

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS



“EFECTO DEL ENFRIAMIENTO ARTIFICIAL EN LA RESPUESTA FISIOLÓGICA, METABÓLICA Y HEMATOLÓGICA DE VAQUILLAS HOLSTEIN ESTRESADAS POR CALOR”

TESIS

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA:

Lic. Maricela Ruiz Ortega

DIRECTOR DE TESIS

Ph. D. Abelardo Correa Calderón

MEXICALI, B. C., MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2011

ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR INDICADO, HA SIDO APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

**Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California.
Septiembre de 2011.**

Ph. D. Abelardo Correa Calderón
Director de tesis

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes
Sinodal

Dr. Ulises Macías Cruz
Sinodal

Dr. Raúl Díaz Molina
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

*A DIOS, a mi madre, mi padre, mi hermano, mi hermana, mi tutor,
mis sinodales, mi compañero de campo, mis amigas, mis amigos y mis
colegas, y en especial a ti.*

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	iii
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	4
El estrés	4
Estrés por calor	5
Zona termoneutral y temperaturas críticas del ganado bovino.....	6
Sistemas de termorregulación en el ganado bovino.....	7
Estrategias para reducir el estrés por calor en el ganado	8
Metabolitos en el ganado bovino	11
Biometría hemática del ganado bovino	13
Estrés Oxidativo y capacidad antioxidante en bovinos.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS	20
Área de estudio	20
Instalaciones y manejo	20
Animales y tratamientos experimentales	23

Variables evaluadas	24
Capacidad antioxidante	25
Tratamientos	25
Animales experimentales y manejo	25
Muestreo para obtener la Capacidad Antioxidante Total.....	26
Datos climáticos	26
Análisis estadísticos	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
Datos Climatológicos.....	28
Variables Fisiológicas.....	37
Metabolitos sanguíneos.....	40
a) Glucosa	40
b) Triglicéridos	43
c) Colesterol	44
Conteo leucocitario.....	45
Capacidad Antioxidante Total.....	49
CONCLUSIONES	52
LITERATURA CITADA	53

LISTA DE CUADROS**Página**

Cuadro 1. Ingredientes y composición química en base seca de la dieta.....	22
Cuadro 2. Valores promedios, máximos y mínimos de temperatura ambiental, humedad relativa, velocidad del viento, ITH y radiación solar durante el experimento	32
Cuadro 3. Media y desviación estándar de variables fisiológicas de vaquillas enfriadas y no enfriadas	39
Cuadro 4. Media y desviación estándar de la concentración de glucosa (mg/dL) de vaquillas enfriadas y bajo solo sombra	41
Cuadro 5. Media y desviación estándar de la concentración de triglicéridos (mg/dL) de vaquillas de vaquillas enfriadas y bajo solo sombra.....	43

Cuadro 6. Media y desviación estándar de la concentración de
colesterol (mg/dL) de vaquillas enfriadas y bajo solo sombra ----- 45

Cuadro 7. Media y desviación estándar del conteo leucocitario de
vaquillas enfriadas y bajo solo sombra ----- 48

LISTA DE FIGURAS**Página**

Figura 1. Temperatura ambiental, humedad relativa e ITH por semana durante la fase experimental -----	33
Figura 2. Temperatura del bulbo negro en diferentes ubicaciones del área experimental -----	35
Figura 3. Temperatura del suelo en diferentes ubicaciones del área experimental y temperatura del agua en bebedero -----	36

RESUMEN

Se realizó un experimento, utilizando vaquillas Holstein (n=120) con peso vivo promedio de 350 kg y edad de entre 12 y 14 meses. El objetivo fue evaluar el efecto de un sistema de enfriamiento sobre la respuesta fisiológica, metabólica y hematológica de vaquillas estresadas por calor. Los animales fueron asignados al azar en: 1) tratamiento testigo (TT, n=60), corral con solo sombra, y 2) tratamiento experimental (TEA, n=60), corral con sombra provista con un sistema de enfriamiento basado en abanicos y aspersores de agua cada uno; el cual operó de 1000 a 1600 h y de 1700 a 1900 h diariamente. Se registró la frecuencia respiratoria (FR), temperatura rectal (TR) y de la piel en anca (TA) y cuello (TC). Para determinar la concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol se colectaron muestras de sangre los días 10, 19, 27 y 32 posteriores al inicio del experimento. En los 10 y 32 d las muestras fueron dobles para realizar un conteo leucocitario. El análisis estadístico para FR, TR, TA y TC fue mediante un diseño con mediciones repetidas bajo el procedimiento PROC MIXED; para los metabolitos se utilizó un diseño factorial 2 x 2 con el procedimiento GLM (SAS, 2004). Adicionalmente evaluó la capacidad antioxidante total (CAT) de vaquillas durante verano e invierno. Las vaquillas fueron seleccionadas al azar y muestreadas en verano (n=35) e invierno (n=40) y se analizó con un diseño completamente al azar y prueba de ANOVA. El ITH promedio fue de 80.5 unidades. Las variables fisiológicas fueron menores ($P < 0.001$) en TEA comparadas con TT. La concentración de glucosa fue menor ($P < 0.05$) en el 10 y 19 d de TEA. La concentración de triglicéridos fue mayor ($P < 0.05$) en TEA contra TT en los muestreos. La concentración de colesterol fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos. El conteo leucocitario y la CAT fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos. Se concluye que el sistema de enfriamiento utilizado artificial mejoró el confort de las vaquillas en verano, sin embargo no tuvo efecto significativo sobre las variables metabólicas y hematológicas. La CAT de vaquillas no fue afectada por el verano e invierno.

