

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Instituto de Ciencias Agrícolas



**EFICIENCIA REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA DE VACAS
HOLSTEIN SUPLEMENTADAS CON MINERALES DURANTE
LA ÉPOCA DE VERANO**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA

ANDREA DAHNAE DEL RÍO AVILÉS

DIRECTOR

PhD. Abelardo Correa Calderón

CO-DIRECTOR

PhD. Pablo Luna Nevárez

MEXICALI, B.C.

DICIEMBRE 2019

La presente tesis titulada “EFICIENCIA REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA DE VACAS HOLSTEIN SUPLEMENTADAS CON MINERALES DURANTE LA ÉPOCA DE VERANO”, realizada por la C. Andrea Dahnae Del Río Avilés, fue dirigida por el PhD. Abelardo Correa Calderón siendo aceptada, revisada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCION ANIMAL

Comité Particular

Presidente/ _____

Director de Tesis

PhD. Abelardo Correa Calderón



Co-Director _____

PhD. Pablo Luna Nevárez

Sinodal _____

PhD. Leonel Avendaño Reyes

Sinodal _____

Dr. Ulises Macías Cruz

“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE”

AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIAS

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIAS	iii
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Panorama actual de la producción láctea.....	3
2.1.1 Nacional y estatal.....	3
2.2 Estrés por calor y zona termoneutral.....	4
2.3 Factores ambientales relacionados con el estrés por calor.....	6
2.4 Índice de temperatura y humedad (ITH).....	8
2.5 Efectos del estrés por calor en el ganado lechero.....	9
2.5.1 Respuestas fisiológicas ante el estrés por calor.....	9
2.5.2 Efectos del estrés por calor en la eficiencia reproductiva.....	14
2.5.3 Efectos del estrés por calor sobre la producción y características químicas de la leche.....	17
2.6 Relación de los minerales con el estrés por calor en ganado lechero.....	18
2.6.1 Efectos en las respuestas fisiológicas.....	19
2.6.2 Efectos en el metabolismo del ganado bovino.....	21
2.6.3 Efectos en el desempeño reproductivo.....	22
2.6.4 Efectos en la producción y composición química de la leche.....	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1 Sitio de estudio.....	26
3.2 Animales, diseño experimental y manejo reproductivo.....	26
3.3 Sistema de enfriamiento y alimentación.....	28
3.4 Variables climáticas.....	29
3.5 Variables fisiológicas.....	29
3.6 Actividad ovárica y tasa de concepción.....	30

3.7 Medición de progesterona y estradiol	31
3.8 Producción y composición química de la leche.....	32
3.9 Análisis estadístico.....	32
IV. RESULTADOS	34
4.1 Variables climáticas	34
4.2 Variables fisiológicas.....	36
4.3 Actividad ovárica y concentración de hormonas esteroidales	39
4.4 Tasa de concepción	41
4.5 Producción y composición química de la leche.....	41
V. DISCUSIÓN	43
5.1 Variables climáticas	43
5.2 Variables fisiológicas.....	43
5.3 Actividad ovárica y concentración de hormonas esteroidales	46
5.4 Tasa de concepción	53
5.5 Producción y composición química de la leche.....	54
VI. CONCLUSIÓN	57
LITERATURA CITADA	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Composición química de Fosfosan®	28
.....		
Cuadro 2	Estadísticos descriptivos de las variables climáticas	35
.....		
Cuadro 3	Efecto del suplemento mineral inyectable sobre variables fisiológicas de vacas Holstein estresadas por calor	37
.....		
Cuadro 4	Efecto del suplemento mineral inyectable y tiempo sobre la actividad ovárica y concentración de hormonas esteroidales	40
.....		
Cuadro 5	Tasa de concepción para vacas con y sin suplemento mineral inyectable	42
.....		
Cuadro 6	Promedios y errores estándar de producción, temperatura y composición química de la leche en vacas con y sin suplemento mineral inyectable	43
.....		

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Protocolo de sincronización de la ovulación CIDR-Synch	29
Figura 2	Regiones del cuerpo donde se tomaron las temperaturas de la superficie del pelo	31
Figura 3	Condiciones climáticas promedio durante las 24 h del día	36
Figura 4	Temperatura vaginal durante las 24 h del día en vacas suplementadas y no suplementadas con minerales	39
Figura 5	Concentraciones de progesterona de vacas suplementadas y no suplementadas con minerales en cada día de muestreo	41

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el efecto de la aplicación de un suplemento mineral inyectable basado en fósforo (P), selenio (Se), potasio (K), magnesio (Mg) y cobre (Cu), sobre la eficiencia productiva, reproductiva y respuestas fisiológicas de vacas Holstein estresadas por calor. Dieciséis vacas fueron asignadas a uno de dos tratamientos usando un diseño de bloques completos al azar. El número de lactancias (una o más de una) fue considerado como factor de bloqueo. Los tratamientos fueron: Suplementado (SUP; n = 8), vacas tratadas con minerales, y Testigo (TES; n = 8), vacas no tratadas. La temperatura ambiental y la humedad relativa se midieron para estimar el índice temperatura-humedad (ITH). Variables productivas y fisiológicas fueron registradas dos veces al día (05:00 y 17:00 h), dos días por semana, durante 6 semanas. Para evaluar la eficiencia reproductiva, todas las vacas fueron sometidas a un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando el protocolo de sincronización CIDR-Synch. Durante y después de la aplicación del protocolo, variables asociadas a la actividad ovárica y la concentración de hormonas esteroidales fueron registradas. El diagnóstico de gestación se realizó 35 d después de la IATF. Durante el experimento, todas las vacas permanecieron bajo condiciones de estrés por calor (p. ej., temperatura = 29.8 ± 4.7 °C, ITH = 79.4 ± 4.3 unidades); sin embargo, el suplemento mineral parenteral impactó positivamente ($P < 0.05$) variables fisiológicas relacionadas con la respuesta al mismo disminuyendo la frecuencia respiratoria y temperaturas de pierna y ubre. Para variables productivas, el suplemento mineral aumentó sólidos no grasos, densidad, proteína y lactosa en leche, disminuyendo su punto de congelación ($P < 0.05$). En el aspecto reproductivo, el suplemento mineral aumentó ($P < 0.05$) las concentraciones séricas de progesterona y estrógenos. Adicionalmente, la tasa de concepción de vacas suplementadas con minerales resultó mejor que la de vacas no suplementadas ($P < 0.05$). En conclusión, los resultados sugieren que la aplicación de un suplemento mineral a vacas Holstein estresadas por calor, podría contrarrestar algunos efectos negativos del mismo sobre la fisiología y las habilidades productiva y reproductiva del ganado lechero.

Palabras clave: suplemento mineral, estrés por calor, ganado Holstein.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of the application of an injectable mineral supplement based on phosphorus (P), selenium (Se), potassium (K), magnesium (Mg) and copper (Cu), on the productive and reproductive efficiency, as well as on physiological responses of heat-stressed Holstein cows. Sixteen cows were assigned to one of two treatments using a randomized complete block design. Number of lactations (one or more than one) was considered as the block factor and treatments were: Supplemented (SUP; n = 8), mineral-treated cows, and Control (CON; n = 8), non-treated cows. Ambient temperature and relative humidity were collected to estimate the temperature-humidity index (THI). Productive and physiological variables were registered twice-a-day (05:00 and 17:00 h), twice-a-week, for 6 weeks. In order to evaluate the reproductive efficiency, all cows were subjected to a fixed-time artificial-insemination (fixed-time AI) program utilizing the CIDR-Synch protocol. Pregnancy diagnosis was carried out 35 d after the fixed-time AI. During the experiment, all cows were under heat stress conditions (i.e., temperature = 29.8 ± 4.7 °C, THI = 79.4 ± 4.3 units); however, the parenteral mineral supplementation impacted positively ($P < 0.05$) on physiological variables related to heat stress response reducing respiratory rate and leg and udder temperatures. Among productive variables, mineral supplementation increased solids-non-fat, density, protein and lactose of milk, reducing its freeze point ($P < 0.05$). Within reproductive variables, the mineral treatment increased ($P < 0.05$) serum concentrations of progesterone and estradiol. Moreover, the conception rate of the mineral-treated group was higher than the one of the non-treated group ($P < 0.05$). In conclusion, these results suggest that the injectable mineral supplementation of heat-stressed Holstein cows could counteract some of the negative effects of heat stress on the physiology, productive and reproductive efficiencies of dairy cattle.

Key words: mineral supplementation, heat stress, Holstein cattle.

I. INTRODUCCIÓN

El estrés por calor (EC) es uno de los mayores retos a los que se enfrenta la industria lechera ubicada en zonas áridas debido a que ejerce efectos negativos sobre la producción, la reproducción y el bienestar del ganado (West, 2003a; Nardone et al., 2010). Ante situaciones de hipertermia, la vaca lechera realiza una serie de cambios homeocinéticos que tienen como propósito mantener normotermia (Collier et al., 2006; Hansen, 2009). Uno de dichos cambios es el redireccionamiento del flujo sanguíneo hacia la periferia del cuerpo para favorecer las pérdidas de calor por vías no evaporativas (Sjaastad et al., 2010). No obstante, las pérdidas de calor no evaporativas disminuyen a medida que la TA aumenta por encima de la temperatura ambiente crítica mínima (25 a 26 °C), por lo que el calor requiere ser disipado evaporativamente mediante sudor y respiración (Coppock et al., 1982; Berman et al., 1985; Du Preez, 2000). Además, la vaca reduce el consumo de alimento y la producción de leche para evitar una mayor producción de calor metabólico (Hansen y Aréchiga, 1999; Rhoads et al., 2009). En conjunto, todos estos ajustes comprometen la capacidad productiva y la composición de la leche, ya que ocurre una reducción en el suministro de nutrientes para su síntesis (West, 2003a; Pragna et al., 2017; De Rensis et al., 2017). En el ámbito reproductivo, el EC reduce la funcionalidad de órganos como útero, ovarios y cuerpo lúteo (CL), lo cual causa afectaciones en el crecimiento folicular, secreción de gonadotropinas, esteroidogénesis, desarrollo de ovocitos, incluso en las respuestas endometriales uterinas (Wolfenson y Roth, 2018; Devi et al., 2019). Todo lo anterior conlleva a dramáticas reducciones en las tasas de fertilidad durante la época cálida (De Rensis et al., 2017).

La adición de minerales representa una estrategia nutricional para contrarrestar los efectos negativos del EC (Kumar, 2015). Los minerales participan en la producción de leche (Guerra-Liera et al., 2012), así como en la síntesis y función de enzimas que protegen al organismo de daños causados por EC (Kamada e Ikumo, 1997; Khorsandi et al., 2016; Krishnan et al., 2017). Existen reportes que sugieren que la administración de minerales puede mejorar algunos indicadores fisiológicos relacionados al EC (Chauhan et al., 2015; Pusta et al., 2018), así como la habilidad productiva (Khorsandi et al., 2016) y reproductiva del ganado (Basini y Tamanini, 2000; Sangha et al., 2002; Senosy et al. 2018). Sin embargo, muchos de los estudios en donde adicionan minerales lo hacen en conjunto con vitaminas y antioxidantes (Aréchiga et al., 1998; Sejian et al. 2014), lo cual podría enmascarar los efectos directos de los minerales. Además, entre los estudios restringidos al uso exclusivo de minerales (De Boer et al., 1981; Oltramari et al., 2014), existe heterogeneidad con respecto a los minerales administrados, lo cual complica la comprensión del mecanismo de acción de cada uno debido al surgimiento de interacciones entre minerales dependiendo de la combinación específica utilizada en cada producto comercial (López-Alonso, 2012). El suplemento utilizado en este estudio ha sido probado en ganado de carne en pastoreo (Penteado et al. 2017; Pessoa et al. 2017); sin embargo, sus efectos no han sido estudiados en ganado lechero estabulado bajo condiciones de EC. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la aplicación de un suplemento mineral inyectable basado en fósforo (P), selenio (Se), potasio (K), magnesio (Mg) y cobre (Cu), sobre la eficiencia productiva, reproductiva y respuestas fisiológicas de vacas Holstein estresadas por calor durante el verano.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Panorama actual de la producción láctea

2.1.1 Nacional y estatal

La leche es un alimento básico para el consumo humano debido a sus propiedades nutricionales, por lo tanto, es uno de los productos pecuarios con más producción en el mundo (FAO, 2016). La producción de leche bovina, es una de las ramas de la ganadería de mayor relevancia a nivel nacional, ya que no sólo se le confiere un alto valor por su aporte nutricional, sino que juega un papel fundamental dentro de la economía de los sectores primario e industrial (Gallardo-Nieto, 2004). De acuerdo a un informe de SAGARPA (2018), la leche representa el tercer producto pecuario de mayor importancia económica en México, representando el 17.22% del producto interno bruto pecuario nacional.

Durante el año 2016, México ocupó la novena posición en la producción mundial de leche y tres de cada cien litros (L) que se produjeron en dicho año en el mundo fueron de origen mexicano. Para finales del 2016, se produjeron 11, 607 millones 493 mil L de leche, es decir, cerca de 32 millones por día (SIAP, 2016). Sin embargo, aún con tales resultados, la producción de leche todavía no logra satisfacer la demanda del consumo. Para marzo de 2017, las necesidades de abasto nacional de leche en polvo fueron de 121 mil 963 toneladas, de las cuales 61% fueron importaciones. El volumen preliminar de importaciones para el primer trimestre de 2017 fue de 74 mil 493 toneladas; 18.4% mayor al mismo periodo en 2016 (SIAP, 2017).

El estado de Sonora tuvo una producción de leche de 116 millones 714 mil L en 2016, misma que fue valorada en 744 millones 823 mil pesos. Dentro de las zonas productivas del estado, Cajeme fue el municipio líder al aportar 40% de la producción estatal (SAGARHPA, 2017). No obstante, la producción de leche en esta entidad se encuentra desafiada por las condiciones climáticas de la misma, ya que de acuerdo con Leyva-Corona et al. (2008a), las condiciones ambientales de verano se caracterizan por periodos prolongados de alta temperatura ambiental (TA), a los que posteriormente se suman aumentos graduales de humedad relativa (HR). Esta combinación de fenómenos ambientales resulta sumamente adversa para el ganado lechero, ya que lo conducen a EC.

2.2 Estrés por calor y zona termoneutral

En términos simples, el EC se define como la suma de las fuerzas externas que actúan sobre el organismo animal y provocan un aumento en su temperatura corporal (Yousef, 1985). Desde el punto de vista termoregulatorio, la vaca lechera se clasifica como un animal homeotermo que mantiene su temperatura corporal relativamente constante dentro de un rango fisiológico estrecho (Stermer et al., 1986). No obstante, debido a su alta capacidad productiva, el ganado lechero posee un metabolismo que genera más calor endógeno que otras especies, por lo que la regulación de su temperatura corporal depende en gran medida de un continuo y delicado intercambio de calor con el medio ambiente (Vercoe, 1999). Existe un rango de TA dentro del cual, la vaca no gasta energía adicional por encima del mantenimiento para calentar o enfriar su cuerpo (West, 2003b). Dicho rango se denomina Zona Termoneutral (ZTN) y dentro de ella, la vaca puede realizar ajustes

fisiológicos enfocados a mantener la temperatura corporal dentro del rango fisiológico normal (38 a 39.1°C; Alzahal et al., 2009), sin necesidad de hacer cambios significativos en su actividad metabólica (Dash et al., 2016). Berman et al. (1985), mencionaron que vacas Holstein pueden mantener una temperatura corporal normal mientras TA no rebase 25 o 26 °C. De manera más detallada, Johnson (1987) mencionó que para vacas lactantes ZTN se ubica entre -0.5 y 20 °C. Por su parte, Collier et al. (2012) comentaron que la ZTN de vacas Holstein lactantes oscila entre -5 y 23.9 °C. En general, cuando TA supera el límite superior de ZTN (~ 25°C) y existen porcentajes de HR mayores al 45 o 50% (Johnson, 1985; Berman et al., 2006), se presenta EC en la vaca lechera, ya que el calor corporal no puede ser disipado al exterior (Kadzere et al., 2002). Ante la presencia de EC, ocurre una serie ajustes fisiológicos y conductuales en las vacas con el fin de eliminar calor y mantener la temperatura corporal dentro del rango fisiológico normal (Khalifa, 2003; Da Silva, 2012; Sailo y Das, 2016). Por ejemplo, las vacas tienden a reducir su consumo de alimento y su actividad física, así como a aumentar su frecuencia respiratoria (FR) y el flujo sanguíneo hacia la periferia, en un intento de evitar generar más calor endógeno y lograr perder calor por medios evaporativos (West, 2003a). Sin embargo, todas estas respuestas tienden a afectar elementos clave de la vida animal como el crecimiento, el desarrollo y la salud, así como evidentemente la productividad y la eficiencia reproductiva en animales adultos (Johnson, 1985; Hahn, 1995; Collier y Gebremedhin, 2015).

2.3 Factores ambientales relacionados con el estrés por calor

De acuerdo con diversos autores (Buffington et al., 1981; Armstrong, 1994; Du Preez, 2000), los factores ambientales que tienen mayor influencia sobre la productividad del ganado lechero son TA y HR, además de radiación solar (RS) y velocidad del viento (VV). La TA es probablemente la variable más investigada y al mismo tiempo la más utilizada como indicador de EC (Arias et al., 2008). Lo anterior se debe a que el intercambio de calor entre la vaca y su entorno se encuentra regulado por un gradiente térmico que establece que, el calor siempre migra de donde hay más a donde hay menos calor, con la finalidad de equilibrar las temperaturas (Precht et al., 1973; Khalifa, 2003). El éxito de mecanismos de disipación de calor tales como conducción, convección y radiación, depende de que la temperatura corporal sea mayor que la ambiental, de lo contrario, son prácticamente ineficientes (Collier et al., 2006). La variación diurna en TA se relaciona en gran medida con la latitud de la región geográfica en cuestión, puesto que latitudes más cercanas al ecuador se caracterizan por presentar TA lo suficientemente elevadas para propiciar la aparición del EC (West, 2003a). Aunque TA se reconoce como el principal factor desencadenante de EC, por sí sola no suele ser una expresión adecuada del impacto completo que tiene el medio ambiente sobre la fisiología del ganado bovino (Nienaber y Hahn, 2004).

Lo anterior se debe a que HR interactúa de manera dinámica con las altas TA aliviando o exacerbando sus efectos. Por ejemplo, cuando HR es baja (menor al 45%), los mecanismos evaporativos de disipación de calor resultan favorecidos y la vaca puede eliminar calor de su cuerpo por medio del jadeo y la sudoración. Por el

contrario, cuando HR es elevada (mayor al 45%), se reduce la tasa de evaporación de los mecanismos antes mencionados y se dificulta la disipación de calor del cuerpo del animal, alterándose significativamente su equilibrio térmico (West, 1994; Da Silva, 2006).

Por su parte, RS es también una variable climática capaz de intensificar la magnitud del EC experimentado por el ganado (Blackshaw y Blackshaw, 1994). La carga de calor en un animal aumenta considerablemente ante la exposición (directa o indirecta) a RS (Yamamoto et al., 1994). Lo anterior ocurre porque el calor radiante se suma al calor endógeno producido por el animal y agrava la condición de hipertermia (Da Silva, 2006). Afortunadamente, es relativamente sencillo mitigar en gran medida los efectos de RS mediante el uso de sombras para el ganado (West, 2003b; Kendall et al., 2006). Varios reportes han demostrado que, de tener la opción, vacas Holstein prefieren utilizar sombras capaces de brindar más protección contra RS (50 y 99% de bloqueo vs 25%), mostrando respuestas conductuales y fisiológicas asociadas a una menor carga de calor en comparación con animales sin sombra (Tucker et al., 2008; Schütz et al., 2009; Schütz et al., 2010). Aunque los efectos negativos de RS pueden ser notablemente reducidos al utilizar sombras apropiadas, reportes en la literatura mantienen el énfasis en la atención que debe ser brindada a esta variable climática para minimizar los impactos del EC (Da Silva et al., 2010; Herbut et al., 2018).

