	6	63	58	47 (27/58) ^a	24 (14/58) ^b
Suffolk	8	87	74	62 (46/74) ^a	42 (31/74) ^b

Literales iguales en la misma columna indica que no hay diferencia ^a (P= 0.371) ^b (P=0.146)
 * Incluye los ovocitos y todos los embriones colectados

El estrés calórico no disminuyó (P>0.05) el número de células en los embriones en etapa de mórula y en etapa de blastocisto (Cuadro 8).

Cuadro 8. Número de células promedio en etapa de mórula y en etapa de blastocisto en los grupos de estrés calórico y testigo.

Grupo	Número de células de embriones en etapa de mórula	Número de células de embriones en etapa de blastocistos
Estrés calórico	27.5 ± 3.7 ^a	48.3 ± 5.0 ^a
Testigo	30.4 ± 3.6 ^a	46.9 ± 3.3 ^a

Literales iguales en la misma columna indica que no hay diferencia (P>0.05)

Finalmente, no se encontraron diferencias (P>0.05) en el número de células en los embriones en etapa de mórula entre las razas Pelibuey y Suffolk (Cuadro 9).

Cuadro 9. Número de células promedio en etapa de mórula en ovejas Pelibuey y Suffolk en el grupo de estrés calórico y testigo.

Raza	Número de células en embriones en etapa de mórula en el grupo de estrés calórico	Número de células en embriones en etapa de mórula en el grupo testigo
Pelibuey	23.5 ± 4.5 ^a	28.6 ± 4.5 ^a
Suffolk	29.6 ± 5.1 ^a	32.1 ± 5.5 ^a

Literales iguales en la misma columna indica que no hay diferencia (P>0.05)

V. DISCUSIÓN

La exposición de las ovejas Pelibuey y Suffolk a una temperatura de 35 a 40 °C no afectó la proporción de embriones transferibles ni el porcentaje de embriones que llegaron a la etapa de blastocisto. Estos resultados son diferentes a los observados por Naqvi *et al.* (2004) en donde la exposición a 40°C durante el periodo pre y posovulatorio redujo la proporción de embriones transferibles (21 vs 14%, grupo testigo y grupo de estrés calórico, respectivamente). La diferencia de los resultados entre ambos estudios probablemente obedece al periodo de exposición al estrés calórico. Así, en el presente trabajo las ovejas fueron sometidas a un estrés calórico de 6 h al día a partir del día 2 hasta el día 6 postestro, mientras que en el estudio de Naqvi *et al.* (2004) las ovejas recibieron un estrés térmico de 6 horas al día durante 4 semanas (antes y después de la ovulación). Lo anterior pudo influir en la respuesta, ya que la exposición de los ovocitos a un estrés térmico durante su maduración afecta su capacidad para desarrollar embriones viables (Roth y Hansen, 2005). En estudios realizados por Roth *et al.* (2001a) se observó que el estrés térmico afecta a los ovocitos cuando el folículo se encuentra en etapas tempranas de desarrollo; así, las vacas que estuvieron bajo estrés térmico en verano mostraron baja fertilidad en otoño. Por otra parte, Rocha *et al.* (1998), Al-Katanani *et al.* (2002), Roth y Hansen (2004) señalaron que la exposición de los ovocitos a un estrés térmico durante el proceso de maduración *in vitro*, ocasiona una disminución en la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto.

Los resultados del presente trabajo también difieren de los encontrados en estudios *in vitro* con embriones bovinos. En trabajos realizados por Al-katanani y Hansen (2002), Paula-Lopes y Hansen (2002), 6 h de estrés térmico en cualquiera de los días 2 a 4 posfertilización afecta negativamente el desarrollo embrionario. En dichos trabajos, se han sometido los embriones a una temperatura de incubación de 41°C durante 6 h, considerando que éste es el incremento en la temperatura corporal que experimentan las vacas durante los periodos de estrés calórico en el verano. En estos trabajos la aplicación del estrés térmico provoca anomalías en el desarrollo embrionario y mayor

incidencia de células apoptóticas, lo cual se refleja en una baja proporción de embriones que alcanzan la etapa de blastocisto.