SUMMARY

Experiment was performed using Holstein heifers ($n = 120$) with average live weight of 350 kg and aged between 12 and 14 months. The objective was to evaluate the effect of cooling system on the physiological, metabolic and hematological response on heat stressed heifers. The animals were randomly assigned to: 1) control (TT, $n = 60$), corral with shade alone, and 2) the experimental treatment (TEA, $n = 60$), corral with shade provided with a cooling system based on fans and sprinklers each, which operated from 1000 to 1600 h and 1700 to 1900 h daily. We recorded respiratory rate (RR), rectal temperature (RT) and buttock skin (TA) and neck (TC). To determine the concentration of glucose, triglycerides and blood samples were collected on 10, 19, 27 and 32 after the start of the experiment. In the 10 and 32 d samples were double for leukocyte count. Statistical analysis for RF, TR, TA and TC was by design with repeated measurements under the PROC MIXED procedure, for the metabolites is used 2 x 2 factorial design with the GLM procedure (SAS, 2004). Additionally assessed the total antioxidant capacity (TAC) of heifers during summer and winter. Heifers were randomly selected and sampled in summer ($n = 35$) and winter ($n = 40$) and analyzed by completely randomized design ANOVA. The average was 80.5 ITH units. The physiological variables were lower ($P < 0.001$) in ASD compared with TT. The glucose concentration was lower ($P < 0.05$) at 10 and 19 d of TEA. The triglyceride concentration was higher ($P < 0.05$) in TEA against TT in samples. Cholesterol concentration was similar ($P > 0.05$) between treatments. The leukocyte count and CAT were similar ($P > 0.05$) between treatments. We conclude that artificial cooling system used improved the comfort of the cows in summer, but had no significant effect on metabolic and hematologic variables. The CAT of heifers was not affected by the summer and winter.

INTRODUCCIÓN

El término “estrés animal” se define como la respuesta del organismo frente a una situación de amenaza, modificando su homeostasis (Ferin, 2006), lo cual se considera como una condición anormal e indeseable (Stott, 1981; Ferin, 2006). Existen diversos factores que ocasionan estrés en los animales, entre ellos se encuentra la exposición a climas extremos (Stott, 1981). Durante el verano, en el norte de México, se han reportado temperaturas superiores a los 43°C (SMN, 2010), lo que ocasiona que el ganado bovino Holstein presente “estrés por calor” (Armstrong, 1994). Lo anterior con lleva a una activación de una serie de mecanismos fisiológicos para contrarrestar la elevación de la temperatura corporal como consecuencia de la temperatura ambiental externa (Armstrong, 1994; West, 2003).

Debido a las pérdidas económicas que ocasiona el estrés por calor durante el verano, los ganaderos han optado por utilizar diversas estrategias que minimizan la ganancia de calor, como por ejemplo, la reducción de la exposición del ganado a la radiación solar y el maximizar las pérdidas de calor por otros medios evaporativos (Mitlöhner, 2001; Bilby, 2010). Entre las estrategias frecuentemente utilizadas se encuentran el uso de sombras, aspersores, abanicos y modificaciones en la dieta (West, 2003; Smith et al., 2006). El uso combinado de abanicos con aspersores de agua con gotas finas en corrales con sombra ha demostrado ser una eficiente estrategia que reduce el estrés por calor, ya que activa los sistemas de evaporación en el animal y lo refrescan

simultáneamente, ayudando a que el ganado mantenga en rangos normales de la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal (Armstrong, 1994; West, 2003; Correa et al., 2004; Smith et al., 2006). Además, el uso de abanicos disminuye la presencia de insectos en el corral (Schütz et al., 2011).