Finalmente, otra variable que también influye en el grado de EC que el ganado lechero puede experimentar es VV (Davis y Mader, 2003; West, 2003a). De acuerdo con Berman (2005), cuando VV es baja (0.2 m/s), la activación de mecanismos como

el jadeo para disipar calor en el ganado Holstein inician a partir de 25°C. Sin embargo, cuando VV aumenta a 0.6 m/s, se requieren temperaturas de 30°C para que el animal comience a jaderar. De lo anterior, se deduce que bajas VV favorecen condiciones hipertérmicas en ganado lechero y, por ende, se requiere la activación de mecanismos fisiológicos compensatorios para regular la temperatura corporal. Por el contrario, la presencia de mayores VV reducen la necesidad de activar mecanismos de disipación de calor por medios evaporativos y contribuyen a mitigar los efectos del EC; siempre y cuando, HR no sea mayor a 45% (Mader et al., 2006).

2.4 Índice temperatura humedad (ITH)

La mayor parte de los estudios a gran escala relacionados con EC generalmente dependen del uso de información climática recolectada por estaciones meteorológicas públicas (Bohmanova et al., 2007; Aguilar et al., 2009; Hernández-Cordero et al., 2017). De acuerdo a Dunn et al. (2014), la información relativa a RS y VV recolectada por dichas estaciones meteorológicas suele no ser completamente representativa de las condiciones climáticas experimentadas por el ganado lechero en los establos aledaños, básicamente debido al uso de sombras en los mismos y porque VV depende de la topografía local. Por lo tanto, comúnmente solo suele utilizarse un indicador climático que combina los efectos de TA y HR, llamado Índice Temperatura – Humedad (ITH). Aunque originalmente fue desarrollado para humanos (Thom, 1959), este indicador fue adaptado para ganado lechero y ha sido modificado a través del tiempo (Buffington et al., 1981; Hahn, 1999; Mader, 2006). En general, combinaciones como bajas TA y altas HR dan como resultado grados de EC similares a los obtenidas con altas TA y bajas HR (Dunn et al., 2014; De Rensis et

al., 2015). La accesibilidad en la obtención de los datos requeridos para su cálculo, así como la simplicidad matemática del mismo, han generado que ITH sea considerado como el método universal de estimación del grado de EC experimentado por el ganado lechero (Ravagnolo y Misztal, 2000; Collier et al., 2006; De Rensis et al., 2015). De acuerdo con Armstrong (1994), existen 5 categorías de EC en el ganado lechero de acuerdo a las unidades de ITH: sin estrés (<72), estrés leve (72-78), estrés moderado (79-88), estrés severo (89-98) y estrés mortal (>98). Sin embargo, recientemente Zimbelman et al. (2009) y Collier et al. (2012), indicaron que tomando en cuenta la capacidad productiva del ganado lechero contemporáneo, el inicio del EC debería ser considerado actualmente entre 68 y 71 unidades, con el resto de categorías estableciéndose de la siguiente manera: estrés leve-moderado (71-79 unidades), estrés moderado-severo (79-89 unidades) y estrés severo-mortal (>89 unidades). Históricamente, la literatura indicaba que la producción de leche y el consumo de alimento no eran afectados cuando los valores de ITH se ubicaban debajo de 72 unidades (Johnson, 1985; Du Preez et al., 1990). En el año 2000, se estimó que la producción de leche en ganado Holstein estadounidense disminuía 0.2 kg por cada unidad de ITH por encima de 72 unidades (Ravagnolo et al., 2000). Sin embargo, reportes más recientes indican que las pérdidas productivas ascienden a 2.2 kg por unidad de ITH encima de 68 unidades (Collier et al., 2012).

2.5 Efectos del estrés por calor en el ganado lechero

2.5.1 Respuestas fisiológicas ante el estrés por calor

Físicamente, el estrés no puede ser medido en un sistema biológico, sin embargo, el organismo animal tiene reacciones específicas en respuesta a

condiciones ambientales que sobrepasan su zona de confort térmico con el fin de mantener su homeostasis (Yousef, 1985). Entre las respuestas básicas antes mencionadas se encuentran: reducción de consumo de alimento, decremento de actividad física, búsqueda de sombra y sitios con mayores corrientes de viento, aumentos del flujo sanguíneo hacia la periferia para incrementar la tasa de sudoración, así como incrementos en FR y gasto cardiaco (Yousef, 1985; Du Preez, 2000; West, 2003b). Aunque el propósito de todas estas respuestas es mantener la homeostasis, en general, todas ellas tienen un efecto perjudicial sobre la productividad y el estado fisiológico normal de la vaca (West, 2003b).

La temperatura corporal, clásicamente, ha sido evaluada mediante el uso de termómetros en cavidades como el recto, vagina o tímpano, aunque también se han utilizado métodos más invasivos que involucran el uso de sensores a nivel vascular, intraperitoneal, intramuscular y digestivo (Torrao et al., 2011; Sellier et al., 2014). La temperatura del cuerpo se considera un parámetro fisiológico de gran importancia debido a que indica el grado de carga térmica que presenta el organismo (Hicks et al., 2001). Entre las diferentes formas de evaluar la temperatura corporal en el ganado, a nivel práctico, la medición de temperatura rectal (TR) se ha consolidado como el método más popular para medir la carga térmica de los animales. Lo anterior deriva de que TR está directamente relacionada con TA y resulta accesible, no es un procedimiento extremadamente invasivo y es de bajo costo (Hicks et al., 2001; Bewley et al., 2008; Pereira et al., 2013). A pesar de su popularidad, varios estudios han demostrado que TR presenta ciertas desventajas, por ejemplo: errores en la lectura de la temperatura como resultado de un manejo inadecuado del termómetro,

la incapacidad de medir TR en un número grande de animales simultáneamente o en un intervalo corto de tiempo, la necesidad de inmovilizar animales para realizar la toma de datos y por último, las implicaciones de tiempo y mano de obra adicional requeridas para su medición (Hicks et al., 2001; Burdick et al., 2012). Si bien TR se ha considerado como el método de referencia para determinar la temperatura corporal (Hicks et al., 2001), Bray et al. (1992) mencionaron que la temperatura vaginal (TV) también puede ser utilizada como un método confiable para determinar el grado de EC del ganado lechero. Varios estudios han demostrado que existe una fuerte correlación entre TR y TV, argumentando incluso que TV es una mejor aproximación a la temperatura corporal que TR (Burdick et al., 2012; Kaufman et al., 2018; Lees et al., 2018).

Otra variable fisiológica de gran importancia en la medición de los efectos del EC es la temperatura de la piel (Sjaastad et al., 2010; Zygmunt et al., 2013). Ante situaciones de hipertermia el calor producido durante los procesos metabólicos se disipa desde las vísceras hasta el exterior del cuerpo por medio de un redireccionamiento del flujo sanguíneo hacia la periferia (Collier et al., 2008; Rashamol et al., 2018; Renquist, 2019). A través del proceso anterior, el calor endógeno es transferido a la piel y su disipación puede llevarse a cabo por mecanismos no evaporativos (conducción, convección o radiación) cuando la temperatura corporal es mayor que la TA, o bien, a través del proceso evaporativo de sudoración cuando TA es mayor que la temperatura corporal (Blackshaw y Blackshaw, 1994; Srikandakumar y Johnson, 2004; Da Silva y Maia, 2011). Con respecto a lo anterior, cuando TA se encuentra por debajo de 35 °C los animales

pueden usar de manera efectiva las 4 rutas de intercambio de calor mencionadas anteriormente (Collier et al., 2006). La temperatura de la piel se encuentra altamente influenciada por las condiciones ambientales, especialmente por TA (Collier et al., 2006; Montanholi et al., 2008; Salles et al; 2016) y RS (Da Silva y Maia, 2011; Da Silva et al., 2012). De manera que, la medición de la temperatura de la piel puede ser de gran utilidad para comprender los mecanismos de respuesta fisiológicos ante el EC.

El avance de la tecnología ha permitido el desarrollo de instrumentos como cámaras termográficas o termómetros láser infrarrojos que permiten monitorear los cambios de temperatura de la piel en el ganado en reacción a las condiciones climáticas (McCafferty, 2007; Gebremedhin et al., 2010; Dos Santos et al., 2017). La termografía infrarroja (TIR) representa un método de monitoreo de la temperatura de la piel rápido, innovador, eficiente, no invasivo y que no requiere ningún contacto directo entre el investigador y los animales (Berry et al., 2003; Johnson et al., 2011; McManus et al., 2016). Por su parte, las pistolas de termografía infrarroja han demostrado ofrecer las mismas ventajas que las cámaras termográficas, además de ser instrumentos de bajo costo para estimar la temperatura de la superficie de la piel en el ganado (Collier et al., 2006). En general, estos equipos contienen un lente que enfoca la radiación térmica infrarroja en un detector, el cual convierte la potencia radiante en una señal eléctrica que, a su vez, es mostrada al operador en unidades de temperatura. Por su parte, los termómetros infrarrojos puntuales, miden la temperatura en un punto de la superficie del animal (área pequeña), que se encuentra determinada por la relación distancia del equipo-punto de medición (Nääs

et al., 2014; Sellier et al., 2014). La temperatura de la superficie de la piel varía de acuerdo a la región del cuerpo donde sea medida (Zygmunt et al., 2013). En un estudio realizado en ganado Holstein por Montanholi et al. (2008), se utilizó una cámara infrarroja y se demostró que existe una estrecha relación entre la producción de calor y la temperatura de las patas, a diferencia de otras ubicaciones del cuerpo.

Otro de los ajustes fisiológicos que ocurren en el ganado como respuesta a condiciones climáticas propias de EC es el incremento de FR (Coppock et al., 1982). Cuando ocurre un aumento abrupto de TA, el animal incrementa la tasa de ventilación respiratoria, comenzando primero con una respiración rápida y superficial (polipnea térmica), que provoca un incremento en la cantidad de aire que pasa a través de la región superior del tracto respiratorio con el fin de estimular la pérdida de calor por evaporación (jadeo). Sin embargo, cuando TA permanece alta (>25 °C) por periodos prolongados, la polipnea térmica cambia a una fase de lento y profundo jadeo conocida como hiperpnea térmica, caracterizada por un incremento en la tasa de ventilación alveolar (McDowell et al., 1969; Collier et al., 1981; Renaudeau et al., 2012). Una FR mayor a 60 respiraciones por minuto (rpm) se le considera como el indicador fenotípico más sensible de EC en vacas lecheras lactantes (Shultz, 1984; Berman et al., 1985). Sin embargo, aunque una hiperpnea térmica mejora la pérdida de calor por evaporación aumentado el volumen respiratorio por minuto, también puede producir alcalosis respiratoria en sangre, lo que podría conducir a una deshidratación moderada o grave (Renaudeau et al., 2012).

2.5.2 Efectos del estrés por calor en la eficiencia reproductiva

La eficiencia reproductiva declina cuando el ganado lechero está sujeto a EC (Ravagnolo y Misztal, 2002; Balamurugan et al., 2017). En general, parecen ser dos vías distintas y en gran parte independientes por las cuales el EC afecta la fertilidad. La primera es el efecto directo de la hipertermia sobre el eje reproductivo, mientras que la segunda es el efecto indirecto sobre la reproducción provocado por la reducción del apetito e ingesta de materia seca, mismas que propician un balance energético negativo (De Rensis y Scaramuzzi, 2003). En cuanto a los efectos directos, se ha demostrado que la dinámica y dominancia folicular se afectan negativamente debido al EC (Wolfenson et al.1995). Badinga et al. (1993) señalan que el EC daña las células de la granulosa y la teca en las primeras etapas de multiplicación y/o diferenciación, lo cual causa efectos perjudiciales a largo plazo en la calidad de los folículos ováricos. Ingraham et al. (1976) señalaron que existe una correlación negativa entre la tasa de concepción y TA en vacas lecheras. Aunado a lo anterior, varios reportes que indican que las pérdidas tempranas de gestación (entre los 8 y los 17 días del periodo embrionario), suelen ser entre 20 y 30% más severas en épocas de verano (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; López-Gatius, 2003;). Por su parte, Ryan et al. (1992) reportaron que la tasa de concepción sufrió un decremento de hasta 50% cuando la TR de vacas lecheras aumentó de 38.5 a 40°C, 72 h después de la inseminación artificial (IA). Pereira et al. (2013), mencionaron que la tasa de concepción al día 60 de gestación se reduce de 21 al 15% cuando la TR incrementa por arriba del límite fisiológico (38 a 39.1 °C; Alzahal et al., 2009). En resumen, existe evidencia suficiente de que EC influye de forma negativa la capacidad de las hembras bovinas para quedar gestantes, puesto que existen

afectaciones en procesos vitales tales como desarrollo folicular, fertilización y desarrollo embrionario (Krishnan et al., 2017; Polsky y von Keyserlingk; 2017; Wolfenson y Roth, 2018).

El EC también ejerce un efecto inhibitor sobre la función endocrina disminuyendo el pico de LH preovulatorio (Ghanem y Nishibori, 2015), lo cual podría afectar la secreción y concentración de progesterona (P_4) en plasma (De Rensis, 2003; Karimi et al., 2018). Lo anteriormente descrito, en realidad ha sido un tema muy controversial, puesto que autores como Wilson et al. (1998), reportaron que el EC no afectó las concentraciones de P_4 en plasma, sin embargo, si pudo retrasar la luteólisis. Por otra parte, otros estudios han señalado que la concentración de P_4 en plasma aumenta bajo condiciones de EC (Abilay et al., 1975; Trout et al., 1998), mientras que, otros reportes mencionan que disminuye (Howell et al., 1994; Ronchi et al., 2001) o que no presenta cambios en su concentración (Roth et al., 2000; Guzeloglu et al., 2001). Las discrepancias entre los reportes relativos a la concentración de P_4 en sangre bajo condiciones de EC, pueden deberse a la heterogeneidad de condiciones experimentales entre los estudios. Por ejemplo, el grado de EC al cual se encontraron sometidas las hembras en algunos estudios fue agudo, mientras que, en otros, fue crónica (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; De Rensis et al., 2017). Otros factores como producción lútea, estado metabólico y fase del ciclo estral, también modifican los niveles de P_4 en sangre y pueden causar alteraciones en la fertilidad de las vacas (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Balamurugan et al., 2017).

Además de la P₄, los estrógenos (E₂) también resultan afectados en vacas bajo condiciones de EC (Karimi et al., 2018). Wolfenson et al. (1995) reportaron que altas TA provocan un incremento en las concentraciones periféricas de estradiol-17 β entre los d 1 y 4 del ciclo estral, seguidas de una reducción gradual durante el resto del ciclo. Por su parte, Wilson et al. (1998) mencionaron que la concentración de estradiol-17 β se ve reducida durante el estro en vacas lecheras estresadas por calor, situación que concuerda con la disminución de concentraciones de LH y la dominancia reducida del folículo seleccionado. Roth et al. (2001) mencionaron que tanto folículos medianos (6 a 9 mm de diámetro) como folículos preovulatorios de vacas estresadas por calor, presentaron menores concentraciones de androstenediona en su líquido folicular y una menor capacidad en sus células de la granulosa para producir estradiol. Lo anterior puede relacionarse a diversos reportes que indican que, bajo condiciones de EC, existe una reducida intensidad de signos del estro en vacas lecheras (Orihuela, 2000; Polsky y von Keyserlingk, 2017). Específicamente, Hansen y Aréchiga (1999) indicaron que el EC induce un letargo físico en vacas que limita considerablemente los movimientos corporales característicos del estro (con el fin evitar el aumento de calor interno). Lo anterior dificulta la detección del estro y termina complicando aún más el éxito de programas reproductivos llevados a cabo durante épocas cálidas (Dash et al., 2016; Krishnan et al., 2017).

2.5.3 Efectos del estrés por calor sobre la producción y características químicas de la leche

Como se ha mencionado anteriormente, el EC trae consigo consecuencias como: disminuciones en el consumo de alimento (West, 2003a), cambios en su comportamiento (López-Gatius et al., 2005), afectaciones en su salud, bienestar y habilidad reproductiva (Renaudeau et al., 2012) y disminuciones considerables en su rendimiento productivo (Lambertz et al., 2014). Se ha comprobado que cuando una vaca comienza a estresarse por calor, un mecanismo de supervivencia inmediato es reducir su producción de leche y con ello disminuir la generación de calor endógeno (West, 2003a; Rhoads et al., 2009; Polsky y von Keyserlingk, 2017). El grado de afectación que el EC tiene sobre el rendimiento productivo de vacas lecheras se relaciona con el número de partos en las mismas. Vacas múltiparas suelen ser más sensibles a EC que vacas primíparas y los decrementos en su producción láctea pueden ser de hasta 1 kg diario (Bernabucci et al., 2014). No obstante, Igono et al. (1992) mencionaron que aunque el EC prevalece durante el día en regiones cálidas, si durante las noches se dan las condiciones necesarias para que el ganado experimente un periodo fresco de al menos 21°C por un lapso de entre 3 y 6 h, se puede reducir significativamente el declive en el rendimiento productivo.

Por otra parte, cuando TA excede ZTN la composición química de la leche cambia (Bianca, 1965; Kadzere et al., 2002). Gao et al. (2017) reportaron los efectos del EC sobre el metabolismo y la capacidad de producción de proteínas, observando que vacas estresadas por calor presentaron un menor contenido de proteínas en su leche. Por su parte, Collier et al. (2012) mencionaron que TA por encima de los 23.9

°C, además de disminuir proteínas en leche, también reducen el porcentaje de sólidos no grasos, lactosa y grasa. Aunque los autores enfatizaron que efectivamente, el impacto de altas TA suele ser mayor sobre los rendimientos de proteínas y grasa.

2.6 Relación de los minerales con el estrés por calor en ganado lechero

Debido a que animales bajo condiciones de EC reducen su consumo de alimento, típicamente también la ingesta de minerales suele ser menor a la óptima requerida para mantener la eficiencia productiva y reproductiva (Beede y Collier, 1986). Aunado a lo anterior, algunos de mecanismos termoregulatorios empleados por el animal cuando se encuentra bajo EC, acentúan aún más el desbalance de minerales en el organismo (Schneider et al., 1984; 1986). Uno de los principales minerales cuya homeostasis resulta alterada a consecuencia de una respuesta termoregulatoria es el potasio (K), ya que es el principal mineral que se pierde a través la sudoración en el bovino (West, 1994). En este sentido, El-Nouty et al. (1980) reportaron que concentraciones séricas y urinarias de K se redujeron significativamente en un grupo vacas que fueron estresadas por calor, en comparación a las concentraciones de dicho mineral obtenidas en vacas bajo condiciones termoneutrales.

De manera similar, a través de la sudoración también ocurren pérdidas de minerales como sodio (Na), magnesio (Mg), calcio (Ca) y cloro (Cl) (Jenkinson y Mabon, 1973). En el caso del fósforo (P), existen resultados controversiales con respecto a su relación con el EC. Kume et al. (1986) reportaron una disminución de los niveles de P en vacas mantenidas en un ambiente cálido, mientras que Calamari

et al. (2007) observaron una tendencia opuesta. Con respecto a lo anterior, cabe destacar que el NRC (2001), no indica que P esté directamente involucrado en las pérdidas minerales causadas por un ambiente caluroso, por lo que es probable que las diferencias observadas entre estudios se deriven a diferencias en la formulación de las dietas (Cozzi et al., 2011).

2.6.1 Efectos en las respuestas fisiológicas

El clima cálido incrementa la necesidad de minerales del ganado lechero (Harris, 1992). Jones y Stallings (1999) indicaron que esto se debe a que varios minerales se excretan en mayor cantidad en sudor y orina de animales bajo EC. Los mismos autores indicaron que minerales tales como K, Na y Mg deberían incrementarse cuando menos en 1.5, 0.45 y 0.35% en base a la materia seca consumida por vacas lecheras. Por su parte, Calamari et al. (2007) mencionaron que concentraciones plasmáticas de los minerales Mg y zinc (Zn) se reducen significativamente durante periodos de EC. En el caso del Mg, los autores sugirieron que su descenso en plasma podría ser explicado por las afectaciones en el mecanismo de absorción de este mineral a nivel ruminal, ya que el aumento en el consumo de agua a raíz de la exposición al EC provoca importantes diluciones de este mineral dentro del líquido ruminal. En lo respectivo a Zn, los autores reconocieron la dificultad para explicar dicho resultado y recomendaron la realización de más investigaciones al respecto. En este sentido, Przybylska et al. (2007) sugirieron que el posible vínculo de este mineral con respuestas fisiológicas al EC quizás derive de su involucramiento en la formación de la enzima antioxidante superóxido dismutasa dependiente de Cu y Zn (CuZn-SOD). En un experimento

llevado a cabo para investigar los efectos del EC sobre la fermentación ruminal y los niveles séricos de diversos minerales en becerros Holstein, se determinó que el EC causó reducciones del 24, 7, 7, 9, 22 y 7% en las concentraciones séricas de P, Na, K, Cu, Zn y Mg de animales estresados por calor a comparación de animales mantenidos en condiciones termoneutrales (Salles et al., 2010). Ante esto, los autores mencionaron que el NRC (2001) solo menciona que deben ajustarse los niveles de Na y K en la dieta del ganado, principalmente en vacas lactantes expuestas a TA por encima de 30 °C, sin embargo, no hay recomendaciones con respecto a otros minerales, desconociéndose en general su implicación en las diversas respuestas fisiológicas ante el EC y, por ende, la manera en la que deben ajustarse en la dieta.