En el presente trabajo las ovejas sometidas a altas temperaturas tuvieron una condición de estrés calórico, lo cual se demostró por el incremento en la temperatura rectal y en la frecuencia respiratoria; no obstante, la temperatura rectal de las ovejas mostró sólo un incremento de 0.4 °C, lo cual contrasta con el aumento que tienen las vacas expuestas a estrés térmico, el cual puede ser hasta de 2.2 °C (Ealy *et al.*, 1993). Esta diferencia en la temperatura corporal puede explicar, en parte, la ausencia de un efecto en el desarrollo embrionario observado en el presente estudio. Por otra parte, es posible que los embriones de los ovinos sean más resistentes al estrés térmico. También se debe considerar que la duración del estrés no fue suficiente ya que en el trabajo de Naqvi *et al.* (2004) se aplicaron cuatro semanas continuas de estrés térmico y si se redujo la proporción de embriones transferibles.

En el presente trabajo, tampoco se observó un efecto negativo del estrés calórico en el número de células de los embriones tanto en la etapa de mórula como de blastocisto. Estos resultados contrastan con lo encontrado en otros trabajos, en los cuales la exposición de embriones bovinos a un estrés calórico reduce la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto y el número de células de estos embriones (Jousan y Hansen, 2004; Sakatani *et al.*, 2004). Aunque en el presente estudio se evaluaron los efectos más evidentes del estrés calórico en los embriones, falta por determinar si hay diferencia en la proporción de células en apoptosis, ya que ésta condición también es un indicador de daño embrionario provocado por el estrés calórico (Paula-Lopes y Hansen, 2002; Jousan y Hansen, 2004).

El estrés calórico también afectó la función del cuerpo lúteo, esto se observó durante la colección de embriones ya que el 30.1% de los cuerpos lúteos de las ovejas sometidas a estrés calórico tenían regresión prematura en contraste con el 9.5% en las ovejas del grupo testigo. Cabe señalar que la evaluación anterior se hizo visualmente, con base en el tamaño y color del cuerpo lúteo. Así, los cuerpos lúteos pequeños y blanquecinos fueron considerados como cuerpos lúteos en regresión, de acuerdo con la descripción de Schiewe *et al.* (1991). Sin

embargo, la regresión lútea fue corroborada con los niveles plasmáticos de progesterona, de tal forma que 26.7% de las ovejas del grupo de estrés calórico mostraron regresión prematura mientras que ninguna oveja la tuvo en el grupo testigo. Este hallazgo es particularmente interesante, ya que en nuestro conocimiento no se había informado antes. El mecanismo por el cual el estrés térmico indujo la regresión prematura se desconoce. Sin embargo, en los rumiantes domésticos es frecuente que se desarrolle un cuerpo lúteo de vida corta, por la falta de exposición a progesterona de un ciclo estral previo, como ocurre en la pubertad, en el posparto o al inicio de la estación reproductiva (Hu *et al.*, 1991; Hunter, 1991; Garverick *et al.*, 1992; Foster *et al.*, 2006a; Foster *et al.*, 2006b). Se ha demostrado que la regresión prematura del cuerpo lúteo ocurre por la secreción adelantada de prostaglandinas, que se desencadena cuando se incrementan las concentraciones de estradiol, con la consecuente aparición de receptores para oxitocina y la posterior liberación de prostaglandina F₂α (PGF₂α; Southee *et al.*, 1988; Copelin *et al.*, 1989; Hunter *et al.*, 1989; Hu *et al.*, 1991; Zollers *et al.*, 1991; Garverick *et al.*, 1992). También, los cuerpos lúteos de vida corta pueden presentarse en otras condiciones por ejemplo, cuando el animal es superovulado (Saharrea *et al.*, 1998; Mejía *et al.*, 2000).

La regresión lútea prematura encontrada en las ovejas bajo estrés térmico puede estar asociada con el tratamiento superovulatorio, ya que Rodríguez *et al.* (2007) no encontró ningún efecto del estrés calórico en la función lútea en ovejas no superovuladas. En el citado estudio se aplicó un estrés térmico a partir del día 2 postestro hasta el retorno al estro y no se afectaron las concentraciones de progesterona ni la longitud de la fase lútea. En animales superovulados la liberación de la PGF₂α se asocia con la presencia de folículos anovulatorios, los cuales secretan estradiol, condición que adelanta la síntesis de receptores a oxitocina en el endometrio. Partiendo de éste mecanismo, es probable que el estrés calórico haya modificado la dinámica folicular, lo cual pudo determinar la presencia de folículos anovulatorios, desafortunadamente se carece de ésta información. Se tendrán que hacer más estudios en condiciones de estrés calórico para corroborar la ocurrencia de regresión

prematura en ovejas superovuladas y para determinar las causas de tal proceso. Sin embargo, estos hallazgos deben ser tomados en cuenta para los programas de transferencia de embriones durante los meses cálidos del año.