Para evaluar el efecto del estrés por calor se utilizan distintas variables fisiológicas (Mittlöhner 2001); una de ellas es el perfil metabólico, que además de identificar enfermedades, deficiencias en la dieta o bajas productivas en el ganado (Lee et al., 1978), permite conocer si factores externos, como el clima cálidos, afectan negativamente la concentración de los principales metabolitos como glucosa, triglicéridos y colesterol en el ganado bovino lechero (Campos et al., 2004; Rhoads et al., 2009; Martínez et al., 2010).

La bromatología sanguínea también se ha utilizado en la evaluación del estrés por calor, reportándose una disminución significativa entre los valores hematológicos de vaquillas Holstein en verano comparado con el de vaquillas en invierno (El-Nouty et al., 1990). Otros autores no han reportan cambios en la hemoglobina de vaquillas a temperaturas de 32 °C; tampoco durante las distintas estaciones del año (primavera, verano, otoño e invierno) se describen alteraciones en el conteo leucocitario de vacas Holstein, concluyendo que el ganado se adapta a las variaciones climáticas (Gutierrez et al., 1971; Aengwanich et al., 2009).

Las elevadas temperaturas modifican también los niveles de estrés oxidativo (Bernabucci et al., 2002), por lo que se ha utilizado como estimador del efecto de estrés por calor en el organismo de los bovinos Holstein (Harmon et al., 1997; Calamari et al., 1999; Bernabucci et al., 2002), debido a que existe un incremento en la producción endógena de radicales libres o especies reactivas de oxígeno, aumentando el estrés oxidativo y disminuyendo la defensa antioxidante durante el verano (Bernabucci et al., 2002).

Por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de un sistema de enfriamiento sobre variables fisiológicas, metabólicas y hematológicas en vaquillas Holstein durante el verano en el valle de Mexicali. Adicionalmente se evaluó la capacidad antioxidante durante verano e invierno en vaquillas Holstein.

REVISIÓN DE LITERATURA

El estrés

Durante la segunda mitad del siglo XX se describió la capacidad de los seres vivos para mantenerse internamente en equilibrio corporal constante interno esto independientemente de las modificaciones del medio ambiente. Dicha capacidad se denominó “*homeostasis*”, y es continuamente desafiada por efectos adversos internos y/o externos, los cuales son conocidos como “*estresores*”. Hans Selye, en los años 30’s, definió bajo el concepto de “síndrome del estrés” como el estado en el que la homeostasis se encuentra amenazada y es necesario el restablecimiento del equilibrio del medio interno mediante respuestas fisiológicas (Botelho y Conde, 2003; Chrousos, 2009). El término “estrés animal” hace referencia a la respuesta del animal frente a una situación de amenaza o alteración a su homeostasis, lo cual incluye cambios fisiológicos y de conducta (Ferin, 2006); Por lo tanto, el estrés animal es considerado como una condición anormal e indeseable.

La fisiología del animal en condiciones de estrés cambia como consecuencia del sistema nervioso autónomo simpático, el cual, según la etapa de estrés, aumenta en primer lugar la frecuencia cardiaca, y en segundo, la secreción de hormonas como los glucocorticoides por parte de la corteza de las glándulas adrenales. Estas a su vez dan origen a otros cambios, por ejemplo, la movilización de reservas de glucosa. Los cambios de conducta afectan principalmente el consumo de alimento, ocasionando que el animal disminuya tanto la ingesta de alimento como su capacidad reproductiva (Ferin, 2006).

El estrés representa la movilización total de fuerzas en el organismo de las cuales se caracterizan por la activación simpática, incluyendo un aumento de adrenalina y noradrenalina (Botelho y Conde, 2003). Cuando un organismo se encuentra frente a un estresor reacciona bajo las siguientes etapas: 1) reacción de alarma, en cuanto el estresor altera el equilibrio homeostático del animal este responde con la activación del eje simpático-adrenomedular liberando catecolaminas; 2) etapa de resistencia, se activa al eje HPA (Hipófisis–Pituitaria-Adrenal), ocasionando una liberación de corticosteroides procedentes de la corteza adrenal; 3) si el estresor persiste, se incluye un mecanismo adicional que permiten al organismo tolerar los efectos del estresor; y 4) si el estresor aun así subsiste, el estado o etapa final del organismo es la exhaustividad y por consiguiente la muerte (Ferin, 2006). Animales que se encuentran bajo algún factor estresor durante períodos prolongados disminuyen su crecimiento, reducen el comportamiento reproductivo y se vuelven susceptibles a los mecanismos de defensa ante agentes patógenos (Ferin, 2006). La interacción con otros animales y la exposición a climas extremos se consideran factores estresores (Stott, 1981).