Por otra parte, minerales como el selenio (Se), podrían relacionarse con variables fisiológicas como FR al formar parte del sistema antioxidante pulmonar (Reddy et al., 1998). Lo anterior se fundamenta en que el incremento en FR del ganado a consecuencia del EC, suele generar que las vacas hiperventilen, lo cual, a su vez, genera condiciones de hiperoxia celular en los pulmones (Coppock et al., 1982; Pusta et al., 2018). La hiperoxia incrementa considerablemente la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *Reactive Oxygen Species*) dentro de los pulmones y, por ende, aumenta también el riesgo de daño celular por estrés oxidativo a estos órganos (Jamieson et al., 1986). El Se es un componente esencial de la enzima glutatión peroxidasa (Se-GSH-px), una de las principales enzimas involucradas en la neutralización de los ROS (peróxidos de hidrógeno e

hidroperóxidos lipídicos) producidos bajo condiciones de hiperoxia (Kamada e Ikumo, 1997; Mustacich y Powis, 2000; Pusta et al., 2018).

2.6.2 Efectos en el metabolismo del ganado bovino

Las reacciones metabólicas generan radicales libres que son controlados mediante la acción de mecanismos antioxidantes del organismo animal (Liochev, 2013). Por otra parte, minerales como Se también se encuentran relacionados con el metabolismo de hormonas tiroideas, ya que una deficiencia del mismo puede producir desbalances en la proporción de niveles de T_3 (triyodotironina) y T_4 (tetrayodotironina) en sangre, induciendo reducciones en T_3 y aumentos en T_4 (Thompson et al., 1995). Lo anterior afecta la tasa de crecimiento en los animales ya que la T_3 (que es una forma activa de la T_4), se encuentra directamente involucrada en los mecanismos de crecimiento del organismo animal (Mehdi y Dufrasne, 2016).

Por su parte, el cobre (Cu) también se relaciona con el sistema antioxidante, ya que forma parte de la enzima superóxido dismutasa (Cu-Zn SOD), responsable de transformar el radical superóxido en peróxido de hidrógeno y agua, reacción que previene efectos dañinos del estrés oxidativo dentro del citoplasma celular (Cromwell, 1997; Liochev, 2013; Halliwell y Gutteridge, 2015). Asimismo, Cu se encuentra involucrado en el metabolismo del hierro al formar parte de la enzima ceruloplasmina, un potente agente antioxidante del plasma sanguíneo (Smith y Cipriano, 1987; Martínez-Subiela et al., 2002). Deficiencias de Cu se han vinculado también con despigmentación de pelaje, pobres tasas de crecimiento, alteraciones en la función cardíaca, anemias, huesos frágiles y deterioradas funciones inmunes y reproductivas en el ganado (Radostis et al., 2006; Hussein y Staufenbiel, 2011).

El P es otro mineral que se encuentra fuertemente relacionado con funciones metabólicas, ya que forma parte del ATP, el cual es la fuente de energía para la mayoría de los procesos metabólicos (Ahuja y Parmar, 2017). Este mineral forma parte de la integridad de la membrana celular (en forma de fosfolípidos) y es requerido en procesos como crecimiento, producción de leche y uso eficiente del alimento, ya que los microorganismos ruminales lo utilizan en la digestión de celulosa y síntesis de proteínas microbianas (Ndlovu et al., 2007; Ahuja y Parmar, 2017). Algunos autores han mencionado que las concentraciones plasmáticas de P en la vaca son bajas durante la lactancia temprana y que varían de acuerdo con el estado fisiológico del animal (Hewett, 1974; Peterson y Waldern, 1981). Sin embargo, existen reportes que discrepan con lo anterior (Rowlands et al., 1975; Oregui et al., 1988).

2.6.3 Efectos en el desempeño reproductivo

El balance energético negativo que se produce en el periodo de transición de vacas lecheras con alto potencial productivo comúnmente las conduce a un bajo desempeño reproductivo (Wathes et al., 2007). Ahuja y Parmar (2017) señalaron que, entre otros nutrientes, los minerales juegan un papel muy valioso en el mantenimiento de la salud reproductiva de un rebaño lechero. El NRC (2001) clasifica a los minerales dependiendo de la cantidad de los mismos que necesita ser ingerida a través de la dieta. Dicha clasificación denomina como “macroelementos” a los minerales que requieren ser consumidos en grandes cantidades (Ca, P, K, Na, Cl y Mg), y como “oligoelementos” a los que se requieren en pequeña cantidad (Cu, Co, Se, Mn, I, Zn, Fe, Mo y Cr). Kumar et al. (2011) señalaron que dentro de los

oligoelementos más importantes para el óptimo desempeño reproductivo del ganado se encuentran Cu, Co, Se, Zn, Fe, Cr y Mo. Varios de estos minerales son componentes de hormonas y, por lo tanto, contribuyen a regular actividades endócrinas. De tal manera que algún cambio en sus niveles, puede alterar el ciclo estral, el desarrollo embrionario, la involución uterina y, en general, la fertilidad del ganado (Parnekar, 2003; Hackbart et al., 2010; Kumar et al., 2011).

Entre los macroelementos, P es uno de los minerales más asociados a la disminución del rendimiento reproductivo en vacas lecheras (Yasoithai, 2014). Kumar (2003) señaló que se requieren adecuadas concentraciones plasmáticas este mineral para un adecuado comportamiento sexual del ganado. Similarmente, se ha señalado que niveles bajos o deficientes de P en sangre (<1.4 mmol/L) conllevan a un inicio tardío de la pubertad, presentación de estros silenciosos o irregulares, disminución de actividad ovárica, partos distócicos e incluso muertes durante el parto por falta de tono muscular uterino (Sheela y Ajay, 2004; Grünberg et al., 2005). Yasoithai (2014) también reportó que en el ganado lechero las deficiencias de P provocan un aumento en número de servicios por concepción derivado de bajas tasas de concepción. Por su parte, Na y K se encuentran indirectamente relacionados con la reproducción en el ganado, puesto que, deficiencias de sodio evitan la utilización de proteínas y energía por parte del animal, afectando la fisiología reproductiva normal (Yasoithai, 2014). El mismo autor, señala que una deficiencia de K es capaz de causar debilidad muscular en el aparato reproductor de la hembra, causando deterioro en procesos reproductivos. Por el contrario, niveles tóxicos de K en la dieta (>3 ppm), se han asociado con retrasos del inicio de la pubertad y la ovulación, así como también a la

mala calidad del CL y aumento en la duración del anestro, lo que conlleva a una reducción general de la fertilidad (Ward y Lardy, 2005; Ahuja y Parmar, 2017).

Por su parte, Cu y Mg también se encuentran relacionados con el desempeño reproductivo del ganado lechero, puesto que sus deficiencias han sido vinculadas con retrasos en el crecimiento, anorexia, inmunodepresión y anemias (Ingraham et al., 1987; Graham, 1991; Matsui, 2007). La deficiencia sérica de Mg (<4 $\mu\text{mol/L}$) puede ocasionar infecciones uterinas postparto relacionadas con celos repetidos y, en casos extremos, con hipocalcemia puerperal (Ingraham et al., 1987; Schonewille, 2013). Por otra parte, anemias derivadas de la deficiencia de Cu (<4 $\mu\text{mol/L}$), han sido relacionadas con depresiones de la función ovárica e infertilidad después del parto en vacas lecheras (Wagner y Hansel, 1969; Kappel et al., 1984; Suttle, 1993). Mudgal et al. (2014) señalaron que deficiencias de Cu también se asocian a problemas de retención placentaria, muerte embrionaria y reducción de la tasa de concepción. Desde el punto de vista endocrinológico, los niveles de Cu en sangre presentan una correlación positiva con las concentraciones de hormonas reproductivas como P_4 y E_2 (Prasad et al., 1989). Inclusive, hay reportes que indican que vacas con altos niveles de Cu en sangre, muestran menos días al primer servicio, menos servicios por concepción y menos días abiertos (Hutjens, 2000).

Deficiencias de P (<1.4 mmol/L de suero) producen celos irregulares e infertilidad, además de bajas en consumo de alimento, producción de leche y actividad ovárica (Cromwell, 1997; Grünberg et al., 2005). Por último, Se es uno de los minerales que también se encuentran relacionados con una adecuada reproducción. Deficiencias séricas de Se (<85 nmol/L) pueden causar irregularidades

en la presentación del estro y retención de membranas fetales tras el parto (Randhawa y Randhawa, 1994; Thompson et al., 1998). Otros reportes han indicado que deficiencias de este mineral también se vinculan con la presentación de ovarios quísticos, mayores incidencias de abortos, mastitis, metritis y, en general, reducciones de fertilidad (Puls, 1994; Patterson et al., 2003; Yasothai, 2014).

2.6.4 Efectos en la producción y composición química de la leche

La leche de vaca contiene Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Cu, P, fluoruros y yoduros, entre otros minerales contenidos en menores cantidades. Dentro de la membrana de los glóbulos grasos, se encuentran en mayor concentración Ca, Co, Fe, Mg, Mn, P y Zn. Al principio de la lactancia, desciende el contenido de Ca y P, mientras que, al final de la misma, aumentan ligeramente. Por su parte, el K también disminuye, mientras que Na tiende a aumentar y Mg permanece estable. El Ca se encuentra influenciado por la época del año, y el Cu depende en gran medida de la dieta de la vaca oscilando entre 0 y 80 mg/L (Agudelo-Gómez y Bedoya-Mejía, 2005).

Diversos estudios, han señalado que la administración de Se a vacas lecheras parece no tener un efecto significativo sobre la producción y características químicas de la leche (particularmente para grasa, proteína y lactosa) (Ran et al., 2010; Meyer et al., 2014; Horký, 2015). Sin embargo, la aplicación de suplementos dietéticos de Se adicionado con vitamina E en vacas lecheras puede tener efectos significativos, ya que se han registrado aumentos del porcentaje de proteína, sólidos no grasos y lactosa (Guerra-Liera et al., 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Sitio de estudio

El presente estudio se llevó a cabo del 11 de junio al 24 de julio del 2018 en la Unidad Académica de Investigación en Producción Lechera, del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), localizada en el Block 910 del Valle del Yaqui, Sonora. Las coordenadas geográficas son 27°21´ Latitud Norte y 109°54´ Longitud Oeste. El sitio tiene una altitud de 46 msnm y condiciones climáticas varían de seco a semi-húmedo, con lluvias en verano (julio - septiembre), precipitación promedio anual de 371.6 mm y una temperatura promedio anual de 23 °C. En esta zona se pueden registrar temperaturas de hasta 48 °C e ITH de hasta 85 unidades en el verano (Leyva-Corona et al., 2015).

3.2 Animales, diseño experimental y manejo reproductivo

Se utilizaron 16 vacas Holstein, de 1 a 8 lactancias, con un promedio de 167 ± 45 días en leche y una condición corporal (CC) entre 2.5 - 3.0, donde 1 es emaciada y 5 es obesa (Lowman et al., 1976). Las unidades experimentales fueron asignadas bajo un diseño de bloques completos al azar a uno de dos tratamientos. El número de lactancias (una o más de una) fue considerado como factor de bloqueo y los tratamientos fueron: 1) Testigo (TES; n = 8), las vacas no recibieron ningún suplemento mineral, y 2) Suplementado con minerales (SUP; n = 8), cada vaca recibió 3 aplicaciones intramusculares (10 mL c/u) de Fosfosan® (Laboratorio Virbac Santa Elena, Montevideo, Uruguay). El Cuadro 1, muestra la composición química de este producto comercial. La primera aplicación se dio al inicio del experimento, y ocho días más tarde se realizó la segunda aplicación, misma que coincidió con el

inicio del protocolo de sincronización de la ovulación “CIDR-Synch”; finalmente, la tercera aplicación se llevó a cabo al momento de la IA.

Cuadro 1. Composición química de Fosfosan®

Componente	Cantidad en 100 mL	Cantidad en 10 mL
Glicerofosfato de sodio 5.5H ₂ O (g)	14.00	1.400
Fosfato monosódico 2H ₂ O (g)	20.10	2.010
Cloruro de cobre 2H ₂ O (g)	0.40	0.040
Cloruro de potasio (g)	0.60	0.060
Cloruro de magnesio (g)	2.50	0.250
Selenato de sodio (g)	0.25	0.025
Vehículo idóneo c.s.p. ¹ (mL)	100.00	10.000

¹c.s.p. = cantidad suficiente para.

Previo al inicio del experimento, las vacas fueron revisadas por ultrasonografía transrectal para evaluar la integridad de su aparato reproductor. El protocolo de sincronización se muestra en la **Figura 1**. Dicho protocolo consistió en la aplicación intramuscular (i.m.) de 100 µg de GnRH (Fertagyl®, Intervet, México) en conjunto con la colocación de un dispositivo intravaginal de liberación lenta de progesterona (CIDR®, Pfizer, México) al día -10. El CIDR se retiró 7 días después (día -3) y se aplicaron 25 mg i.m. de PGF2α (Lutalyse®, Pfizer, México). Dos días después se aplicó una segunda dosis de 100 µg de GnRH (día -1). Al paso de 24 h de la última aplicación de GnRH (día 0), todas las vacas se inseminaron a tiempo fijo (IATF).

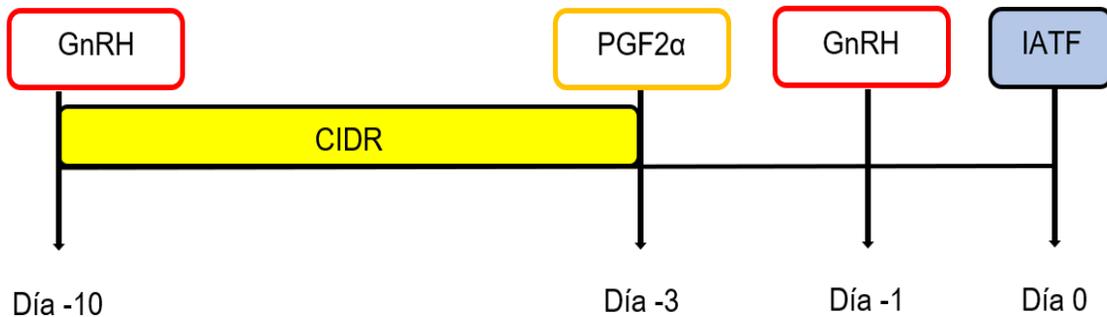


Figura 1. Protocolo de Sincronización de la ovulación CIDR-Synch (Fuente: Adaptado de Cartmill, 2001).

3.3 Sistema de enfriamiento y alimentación

Las vacas fueron alojadas en corrales (34 m por 22 m) con aproximadamente 8.5 m² de sombra por vaca. El material de las sombras fue lámina galvanizada con orientación de norte a sur. Las dimensiones de las sombras fueron 15.00 x 5.40 m con 4.0 m de altura. Los dos tratamientos recibieron 3 ciclos de enfriamiento artificial por medio de una combinación de aspersores y abanicos. El sistema de enfriamiento consistió en 3 abanicos con motor de ½ HP que producían un flujo de aire de 11,000 CFU, además de 16 aspersores que tuvieron un gasto de agua de 15 L por vaca/ciclo de enfriamiento. El ciclo de enfriamiento consistió en 3 min de aspersión de agua, seguidos de 3 min de ventilación forzada. Las vacas fueron alimentadas con una ración integral formulada con 85 % de forraje (60% silo de maíz, 25% heno de alfalfa) y 15 % de concentrado comercial adicionado con vitaminas y minerales (Hi-Bran y Milk Choice). La dieta fue formulada para cumplir con los requerimientos nutricionales de vacas Holstein lactantes con un peso de 600 kg y produciendo 28 kg de leche corregida por grasa al 3.5% (NRC, 2001). La composición química de la dieta fue de 15.3% de proteína cruda, 30.3% de fibra detergente neutra y 1.2 Mcal/kg de energía neta de lactancia. El agua se ofreció a libre acceso.

3.4 Variables climáticas

Los datos de TA y HR fueron registrados por una estación meteorológica (Telemetry Gateway A840®, Adcon Telemetry Inc., Santa Rosa, CA, USA) que contaba con el paquete computacional addVANTAGE 3.45® y sensores ubicados a 2 m del suelo) localizada a ~0.5 km del sitio experimental. La estación meteorológica pertenece a la Red de Estaciones Meteorológicas Automáticas de Sonora (REMAS) y su información puede ser consultada a través del sitio web <http://www.siafeson.com/remas>. El ITH fue calculado utilizando los registros de TA y HR, siguiendo la fórmula descrita por Hahn (1999):

$$\text{ITH} = 0.81 \text{ TA} + \text{HR} (\text{TA} - 14.4) + 46.4$$

3.5 Variables fisiológicas

En todas las unidades experimentales se midió FR (rpm) y las temperaturas superficiales del pelo (TSP, °C) de regiones del cuerpo como cabeza (TCA), paleta (TPA), anca (TAN), pierna (TPIE), flanco derecho (TFD) y ubre (TUB). El sitio anatómico de medición de cada TSP se indica en la **Figura 2**. Estas variables fueron medidas a las 5:00 y 17:00 h, dos veces por semana durante 6 semanas. Para medir FR, se contaron visualmente el número de movimientos intercostales por 60 s (Avendaño-Reyes et al., 2006). Las TSP se midieron con una pistola de láser infrarrojo (modelo 568 Fluke®; precisión ± 1.0 °C), colocada a una distancia aproximada de 3.0 m del animal (Dos Santos et al., 2017). Todas las mediciones se tomaron antes de trasladar las vacas a la sala de ordeño y se trató de evitar la movilización del ganado.

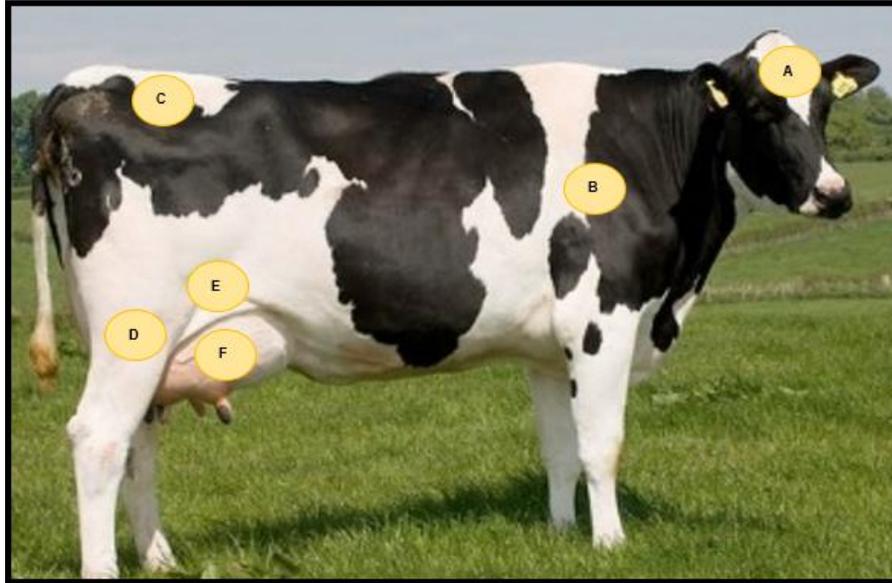


Figura 2. Regiones del cuerpo donde se tomaron las temperaturas de la superficie del pelo. A = cabeza, B = paleta, C = anca, D = pierna, E = flanco derecho y F = ubre.

La temperatura vaginal (TV, °C) se registró mediante sensores de temperatura (HOBO U-12, Onset, MA, USA), los cuales se colocaron en CIDR libres de progesterona para ser insertados en la vagina. Los sensores fueron programados para registrar la temperatura cada 15 min durante 24 h. Dichos sensores se usaron dos veces por semana y fueron colocados en 3 vacas multíparas de cada tratamiento.