A diferencia de los estudios realizados en bovinos donde se ha observado que los embriones de vacas adaptadas a los climas cálidos [*Bos indicus* (Brahman, Nelore) son más resistentes al estrés calórico que los embriones de *Bos taurus* (Holstein, Angus, Romosinuano)] (Paula-Lopes *et al.*, 2003; Hernández-Cerón *et al.*, 2004) en esta investigación no se presentaron diferencias raciales en la susceptibilidad de los embriones al estrés térmico. Así, fue evidente que los porcentajes de embriones transferibles, embriones que alcanzaron la etapa de blastocisto y el número de células en etapa de mórula fueron similares entre las razas Pelibuey y Suffolk expuestas al estrés térmico.

En animales homeotérmicos la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal se incrementan después de que la temperatura ambiente se eleva. Esto se observó claramente en el presente estudio, ya que el estrés calórico aplicado incrementó significativamente la temperatura rectal y la frecuencia respiratoria en las ovejas Pelibuey y Suffolk. Hallazgos similares han sido reportados por Thwaites (1967, 1969 y 1970), Brown *et al.* (1977), Sawyer (1979) y Bell *et al.* (1989) quienes observaron un incremento significativo en la temperatura rectal y la tasa respiratoria de ovejas expuestas a condiciones de estrés calórico.

También, se observó que el promedio de la temperatura rectal y de la frecuencia respiratoria de las ovejas que estuvieron en estrés calórico fue superior al del grupo testigo durante los días que se aplicó el estrés calórico. No obstante, se observó un fenómeno interesante, la temperatura rectal promedio de las ovejas en estrés calórico declinó gradualmente a partir del segundo día de exposición al calor. Thwaites (1967) ya había informado sobre el decremento paulatino tanto en la temperatura rectal como en la frecuencia respiratoria de ovejas expuestas a estrés calórico durante 20 días, argumentando que se pudiera deber a una aclimatación gradual a las altas temperaturas. Aunque, en el presente estudio no se observó un descenso en la frecuencia respiratoria de las ovejas sometidas a estrés calórico que indicara algún tipo de adaptación.

Como se esperaba, las ovejas Pelibuey mostraron más tolerancia al estrés calórico, ya que a lo largo del experimento siempre registraron menor temperatura rectal y frecuencia respiratoria que las ovejas Suffolk, resultados similares obtuvieron Thimonier y Chemineau (1988) quienes observaron diferencias raciales debidas a la alta sensibilidad térmica de las ovejas Suffolk, lo que se reflejó en elevado ritmo respiratorio y temperatura rectal comparado con las ovejas Pelibuey (100 vs. 40 resp/min y 39.7 vs. 38.8 °C respectivamente). Adicionalmente, Ross *et al.* (1985) y Martínez *et al.* (2005) señalan que las ovejas de pelo (Blackbelly y Pelibuey) así como, la cruce Blackbelly por Dorset son más tolerantes al calor que las ovejas de lana (Dorset y Suffolk), demostrando que estas últimas tienen mayor dificultad para mantener la homeostasis en un ambiente caluroso que los otros grupos raciales. Por lo tanto, se puede inferir que el régimen de calor aplicado en el presente estudio fue suficiente para mantener a las ovejas en una situación de estrés calórico durante el periodo de tratamiento.

CONCLUSIONES

La exposición de ovejas Pelibuey y Suffolk a un estrés calórico durante 6 horas a partir del día 2 al 6 posestro no afectó el porcentaje de embriones transferibles ni de embriones que llegaron a la etapa de blastocisto, además no redujo el número de células en etapa de mórula y blastocisto, y no se observaron diferencias entre razas. Sin embargo, el estrés calórico aumentó la proporción de ovejas con regresión prematura del cuerpo lúteo.