Estrés por calor

El estrés por calor se define como la carga de calor que se acumula en el organismo, aumentando la temperatura corporal y activando los mecanismos que ayudan a disipar este calor hacia el exterior del animal (Stott, 1981; Hansen y Arechiga, 1999; Jordan, 2003). Temperaturas ambientales elevadas, fuera de

la zona de confort, ocasionan estrés por calor en bovinos, los cuales activan una serie de mecanismos fisiológicos para disminuir la carga de calor (Armstrong, 1994; West, 2003). Algunas de estos mecanismos para contrarrestar el estrés por calor son la reducción del consumo de alimento y un aumento tanto del consumo de agua como de requerimientos energéticos (Fuquay, 1981). La activación de estos mecanismos modifican la concentración hormonal en sangre (Fuquay, 1981, Stott, 1981; Armstrong, 1994; West, 2003).

Zona termoneutral y temperaturas críticas del ganado bovino

La “zona de confort” o “zona termoneutral” se define como el rango de temperatura ambiental en la cual la tasa metabólica es mínima y ésta varía según la especie y la raza (Fuquay, 1981). En bovinos Holstein se localiza entre los 5 y 25°C (West, 2003). Dentro de esta zona, el animal mantiene su temperatura corporal estable sin realizar un esfuerzo adicional, es decir, sin la intervención de mecanismos fisiológicos compensatorios (Fuquay, 1981). El ganado bovino lechero, con temperaturas ambientales mayores a los 25°C, presenta un incremento gradual en la temperatura corporal a la vez que aumenta la frecuencia respiratoria y sudoración (Fuquay, 1981; Armstrong, 1994; West, 2003). La activación de la sudoración y otros mecanismos evaporativos en gran medida dependen del porcentaje de humedad relativa presente en el ambiente, ya que entre mayor sea, dificulta las pérdidas evaporativas de calor (Armstrong, 1994).

Los principales factores que influyen sobre la temperatura corporal son la temperatura ambiental, humedad relativa, el movimiento del aire y la radiación solar (Armstrong, 1994). Con la información de los registros de temperatura ambiental y humedad relativa se desarrolló el índice denominado “Índice de Temperatura y Humedad” conocido por sus siglas como ITH, el cual establece zonas de confort o riesgo para la salud del ganado bovino lechero (Armstrong, 1994). No obstante, el ITH descrito por Hahn (1999) no considera el movimiento del aire ni la radiación solar, los cuales son importantes en la determinación del nivel de estrés por calor (Berman, 2005). Se ha establecido que un ITH menor a 72 unidades no representa un riesgo de estrés por calor en ganado, sin embargo, de 72 a 77 unidades es clasificado como estrés “leve” debido a que los animales se enfrentan a una condición ambiental adversa, iniciando la activación de mecanismos compensatorios para mantener la temperatura corporal normal (Armstrong, 1994; Smith et al., 2006) y conforme aumenta el ITH, las funciones productivas de la vaca se reducen (Hahn, 1999; Ravagnolo et al., 2000). Niveles de estrés calórico severo incrementan la probabilidad de muerte, en especial a $ITH > 84$ durante el día y sin poca o ninguna recuperación en la noche, un ITH de 87 a 97 unidades se considera de peligro y posiblemente mortal para el ganado (Armstrong, 1994; West, 2003; Vitali et al., 2009).

Sistemas de termorregulación en el ganado bovino

El bovino es considerado un animal homeotermo, es decir, pese a las fluctuaciones en la temperatura ambiental, es capaz de mantener la temperatura

interna corporal relativamente constante (West, 2003). La temperatura corporal interna de la vaca Holstein se encuentra en torno a los 38.3 y 38.7°C, con una variación de $\pm 0.6^{\circ}\text{C}$ a 1.2°C (West, 2003; Bewley et al., 2008).

La vaca es capaz de eliminar calor mediante mecanismos de radiación, convección, conducción y evaporación (West, 2003). El mecanismo de radiación consiste en eliminar calor mediante rayos infrarrojos (forma de energía calórica) y funciona cuando existe una diferencia de temperaturas entre el animal y el ambiente circundante (Fuquay, 1981). La convección es una transferencia de calor mediante la movilización física de partículas que rodean el animal, las partículas que tocan la superficie del animal se desplazan transportando la carga de calor. La conducción elimina el calor a través de la transferencia de energía entre dos objetos próximos. Esta función es importante ya que desde el interior del organismo se desplaza el calor hasta la superficie, es decir, del interior a la piel y de la piel hacia el medioambiente, siempre y cuando este último tenga una temperatura inferior a la temperatura interna corporal (Fuquay, 1981; West, 2003). Por último la evaporación, donde la energía térmica se transforma en vapor de agua, lo cual ocurre sobre la piel del animal (Berman, 2010), produciéndose en forma de espiración, sudoración, difusión de agua subcutánea y salivación (Fuquay, 1981).