3.6 Actividad ovárica y tasa de concepción

La actividad ovárica se evaluó realizando mediciones de las siguientes estructuras ováricas: población folicular (PF), tamaño del folículo dominante (FLD), tamaño del CL (CL) y tamaño de la cavidad del CL (CAVCL). Estas mediciones se realizaron mediante un equipo de ultrasonografía equipado con un transductor transrectal de 7.5 MHz (Sonosite MicroMaxx TM®, Bothell, WA, USA). Considerando

como día 0 cuando se realizó la IATF, PF fue determinada el día -5 del protocolo; posteriormente se efectuó un seguimiento al tamaño del FLD los días -3, -2 y 0 del protocolo. Por otra parte, las mediciones de CL y CAVCL se realizaron los días -3 del protocolo, así como al 4, 9 y 19 del ciclo estral. Por último, la tasa de concepción se determinó realizando un diagnóstico de gestación al día 35 post-IATF utilizando el mismo equipo ultrasonográfico antes descrito.

3.7 Medición de progesterona y estradiol

Se colectaron muestras de sangre mediante punción de la vena coccígea con la ayuda de un kit de muestreo sanguíneo BD vacutainer® (aguja para toma y recolección de sangre con medidas 0.8x38 mm, camisa para sostener tubos y tubos de 10 mL sin anticoagulante y gel separador). Las muestras fueron transportadas al laboratorio de Biotecnología de la Reproducción del ITSON, donde fueron centrifugadas a 3500 g durante 20 min (centrifuga Beckman coulter®, modelo Allegra™ X-22), para separar el suero, mismo que fue almacenado en tubos eppendorf (2 mL) a -20 °C hasta su uso para la determinación de las hormonas.

Las muestras sanguíneas para P_4 se colectaron los días -3 del protocolo y 4, 9 y 19 del ciclo estral, mientras que para E_2 los días -3 y -2 del protocolo solamente. Se emplearon kits comerciales de ELISA para determinar ambas hormonas (Bovine Progesterone (PROG) ELISA Kit y Bovine Estrogen (ES) ELISA kit, MyBioSource LLC, San Diego, CA, EUA). El kit para P_4 tenía una sensibilidad de 0.2 ng/ml y el coeficiente de variación del ensayo fue de 11.3%. Por su parte, el kit para E_2 poseía una sensibilidad de 0.1 ng/ml y su coeficiente de variación intraensayo fue de 8.9%.

3.8 Producción y composición química de la leche.

La producción de leche diaria (PLD) se obtuvo mediante la suma del volumen producido por cada vaca en los dos ordeños del día (06:00 y 18:00 h), utilizando el software Dairy Plan® y mediante un sistema de medición electrónica automatizado integrado al sistema de ordeño del establo (Metatron 21, Westfalia Surge®, Aguascalientes, México). La composición química de la leche se determinó con un analizador de leche ultrasónico (Milko-tester, modelo Master Pro, Belovo, Bulgaria). Las variables de estudio fueron: grasa (GRAS, %), sólidos no grasos (SNG, %), densidad (DEN, kg/m³), proteína (PROT, %), lactosa (LACT, %), sales (SAL, %) y punto de congelación (PC, °C). Las muestras de leche se tomaron directamente de la ubre durante cada ordeño. Adicionalmente, la temperatura de la leche (TL, °C) también se registró usando un termómetro digital (Delta Trak®, Pleasanton, CA, USA). Todas las variables fueron medidas dos veces por semana durante todo el periodo experimental.

3.9 Análisis estadístico

Las estadísticas descriptivas de las variables climáticas fueron estimadas utilizando PROC MEANS del paquete estadístico SAS 9.3 (SAS Institute Inc., 2011). Por su parte, variables fisiológicas (05:00 y 17:00 h), productivas y reproductivas fueron sometidas a un análisis de varianza bajo un diseño de bloques completos al azar con mediciones repetidas en el tiempo usando PROC MIXED de SAS. En todos los modelos, se consideró al número de lactancias (dos categorías: una o más de una) como factor de bloqueo. Todos los modelos incluyeron los efectos de bloque, tratamiento (SUP/TES), tiempo (día de medición) y la interacción tratamiento x

tiempo. Adicionalmente, días en leche y CC fueron incluidas en todos los modelos como covariables lineales. El animal fue anidado dentro de cada tratamiento como un efecto aleatorio. Se verificaron varias estructuras de varianza-covarianza para ajustarse al modelo, y la estructura de componentes de varianza (VC) mostró el mejor ajuste según los criterios AIC y BIC. Las medias fueron separadas con la opción PDIFF/LSMEANS, considerando diferencias significativas cuando $P < 0.05$ y como tendencias cuando $0.05 > P < 0.10$.

Debido a que los termómetros utilizados para medir TV fueron colocados únicamente en vacas multíparas, esta variable se analizó utilizando el mismo modelo antes descrito, pero bajo un diseño completamente al azar con mediciones repetidas en el tiempo. Por otra parte, el efecto del tratamiento sobre la tasa de concepción fue analizado por medio de las pruebas de “Ji-cuadrada” y Exacta de Fisher, considerando un nivel de significancia declarado al 5% usando PROC FREQ de SAS.

IV. RESULTADOS

4.1 Variables climáticas

En el Cuadro 2 se presentan los estadísticos descriptivos de las variables climáticas registradas durante el periodo experimental. Los valores promedio para TA, HR e ITH fueron 29.8 °C, 62.6 % y 79.4 unidades, respectivamente.

Cuadro 2. Estadísticos descriptivos de las variables climáticas registradas durante el desarrollo experimental

Variable	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
Temperatura Ambiental (°C)	1056	29.8	4.7	19.0	40.4
Humedad relativa (%)	1056	62.6	19.0	19.5	99.6
Índice temperatura-humedad (unidades)	1056	79.4	65.5	65.5	88.9

En la **Figura 3** se presentan los resultados (\pm error estándar) de la variación circadiana para cada variable climática por hora del día. La TA mantuvo valores cercanos a los 25 °C durante la noche (00:00 a 05:00 h), sin embargo, a partir de las 06:00 h sus valores aumentaron hasta llegar al pico máximo de 35 °C entre las 12:00 y las 14:00 h. En el caso de HR, su comportamiento fue opuesto al observado en TA, declinando entre 06:00 y 11:00 h. La HR se mantuvo a 45 % entre las 11:00 y 17:00 h. El ITH se mantuvo por arriba de las 80 unidades entre las 08:00 y 18:00 h.

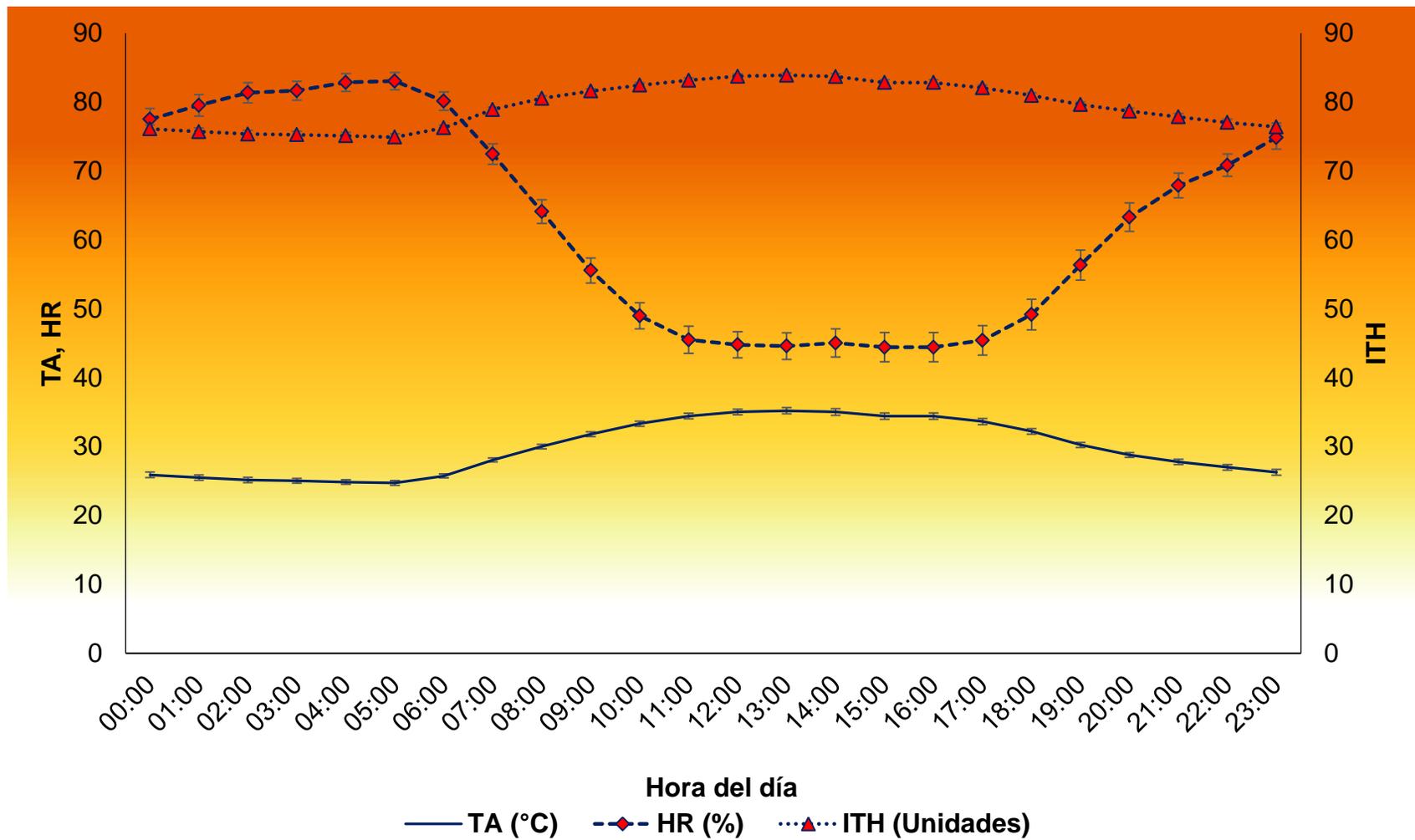


Figura 3. Condiciones climáticas promedio durante las 24 h del día (TA = temperatura ambiental, HR = humedad relativa, ITH = índice de temperatura-humedad).

4.2 Variables fisiológicas

Los resultados de FR y TSP por efecto del suplemento mineral se muestran en el Cuadro 3. El tratamiento con minerales redujo FR ($P = 0.0163$), TPIE ($P = 0.0095$) y TUB ($P = 0.0007$) solamente por las mañanas.

Cuadro 3. Efecto del suplemento mineral inyectable sobre variables fisiológicas de vacas Holstein estresadas por calor

	Tratamientos (Tx)			Valor de P para efectos fijos		
	SUP	TES	EE	Tx	Tiempo	Tx x Tiempo
05:00 h						
Frecuencia respiratoria (rpm)	59.10	63.23	1.12	0.0163	<0.0001	0.9462
Temperatura cabeza (°C)	28.98	29.34	0.18	0.0627	<0.0001	0.6907
Temperatura paleta (°C)	32.64	32.95	0.15	0.0552	<0.0001	0.8121
Temperatura anca (°C)	30.90	31.27	0.22	0.1148	<0.0001	0.9719
Temperatura pierna (°C)	31.26	31.76	0.16	0.0095	<0.0001	0.6992
Temperatura flanco derecho (°C)	32.19	32.46	0.27	0.0567	<0.0001	0.2089
Temperatura ubre (°C)	32.73	33.54	0.18	0.0007	<0.0001	0.8674
17:00 h						
Frecuencia respiratoria (rpm)	68.30	67.48	1.18	0.4965	<0.0001	0.9235
Temperatura cabeza (°C)	35.80	35.65	0.34	0.6609	<0.0001	0.7714
Temperatura paleta (°C)	36.16	36.32	0.22	0.4555	<0.0001	0.9226
Temperatura anca (°C)	36.16	36.18	0.27	0.9424	<0.0001	0.8174
Temperatura pierna (°C)	35.66	35.73	0.24	0.7535	<0.0001	0.6805
Temperatura flanco derecho (°C)	35.91	35.74	0.26	0.5338	<0.0001	0.9732
Temperatura ubre (°C)	36.56	36.57	0.22	0.9594	<0.0001	0.2857

Similarmente, tendió a reducir TPA ($P = 0.0552$) y TFD ($P = 0.0567$) por las mañanas, mientras que mostró una tendencia a causar lo opuesto para TCA ($P = 0.0627$) en el mismo horario. El efecto individual de tratamientos no mostró significancia para ninguna variable durante las tardes ($P > 0.05$). Por su parte, el efecto de tiempo fue significativo ($P < 0.0001$) para todas las variables en ambos horarios de muestreo.

Los promedios de TV durante las 24 h del día para cada grupo experimental se muestran en la **Figura 4**. No existió diferencia significativa ($P > 0.05$) entre vacas suplementadas y no suplementadas con minerales durante las 24 h del día. Únicamente se registró una tendencia por efecto de tratamiento ($P = 0.0946$) a las 12:00 h, mostrando una TV menor el grupo suplementado (39.4 °C) que el testigo (39.7 °C).

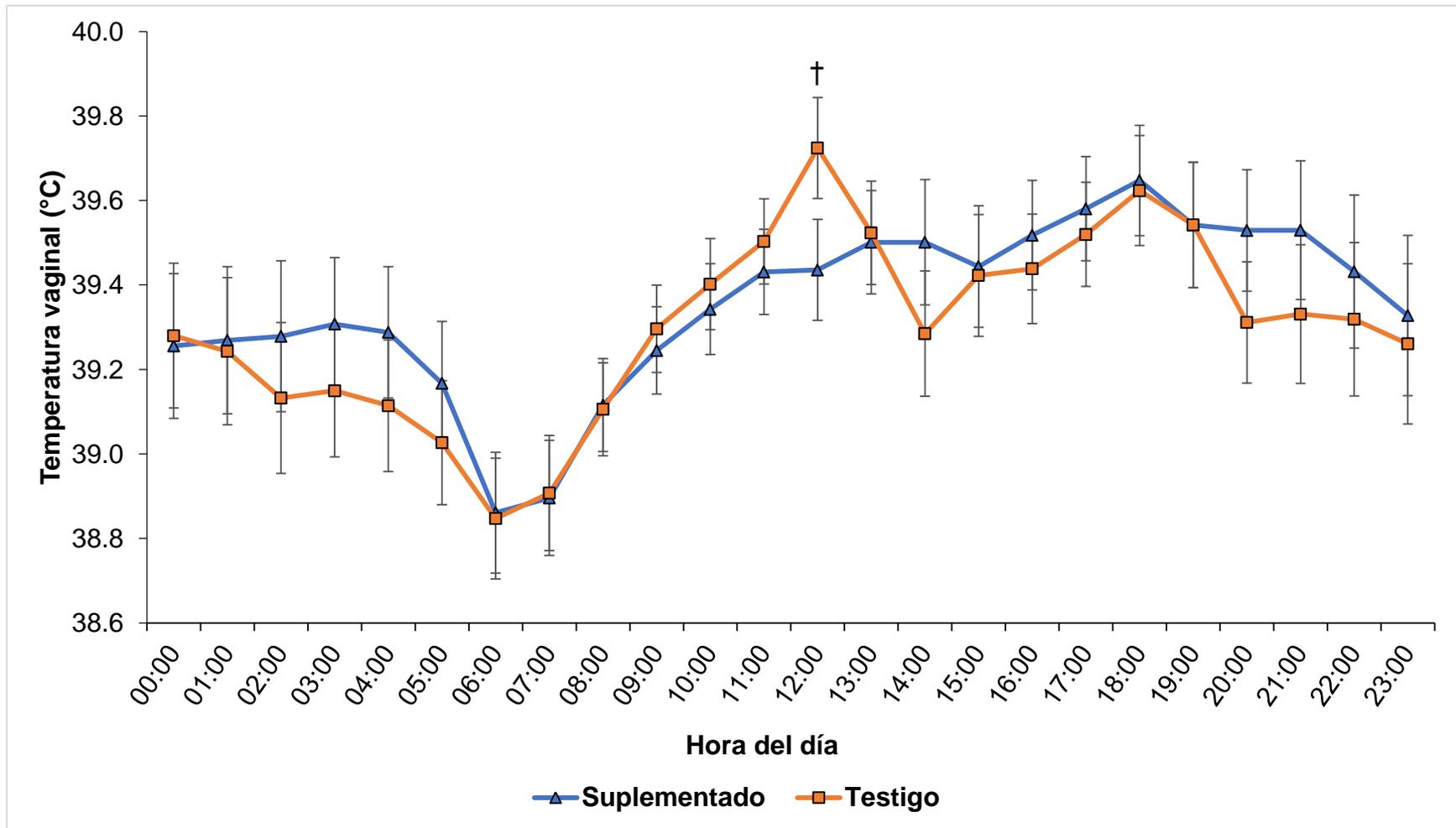


Figura 4. Temperatura vaginal durante las 24 h del día en vacas suplementadas y no suplementadas con minerales.
Tendencia († = 0.05 > P < 0.10) solo a las 12:00 h.

4.3 Actividad ovárica y concentración de hormonas esteroidales

Los resultados de las mediciones de estructuras ováricas y concentraciones hormonales de E₂ y P₄ se muestran en el **Cuadro 4**. El efecto de la interacción de tratamientos y tiempo (día de muestreo), mostró significancia sobre la concentración de P₄ ($P = 0.0459$). Por su parte, el efecto individual de tiempo, mostró significancia para PF ($P = 0.0040$) y CAVCL ($P = 0.0216$). El efecto de tratamientos fue significativo para la concentración de E₂ ($P < 0.0001$) y tendencia para CL ($P = 0.0760$).

Cuadro 4. Efecto del suplemento mineral inyectable y tiempo sobre la actividad ovárica y concentración de hormonas esteroidales

Variable	Tratamientos (Tx)			Valor de P para efectos fijos		
	SUP	TES	EE	Tx	Tiempo	Tx x Tiempo
Población folicular (número)	10.98	9.42	2.22	0.4969	0.0040	0.4212
Folículo dominante (mm)	11.46	11.69	1.26	0.8583	0.6887	0.9462
Cuerpo lúteo (cm)	3.51	1.58	0.99	0.0760	0.3997	0.7400
Cavidad cuerpo lúteo (cm)	0.46	0.58	0.12	0.3551	0.0216	0.3936
Progesterona (ng/mL)	1.46	0.96	0.11	0.0006	<0.0001	0.0459
Estradiol (pg/mL)	6.21	4.91	0.22	<0.0001	0.1516	0.3401

El efecto individual de tratamientos y día de muestreo sobre concentraciones de P_4 se observa en la **Figura 5**. Se aprecia que la concentración de P_4 para el día -3 del protocolo no fue diferente entre el grupo suplementado y el testigo ($P = 0.6244$; 1.57 vs 1.47 ng/mL, respectivamente). Del mismo modo, en el día 4 del ciclo estral las concentraciones de P_4 en ambos grupos experimentales no fueron estadísticamente distintas ($P = 0.1022$; 0.90 vs 0.56 ng/mL).