VI. LITERATURA CITADA

1. Ahmad N, Schrick FN, Butcher RL, Inskeep EK. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol Reprod* 1995; 52:1129-35
2. Al-katanani YM, Hansen PJ. Induced thermotolerance in bovine two-cell embryos and the role of heat shock protein 70 in embryonic development. *Mol Reprod Dev* 2002; 62: 174-180
3. Al-katanani YM, Paula-Lopes FF, Hansen PJ. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *J Dairy Sci* 2002; 85: 390-396
4. Alvarez MB, Johnson HD. Environmental heat exposure on cattle plasma catecholamine and glucocorticoids. *J Dairy Sci* 1973; 56 (2): 1973
5. Aréchiga FCF. Efectos adversos del estrés calórico en la reproducción del Ganado bovino. In: *Mejoramiento animal: reproducción bovinos*. División sistema universidad abierta y educación a distancia. 2004
6. Arosh JA, Banu SK, Chapdelaine P, Madore E, Sirois J, Fortier MA. Prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling in corpus luteum: a basis for autoregulation of luteal function. *Endocrinology* 2004; 145(5):2551–2560
7. Badinga L, Thatcher WW, Diaz T, Drost M, Wolfenson D. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 1993; 39: 797-810
8. Barros CM, Pegorer MF, Vasconcelos JLM, Eberhardt BG, Monteiro FM. Important of sperm genotype (*indicus* versus *taurus*) for fertility and embryonic development at elevated temperatures. *Theriogenology* 2006; 65: 210-218
9. Bavera GA, Beguet HA. Termorregulación corporal y ambientación. *Cursos producción bovina de carne*. FAV UNRC. 2003
10. Bell AW, McBride BW, Slepatis R, Early RJ, Currie WB. Chronic heat stress and prenatal development in sheep: I. Conceptus growth and maternal plasma hormones and metabolites. *J Anim Sci* 1989; 67: 3289-3299
11. Berruecos VJM; Valencia ZM; Castillo RH. Genética del borrego tabasco o peligüey. *Téc Pec Méx* 1975; 29: 59-65

12. Borrel EV, Dobson H, Prunier A. Stress, behaviour and reproductive performance in female cattle and pigs. *Horm Behav* 2007; 52:130-138
13. Bridges PJ, Brusie MA, Fortune JE. Elevated temperature (heat stress) *in vitro* reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29: 508–522
14. Brockway JM, McDonald, Pullar JD. Evaporative heat-loss mechanisms in sheep. *J Physiol* 1965; 179: 554-568
15. Broom DM; Johnson KG. Stress and animal welfare. Ed. Chapman & Hall. 1993
16. Brown DE, Harrison PC, Hinds FC. Heat stress effects on fetal development during late gestation in the ewe. *J Anim Sci* 1977; 44 (3): 442-446
17. Carvalho FA, Lammoglia MA, Simoes MJ, Randel RD. Breed affects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress. *J Anim Sci* 1995; 73: 3570-3563
18. Chebel CR, Santos PJE, Reynolds PJ, Cerri ARL, Juchem OS, Overton M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2004; 84: 239-255
19. Chemineau P. Influence of climate on livestock breeding. *World animal review: animal zootechnie zootecnia* 1993/4; 77
20. Clark JD, Rager RD, Calpin PJ. Animal well-being. II stress and distress. *Laboratory animal science* 1997; 47 (6):571-579
21. Copelin JP, Smith MF, Keisler DH, Garverick HA. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin F-2 alpha on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. *J Reprod Fertil* 1989; 87 (1): 199-207
22. Cunningham GJ. Fisiología veterinaria. Ed. ELSEVIER. ed. 3a. España. 2003
23. De Rensis F, Scaramuzzi RJ. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review. *Theriogenology* 2003; 60:1139-1151