Estrategias para reducir el estrés por calor en el ganado

Desde los años 50's hasta la actualidad, diversos autores coinciden sobre las pérdidas productivas y reproductivas que ocasiona el estrés por calor en el

ganado lechero y la necesidad de disminuir este problema (Fuquay, 1981; Bilby, 2010). Se ha optado primordialmente por minimizar la ganancia de calor en el bovino reduciendo su exposición a la radiación solar y maximizando las pérdidas de calor por medio de una reducción de la temperatura del aire circundante facilitando las pérdidas evaporativas directamente en la vaca (Bilby, 2010). Existen varias técnicas para reducir el estrés por calor en el ganado lechero, entre las más comunes se encuentra el uso de sombras, aspersores, abanicos y modificaciones en la dieta (West, 2003), otras tecnologías incluyen túneles de enfriamiento y animales seleccionados genéticamente para resistir temperaturas ambientales elevadas (Smith et al., 2006).

El uso de sombras en el establo se considera como un método accesible y económico en cualquier región. La sombra disminuye el efecto de estrés por calor en los animales al protegerlos directa e indirectamente de la radiación solar (Armstrong, 1994; West, 2003). Se ha estimado que la radiación solar bajo sombras se reduce entre 30 y 50%, lo cual favorece la disminución de la temperatura rectal y la tasa respiratoria (West, 2003). Sin embargo las sombras no protegen de la temperatura del aire, ni influyen en las condiciones de humedad relativa (Rhoads et al., 2009).

Por otra parte, la combinación de abanicos con aspersores, activa los sistemas de evaporación de los animales ya que el ambiente se satura de gotas que refrescan al ganado, ayudando a mantener la temperatura corporal dentro de los rangos normales (Armstrong, 1994; Smith et al., 2006). Correa et al.

(2004) reportaron en novillo Holstein bajo enfriamiento, una disminución de la frecuencia respiratoria de 104 a 89 respiraciones por minuto por efecto del uso de un sistema de enfriamiento compuesto por abanicos y aspersores. Otra ventaja del uso de los aspersores es la disminución de insectos en los corrales (Schütz et al., 2011).

Los aspersores poseen distintas características, según el tamaño de gota que proporcionen y el efecto de “mojado” que causen en el animal; los rociadores son utilizados comúnmente en las salas de ordeña y proporcionan una gota de mayor tamaño, originando un mojado completo, que al evaporarse refrescan al animal; los nebulizadores tienen una gota fina que disminuye la temperatura del aire, ayudando a disipar el calor de la piel del animal (Collier et al., 2006). Cabe mencionar que el uso de esta tecnología implica altos costos económicos para los ganaderos, además la combinación del sistema “abanico/aspersor” ha sido cuestionado en ambientes con elevada humedad relativa, debido a que no ayuda en las pérdidas de calor por evaporación (Mitlöhner et al., 2002).

Es importante mencionar que además de los sistemas de enfriamiento activos durante el día, la vaca por sí misma efectúa un mecanismo compensatorio durante la noche, debido a que preexiste variaciones en la temperatura ambiental al desaparecer la radiación solar, disminuir la temperatura del aire y elevarse la humedad relativa, ocasionando que el bovino recupere su homeostasis (Fuquay, 1981). Aunque existen avances en los sistemas de

enfriamiento para disminuir la pérdida de producción de leche durante los meses de verano, actualmente el estrés por calor continua teniendo impactos negativos, afectando la economía de la industria lechera (Wheelock et al., 2010).

Metabolitos en el ganado bovino

El perfil de metabolitos en sangre se utiliza ampliamente en la identificación de enfermedades y en deficiencias en la dieta o bajas productivas en el ganado bovino (Lee et al., 1978). Además permite conocer la relación entre adaptación y producción (Campos et al., 2004). Existen diversos factores que alteran la concentración de metabolitos en sangre, por ejemplo, las épocas del año (primavera, verano, otoño e invierno) y la producción de leche (Lee et al., 1978).

Temperaturas ambientales por debajo de los 5°C aumenta la ingesta de alimento, por el contrario, temperaturas mayores a los 25°C provocan una reducción en el consumo, ambas condiciones afectan negativamente la eficiencia de lactación, crecimiento y reproducción (Beede and Collier, 1986; Rhoads et al., 2009). Una acelerada pérdida de la condición corporal ocasionada por una mala nutrición afecta el desempeño reproductivo, relacionándose con un balance energético negativo que repercute en la disminución de la concentración de metabolitos (Galvis y Correa, 2002). La presencia del déficit energético ocasiona alteraciones metabólicas, las cuales consisten en la activación de la gluconeogenesis y la movilización de reservas lipídicas, afectando las

concentraciones de glucosa y hormonas relacionadas con el metabolismo intermediario (Campos et al., 2004).