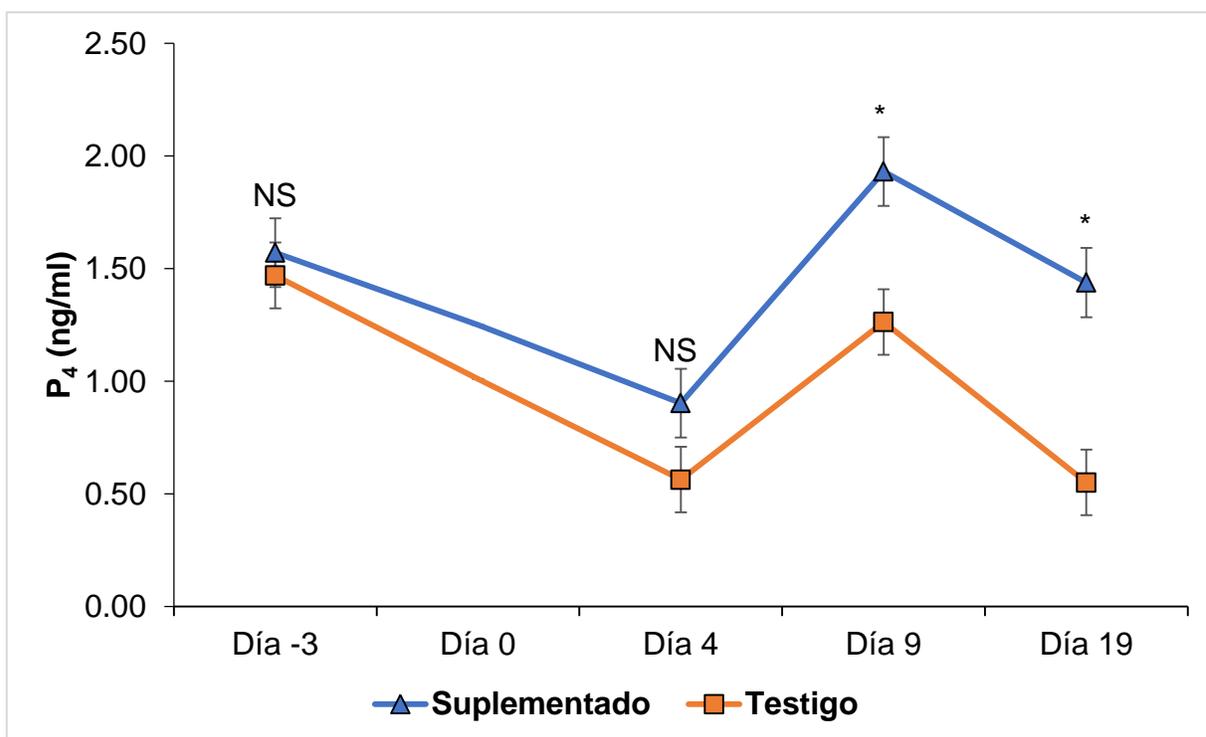


Figura 5. Concentraciones de P_4 de acuerdo al tratamiento en cada día de medición (* = $P < 0.05$; NS = diferencia no significativa).

En el día 9 del ciclo, las concentraciones de P_4 aumentaron en ambos grupos, sin embargo, existió una diferencia significativa ($P = 0.0021$; 1.93 vs 1.26 ng/mL) a favor del grupo suplementado con minerales. Finalmente, el día 19 del ciclo se registró una disminución de concentraciones de P_4 para ambos grupos

experimentales, no obstante, continuó existiendo una diferencia significativa ($P < 0.0001$; 1.44 vs 0.55 ng/mL, respectivamente) a favor del grupo suplementado.

4.4 Tasa de concepción

El grupo suplementado mostró un mayor porcentaje de concepción con respecto al testigo (50 vs 0%, $P < 0.05$). Sin embargo, al analizar esta variable mediante la prueba Exacta de Fisher el efecto de tratamientos resulta en una tendencia ($P = 0.0769$).

Cuadro 5. Tasa de concepción de acuerdo a los tratamientos

Tratamiento	N	Tasa de concepción (%)
Suplementado	8	4/8 (50%) ^a
Testigo	8	0/8 (0%) ^b

^{ab}Literales distintas indican diferencia significativa ($P < 0.05$) en prueba de χ^2 ; N = Unidades experimentales por tratamiento; El número dentro de los paréntesis indica el porcentaje de animales gestantes por tratamiento.

4.5 Producción y composición química de la leche

Los resultados correspondientes a PLD, TL y características químicas de la leche se muestran en el **Cuadro 6**. No se registró ninguna interacción entre tratamientos y tiempo para ninguna variable ($P > 0.05$). Particularmente, se observó que para características como SNG, DENS, PROT, LACT y PC, existió diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$), presentando valores superiores para todas las variables el grupo suplementado sobre el testigo, a excepción del PC, donde los

resultados fueron opuestos. Por otra parte, el suplemento mineral tendió a disminuir TL ($P = 0.0832$). En el resto de variables, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Por su parte, el efecto individual de tiempo, mostró significancia para las variables PLD ($P = <0.0001$) y TL ($P = <0.0001$).

Cuadro 6. Promedios y errores estándar de producción, temperatura y características químicas de la leche en vacas con y sin suplemento mineral inyectable

Variable	Tratamientos (Tx)			Valor de P para efectos fijos		
	SUP	TES	EE	Tx	Tiempo	Tx x Tiempo
Producción de leche diaria (L)	15.94	16.54	0.64	0.3675	<0.0001	0.8855
Temperatura de leche (°C)	36.27	36.40	0.07	0.0832	<0.0001	0.7529
Grasa (%)	2.55	2.44	0.10	0.2843	0.3076	0.9737
Sólidos no grasos (%)	9.31	9.12	0.07	0.0209	0.3102	0.9935
Densidad (kg/m ³)	26.60	26.06	0.20	0.0193	0.2955	0.9909
Proteína (%)	3.35	3.28	0.03	0.0267	0.4299	0.9516
Lactosa (%)	5.04	4.94	0.04	0.0112	0.2552	0.9796
Sales (%)	0.72	0.71	0.01	0.1830	0.3818	0.9426
Punto de congelación (°C)	-0.59	-0.58	0.01	0.0190	0.3817	0.9889

V. DISCUSIÓN

5.1 Variables climáticas

Las condiciones climáticas durante el periodo experimental fueron de EC que varió de moderado a severo para las vacas, según los rangos de ITH indicados por Armstrong (1994). Similares condiciones ambientales de verano fueron reportadas en estudios previos en esta misma región (Leyva-Corona et al., 2008a; 2008b; 2015).

5.2 Variables fisiológicas

La intensidad del EC disminuye por las noches, esto pudo haber favorecido la reducción de FR de todas las vacas durante las mañanas a diferencia de las tardes (Kabuga, 1992). No obstante, aún y cuando las condiciones climáticas fueron las mismas para ambos grupos experimentales durante las noches, se registró una ligera pero significativa reducción en FR para el grupo suplementado en las mañanas. Resultados similares fueron expuestos por Oltramari et al. (2014), quienes compararon los efectos de suplementar con diferentes fuentes de **Se** (orgánico vs inorgánico) en ganado lechero estresado por calor, encontrando que la FR del grupo tratado con **Se** inorgánico fue menor que la del grupo tratado con **Se** orgánico. Sejian et al. (2014) reportaron que un grupo de ovejas Malpura manejadas bajo condiciones de EC y suplementadas con una combinación de minerales (Zn, Cr, Co y **Se**) y antioxidantes (vitamina E), presentó una menor FR en comparación a un grupo no suplementado. Recientemente, Sun et al. (2019) también reportaron que suplementar **Se** a vacas Holstein estresadas por calor redujo su FR.

Una posible explicación al mecanismo fisiológico mediante el cual el **Se** podría influir sobre FR, es que bajo condiciones de EC, los incrementos en FR pueden

provocar una hiperventilación en las vacas, misma que a su vez, tiene la capacidad de generar hiperoxia a nivel celular (Pusta et al., 2018). Durante periodos de hiperoxia, ocurren incrementos en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, *del inglés reactive oxygen species*) dentro de los pulmones, lo cual aumenta el riesgo de daño celular por estrés oxidativo (Jamieson et al., 1986). El **Se** podría contribuir a disminuir FR ya que forma parte de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-px), una de las principales enzimas involucradas en la neutralización de ROS (Kamada e Ikumo,1997). Por lo que, este mineral podría favorecer la defensa antioxidante pulmonar y reducir la necesidad de incrementos excesivos de FR como parte de una reacción preventiva a la hiperventilación.

Con respecto a los resultados obtenidos para TSP, se observó que el suplemento mineral redujo TPIE y TUB por las mañanas. Este resultado concuerda parcialmente con Oltramari et al. (2014), quienes reportaron que un grupo experimental de vacas Holstein tratado con **Se** orgánico, tuvo una media ponderada de TSP más baja que la mostrada por otro grupo experimental tratado con **Se** inorgánico. Es necesario enfatizar que los resultados concuerdan parcialmente, ya que, en primer lugar, las mediciones de TPIE y TUB en esta investigación no son exactamente equivalentes a la media ponderada de TSP reportada por Oltramari et al. (2014). En su caso, los autores siguieron las indicaciones de Pinheiro et al. (2005) y crearon un promedio ponderado final de TSP, dicho promedio fue estimado a través de la combinación de mediciones de temperatura en distintas regiones del cuerpo, mismas a las que les fue asignando un diferente “peso” o “grado de ponderación”, de tal manera que, algunas regiones del cuerpo tuvieron más

influencia que otras sobre el promedio ponderado final. De acuerdo a Oltramari et al. (2014), las regiones del cuerpo y sus respectivos pesos o grados de ponderación incluidos en la estimación del promedio final fueron los siguientes: 10% para la temperatura de la cabeza, 70% para la temperatura de espalda, 12% para la temperatura de la parte inferior de la pierna y 8% para la temperatura de la ubre. Notablemente, TPIE y TUB tuvieron los menores grados de ponderación y contribuyeron conjuntamente en un 20% al cálculo de Oltramari et al. (2014); sin embargo, ambas regiones han sido reconocidas como sitios anatómicos importantes para la termorregulación. Por ejemplo, se ha reportado que las piernas contribuyen significativamente a la disipación de calor en rumiantes (Marai et al., 2007; Montanholi et al., 2007; Yadav et al., 2016). Lo anterior se debe al incremento de flujo sanguíneo hacia las extremidades corporales con el objetivo de disipar calor por medios no evaporativos (Nienaber y Hahn, 2007). Por su parte, la ubre ha sido incluida como una región importante en la búsqueda de animales con mayor capacidad termoregulatoria, debido a que sostiene una relación de moderada a fuerte con la temperatura corporal central (Garner et al., 2016; Daltro et al., 2017; Kaufman et al., 2018).

Por otra parte, Oltramari et al. (2014) reportaron que la media ponderada de TSP fue menor en el grupo tratado con **Se** orgánico en vez de inorgánico. Esto dificulta la comparación directa de ese resultado con el nuestro, ya que, el producto comercial de la presente investigación solo contiene **Se** de tipo inorgánico. No obstante, debido a la falta de un grupo testigo en Oltramari et al. (2014), así como a la falta de algún grupo experimental tratado con **Se** orgánico en nuestro experimento;

aún es posible concluir que la versión inorgánica de este mineral utilizada en este estudio pudo influir en la reducción de TPIE y TUB del grupo suplementado. Probablemente, mejores resultados podrían observarse si se incluyera alguna fuente de **Se** orgánico en futuras investigaciones. Con respecto a los resultados de las tendencias observadas para TCA, TPA y TFD, posiblemente puedan explicarse del mismo modo que para TPIE y TUB, dado que estas regiones también fueron incluidas en la media ponderada de Oltramari et al. (2014). Finalmente, considerando que las diferencias en TSP ocurrieron únicamente por las mañanas, Zähler et al. (2004) indicaron que las TSP mimetizan el comportamiento del ITH, de tal modo que suelen ser más bajas durante las horas más frescas del día. Particularmente en los casos de TPIE y TUB, los mismos autores señalaron que TPIE es más sensible a las variaciones del ITH a comparación de TUB. Similarmente, Collier et al. (2006) y Salles et al. (2016), indicaron que TSP se correlacionan positivamente con los valores de TA durante el día, siendo menores en las mañanas a comparación de las tardes.

5.3 Actividad ovárica y concentración de hormonas esteroidales

El grupo de vacas suplementadas con minerales tendió a tener un mayor tamaño de CL que el mostrado por vacas no suplementadas. Este resultado concuerda con el expuesto por Senosy et al. (2018), quienes reportaron un incremento en el tamaño del CL de ovejas Farafra estresadas por calor que fueron suplementadas con **P**, a comparación de un grupo testigo. Probablemente, los efectos de este mineral sobre el CL se deban a su función estructural en los fosfolípidos presentes en las membranas plasmáticas de las células luteales y a su

participación en la síntesis de AMP cíclico dentro de las mismas (Azhar et al., 1976; Hurley y Doane, 1989). Por su parte, **Se** podría estar involucrado en el desarrollo del CL debido a que importantes acumulaciones de este mineral han sido localizadas en las células de la granulosa ubicadas alrededor de grandes folículos preovulatorios (Ceko et al., 2015a, 2015b). Además, se ha comprobado que este mineral contribuye positivamente a la proliferación y la funcionalidad de las células de la granulosa, las cuales, se transforman en las células luteales grandes (CLG) tras la ovulación y conforman alrededor del 40% del volumen total del CL (Fields y Fields, 1996; Basini y Tamanini, 2000; Sangha et al., 2002). En este sentido, Senger (2012) explicó que las CLG raramente se multiplican después de la ovulación, por lo tanto, el número total de células de la granulosa que se acumula en el folículo preovulatorio determina el número de CLG en el CL recién formado, y a su vez, el número de CLG se vincula con la funcionalidad del CL.

El efecto del suplemento mineral no fue significativo para CAVCL, sin embargo, el efecto principal del tiempo si lo fue. Al respecto, se ha reportado que es común encontrar cavidades dentro del CL de hembras Holstein en distintos días del ciclo estral (Kastelic et al., 1990). De acuerdo con Kito et al. (1986), CAVCL depende de la maduración del CL, ya que, dichos autores encontraron que 5 d después de la IA, CAVCL se distinguía en el ultrasonido como un pequeño espacio libre de eco y en cuyo alrededor, el contorno del CL no podía verse claramente. Posteriormente, 10 d post-IA, las CAVCL observadas 5 d antes aumentaron de tamaño, correspondiéndose con CL que presentaban un completo desarrollo. No obstante, 16 d post-IA las CAVCL disminuyeron considerablemente en muchas vacas, e incluso,

en algunas desaparecieron. Lo anterior concuerda con nuestros resultados y ayuda a explicar las variaciones observadas en CAVCL de acuerdo al día de medición.

De manera similar, no hubo diferencias significativas entre tratamientos para PF, pero se presentaron diferencias significativas en base al tiempo. Dicho resultado concuerda con el proceso normal del desarrollo folicular de vacas post púberes. En dicho proceso, la actividad y desarrollo de los folículos ováricos son regulados por gonadotropinas secretadas por el eje hipotálamo-hipofisiario (Shimizu, 2016). En los bovinos, suelen ocurrir de dos a tres ondas foliculares en cada ciclo estral y dentro de cada onda, se presentan folículos primarios, secundarios y terciarios, que se diferencian entre sí de acuerdo a su crecimiento y desarrollo (Kulick et al., 2001; Senger, 2012; Shimizu, 2016). El inicio de cada onda folicular es conocido como reclutamiento o emergencia, en esta etapa, ocurre un crecimiento conjunto de varios folículos antrales (tamaño promedio de ~4 mm) que se reclutan de manera sincronizada en respuesta a un aumento de niveles de hormona folículo estimulante (FSH). A medida que los folículos crecen, éstos comienzan a secretar cantidades crecientes de estradiol hasta el momento en el que uno de ellos es seleccionado y el resto se atresian (etapa de selección). Posteriormente, el folículo seleccionado se vuelve dominante y continúa su desarrollo de tal manera que, si su crecimiento coincide con la luteólisis, dicho folículo continuará creciendo hasta que ocurra la ovulación. Por el contrario, si su crecimiento no coincide con la caída drástica de niveles de P_4 , dicho folículo se atresiará y una nueva onda folicular volverá a emerger (Senger, 2012). En vacas, se ha reportado que ocurre un surgimiento de ondas foliculares los días 0, 9, y 16 después de la ovulación (Ginther et al., 1989; Moore y

Thatcher, 2006). Por lo tanto, la variación en PF en base al tiempo se considera como un resultado normal y esperado.

Con respecto a las concentraciones de P_4 , se observó que fueron influenciadas por los efectos de tratamiento y día de muestreo. A pesar de que ambos grupos experimentales estuvieron sujetos a condiciones de EC (ITH > 72 unidades), el grupo suplementado con minerales presentó mayores concentraciones de P_4 en dos de los cuatro días de muestreo a comparación del testigo. Estos resultados coinciden con los reportados por Qureshi et al. (2017), quienes reportaron que las concentraciones de P_4 de un grupo de ovejas Damani y Balkhi estresadas por calor que fueron suplementadas con vitamina E y **Se**, fueron superiores a las mostradas por un grupo testigo. Por su parte, Kamada y Hodate (1998), demostraron que administrar **Se** en la dieta incrementó en 22% las concentraciones plasmáticas de P_4 en vacas Holstein no gestantes. Un estudio realizado en vaquillas Holstein gestantes en el que se probó el efecto del incremento en la dosis de **Se** administrada en la dieta, reportó que un aumento de 0.300 ppm de este mineral, logró incrementar las concentraciones plasmáticas de P_4 desde la semana 29 hasta la 39 de la gestación (Kamada et al., 2014). Los autores indicaron que **Se** podría contribuir a la funcionalidad del CL y contribuir a mantener un adecuado nivel de P_4 durante el último periodo de la preñez. Por otra parte, un suplemento mineral con Ca, **P**, **Cu**, Zn y Mn, también mostró tener un impacto positivo sobre concentraciones de P_4 , ya que, los niveles de esta hormona fueron mayores en un grupo de vacas mestizas tratado con dichos minerales a comparación de un grupo testigo (Devasenat et al., 2010). Similarmente, un incremento significativo en las concentraciones de P_4 fue reportado

para un grupo de ovejas Farafra estresadas por calor suplementadas con **P** (Senosy et al., 2018).

Minerales como **Se** y **Cu**, además de implicarse en procesos como la estereoidogénesis, son algunos de los minerales que han mostrado mayores beneficios como contribuyentes a la prevención del estrés oxidativo. En este sentido, en un estudio *in vitro* donde se adicionaron diferentes dosis de **Se** a un cultivo de células luteales bovinas, se reportó que dicho mineral contrarrestó los efectos adversos del estrés oxidativo al intervenir directamente en la síntesis y funcionalidad de enzimas como glutatión peroxidasa y fosfolípido-hidroperóxido-glutatión-peroxidasa. Estas enzimas tienen como función primordial la neutralización de radicales libres como hidroperóxidos y peróxidos lipídicos (Kamada e Ikumo, 1997). Los autores de dicha investigación sugirieron que **Se** posee efectos antioxidantes y protectores sobre células luteales, ya que, al adicionarlo en mayor cantidad al cultivo celular, se registró una mayor proliferación las mismas y un aumento en la síntesis de P_4 . Por su parte, Yao et al. (2018) realizaron un estudio *in vitro* en células de la granulosa luteinizadas de origen caprino y reportaron que la adición de **Se** promovió su proliferación. Con respecto al **Cu**, este también forma parte del sistema antioxidante de la vaca, ya es componente de la enzima superóxido dismutasa (SOD), que cataliza la conversión de superóxido a peróxido de hidrógeno y agua (Wallace y Melov, 1998; Smith y Akinbamijo, 2000; Gressley, 2009). Rapoport et al. (1998) señaló que SOD se vincula con la capacidad estereoidogénica del CL bovino, ya que su actividad aumenta de 6 a 8 veces desde el día 6 al 16 del ciclo estral (fase lútea) y luego disminuye durante la regresión del CL. Existe un total de tres SOD que

se diferencian en el mineral que utilizan como cofactor: Mg-SOD, Fe-SOD y CuZn-SOD (Przybylska et al., 2007). Okado-Matsumoto y Fridovich (2001), reportaron que CuZn-SOD se localiza en el citosol, el núcleo y el espacio intermembranal de las mitocondrias y, en un estudio realizado en roedores, se demostró que la deficiencia de esta enzima redujo la luteinización y la concentración plasmática de P_4 (Noda et al., 2012). Los efectos antes descritos se asociaron al incremento de ROS en los ovarios que tuvo como consecuencia la apoptosis del CL y una reducción de la vascularización en el mismo. En conjunto, estos reportes indican que CuZn-SOD en el ovario desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la función del CL y la secreción de P_4 . Con respecto a los efectos que tuvo el tiempo sobre las concentraciones séricas de P_4 , este resultado se considera normal y esperado, puesto que, naturalmente existen variaciones en las concentraciones de esta hormona asociadas al grado de madurez del CL (Senger, 2012). Inclusive, en un estudio realizado en dos épocas distintas del año (verano vs invierno) con vacas Holstein, se comprobó que aparte de que la época afecta las concentraciones de P_4 , el día de la medición de dicha hormona tras la IA también es un factor de significativo de variación que debe tomarse en cuenta (Ghanem y Nishibori, 2015).