24. Diaz FJ, Anderson LE, Wua YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC. Regulation of progesterone and prostaglandin F2a production in the CL. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 191: 65-80
25. Dobson H, Smith RF. What is stress, and how does it affect reproduction?. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 743-752
26. Dobson H, Tebble JE, Smith RF, Ward WR. Is stress really all that important?. *Theriogenology* 2001; 55: 65-73
27. Dreiling CE, Carman FS, Brown DE. Maternal endocrine and fetal metabolic responses to heat stress. *J. Dairy Sci* 1991; 74: 312-327
28. Ealy DA, Drost M, Hansen JP. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J Dairy Sci* 1993; 76: 2899-2905
29. Echeverría AI, Miazzo R. El ambiente en la producción animal. Cursos de producción animal. FAV UNRC. 2002
30. Federer WT. Transformation of data. *Experimental design: theory and application*. USA: The Macmillan Company, 1955: 45-58
31. Ferin M. Stress and the reproductive system. In: Neill DJ, Challis RGJ, Kretser MD, Dfaff WD, Richards SJ, Plant MT, Wassarman MP, editors. *Knobil and Neill's Physiology of reproduction*. 3rd ed. USA: Elsevier. Vol. 2, 2006: 2627-2696
32. Foster DL, Jackson LM, Padmanabhan V. Programming of GnRH feedback controls timing puberty and adult reproductive activity. *Mol Cell Endocrinol* 2006a; 254–255: 109–119
33. Foster DL, Jackson LM. Puberty in the sheep. In: Neill DJ, Challis RGJ, Kretser MD, Dfaff WD, Richards SJ, Plant MT, Wassarman MP, editors. *Knobil and Neill's Physiology of reproduction*. 3rd ed. USA: Elsevier. Vol. 2, 2006b: 2127-2176
34. Fuller A, Meyer LCR, Mitchell D, Maloney SK. Dehydration increases the magnitude of selective brain cooling independently of core temperature in sheep. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2007; 293: R438-R446

35. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Copen. 3ª edición. México: Instituto de Geografía UNAM, 1981
36. García-Ispierto I, López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Nogareda C, López-Béjar M *et al.* Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 2006; 65: 799-807
37. Garverick HA, Smith MF. Mechanisms associated with subnormal luteal function. *J Anim Sci* 1986; Suppl 2: 92-105
38. Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 111-124
39. Gatenby MR. Sheep production in the tropics and sub-tropics. Ed. Longman. London. 1986
40. Gilad E, Meidan R, Berman A, Graber Y, Wolfenson D. Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotropin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *J Reprod Fertil* 1993; 99: 315-321
41. Goyeneche AA, Martinez IL, Deis RP, Gibori G, Telleria CM. In vivo hormonal environment leads to differential susceptibility of the corpus luteum to apoptosis in vitro. *Biol Reprod* 2003; 68: 2322–2330
42. Guzeloglu A, Ambrose JD, Kassa T, Diaz T, Thatcher MJ, Thatcher WW. Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. *Anim Reprod Sci* 2001; 66: 15-34
43. Gwazdauskas FC, Thatcher WW, Kiddy CA, Paape MJ, Wilcox CJ. Hormonal patterns during heat stress following PGF_{2α}-tham salt induced luteal regression in heifers. *Theriogenology* 1981; 16: 271-285
44. Hales JRS, Webster MED. Respiratory function during thermal tachypnoea in sheep. *J Physiol* 1967; 190: 241-260
45. Hansen PJ, Drost M, Rivera RM, Paula-Lopes FF, Al-Katanani YM, Kringer CE, Chase CC. Adverse impact of heat stress on embryo

- production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology* 2001; 55:91-103
46. Hansen PJ. Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology* 2007b; 68 Suppl: 242-249
 47. Hansen PJ. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci* 2004; 82–83: 349-360
 48. Hansen PJ. To be or no to be: determinants of embryonic survival following heat shock. *Theriogenology*. 2007a; 68 Suppl: 40-48
 49. Hernández-Cerón J, Chase CC, Hansen JP. Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano, and Angus breeds. *J Dairy Sci* 2004; 87: 53-58
 50. Howell JL, Fuquay JW, Smith AE. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J Dairy Sci* 1994; 77: 735-739
 51. Hu Y, Nephew KP, Pope WF, Day ML. Uterine influences on the formation of subnormal corpora lutea in seasonally anestrous ewes. *J Anim Sci* 1991; 69: 2532-2537
 52. Hunter MG, Ayad VJ, Gilbert CL, Southee JA, Wathes DC. Role of prostaglandin F-2 alpha and oxytocin in the regression of GnRH-induced abnormal corpora lutea in anoestrous ewes. *J Reprod Fertil* 1989; 85 (2): 551-561
 53. Hunter MG. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fertil*. 1991; 43 Suppl: 91-99
 54. Johnson OE, Kamilaris CT, Chrousos PG, Gold WP. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosci Biobehav Rev* 1992; 16:115-130
 55. Jousan, F. D., and P. J. Hansen. Insulin-like Growth Factor-I as a Survival Factor for the Bovine Preimplantation Embryo Exposed to Heat Shock. *Biology of Reproduction* 2004; 7: 1665–1670
 56. Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N, Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest Prod Sci* 2002; 77: 59-91