Rhoads et al. (2009) reportaron una reducción en el metabolismo energético de vacas bajo condiciones de estrés calórico, afectando principalmente la concentración de glucosa, la cual es el principal abastecedor para la energía basal (Campos et al., 2004). Animales lactantes tienen la capacidad de adaptar su metabolismo a las altas demandas de glucosa, mediante la gluconeogénesis la cual está condicionada por la fermentación ruminal, sin alterar significativamente su estado fisiológico (Galvis y Correa, 2002). El estrés por calor provoca una disminución en la concentración de glucosa por efecto de la inhibición de consumo de alimento (Itoh et al., 1998), además de aumentar la concentración de cortisol, epinefrina y noraepinefrina, afectando la lipólisis del tejido adiposo, sin reportarse aumento de NEFA (Ácidos Grasos No Esterificados) en bovinos (Rhoads et al., 2009).

El colesterol en plasma tiene un papel vital en la fisiología del organismo, ya que es precursor de las hormonas esteroideas y algunas vitaminas. Entre las funciones del colesterol se encuentra su papel como constituyente de lipoproteínas para el transporte de lípidos (Taylor et al., 1966). El colesterol también se relaciona directamente con la función ovárica (Galvis y Correa, 2002). Las concentraciones de colesterol en plasma de ganado productor de leche se ve afectado por diversos factores ambientales tales como el estrés calórico (Martínez et al., 2010).

Los ácidos grasos se consideran eficaces en el almacenamiento de energía, esto se debe a que contienen carbono en forma totalmente reducida. El organismo almacena ácidos grasos en forma de triglicéridos o grasas, este almacenamiento además de producir energía, también interviene en la producción de calor en forma de ATP y actúa debajo de las capas adiposas como aislante térmico (Mathews et al., 2004). Durante los períodos de insuficiencia nutricional, la lipólisis aumenta y los tejidos responden a la insulina ampliando el uso de NEFA como fuente de energía (Rhoads et al., 2009).

Biometría hemática del ganado bovino

La biometría hemática, conteo sanguíneo completo o hemograma es una lista o fórmula sanguínea que expresa el número, proporción y variación de los elementos sanguíneos, los cuales son presentados en tres secciones: A) evaluación de los eritrocitos, B) recuento y fórmula leucocitaria y C) número de plaquetas (Aengwanich et al., 2009). Los parámetros en el hemograma constituyen un análisis paraclínico que permite conocer desórdenes en la salud y deficiencias nutricionales en los animales, además de ser utilizados para indicar confort y bienestar animal (Ahmad et al., 2003; Roldan et al., 2006; Aengwanich et al., 2009). Actualmente son escasos los estudios sobre el conteo sanguíneo completo en rumiantes bajo estrés por calor (Ramírez et al., 1998).

Parámetros como la concentración de eritrocitos y hemoglobina permiten elaborar el cálculo de los índices de Wintrobe o hematimétricos, mientras que el volumen corpuscular medio y la concentración de hemoglobina corpuscular son

utilizados para la clasificación de anemias, ambas pruebas son de gran importancia para la medicina veterinaria (Ramírez et al., 1998). El hemograma es importante ya que indica cambios fisiológicos en el equilibrio interno del animal (Ahmad et al., 2003; Aengwanich et al., 2009).

El estudio sistemático de la fisiología de las especies domésticas ha producido información científica que permite establecer características específicas en el conteo sanguíneo completo, lo que ha llevado a reportar diferencias inespecíficas en los mismos valores (Roraima y Santos, 2008). Distintos tipos de estresores como el clima, el estado fisiológico, el manejo, entre otros, ocasionan un cambio en la biometría hemática normal del ganado (El-Nouty et al., 1990). Incluso dentro de un mismo individuo se han reportado diferencias significativas en el hemograma por efecto del sexo, edad, raza, peso y estado de gestación (Ramírez et al., 1998). Se ha reportado en vacas Holstein que el aumento de temperatura durante el verano, ocasiona una marcada disminución en los valores del conteo sanguíneo completo comparado con los niveles en invierno (El-Nouty et al., 1990). En otro estudio, Gutierrez et al. (1971) compararon el hemograma de vacas Holstein bajo condiciones termoneutrales contra vacas en condiciones prolongadas de hipertermia y ellos observaron una disminución en el conteo de eritrocitos en estos animales. Se ha reportado que no existe un cambio significativo de hemoglobina al cambio de temperatura ambiental de 32 a 21°C (Gutierrez et al., 1971). Aengwanich et al. (2009) analizaron la biometría hemática de bovinos en las distintas épocas del año

(verano, otoño e invierno), sin encontrar diferencias significativas, concluyendo que las épocas no ocasionan estrés en el ganado y que este a su vez se adapta a las condiciones climáticas.