Finalmente, nuestros resultados indicaron que las concentraciones de E_2 del grupo suplementado con minerales fueron mayores que las mostradas por el grupo testigo. Al respecto, Devasenat et al. (2010) suplementaron Ca, **P**, **Cu**, Zn y Mn y observaron que el nivel de E_2 en sangre fue mayor en un grupo de vacas suplementado a comparación del grupo testigo. Otro estudio realizado en cabras Black Bengal suplementadas con Ca, **P**, Zn, Co y Mn, reportó mayores

concentraciones plasmáticas de E₂ en el grupo tratado que en el no tratado (Godara et al., 2016). Los resultados anteriores respaldan la utilidad de minerales como **P** y **Cu**, sin embargo, también se ha reportado que **Se** puede tener influencia en sobre E₂, ya que este mineral desempeñó un papel clave en la proliferación de células de la granulosa bovinas cultivadas *in vitro* y su capacidad para sintetizar E₂ (Mason y Franks 1997; Basini y Tamanini 2000). Aunado a lo anterior, un estudio *in vitro* realizado con células de la granulosa luteinizadas provenientes de cabras suplementadas con 5 ng/mL de **Se** en combinación con 10 ng/mL de FSH, reportó que el tratamiento con este mineral estimula la producción de E₂ en presencia o ausencia de FSH (Yao et al., 2018). Por su parte, Pessoa et al. (2017) probó los efectos del mismo tratamiento experimental utilizado en esta investigación (Fosfosal®), reportando que el grupo de vacas tratadas con minerales tuvo una mayor incidencia de estro que el grupo testigo (67.4 vs 51.5%, respectivamente), lo cual se relaciona con la concentración de E₂ en sangre (Glencross et al., 1981).

Con respecto a minerales como **K** y **Mg**, se ha reportado que ambos se encuentran involucrados en el desarrollo folicular y el incremento de concentraciones de E₂ ligado al mismo (Tabatabaei et al., 2011). En el caso del **K**, sus concentraciones dentro del líquido folicular son mayores al principio de la onda folicular (folículos pequeños, entre 4 y 5 mm), sin embargo, dichas concentraciones disminuyen a medida que la onda progresa debido al aumento en el uso de glucosa por los folículos en desarrollo, proceso que conduce a la transferencia de iones de **K** desde el líquido folicular hacia sitios intracelulares (Chang et al., 1976). Finalmente, las concentraciones de **Mg** siguen las mismas tendencias que las descritas para el **K**,

no obstante, la disminución de sus concentraciones se relaciona con su participación en la formación de trombina, un potente agente mitótico que contribuye al crecimiento folicular (Tabatabaei et al., 2011).

5.4 Tasa de concepción

Varios autores han señalado que la aplicación de minerales podría ser útil para aminorar los efectos negativos del EC sobre la tasa de concepción en rumiantes (Alamer, 2011; Khorsandi et al., 2016; Krishnan et al., 2017). Ingraham et al. (1987) reportó que suplementar **Cu** y **Mg** conjuntamente, mejoró la tasa de concepción de vacas y vaquillas Holstein al compararla con grupos suplementados con cada mineral de manera individual y con un grupo control. En otro estudio, la administración de vitamina E junto con **Se** mostró un impacto positivo sobre la tasa de concepción de vacas Holstein estresadas por calor (Aréchiga et al., 1998). Pessoa et al. (2017) probaron el mismo suplemento mineral utilizado en esta investigación (Fosfosan®) en vacas Angus, Hereford y sus respectivas cruzas, reportando que el grupo tratado tuvo una tasa de concepción superior al grupo testigo (53.5 vs 46.5%; respectivamente). Por su parte, Penteado et al. (2017) también evaluó el efecto del mismo producto comercial sobre la tasa de concepción de vacas Nelore que se encontraban amamantando, reportando que el suplemento mineral mejoró en un 7% la tasa de concepción del grupo tratado a comparación del no tratado (52 vs 45%, respectivamente). Finalmente, Pereira (2018) también usó el mismo producto y reportó resultados similares en también vacas Nelore.

5.5 Producción y composición química de la leche

El suplemento mineral afectó significativamente algunas características químicas de la leche. Las vacas suplementadas presentaron mejorías en SNG, DENS, PROT, LACT y PC. En el caso de SNG, el grupo suplementado tuvo un mayor porcentaje que el testigo. Magariños (2000), mencionó que dentro de los SNG de la leche se encuentran PROT, LACT, vitaminas y minerales. Los incrementos de PROT y LACT, así como el aumento en las concentraciones de minerales a raíz de su aplicación parenteral, deben haber influido en el aumento de SNG. Similarmente, Khorsandi et al. (2016), demostraron que suplementar vitaminas (A, D y E) y minerales como **Co**, Na, Co, **K**, Mn y Zn, incrementó significativamente SNG en la leche de vacas estresadas por calor. Por su parte, Kincaid y Socha (2004), también señalaron que suplementar Co, **Cu**, **Co**-lisina, Zn, Zn-metionina, Mn y Mn-metionina, incrementó SNG en leche de vacas Holstein. Guerra-Liera et al. (2012) reportó un aumento de SNG en la leche de vacas Ayrshire suplementadas con vitamina E y **Se**.

Con respecto a DENS, se observó que el grupo suplementado tuvo una leche más densa que la del grupo testigo. DENS mide la relación existente entre masa y volumen en una sustancia, para el caso de la leche, esta variable se relaciona con el contenido de sólidos totales (GRAS y SNG) dentro de la misma (Magariños, 2000; Agudelo-Gómez y Bedoya-Mejía, 2005). En el presente estudio, el suplemento mineral causó un aumento de SNG, pero no provocó variaciones en el porcentaje de GRAS. En este sentido, Quiles y Hevia (1988) explican que la DENS láctea varía de manera proporcional con el porcentaje de SNG y de manera inversa con el de GRAS. Lo anterior se debe a que solutos como PROT, LACT y el resto de SNG, tienen una

DENS mayor a la del agua, por lo tanto, sus variaciones se correlacionan positivamente con la DENS de la leche (Quiles y Hevia, 1988; Chen et al., 2014). Por otra parte, GRAS tiene una DENS menor a la del agua, por lo que variaciones en el contenido graso de la leche se correlacionan de manera negativa con DENS (Guignon et al., 2012).

En lo referente a PROT, el porcentaje de este componente fue mayor en el grupo suplementado a diferencia del testigo. Esto concuerda con reportes que señalaron que el porcentaje de PROT en leche aumentó de manera lineal con los aumentos graduales en los porcentajes de adición de minerales como **P**, **Cu**, Mn y Zn en la dieta (De Boer et al. 1981). Khorsandi et al. (2016), también reportaron incrementos en PROT al administrar un bolo intraruminal con vitaminas (A, D y E) y minerales (**Cu**, Na, Co, **K**, Mn y Zn) a vacas Holstein estresadas por calor. Los autores atribuyeron el resultado a que el bolo ruminal tuvo un efecto positivo sobre la salud y la funcionalidad de glándula mamaria, permitiendo que los animales suplementados fueran capaces de aumentar PROT depositada en leche. Guerra-Liera et al. (2012) también reportó un aumento en PROT de leche de vacas Ayrshire suplementadas con vitamina E y **Se**. Por su parte, Knowels et al. (1999) señalaron que, aunque suplementar **Se** orgánico en vacas es mucho más efectivo que suplementar **Se** inorgánico, ambas formas del mineral tienen la capacidad de incrementar el contenido de PROT en leche.

En este estudio las vacas suplementadas con minerales depositaron más LACT en leche que vacas no suplementadas. Al respecto, Guerra-Liera et al. (2012) reportaron un mayor contenido de LACT en leche de vacas suplementadas con

vitamina E y **Se**. Por su parte, Mutoni et al. (2012) reportaron un incremento en LACT de vacas Sahiwal suplementadas con vitamina E, **Cu** y Zn. Similarmente, Brzóska y Sala (2001) reportaron incrementos en LACT en leche de vacas Holstein suplementadas con **Cu**. El PC también resultó influenciado por el suplemento mineral. Concretamente, el grupo suplementado presentó un menor PC que el no suplementado. Este resultado coincide con reportes que indican que PC de la leche depende casi exclusivamente del contenido de LACT y sales disueltas (Agudelo-Gómez y Bedoya-Mejía, 2005; Zagorska y Ciprova, 2013). Al respecto, se ha reportado que aumentos de LACT, sales de cloruro y otros componentes solubles en agua (como Ca, **K** y **Mg**) contribuyen a la depresión del PC lácteo en aproximadamente un 55, 25 y 20%, respectivamente (Jennes y Patton, 1959). El suplemento mineral aplicado en este estudio incrementó LACT en la leche de las vacas tratadas con respecto a las no tratadas, lo cual puede haber impactado en la reducción del PC. González-Cuascota (2013) explicó que la correlación negativa existente entre LACT y PC se debe a que LACT es el componente más lábil frente a la acción microbiana y que la leche es presa fácil de distintos tipos de bacterias que transforman LACT en ácido láctico, reduciendo su pH. Dicha acidificación provoca un descenso en el PC de la leche debido a la formación de un mayor número de moléculas de soluto derivadas del proceso fermentativo. Además, el aumento en la concentración de minerales en la leche causa el mismo efecto, por lo tanto, es posible que hayan ocurrido incrementos en el contenido de **K** y **Mg** tras la aplicación del tratamiento al grupo suplementado y esto también haya contribuido a la reducción del PC. Finalmente, la tendencia observada en la reducción de TL a raíz de la aplicación del suplemento mineral probablemente se relacione con la disminución de

TUB, dado que ambas temperaturas presentan una correlación positiva y fuerte (Perano et al., 2015). El efecto significativo del tiempo (día de medición) sobre variables como PLD y TL, se considera como normal y esperado, ya que ambas variables dependen de factores como días en leche y condiciones climáticas particulares de cada día de medición.

VI. CONCLUSIÓN

La aplicación de un suplemento mineral inyectable basado en P, Se, K, Mg y Cu a vacas Holstein estresadas por calor, impactó positivamente algunas variables fisiológicas relacionadas con la respuesta al mismo, concretamente reduciendo FR, TPIE y TUB. En el aspecto reproductivo, el suplemento mineral incrementó las concentraciones séricas de P₄ y E₂. De igual manera, la tasa de concepción de vacas suplementadas con minerales resultó más alta que la mostrada por vacas no suplementadas. Finalmente, el tratamiento mineral también influyó significativamente sobre características químicas de la leche, aumentando SNG, DENS, PROT y LACT, mientras que redujo PC.

Los resultados de este experimento sugieren que la aplicación de un suplemento mineral a vacas manejadas durante una época cálida, puede considerarse como una estrategia nutricional útil para contrarrestar algunos efectos negativos del EC sobre la fisiología y la habilidad reproductiva del ganado, al mismo tiempo que aumenta el valor agregado de la leche al impactar positivamente en su composición química. No obstante, debido al limitado número de muestra en nuestra investigación, sería prematuro generalizar estos resultados a mayores poblaciones de ganado. Por lo tanto, se recomienda ampliamente realizar más investigaciones

utilizando el mismo producto comercial, pero con un mayor número de animales, con el propósito de validar los resultados de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Abilay, T. A., H. D. Johnson, and M. Madan. 1975. Influence of Environmental Heat on Peripheral Plasma Progesterone and Cortisol During the Bovine Estrous Cycle. *J. Dairy Sci.* 58:1836–1840.
- Aguilar, I., I. Misztal, and S. Tsuruta. 2009. Genetic components of heat stress for dairy cattle with multiple lactations. *J. Dairy Sci.* 92:5702-5711.
- Agudelo-Gómez, D. A., y O. Bedoya-Mejía. 2005. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Rev. Lasallista Investig.* 2:38-42.
- Ahuja, A. K., and D. Parmar. 2017. Role of minerals in reproductive health of dairy cattle: a review. *Int. J. Livest. Res.* 7:16-26.
- Alamer, M. 2011. The role of prolactin in thermoregulation and water balance during heat stress in domestic ruminants. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 6:1153-1169.
- Alzahal, O., M. A. Steele, E. V. Valdes, and B. W. McBride. 2009. The use of a telemetric system to continuously monitor ruminal temperature and to predict ruminal pH in cattle. *J. Dairy Sci.* 92:5697-5701.
- Aréchiga, C. F., S. Vázquez-Flores, O. Ortiz, J. Hernández-Cerón, A. Porras, L. R. McDowell, and P. J. Hansen. 1998. Effect of injection of β -carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 50:65-76.
- Arias, R. A., T. L. Mader, y P. C. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.* 40:7–22.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044–2050.
- Audelo-Gómez, D. A., y O. Bedoya-Mejía. 2005. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de investigación*, 2:38-42.
- Avendaño-Reyes, L., F. D. Álvarez-Valenzuela, A. Correa-Calderón, J. S. Saucedo-Quintero, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2006. Effect of cooling Holstein

- cows during the dry period on postpartum performance under heat stress conditions. *Livest. Sci.* 105:198–206.
- Azhar, S., A. K. Hajra, and K. M. Menon. 1976. Gonadotropin receptors in plasma membranes of bovine corpus luteum. II. Role of membrane phospholipids. *J. Biol. Chem.* 251:7405-7412.
- Badinga, L., W. W. Thatcher, T. Diaz, M. Drost, and D. Wolfenson. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology.* 39:797–810.
- Balamurugan, B., N. S. Kharayat, and O. Shankar. 2017. Effect of heat stress on different reproductive process in animals and its ameliorative measures through nutritional management. *Int. J. Agric. Sc. & Vet. Med.* 5:114–126.
- Basini, G., and C. Tamanini. 2000. Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18:1-17.
- Beede, D. K., and R. J. Collier. 1986. Potential Nutritional Strategies for Intensively Managed Cattle during Thermal Stress. *J. Anim. Sci.* 62:543–554.
- Berman, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli, and Y. Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68:1488–1495.
- Berman, A. 2005. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 83:1377-1384.
- Berman, A. 2006. Extending the potential of evaporative cooling for heat-stress relief. *J. Dairy Sci.* 89: 3817-3825.
- Bernabucci, U., S. Biffani, L. Buggiotti, A. Vitali, N. Lacetera, and A. Nardone. 2014. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97:471–486.
- Berry, R. J., A. D. Kennedy, S. L. Scott, B. L. Kyle, and A. L. Schaefer. 2003. Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: Potential for mastitis detection. *Can. J. Anim. Sci.* 83:687–693.

- Bewley, J. M., M. W. Grott, M. E. Einstein, and M. M. Schutz. 2008. Impact of intake water temperatures on reticular temperatures of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:3880–3887.
- Bianca, W. 1965. Section A. Physiology. Cattle in a hot environment. *J. Dairy Res.* 32:291–345.
- Blackshaw, J. K., and A. W. Blackshaw. 1994. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 34, 285–295.
- Bohmanova, J., I. Misztal, and J. B. Cole. 2007. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947-1956.
- Bray, D. R., D. K. Beede, M. A. DeLorenzo, R. A. Bucklin, R. A. Nordstedt, R. Montoya, and R. Giesy. 1992. Environmental modifications for reducing summer stress on Florida dairy farms. In: *Proceedings of the 29th Florida Dairy Production Conference*, Gainesville FL, USA. p. 36-42.
- Brown-Brandl, T. M., R. A. Eigenberg, J. A. Nienaber, and G. L. Hahn. 2005. Dynamic response indicators of heat stress in shaded and non-shaded feedlot cattle, Part 1: Analyses of indicators. *Biosyst. Eng.* 90:451–462.
- Brzóška, F., and K. Sala. 2001. The effect of fatty-acid calcium salt and copper supplementation of daily rations on milk yield and composition, lipid metabolism and cholesterol level in cow's milk. *J. Anim. Feed Sci.* 10:399-412.
- Buffington D. E., A. Collazo-Arocho, G. H. Canton, D. Pitt, W. W. Thatcher, and R. J. Collier. 1981. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Trans ASAE.* 24:711–714
- Burdick, N. C., J. A. Carroll, J. W. Dailey, R. D. Randel, S. M. Falkenberg, and T. B. Schmidt. 2012. Development of a self-contained, indwelling vaginal temperature probe for use in cattle research. *J. Therm. Biol.* 37:339–343.
- Calamari, L., F. Abeni, F. Calegari, and L. Stefanini. 2007. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 2. Blood minerals and acid-base chemistry. *Int. J. Biometeorol.* 52:97–107.

- Cartmill, J. A., S. Z. El-Zarkouny, B. A. Hensley, T. G. Rozell, J. F. Smith, and J. S. Stevenson. 2001. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. *J. Dairy Sci.* 84:799-806.
- Ceko, M. J., K. Hummitzsch, N. Hatzirodos, W. M. Bonner, J. B. Aitken, D. L. Russell, M. Lane, R. J. Rodgers, and H. H. Harris. 2015a. X-ray fluorescence imaging and other analyses identify selenium and GPX1 as important in female reproductive function. *Metallomics.* 7:71–82.
- Ceko, M. J., K. Hummitzsch, W. M. Bonner, J. B. Aitken, K. M. Spiers, R. J. Rodgers, and H. H. Harris. 2015b. Localization of the trace elements iron, zinc and selenium in relation to anatomical structures in bovine ovaries by X-ray fluorescence imaging. *Microsc. Microanal.* 21:695-705.
- Chang, S. C., J. D. Jones, R. D. Ellefson, and R. J. Ryan. 1976. The porcine ovarian follicle: I. Selected chemical analysis of follicular fluid at different developmental stages. *Biol. Reprod.* 15:321-328.
- Chauhan, S. S., P. Celi, B. J. Leury, and F. R. Dunshea. 2015. High dietary selenium and vitamin E supplementation ameliorates the impacts of heat load on oxidative status and acid-base balance in sheep. *J. Anim. Sci.* 93:3342-3354.
- Chen, B., M. J. Lewis, and A. S. Grandison. 2014. Effect of seasonal variation on the composition and properties of raw milk destined for processing in the UK. *Food Chem.* 158:216-223.
- Collier, R. J., R. M. Eley, A. K. Sharma, R. M. Pereira, and D. E. Buffington. 1981. Shade Management in Subtropical Environment for Milk Yield and Composition in Holstein and Jersey Cows. *J. Dairy Sci.* 64:844-849.
- Collier, R. J., G. E. Dahl, and M. J. VanBaale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244–1253.
- Collier, R. J., J. L. Collier, R. P. Rhoads and L. H. Baumgard. 2008. Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. *J. Dairy Sci.* 91:445-454.
- Collier, R. J., L. W. Hall, S. Rungruang, and R. B. Zimbelman. 2012. Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance. In: *Proceedings of the*

- 23rd Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. University of Florida Gainesville, Gainesville.
- Collier, R. J., and K. G. Gebremedhin. 2015. Thermal biology of domestic animals. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 3:513-532.
- Coppock, C. E., P. A. Grant, S. J. Portzer, D. A. Charles, and A. Escobosa. 1982. Lactating dairy cow responses to dietary sodium, chloride, and bicarbonate during hot weather. *J. Dairy Sci.* 65:566-576.
- Cozzi, G., L. Ravarotto, F. Gottardo, A. L. Stefani, B. Contiero, L. Moro, M. Brscic, and P. Dalvit. 2011. Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. *J. Dairy Sci.* 94:3895–3901.
- Cromwell, G. L. 1997. Copper as a nutrient for animals. In: H. W. Richardson (Ed.) *Handbook of Copper Compounds and Applications.* pp 177–202. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Da Silva, R. G. 2006. Weather and climate and animal production. Update of the guide to agricultural meteorological practices. 563-567.
- Da Silva, R. G., M. M. Guilhermino, and D. A. E. F. Morais. 2010. Thermal radiation absorbed by dairy cows in pasture. *Int. J. Biometeorol.* 54:5–11.
- Da Silva, R. G., and A. S. C. Maia. 2011. Evaporative cooling and cutaneous surface temperature of Holstein cows in tropical conditions. *Braz. J. Anim. Sci.* 40:1143–1147.
- Da Silva, R. G. 2012. Weather and climate and animal production. Pages 1–21 in *Guide to Agricultural Meteorological Practices.* Vol. 134. World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland.
- Da Silva, R. G., A. S. C. Maia, L. L. de Macedo Costa, and J. P. A. F. de Queiroz. 2012. Latent heat loss of dairy cows in an equatorial semi-arid environment. *Int. J. Biometeorol.* 56:927-932.
- Daltro, D. D. S., V. Fischer, E. P. M. Alfonzo, V. C. Dalcin, M. T. Stumpf, G. J. Kolling, M. V. G. B. D. Silva, and C. McManus. 2017. Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. *R. Bras. Zootec.* 46:374-383.