57. Ladewig J. Chronic intermittent stress: a model for the study of long-term stressors. In: Moberg GP, Mench JA, editors. The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. USA: CAB international; 2000: 159-169
58. Lindner GM, Wright RW. Bovine embryo morphology and evaluation. Theriogenology 1983; 20:407-416
59. Macfarlane MS, Breen KM, Sakurai H, Adams BM, Adams TE. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. Anim Reprod Sci 2000; 63: 167-175
60. Martínez DN, Montaldo VH, Valencia MJ, Porras AA, Hernández-Cerón J. Temperatura rectal, frecuencia respiratoria y niveles de cortisol en ovejas Pelibuey y Suffolk en condiciones de estrés térmico. Memorias XIX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Tampico México; 2005: 654
61. McCracken JA, Custer EE, Lamba JC. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. Physiol Rev 1999; 79: 263-323
62. Mejía VO, Murcia MC, Valencia MJ, Espinosa AF. Administración posmonta de acetato de fluorogestona en ovejas donadoras de embriones. Vet Méx 2000; 31 (2): 129-135
63. Milvae RA, Hinckley ST, Carlson JC. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. Theriogenology 1996; 45: 1327-1349
64. Minitab Inc. Minitab Statistical Software, Release 15 for Windows, State College, Pennsylvania. Minitab® is a registered trademark of Minitab Inc. 2006.
65. Moberg GP. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: Moberg GP, Mench JA, editors. The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. USA: CAB international; 2000: 1-21
66. Montero A, Hernández-Cerón J, Montaldo H, Cortéz A, Romero R. Concentración de la proteína de choque calórico 70 (HSP-70) en linfocitos

- de ovejas Pelibuey y Suffolk en condiciones de estrés calórico. Memorias de XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Veracruz México. 2006
67. Montgomery CD, Hines WW. Probabilidad y estadística: para ingeniería y administración. 3ª ed. México: CECSA. 1993
68. Monty DE, Racowsky C. *In vitro* evaluation of early embryo viability and development in summer heat-stressed, superovulated dairy cows. *Theriogenology* 1987; 28 (4): 451-465
69. Moran J. Tropical dairy farming: feeding management for small holder dairy farmers in the humid tropics. Landlinks press 2005; 275-291
70. Moreira F, Paula-Lopes FF, Hernández-Cerón J, Moore K, Hansen PJ. Protocol to count cell number of preimplantation embryos using nuclear staining with Hoechst 33342 or DAPI. University of Florida. 2001
71. Naqvi SMK, Maurya VP, Gulyani R, Joshi A, Mittal JP. The effect of thermal stress on superovulatory response and embryo production in Bharat Merino Ewes. *Small Rumin Res* 2004; 55: 57-63
72. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* 2000; 80: 1-29
73. Paula-Lopes FF, Chase CC, Al-katanani YM, Krininger CE, Rivera RM, Tekin S *et al.* Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. *Reproduction* 2003; 125: 285-294
74. Paula-Lopes FF, Hansen PJ. Heat shock-induced apoptosis in preimplantation bovine embryos is a developmentally regulated phenomenon. *Biol Reprod* 2002; 66: 1169-1177
75. Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 post insemination. *Theriogenology* 1988a; 30 (2): 195-209