Estrés Oxidativo y capacidad antioxidante en bovinos

El estrés por calor provoca diversas alteraciones metabólicas en los bovinos (Galvis y Correa, 2002; Campos et al., 2004; Rhoads et al., 2009), una de ellas es el estrés oxidativo (Bernabucci et al., 2002), el cual es resultado de un incremento en la producción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, los cuales sobrepasan las defensas antioxidantes de la célula, esto provoca un daño en moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos entre otras (Bernabucci et al., 2002; Mandebvu et al., 2003). El estado negativo de estrés oxidativo contribuye a la presencia de problemas en la salud animal (Miller et al., 1993; Yokus et al., 2007) e interviene en las funciones reproductivas de bovinos (Ahmed et al., 2010).

Los radicales libres son moléculas o átomos que presentan un electrón libre, ocasionando que se unan fácilmente a un electrón libre de otra molécula estable y así alcanzar su equilibrio electroquímico; Sin embargo, la molécula que cedió su electrón se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón libre, esta reacción en cadena provoca daños a nivel celular y tisular (Mandebvu et al., 2003; Huerta et al., 2005). El organismo por sí mismo fabrica cantidades moderadas de radicales libres para defenderse de bacterias y virus; los radicales libres se mantienen neutralizados por enzimas, que también

produce el organismo con el objetivo de mantener su homeostasis (Huerta et al., 2005). El metabolismo celular es una fuente de producción de radicales libres mediante reacciones de oxido-reducción como fagocitosis, autooxidación de catecolaminas, síntesis de prostaglandinas y factores ambientales externos (Mandebvu et al., 2003). Ejemplo de radicales libres son el superóxido de oxígeno, hidroxilo, el átomo de hidrógeno y óxido de nitrógeno (Huerta et al., 2005).

Los antioxidantes neutralizan acciones oxidantes de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad sin perjudicar a otras moléculas (Mandebvu et al., 2003). Los antioxidantes forman parte de las enzimas que directa o indirectamente protegen a la célula contra efectos adversos (Huerta et al., 2005). Estos se conocen como antioxidantes enzimáticos (por ejemplo el superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa), los cuales se involucran en la remoción de O_2 y de H_2O_2 . Los antioxidantes no enzimáticos se unen a los radicales libres y los transfieren o transforman a menos agresivos, como ejemplo tenemos a la Coenzima Q, el alfa-tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenos y ácido lipoico, entre otros (Mandebvu et al., 2003; Huerta et al., 2005). Durante el desarrollo embrionario, el estrés por calor ocasiona un aumento en la concentración de radicales libres debido a la disminución de antioxidantes, por lo que se suplementa con antioxidantes a

vacas Holstein durante los períodos de estrés por calor, mejorando con ello parámetros como la fertilidad (Hansen y Aréchiga, 1999).

Las especies reactivas de oxígeno son producto del metabolismo natural del oxígeno y representan aproximadamente el 1 a 2% del oxígeno total metabolizado (Ahmed et al., 2010). El término “especies reactivas de oxígeno” se aplica a todas las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes, convirtiéndose fácilmente en radicales libres (Mandebvu et al., 2003). Este concepto también hace referencia a radicales que se liberan del oxígeno como a los que no se derivan de este, además de ser elementos y compuestos que se generan durante el metabolismo en los tejidos (Huerta et al., 2005).

Las especies reactivas de oxígeno se producen continuamente en el organismo, por lo que existe un sistema de defensa que permite un balance entre la producción de las mismas y la activación de la función de los antioxidantes (vitamina E y A), protegiendo del daño oxidativo, resultando ineficientes cuando el organismo está expuesto a dietas mal balanceadas, climas extremos o enfermedades (Mandebvu et al., 2003; Ghiselli et al., 2000; Bernabucci et al., 2002; Huerta et al., 2005).

El concepto de estrés oxidativo hace referencia a la generación desencadenada de especies reactivas de oxígeno, relacionándose en vacas lecheras como responsable de problemas de mastitis y edemas en la ubre. Además, la peroxidasa inactiva enzimas que modifican la síntesis de hormonas

esteroidales en vacas (Miller et al., 1993; Huerta et al., 2005; Ahmed., 2010) correlacionándose también con el estado del cuerpo lúteo durante el ciclo estral del bovino (Rapoport et al., 1998). Pocas investigaciones se han enfocado al estudio del estrés oxidativo y de como interviene en los problemas reproductivos en animales de granja (Ahmed et al., 2010).