- Dash, S., A. K. Chakravarty, A. Singh, A. Upadhyay, M. Singh, and S. Yousuf. 2016. Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review. *Vet. world.* 9:235.
- Davis, S., and T. L. Mader. 2003. Adjustments for wind speed and solar radiation to the temperature-humidity index. *Nebraska Beef Cattle Reports.* 224.
- De Boer, G., J. G. Buchanan-Smith, G. K. Macleod, and J. S. Walton. 1981. Responses of dairy cows fed alfalfa silage supplemented with phosphorus, copper, zinc, and manganese. *J. Dairy Sci.* 64:2370-2377.
- De Rensis, F., and R. J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—A review. *Theriogenology.* 60:1139–1151.
- De Rensis, F., I. Garcia-Ispuerto, and F. López-Gatius. 2015. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology.* 84:659-666.
- De Rensis, F., F. Lopez-Gatius, I. García-Ispuerto, G. Morini, and R. J. Scaramuzzi. 2017. Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. *Theriogenology.* 91:145–153.
- Devasenat, B., I. J. Reddy, J. V. Ramana, P. E. Prasad, and J. R. Prasad. 2010. Effect of supplementation of area specific mineral mixture on reproductive performance of crossbred cattle—a field study. *Indian J. Anim. Nutr.* 27:265-270.
- Devi, P., S. Debbarma, G. Kumar, and P. Thakur. 2019. Effect of heat stress on reproduction in farm animals and its mitigation: A review. *J. Entomol. Zool. Stud.* 7:342:345.
- Dos Santos, S. G. C. G., E. Paes-Saraiva, E. C. Pimenta-Filho, S. Gonzaga-Neto, V. F. Carvalho-Fonsêca, A. da Costa-Pinheiro, M. E. Vieira-Almeida, and M. L. Cabral-Menezes de Amorim. 2017. The use of simple physiological and environmental measures to estimate the latent heat transfer in crossbred Holstein cows. *Int. J. Biometeorol.* 61:217-225.
- Dunn, R. J., N. E. Mead, K. M., Willett, and D. E. Parker. 2014. Analysis of heat stress in UK dairy cattle and impact on milk yields. *Environ. Res. Lett.* 9:064006.

- Du Preez, J. H., P. J. Hattingh, W. H. Giesecke, and B. E. Eisenberg. 1990. Heat stress in dairy cattle and other livestock under Southern African conditions. III. Monthly temperature-humidity index mean values and their significance in the performance of dairy cattle. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 57:243–248.
- Du Preez, J. H. 2000. Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 67:263-271.
- El-Nouty, F. D., I. M. Elbanna, T. P. Davis, and H. D. Johnson. 1980. Aldosterone and ADH response to heat and dehydration in cattle. *J. Appl. Physiol.* 48:249–255.
- Fields, M. J., and P. A. Fields. 1996. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. *Theriogenology.* 45:1295-1325.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2016. El sector lechero mundial: Datos. Consultado el día 16 de mayo del 2018 de: <http://www.dairydeclaration.org/Portals/153/FAO-Global-Facts-SPANISH-F.PDF?v=1>
- Gallardo-Nieto, J. L. 2004. Situación actual de la producción de leche de bovino en México 2004. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria, México.
- Gao, S. T., J. Guo, S. Y. Quan, X. M. Nan, S. M. Fernández, L. H. Baumgard, and D. P. Bu. 2017. The effects of heat stress on protein metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 100:5040–5049.
- Garner, J. B., M. L. Douglas, S. O. Williams, W. J. Wales, L. C. Marett, T. T. T. Nguyen, C. M. Reich, and B. J. Hayes. 2016. Genomic selection improves heat tolerance in dairy cattle. *Scientific reports.* 6:34114.
- Gebremedhin, K. G., C. N. Lee, P. E. Hillman, P. E., and R. J. Collier. 2010. Physiological responses of dairy cows during extended solar exposure. *Trans. ASABE.* 53:239-247.
- Ghanem, M. E., and M. Nishibori. 2015. Effects of season on plasma progesterone profiles in repeat breeding cows. *Vet. Med-Czech.* 60:227–234.
- Ginther, O. J., L. Knopf, and J. P. Kastelic. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *Reproduction.* 87:223-230.

- Glencross, R. G., R. J. Esslemont, M. J. Bryant, and G. S. Pope. 1981. Relationships between the incidence of pre-ovulatory behaviour and the concentrations of oestradiol-17 β and progesterone in bovine plasma. *Appl. Anim. Ethol.* 7:141-148.
- Godara, R. S., S. Naskar, A. K. Das, A. S. Godara, S. K. Kankar, M. Patel, and S. A. Bhat. 2016. Effect of area specific mineral supplementation on growth and reproductive performance of female black bengal goats. *J. Anim. Res.* 6:335-340.
- González-Cuascota, M. V. 2013. Estudio del punto crioscópico de leche cruda bovina, en dos pisos altitudinales y dos épocas del año, Ecuador 2012. Tesis de Licenciatura. Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
- Graham, T.W. 1991. Trace element deficiencies in cattle. *Vet. Clin. N-AM Food A.* 7:153-215.
- Gressley, T. F. 2009. Zinc, copper, manganese, and selenium in dairy cattle rations. In *Proceedings of the 7th Annual Mid-Atlantic Nutrition Conference*. Pp. 56-71.
- Grünberg, W., P. Constable, U. Schröder, R. Staufenbiel, D. Morin, and M. Rohn. 2005. Phosphorus homeostasis in dairy cows with abomasal displacement or abomasal volvulus. *J. Vet. Intern. Med.* 19:894-898.
- Guerra-Liera J. E., J. A. Saltijeral-Oaxaca, H. Castañeda-Vazquez, A. Cervantes-Núñez, A. Córdova-Izquierdo, and J. Moreno-Quiroz. (2012). Effects of the selenium and vitamin E in the production, physicochemical composition and somatic cell count in milk of Ayrshire cows. *J. Anim. Vet. Adv.* 11:687-691.
- Guignon, B., I. Rey, and P. D. Sanz. 2012. Efecto de la temperatura en la densidad de la leche entera bajo alta presión. En el VII Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA), 7, 8 y 9 de noviembre de 2012, Ciudad Real, Castilla-La Mancha, España.
- Guzeloglu, A., J. D. Ambrose, T. Kassa, T. Diaz, M. J. Thatcher, and W. W. Thatcher. 2001. Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. *Anim. Reprod. Sci.* 66:15-34.

- Hackbart, K. S., R. M. Ferreira, A. A. Dietsche, M. T. Socha, R. D. Shaver, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2010. Effect of dietary organic zinc, manganese, copper, and cobalt supplementation on milk production, follicular growth, embryo quality, and tissue mineral concentrations in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 88:3856-3870.
- Hahn, G. L. 1995. Global warming and potential impacts on cattle and swine in tropical and temperate areas. In: Proc. 1st Brazilian Congr. on Biometeorol. Jaboticabal, Sao Paulo, Brazil. Pp. 136–173.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 77:10-20.
- Halliwell, B., and J. M. Gutteridge. 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA.
- Hansen, P. J., and C. F. Areéchiga. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77:36-50.
- Hansen, P. J. 2009. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Phil. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 364:3341–3350.
- Halliwell, B., and J. M. Gutteridge. 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA.
- Harris, Jr., Barney. 1992. Feeding and managing cows in warm weather. Fact Sheet DS 48 of the Dairy Production Guide, Florida Cooperative Extension Service.
- Herbut, P., S. Angrecka, and J. Walczak. 2018. Environmental parameters to assessing of heat stress in dairy cattle—a review. *Int. J. Biometeorol.* 62:2089-2097.
- Hernández-Cordero, A. I., M. A. Sánchez-Castro, R. Zamorano-Algandar, P. Luna-Nevárez, G. Rincón, J. F. Medrano, S. E. Speidel, R. M. Enns, and M. G. Thomas. 2017. Genotypes within the prolactin and growth hormone insulin-like growth factor-I pathways associated with milk production in heat stressed Holstein cattle. *Genet. Mol. Res.* 16:gmr16039821.
- Hewett, C. D. 1974. On the causes and effects of variations in the blood profile of Swedish dairy cattle. *Acta Vet. Scand. Suppl.* 50.

- Hicks, L. C., W. S. Hicks, R. A. Bucklin, J. K. Shearer, D. R. Bray, P. Soto, and V. Carvalho. 2001. Comparison of methods of measuring deep body temperatures of dairy cows. In *Livestock Environment VI, Proceedings of the 6th International Symposium 2001* (p. 432). American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Horký, P. 2015. Effect of selenium on its content in milk and performance of dairy cows in ecological farming. *Potravinarstvo Slovak. J. Food Sci.* 9:324-329.
- Howell, J. L., J. W. Fuquay, and A. E. Smith. 1994. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J. Dairy Sci.* 77:735-739.
- Hurley, W. L., and R. M. Doane. 1989. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J. Dairy Sci.* 72:784-804.
- Hussein, H. A., and R. Staufenbiel. 2012. Variations in copper concentration and ceruloplasmin activity of dairy cows in relation to lactation stages with regard to ceruloplasmin to copper ratios. *Biol. Trace Elem. Res.* 146:47-52.
- Hutjens, M. F. 2000. Feeding management of the 40,000-pound dairy herds. *J. Dairy Sci.* 83:26 (Abstr 108).
- Igono, M. O., G. Bjotvedt, and H. T. Sanford-Crane. 1992. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. *Int. J. Biometeorol.* 36:77-87.
- Ingraham, R. H., R. W. Stanley, and W. C. Wagner. 1976. Relationship of Temperature and Humidity to Conception Rate of Holstein Cows in Hawaii. *J. Dairy Sci.* 59:2086-2090.
- Ingraham, R. H., L. C. Kappel, E. B. Morgan, and A. Srikandakumar. 1987. Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. *J. Dairy Sci.* 70:167-180.
- Jamieson, D., B. Chance, E. Cadenas, and A. Boveris. 1986. The relation of free radical production to hyperoxia. *Ann. Rev. Physiol.* 48:703-719.
- Jenness, R., and S. Patton. 1959. *Principles of dairy chemistry*. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY. p. 258-261.

- Jenkinson, D. M., and R. M. Mabon. 1973. The effect of temperature and humidity on skin surface pH and the ionic composition of skin secretions in Ayrshire cattle. *Brit. Vet. J.* 129:282–295.
- Johnson H. D. 1985. Physiological responses and productivity of cattle, in: Yousef M.K. (Ed.), *Stress physiology in livestock. Basic principles*, Vol. 1, 4-19, CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp. 4–19.
- Johnson, H. D. 1987. Bioclimates and livestock. *Bioclimatology and the Adaptation of Livestock*. World Animal Science. (H. D. Johnson, ed.) Elsevier Science Publ. Co., New York.
- Johnson, S. R., S. Rao, S. B. Hussey, P. S. Morley, and J. L. Traub-Dargatz. 2011. Thermographic eye temperature as an index to body temperature in ponies. *J. Equine Vet. Sci.* 31:63-66.
- Jones, G. M., and C. C. Stallings. 1999. Reducing heat stress for dairy cattle. Virginia Cooperative Extension: Blacksburg, VA, USA. Pp. 1–6.
- Kabuga, J. D. 1992. The influence of thermal conditions on rectal temperature, respiration rate and pulse rate of lactating Holstein-Friesian cows in the humid tropics. *Int. J. Biometeorol.* 36:146-150.
- Kadzere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove, and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77:59-91.
- Kamada, H., and H. Ikumo. 1997. Effect of selenium on cultured bovine luteal cells. *Anim. Reprod. Sci.* 46:203-211.
- Kamada, H., and K. Hodate. 1998. Effect of dietary selenium supplementation on the plasma progesterone concentration in cows. *J. Vet. Med. Sci.* 60:133-135.
- Kamada, H., I. Nonaka, N. Takenouchi, and M. Amari. 2014. Effects of selenium supplementation on plasma progesterone concentrations in pregnant heifers. *Anim. Sci. J.* 85:241-246.
- Kappel, L. C., R. H. Ingraham, E. B. Morgan, and D. K. Babcock. 1984. Plasma copper and packed cell volume and their relationship to fertility and milk production in Holstein cows. *Am. J. Vet. Res.* 45:346-350.

- Karimi, N. B., A. D. Bahar, and A. Bazargan. 2018. Effects of heat stress changes in steroid hormone concentrations in peripheral blood of Cattle. *Afr. J. Anim. Feed Reprod. Sci.* 2:068–074.
- Kastelic, J. P., D. R. Bergfelt, and O. J. Ginther. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology.* 33:1269-1278.
- Kaufman, J. D., A. M. Saxton, and A. G. Rius. 2018. Relationships among temperature-humidity index with rectal, udder surface, and vaginal temperatures in lactating dairy cows experiencing heat stress. *J. Dairy Sci.* 101:6424–6429.
- Kendall, P. E., P. P. Nielsen, J. R., Webster, G. A., Verkerk, R. P., Littlejohn, and L. R., Matthews. 2006. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. *Livest. Sci.* 103, 148–157.
- Khalifa, H. H. 2003. Bioclimatology and adaptation of farm animals in a changing climate. In *Interactions between climate and animal production. Proc. Symp.* Pp:15–29.
- Khorsandi, S., A. Riasi, M. Khorvash, S. A. Mahyari, F. Mohammadpanah, and F. Ahmadi. 2016. Lactation and reproductive performance of high producing dairy cows given sustained-release multi-trace element/vitamin ruminal bolus under heat stress condition. *Livestock Sci.* 187:146-150.
- Kincaid, R. L., and M. T. Socha. 2004. Inorganic versus complexed trace mineral supplements on performance of dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 20:66-73.
- Kito, S., K. Okuda, K. Miyazawa, and K. Sato. 1986. Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology.* 25:325-333.
- Knowles, S. O., N. D. Grace, K. Wurms, and J. Lee. 1999. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82:429-437.
- Krishnan, G., M. Bagath, P. Pragna, M. K. Vidya, J. Aleena, P. R. Archana, V. Sejjan, and R. Bhatta. 2017. Mitigation of the heat stress impact in livestock reproduction. *Theriogenology.* 63-86.

- Kulick, L. J., D. R. Bergfelt, K. Kot, K., and Ginther, O. J. 2001. Follicle selection in cattle: follicle deviation and codominance within sequential waves. *Biol. Reprod.* 65:839-846.
- Kumar, S. 2003. Management of infertility due to mineral deficiency in dairy animals. Proceedings of ICAR summer school on “Advance diagnostic techniques and therapeutic approaches to metabolic and deficiency diseases in dairy animals”. Held at IVRI, Izatnagar UP: 15th July 4th Aug.
- Kumar, S., A. K. Pandey, W. A. A. Razzaque, and D. K. Dwivedi. 2011. Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock. *Vet. World.* 4:230–233.
- Kumar, V. 2015. Effect of minerals on dairy animal reproduction—a review. *Int. J. Livest. Res.* 5:1-10.
- Kume, S., M. Kurihara, S. Takahashi, M. Shibata, and T. Aii. 1986. Effect of hot environmental temperature on major mineral balance in dairy cows. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 57:940–945.
- Lambertz, C., C. Sanker, and M. Gauly. 2014. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *J. Dairy Sci.* 97:319–329.
- Lees, A., J. Lea, H. Salvin, L. Cafe, I. Colditz, and C. Lee. 2018. Relationship between Rectal Temperature and Vaginal Temperature in Grazing *Bos taurus* Heifers. *Animals.* 8:156.
- Leyva-Corona, J. C., P. V. Félix, M. I. P. Morales, J. G. Grageda, J. G. Q. Quintana, y B. G. G. Ramírez. 2008a. Análisis de riesgo al estrés calórico en hatos lecheros del sur de sonora utilizando la climatología de la región. En la XVIIIª Reunión Internacional sobre producción de Carne y Leche en Climas Cálidos, 2 y 3 de octubre de 2008, Mexicali, Baja California México.
- Leyva-Corona, J. C., P. V. Félix., P. N. Luna., M. I. P. Morales y J. G. Grageda. 2008b. Impacto de las condiciones climáticas de verano en el Valle del Yaqui sobre el desempeño productivo del ganado lechero. En la XVIIIª Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos, 2 y 3 de octubre de 2008, Mexicali Baja California, México.

- Leyva-Corona, J. C., D. I. Armenta-Castelo, R. Zamorano-Algandar, M. G. Thomas, G. Rincon, J. F. Medrano, F. Rivera-Acuña, J. R. Reyna-Granados y Luna-Nevárez, P. 2015. Variables climáticas asociadas a la producción de leche en vacas Holstein criadas bajo condiciones de estrés por calor del Valle del Yaqui, México. *Rev. Lat. Rec. Nat.* 11:1-11.
- Liochev, S. I. (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 60, 1-4.
- López-Alonso, M. 2012. Trace minerals and livestock: not too much not too little. *ISRN Vet. Sci.* 2012:1-18.
- López-Gatius, F. 2003. Is fertility declining in dairy cattle?: a retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology*. 60:89-99.
- López-Gatius, F., M. López-Béjar, M. Fenech, and R. H. F. Hunter. 2005. Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology*. 63:1298-1307.
- Lowman, B. G., N. A. Scott, and S. H. Somerville. 1976. Condition scoring of cattle. *The East of Scotland College of Agriculture. Bulletin*, 6:31-4.
- Mader, T. L., M. S. Davis, and T. Brown-Brandl. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 84:712-719.
- Magariños, H. 2000. Producción higiénica de la leche cruda. Una guía para la pequeña y mediana empresa. Producción y Servicios Incorporados S.A. Guatemala.
- Mason, H., and S. Franks. 1997. Local control of ovarian steroidogenesis. *Baillière's clinical obstetrics and gynaecology*. 11:261-279.
- Marai, I. F. M., A. A. El-Darawany, A. Fadiel, and M. A. M. Abdel-Hafez. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—a review. *Small Rum. Res.* 71:1-12.
- Martínez-Subiela, S., F. Tecles, A. Montes, C. Gutiérrez, and J. J. Ceron. 2002. Effects of haemolysis, lipaemia, bilirubinaemia and fibrinogen on protein electropherogram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. *Vet. J.* 164:261-268.

- Matsui, T. 2007. Significance of magnesium in animals. In: Significance of Magnesium in Animals. Nishizawa, Y., H. Morii, J. Durlach, (Eds.), Springer, ISBN-10: 184628483X, London, UK. pp: 381-391.
- McCafferty, D. J. 2007. The value of infrared thermography for research on mammals: previous applications and future directions. *Mammal Rev.* 37:207-223.
- McDowell, R. E., E. G. Moody, P. J. Van Soest, R. P. Lehmann, and G. L. Ford. 1969. Effect of heat stress on energy and water utilization of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 52:188–194.
- McManus, C., C. B. Tanure, V. Peripolli, L. Seixas, V. Fischer, A. M. Gabbi, S. R. O. Menegassi, M. T. Stumpf, G. J. Kolling, E. Dias, and J. B. G. Costa Jr. 2016. Infrared thermography in animal production: An overview. *Comput. Electron. Agr.* 123:10–16.
- Mehdi, Y., and I. Dufrasne. 2016. Selenium in cattle: a review. *Molecules.* 21:545.
- Meyer, U., K. Heerdegen, H. Schenkel, S. Dänicke, and G. Flachowsky. 2014. Influence of various selenium sources on selenium concentration in the milk of dairy cows. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit.* 9:101-109.
- Montanholi, Y. R., N. E. Odongo, K. C. Swanson, F. S. Schenkel, B. W. McBride, and S. P. Miller. 2008. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). *J. Therm. Biol.* 33:468–475.
- Moore, K., and W. W. Thatcher. 2006. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1254-1266.
- Mudgal, V., V. K. Gupta, P. K. Pankaj, S. Srivastava, and A. A. Ganai. 2014. Effect of copper supplementation on the onset of estrus in anestrous buffalo cows and heifers. *Buffalo Bull.* 33:1-5.
- Mustacich, D., and G. Powis. 2000. Thioredoxin reductase. *Biochem. J.* 346:1–8.
- Mutoni, G., S. Prasad, K. De, S. Pal, J. Mukherjee, S. Kapila, R. Kapila, H. Kaur, A. K. Mohanty, and A. K. Dan. 2012. Effect of supplementation of vitamin E, copper

- and zinc around parturition on udder health, milk yield and composition of Sahiwal cows. *Livest. Res. Rur. Dev.* 24:220.
- Nääs, I. A., R. G. Garcia, and F. R. Caldara. 2014. Infrared thermal image for assessing animal health and welfare. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 2:66-72.
- Nardone, A., B. Ronchi, N. Lacetera, M. S. Ranieri, and U. Bernabucci. 2010. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest. Sci.* 130:57-69.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Ndlovu, T., M. Chimonyo, A. I. Okoh, V. Muchenje, K. Dzama, and J. G. Raats. 2007. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. *Afr. J. Biotechnol.* 6:2727-2734.
- Nienaber, J. A., and G. L. Hahn. 2004. Engineering and management practices to ameliorate livestock heat stress. In: Proceedings of International Symposium of the CIGR Section II – New Trends in Farm Buildings, CD, Evora, Portugal.
- Nienaber, J. A., and G. L. Hahn. 2007. Livestock production system management responses to thermal challenges. *Int. J. Biometeorol.* 52:149-157.
- Noda, Y., K. Ota, T. Shirasawa, and T. Shimizu. 2012. Copper/zinc superoxide dismutase insufficiency impairs progesterone secretion and fertility in female mice. *Biol. Reprod.* 86:16-1.
- Oltramari, C. E., M. D. G. Pinheiro, M. S. De Miranda, J. R. Arcaro, L. Castelani, L. M. Toledo, L. A. Ambrósio, P. R. Leme, M. Q. Manella, and I. A. Júnior. 2014. Selenium sources in the diet of dairy cows and their effects on milk production and quality, on udder health and on physiological indicators of heat stress. *Ital. J. Anim. Sci.* 13:2921.
- Okado-Matsumoto, A., and I. Fridovich. 2001. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver Cu, Zn-SOD in mitochondria. *J. Biol. Chem.* 276:38388-38393.
- Oregui, L. M., S. Fuentes y C. Arostegui. 1988. Niveles séricos (calcio, magnesio, fósforo, cobre y cinc) en vacuno lechero, evolución respecto a la época del año y el estado productivo. *ITEA*, 74:9-17.