76. Putney DJ, Malayer JR, Gross TS, Thatcher WW, Hansen PJ, Drost M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. *Biol Reprod* 1988b; 39: 717-728
77. Putney DJ, Mullins S, Thatcher WW, Drost M, Gross TS. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. *Anim Reprod Sci* 1989a; 19: 37-51
78. Putney DJ, Torres CAA, Gross TS, Thatcher WW, Plante C, Drost M. Modulation of uterine prostaglandin biosynthesis by pregnant and nonpregnant cows at day 17 post-estrus in response to in vivo and in vitro heat stress. *Anim Reprod Sci* 1989b; 20: 31-47
79. Roberts JS, McCracken JA. Does prostaglandin F_{2α} released from the uterus by oxytocin mediate the oxytocic action of oxytocin?. *Biol Reprod* 1976; 15: 457-463
80. Rocha A, Randel RD, Broussard JR, Lim JM, Blair RM, Roussel JD, Godke RA, Hansel W. High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 1998; 49: 657-665
81. Rodríguez M., J. Hernández-Cerón, H. Montaldo H., y A. Balcázar. Función del cuerpo lúteo en ovejas Pelibuey y Suffolk expuestas a estrés térmico. *In: Memorias de la XLIII reunión nacional de investigación pecuaria*. Sinaloa México. 2007:106
82. Roman-Ponce H, Thatcher WW, Caton D, Barron CH, Wilcox CJ . Thermal stress effects on uterine blood flow in dairy cows. *J Anim Sci* 1978; 46: 175-180
83. Roman-Ponce H, Thatcher WW, Wilcox CJ. Hormonal interrelationships and physiological responses of lactating dairy cows to a shade management system in a subtropical environment. *Theriogenology* 1981; 16: 139-154
84. Ross TT, Goode L, Linnerud AC. Effects of high ambient temperature on respiration rate, rectal temperature, fetal development and thyroid gland

- activity in tropical and temperate breeds of sheep. *Theriogenology* 1985; 24 (2): 259-270
85. Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D. Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction* 2001a; 122: 737-744
86. Roth Z, Hansen PJ. Disruption of nuclear maturation and rearrangement of cytoskeletal elements in bovine oocytes exposed to heat shock during maturation. *Reproduction* 2005; 129: 235-244
87. Roth Z, Hansen PJ. Involvement of apoptosis in disruption of developmental competence of bovine oocytes by heat shock during maturation. *Biol Reprod* 2004; 71: 1898-1906
88. Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Wolfenson D. Immediate and delayed effects of the heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J Reprod Fertil* 2000; 120: 83-90
89. Roth Z, Meidan R, Shaham-Albalancy A, Braw-Tal R, Wolfenson D. Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction* 2001b; 121: 745-751
90. Ruckebusch Y, Phaneuf L, Dunlop R. *Fisiología de pequeñas y grandes especies*. Ed. MANUAL MODERNO. México. 1994
91. Russel JF, Doney JM, Gunn RG. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci Camb* 1969; 72: 451-454
92. Saharrea A, Valencia J, Balcázar A, Mejía O, Cerbón JL, Caballero V, Zarco L. Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology* 1998; 50: 1039-1052
93. Sakatani M, Kobayashi S, Takahashi M. Effects of heat shock on in vitro development and intracellular oxidative state of bovine preimplantation embryos. *Mol Reprod Dev* 2004; 67: 77-82
94. Sangha GK, Sharma RK, Guraya SS. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Rumin Res* 2002; 43: 53-64

95. Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 2002; 85: 2803-2812
96. SAS Institute Inc. SAS OnlineDoc® 9.1. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 2003.
97. Sawyer GJ. The influence of radiant heat load on reproduction in the Merino ewe. I The effect of timing and duration of heating. *Aust J Agric Res* 1979a; 30: 1133-1141
98. Sawyer GJ. The influence of radiant heat load on reproduction in the Merino ewe. II The relative effects of heating before and after insemination. *Aust J Agric Res* 1979b, 30: 1143-1149
99. Schiewe MC, Fitz TA, Brown JL, Stuart LD, Wildt DE. Relationship of oestrus synchronization method, circulating hormones, luteinizing hormone and prostaglandin F-2a receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep *J Reprod Fertil* 1991;93:19-30
100. Schrock GE, Saxton AM, Schrick FN, Edwards JL. Early in vitro fertilization improves development of bovine ova heat stressed during in vitro maturation. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4297-4303
101. Silanikove N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest Prod Sci* 2000; 67: 1-18
102. Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F_{2α} during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod* 1991; 45: 655-663
103. Smith RF, Dobson H. Hormonal interactions within the hypothalamus and pituitary with respect to stress and reproduction in sheep. *Domestic Anim Endocrinol* 2002; 23: 75-85
104. Smith RF, Ghuman SP, Evans NP, Karsch FJ, Dobson H. Stress and the control of LH secretion in the ewe. *Reproduction*. 2003; 61 Suppl: 267-282

105. Southee JA, Hunter MG, Law AS, Haresing W. Effect of hysterectomy on the short life-cycle corpus luteum produced after GnRH-induced ovulation in the anoestrous ewe. *J Reprod Fertil* 1988; 84 (1): 149- 155
106. Sugiyama S, McGowan M, Kafi M, Phillips N, Young M. Effects of increased ambient temperature on the development of in vitro derived bovine zygotes. *Theriogenology* 2003; 60: 1039-1047
107. Swenson JM, Reece OW. *Fisiología de los animales domésticos de Dukes*. Ed. LIMUSA. ed. 2^a. Tomo 2. México. 1999
108. Thatcher WW, Collier JR. Efecto del calor sobre la productividad animal. *Secretaria de agricultura y recursos hidráulicos. Instituto nacional de investigaciones pecuarias*. Veracruz, México. 1983: 1-67
109. Thimonier J, Chemineau P. Seasonality of reproduction in female farm animals under a tropical environment (cattle, sheep and goats). *Memorias 11 th Inter. Cong. on Anim Reprod and AI. Volumen 5: 1988*
110. Thompson GE. Review of the progress of dairy science: climatic physiology of cattle. *J Dairy Res* 1973; 40: 441 – 473.
111. Thwaites CJ. Embryo mortality in the heat stressed ewe: I. The influence of breed. *J Reprod Fertil* 1967; 14: 5-14
112. Thwaites CJ. Embryo mortality in the heat stressed ewe: II. Application of hot-room results to field conditions. *J Reprod Fertil* 1969; 19: 255-262
113. Thwaites CJ. Embryo mortality in the heat stressed ewe: III. The role of the corpus luteum, thyroid and adrenal glands. *J Reprod Fertil* 1970; 21: 95-107
114. Tilbrook AJ, Turner AI, Clarke IJ. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Rev Reprod* 2000; 5: 105-113
115. Tsigos C, Chousos PG. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosomatic Res* 2002; 53: 865-871
116. Valencia J, Gonzalez-Reyna A, Lopez-Barbella S. F. Hair sheep in México and Venezuela: reproduction in pelibuey and west African sheep. *Reproduction hair sheep* 1990; 299-320

117. Vasconcelos JLM, Demétrio DGB, Santos RM, Chiari JR, Rodrigues CA, Sá Filho OG. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology* 2006; 65: 192-200
118. Veissier I, Boissy A. Stress and welfare: two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiol Behav* 2006; 1-5
119. Webb R, Woad KJ, Armstrong DG. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domest Anim Endocrinol* 2002; 23: 277-285
120. Wiltbank MC. Cell types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function. *J Anim Sci* 1994; 72: 1873-1883
121. Wise ME, Armstrong DV, Huber JT, Hunter R, Wiersma F. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J Dairy Sci* 1988; 71: 2480-2485
122. Wolfenson D, Thatcher WW, Badinga L, Savio JD, Meidan R, Lew BJ *et al.* Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol Reprod* 1995; 52:1106-1113
123. Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim Reprod Sci* 1997; 9-19
124. Wolfenson D, Roth Z, Meidan R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 535-547
125. Yousef MK. *Stress physiology in livestock*. Ed. CRC. Vol. 1. Estados Unidos. 1985
126. Zollers WG, Garverick HA, Youngquist RS, Ottobre JS, Silcox RW, Copelin JP, Smith MF. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *Biol Reprod* 1991; 44 : 522-526

¿Cuál es...?

El día más bello...
La cosa más fácil...
El obstáculo más grande...
El mayor error...
La raíz de todos los males...
La distracción más bella...
Los mejores profesores...
La primera necesidad...
Lo que nos hace más felices...
El misterio más grande...
El peor defecto...
La persona más peligrosa...
El sentimiento más ruin...
El regalo más bello...
Lo más imprescindible...
La ruta más rápida...
La sensación más grata...
El resguardo más eficaz...
El mejor remedio...
La mayor satisfacción...
La fuerza más potente del mundo...
Las personas más necesarias...
La cosa más bella de todas...

hoy.
equivocarse.
el miedo.
abandonarse.
el egoísmo.
el trabajo.
los niños.
comunicarse.
ser útiles a los demás.
la muerte.
el mal humor.
la mentirosa.
el rencor.
el perdón.
el hogar.
el camino correcto.
la paz interior.
la sonrisa.
el optimismo.
el deber cumplido.
la fe.
los padres.
el amor.

Madre Teresa de Calcuta