- Orihuela, A. 2000. Some factors affecting the behavioral manifestation of oestrus in cattle: A review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 70:1–16.
- Patterson, H. H., D. C. Adams, T. J. Klopfenstein, R. T. Clark, and B. Teichert. 2003. Supplementation to meet metabolizable protein requirements of primiparous beef heifers: II. Pregnancy and Economics. *J. Anim. Sci.* 81: 503-570.
- Parnekar, S. 2003. Role of micronutrients in augmenting Animal Reproduction. Winterschool on recent advances in the reproduction biotechnology of farm animals, held at RBRU, Anand On. 86-91.
- Penteado, L., F. B. Santos, B. S. Lima, G. Decuadro-Hansen, L. Durel, M. H. A. Colli, W. A. Goncalves Jr, G. M. Zanatta, R. D. Mingotti, and P. S. Baruselli. 2017. Effect of Fosfosal® supplementation on pregnancy rate at FTAI of suckled Nelore cows. *Anim. Reprod.* 14:687.
- En la XVIIIª Reunión Internacional sobre producción de Carne y Leche en Climas Cálidos, 2 y 3 de octubre de 2008, Mexicali, Baja California México.
- Perano, K. M., and K. G. Gebremedhin. 2015. Use of Udder Skin Temperature as a Heat Stress Indicator in Lactating Dairy Cattle. In: ASABE Annual International Meeting, St. Joseph, MI, USA.
- Pereira, M. H. C., A. D. P. Rodrigues, T. Martins, W. V. C. Oliveira, P. S. A. Silveira, M. C. Wiltbank, and J. L. M. Vasconcelos. 2013. Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol. *J. Dairy Sci.* 96:6904–6914.
- Pereira, R. A. 2018. Evaluation of the efficacy of mineral supplementation and of vaccination against reproductive diseases in combination in the increase of conception rate in bovine females. Bachelor's Thesis. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brazil.
- Pessoa, G. A., A. P. Martini, E. B. Parmeggiani, B. S. de Lima, G. Pastre, L. Durell, and G. Decuadro-Hansen. 2017. Effect of mineral injectable supplementation with phosphorus, selenium, magnesium, copper and potassium on cyclicity resumption and pregnancy rate of *Bos taurus* or crossbreed beef cows during the protocol of FTAI. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.* 15(Supl.2):S269-270.

- Peterson, R. G., and D. E. Waldern. 1981. Repeatabilities of serum constituents in Holstein-Friesians affected by feeding, age, lactation, and pregnancy. *J. Dairy Sci.* 64:822-831.
- Pinheiro, M. G., J. R. Nogueira, M. L. P. Lima, P. R. Leme, M. Macari, I. A. Naas, L. A. Lalloni, E. A. L. Titto, and A. F. Pereira. 2005. Holding pen environment effects on skin temperature, rectal temperature and milk production in jersey cows. *Rev. Port. Zootec.* 12:37-43.
- Polsky, L., and M. A. von Keyserlingk. 2017. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J. Dairy Sci.* 100:8645–8657.
- Pragna, P., P. R. Archana, J. Aleena, V. Sejian, G. Krishnan, M. Bagath, A. Manimaran, V. Beena, E. K. Kurien, G. Varma, and R. Bhatta. 2017. Heat stress and dairy cow: impact on both milk yield and composition. *Int. J. Dairy Sci.* 12:1-11.
- Prasad, C. S., P. V. Sharma, A. Obireddy, and G. P. Chinnaiya. 1989. Trace elements and ovarian hormonal levels during different reproductive conditions in crossbred cattle. *Indian J. Dairy Sci.* 42:489-492.
- Precht, H., J. Christophersen, H. Hensel and W. Larcher. 1973. Heat exchange with the environment. In *Temperature and Life*. Springer Berlin Heidelberg. Pp. 545-564.
- Przybylska, J., E. Albera, and M. Kankofer. 2007. Antioxidants in bovine colostrum. *Reprod. Domest. Anim.* 42:402-409.
- Puls, R. 1994. Mineral levels in animal health. *Diagnostic Data*. 2nd Edition. Sherpa International, Clearbrook, BC, Canada.
- Pusta, D., R. Sobolu, S. Andrei, C. Raducu, I. Pop, A. Tăbăran, O. Reget, M. Borzan, and I. Pașca. 2018. The Influence of Solar Radiation on the Antioxidant Systems in Blood of Dairy Cows and Their Correlations with Milk Quality and Quantity. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj Napoca.* 75:95-98.
- Quiles, A., y M. L. Hevia. 1988. Propiedades físicas de la leche de cabra. *Ganadería* 1:53-55.

- Qureshi, M. S., S. Akhtar, and R. U. Khan. 2017. The effect of vitamin E and selenium on physiological, hormonal and antioxidant status of Damani and Balkhi sheep submitted to heat stress. *Appl. Biol. Chem.* 60:585–590.
- Ran, L., X. Wu, X. Shen, K. Zhang, F. Ren, and K. Huang. 2010. Effects of selenium form on blood and milk selenium concentrations, milk component and milk fatty acid composition in dairy cows. *J. Sci. Food Agric.* 90:2214-2219.
- Randhawa, S. S., and C. S. Randhawa. 1994. Trace element imbalances as a cause of infertility in farm animals, In: *Proceedings of ICAR summer school on Recent advances in animal reproduction and gynaecology. Held at PAU, Ludhiana (25th July to 13th Aug.)*. pp.103-121.
- Rapoport, R., D. Sklan, D. Wolfenson, A. Shaham-Albalancy, and I. Hanukoglu. 1998. Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during the bovine estrous cycle. *Biochim. Biophys. Acta.* 1380:133-140.
- Radostits, O. M., C. C. Gay, K. W. Hinchcliff, and P. D. Constable. 2007. Diseases associated with nutritional deficiencies. In: *Veterinary medicine: a textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Saunders Elsevier, Edinburgh, UK, pp. 1691–1783.
- Rashamol, V. P., V. Sejian, M. Bagath, G. Krishnan, P. R. Archana, and R. J. Bhatta. 2018. Physiological adaptability of livestock to heat stress: an updated review. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 6:62–71.
- Ravagnolo, O., I. Misztal, and G. Hoogenboom. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J. Dairy Sci.* 83:2120–2125.
- Ravagnolo, O., and I. Misztal. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. *J. Dairy Sci.* 83:2126-2130.
- Ravagnolo, O., and I. Misztal. 2002. Effect of heat stress on nonreturn rate in Holstein cows: Genetic analyses. *J. Dairy Sci.* 85:3092-3100.
- Reddy, K. V., T. C. Kumar, M. Prasad, and P. Reddanna. 1998. Pulmonary lipid peroxidation and antioxidant defenses during exhaustive physical exercise: the role of vitamin E and selenium. *Nutrition.* 14:448-451.

- Renaudeau, D., A. Collin, S. Yahav, V. De Basilio, J. L. Gourdine, and R. J. Collier. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal*. 6:707-728.
- Renquist, B. J. 2019. Invited Review: Hypophagia and hypogalactia associated with heat stress. *Appl. Anim. Sci.* 35:49-56.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, R. J. Collier, S. R. Sanders, W. J. Weber, B. A. Crooker, and L. H. Baumgard. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.* 92:1986–1997.
- Rivera-Acuña, F., E. Prado-Martinez, P. Luna-Nevárez, M. G. Méndez-Castillo, L. Avendaño-Reyes, J. F. Hernández-Chávez, J. L. Espinoza-Villavicencio, J. Hernández-Cerón, and A. Correa-Calderón. 2015. Induction of Lactation in Holstein Cows Using Progesterone Injections or Progesterone Vaginal Inserts. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 5:13-20.
- Ronchi, B., G. Stradaoli, A. V. Supplizi, U. Bernabucci, N. Lacetera, P. A. Accorsi, A. Nardone, and E. Seren. 2001. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livest. Prod. Sci.* 68:231–241.
- Roth, Z., R. Meidan, R. Braw-Tal, and D. Wolfenson. 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J. Reprod. Fertil.* 120:83–90.
- Roth, Z., R. Meidan, A. Shaham-Albalancy, R. Braw-Tal, and D. Wolfenson. 2001. Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction*. 121:745–751.
- Rowlands, G. J., R. Manston, R. M. Pocock, and S. M. Dew. 1975. Relationships between stage of lactation and pregnancy and blood composition in a herd of dairy cows and the influences of seasonal changes in management on these relationships. *J. Dairy Res.* 42:349-362.
- Ryan, D. P., M. P. Boland, E. Kopel, D. Armstrong, L. Munyakazi, R. A. Godke, and R. H. Ingraham. 1992. Evaluating two different evaporative cooling

- management systems for dairy cows in a hot, dry climate. *J. Dairy Sci.* 75:1052–1059.
- Sailo, L., and R. Das. 2016. Heat Stress in Livestock: Impacts and Ameliorative Strategies--a Review. *Int. J. Bio-res. S. Manag.* 7:174-183.
- Salles, M. S. V., M. A. Zanetti, F. A. Salles, E. A. L. Titto, and R. M. C. Conti. 2010. Changes in ruminal fermentation and mineral serum level in animals kept in high temperature environments. *R. Bras. Zootec.* 39:883-890.
- Salles, M. S. V., S. C. da Silva, F. A. Salles, L. C. Roma Jr, L. El Faro, P. A. B. Mac Lean, C. E. L. de Oliveira, and L. S. Martello. 2016. Mapping the body surface temperature of cattle by infrared thermography. *J. Therm. Biol.* 62:63-69.
- Sangha, G. K., R. K. Sharma, and S. S. Guraya. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Res.* 43:53-64.
- SAS Institute, Inc. 2011. SAS® 9.3 [Software]. Cary, NC, USA.
- Schneider, P. L., D. K. Beede, C. J. Wilcox, and R. J. Collier. 1984. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 67:2546.
- Schneider, P. L., D. K. Beede, and C. J. Wilcox. 1986. Responses of lactating cows to dietary sodium source and quantity and potassium quantity during heat stress. *J. Dairy Sci.* 69:99–110.
- Schonewille, J. T. 2013. Magnesium in dairy cow nutrition: an overview. *Plant and soil.* 368:167-178.
- Schütz, K. E., A. R. Rogers, N. R., Cox, and C. B. Tucker. 2009. Dairy cows prefer shade that offers greater protection against solar radiation in summer: Shade use, behaviour, and body temperature. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 116:28-34.
- Schütz, K. E., A. R. Rogers, Y. A. Poulouin, N. R. Cox, and C. B. Tucker. 2010. The amount of shade influences the behavior and physiology of dairy cattle. *J. Dairy Science.* 93:125-133.
- Schweigert, F. J., and H. Zucker. 1988. Concentrations of vitamin A, β -carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *Reproduction* 82:575-579.

- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2018. Crece la producción de leche en México: SAGARPA. Consultado el día 23 de agosto del 2018 de: <https://www.gob.mx/sagarpa/prensa/crece-la-produccion-de-leche-en-mexico-sagarpa-158644>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Hidráulicos, Pesca y Acuicultura. (SAGARHPA). 2017. Producción de leche de Ganado Bovino en Sonora. Hermosillo, Sonora. Consultado el día: 17 de octubre del 2017 de: <http://oiapes.sagarhpa.sonora.gob.mx/notas/leche.pdf>
- Sejian, V., A. K. Singh, A. Sahoo, and S. M. K. Naqvi. 2014. Effect of mineral mixture and antioxidant supplementation on growth, reproductive performance and adaptive capability of Malpura ewes subjected to heat stress. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 98:72-83.
- Sellier, N., E. Guettier, and C. Staub. 2014. A review of methods to measure animal body temperature in precision farming. *Am. J. Agric. Sci. Technol.* 2:74–99.
- Senger, P. L. 2012. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Redmond, OR: Current Conceptions Inc.
- Senosy, W., A. Y. Kassab, H. A. Hamdon, H. A., and A. A. Mohammed. 2018. Influence of organic phosphorus on reproductive performance and metabolic profiles of anoestrous Farafra ewes in subtropics at the end of breeding season. *Reprod. Domest. Anim.* 53:904-913.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca (SIAP). 2016. Panorama de la Leche en México. Consultado el día 14 de octubre del 2017 de: http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2016.pdf
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca (SIAP). 2017. Panorama de la Leche en México. Consultado el día 14 de octubre del 2017 de: <https://www.inforural.com.mx/panorama-la-leche-mexico-2/>
- Sheela, C., and S. Ajay. 2004. Role of nutrition in reproduction: a review. *Intas Polivet.* 5:229-234.

- Shimizu, T. 2016. Molecular and cellular mechanisms for the regulation of ovarian follicular function in cows. *J. Reprod. Dev.* 62:323-329.
- Shultz, T. A. 1984. Weather and shade effects on cow corral activities. *J. Dairy Sci.* 67:868–873.
- Sjaastad, O. V., O. Sand, and K. Hove. 2010. *Physiology of Domestic Animals*. 2nd edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press. Pp. 658–759.
- Smith, J. E., and J. E. Cipriano. 1987. Inflammation-induced changes in serum iron analytes and ceruloplasmin of Shetland ponies. *Vet. Pathol* 24:354–356.
- Smith, O. B., and O. O. Akinbamijo. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.* 60:549-560.
- Srikandakumar, A. and E. H. Johnson. 2004. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu cows. *Trop. Anim. Health Prod.* 36:685-692.
- Stermer, R. A., C. Brasington, C. E. Coppock, J. K. Lanham, and K. Z. Milam. 1986. Effect of drinking water temperature on heat stress of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69:546-551.
- Sun, L. L., S. T. Gao, K. Wang, J. C. Xu, M. V. Sanz-Fernandez, L. H. Baumgard, and D. P. Bu. 2019. Effects of source on bioavailability of selenium, antioxidant status, and performance in lactating dairy cows during oxidative stress-inducing conditions. *J. Dairy Sci.* 102:311-319.
- Suttle, N. 1993. Overestimation of copper deficiency. *Vet. Rec.* 133:123-124.
- Tabatabaei, S., M. Mamoei, and A. Aghaei. 2011. Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. *Comp. Clin. Pathol.* 20:591-595.
- Thom, E. C. 1959. The discomfort index. *Weatherwise.* 12:57-61.
- Thompson, K. M., H. Haibach, and R. A. Sunde. 1995. Growth and plasma triiodothyronine concentrations are modified by selenium deficiency and repletion in second-generation selenium-deficient rats. *J. Nutr.* 125:864-873.
- Thompson, J. C., R. N. Thornton, S. N. Bruere, and R. S. Ellison. 1998. Selenium reference ranges in New Zealand cattle. *N. Z. Vet. J.* 46:65-67.

- Torrao, N. A., R. S. Hetem, L. C. R. Meyer, and L. G. Fick. 2011. Assessment of the use of temperature-sensitive microchips to determine core body temperature in goats. *Vet. Rec.* 168:328.
- Trout, J. P., L. R. McDowell, and P. J. Hansen. 1998. Characteristics of the Estrous Cycle and Antioxidant Status of Lactating Holstein Cows Exposed to Heat Stress. *J. Dairy Sci.* 81:244-1250.
- Tucker, C. B., A. R. Rogers, and K. E., Schütz. 2008. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109, 141–154.
- Vercoe, E. 1999. Climatic and environmental factors affecting dairy productivity. In: L. Falvey, C. Chantalakhana (Eds.), *Smallholder Dairying in the Tropics*. ILRI (International Livestock Research Institute), Nairobi, Kenya.
- Wagner, W.C. and Hansel, W. 1969. Reproductive physiology of the post-partum cow. *Reproduction.* 18:493-500.
- Wallace, D. C., and S. Melov. 1998. Radicals r'aging. *Nat. Genet.* 19:105–106.
- Ward, M., Lardy, G. 2005. *Beef Cattle Mineral Nutrition*. AS-1287. NDSU Extension Service. North Dakota State University.
- Wathes, D. C., M. Fenwick, Z. Cheng, N. Bourne, S. Llewellyn, D. G. Morris, D. Kenny, J. Murphy, and R. Fitzpatrick. 2007. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology.* 68:S232-S241.
- West, J. W. 1994. Interactions of energy and bovine somatotropin with heat stress. *J. Dairy Sci.* 77:2091–2102.
- West, J. W., B. G. Mullinix, and J. K. Bernard. 2003a. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:232-242.
- West, J. W. 2003b. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- Wilson, S. J., R. S. Marion, J. N. Spain, D. E. Spiers, D. H. Keisler, and M. C. Lucy. 1998. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:2124–2131.

- Wolfenson, D., W. W. Thatcher, L. Badinga, J. D. Savio, R. Meidan, B. J. Lew, R. Braw-Tal, and A. Berman. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52:1106-1113.
- Wolfenson, D., and Z. Roth. 2018. Impact of heat stress on cow reproduction and fertility. *Anim. Front.* 9:32-38.
- Yadav, B., G. Singh, and A. Wankar. 2017. The use of infrared skin temperature measurements for monitoring heat stress and welfare of crossbred cattle. *Indian J. Dairy Sci.* 70:27-131.
- Yamamoto, S., B. A. Young, B. P. Purwanto, F. Nakamasu, and T. Matsumoto. 1994. Effect of solar radiation on the heat load of dairy heifers. *Aust. J. Agric. Res.* 45:1741-1749.
- Yao, X., M. A. Ei-Samahy, L. Fan, L. Zheng, Y. Jin, G. Zhang, Z. Liu, and F. Wang. 2018. In vitro influence of selenium on the proliferation of and steroidogenesis in goat luteinized granulosa cells. *Theriogenology* 114:70-80.
- Yasothei, R. 2014. Importance of minerals on reproduction in dairy cattle. *Int. J. Sci. Environ. Technol.* 3:2051-2057.
- Yousef, M. K. 1985. *Stress physiology in livestock. Volume I. Basic principles.* CRC press.
- Zagorska, J., and I. Ciprovica. 2013. Evaluation of factors affecting freezing point of milk. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 7:393–398.
- Zähner, M., L. Schrader, R. Hauser, M. Keck, W. Langhans, and B. Wechsler. 2004. The influence of climatic conditions on physiological and behavioural parameters in dairy cows kept in open stables. *Anim. Sci.* 78:139-147.
- Zimbelman, R. B., R. P. Rhoads, M. L. Rhoads, G. C. Duff, L. H. Baumgard and R. J. Collier. 2009. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. In *Western Dairy Management Conference*, 9-11 March, Reno, Nevada, USA. 113-126.

Zygmunt, G., K. Adamczyk, P. Zapletal, J. Frelich, M. Slachta, and A. Andreasik.
2013. Impact of the location of the dairy cows in the barn on their body
surface temperature. *J. Cent. Eur. Agric.* 14:1081–1090.