La capacidad antioxidante estima el proceso de acumulación de todos los antioxidantes presentes en el plasma y/o fluidos del animal, proporcionando un parámetro integrado de antioxidantes conocidos y desconocidos, evaluando el equilibrio *in vivo* entre los oxidantes y los antioxidantes (Ghiselli et al., 2000). Lo anterior esta dado por diversos mecanismos donde la célula cancela la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres (Mandebvu et al., 2003). Los ensayos bioquímicos para determinar la capacidad antioxidantes, se clasifican en dos tipos, 1) basados en la transferencia de átomo de hidrógeno y 2) en la transferencia de electrones (Huang et al., 2005). La capacidad antioxidante proporciona información biológica útil en la evaluación de problemas metabólicos (Yokus et al., 2007).

Factores medioambientales y metabólicos modifican los niveles normales de estrés oxidativo debido al resultado de un desbalance entre la producción endógena de radicales libres o especies reactivas de oxígeno, neutralizando el mecanismo de capacidad antioxidante (Abeni et al., 2008). Bernabucci et al. (2002) afirmaron que ambientes con elevadas temperaturas ocasionan alteraciones negativas en el estrés oxidativo de vacas lecheras. Otras

investigaciones han reportado una reducción de la actividad antioxidante en plasma en vacas Holstein bajo estrés calórico (Harmon et al., 1997; Calamari et al., 1999). Mandebvu et al. (2003) observaron diferencias entre la capacidad antioxidante de vacas lactando comparado con vacas secas. En vacas lactando la capacidad antioxidante total se redujo por efecto del estrés por calor (Hansen y Aréchiga, 1999). Por otra parte, no se han encontrado diferencias significativas entre el estrés oxidativo de vacas con cetosis subclínica comparado con vacas sanas (Zhang et al., 2011), tampoco se atribuye a la presencia de distocia (Yokus et al., 2007).

El aumento del estrés oxidativo, tanto en humanos como en animales, ha sido correlacionado con alteraciones durante la gestación, debido al incremento de radicales libres causados por la elevación de la actividad metabólica (Yokus et al., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El experimento se realizó en el rancho de recría de vaquillas "San Carlos" localizado sobre la carretera Mexicali-San Felipe Km. 15, Valle de Mexicali, Baja California, México. El área de estudio se ubica geográficamente al noreste del país y en la región septentrional de la península de Baja California, con una elevación de 12 msnm, con coordenadas de latitud norte de 32° 28'29", sur 30° 52", este 114° 42" y longitud oeste 115° 07". El clima se clasifica como cálido seco, con una temperatura media anual de 22.3°C, llegando a presentarse, temperaturas máximas de 48°C durante el verano, la precipitación anual oscila en los 76 mm (SMN, 2010).

Instalaciones y manejo

Las instalaciones utilizadas durante el estudio consistieron en dos corrales de 30 m de ancho por 34 m de largo, con una capacidad para 40 animales, correspondiendo 20.5 m² de área por animal. Ambos corrales contaron con sombras, cuyas dimensiones fueron de 18 m de largo por 5 m de ancho a una altura de 2.90 m del suelo. Las sombras estaban construidas de tubos de acero y lámina galvanizada, con una orientación de norte a sur y ubicadas al extremo oeste del corral. Al norte de los corrales se ubicó el área de comederos con trampas individuales unidas entre sí y semiautomatizadas para inmovilizar al animal, con una longitud total de 30 m a lo largo de los comederos y una altura de 0.90 m. El comedero tuvo una profundidad de 0.64 m y un ancho de 0.67 m, ambos corrales contaron con piso de concreto a lo largo del comedero. Las

dimensiones del bebedero fueron de 2.5 m de largo por 0.94 m de ancho, situado entre los dos corrales.

Uno de los corrales fue acondicionado con un sistema de enfriamiento compuesto por siete abanicos de 0.90 m de diámetro y un motor de $\frac{1}{2}$ hp, produciendo un movimiento de aire de $180 \text{ m}^3/\text{min}$. Los abanicos fueron situados bajo el techo de lámina a una separación de 3 m entre cada uno de ellos y a una altura de 2.5 m, respecto al piso. Cada abanico fue provisto de aspersores de agua con un gasto de 50 L/h. El sistema operó de 1000 a 1600 h y nuevamente de 1700 a 1900 h. De lado oeste de la sombra se colgaron tres lonas a lo largo, de 5.60 m de alto por 2.60 m de ancho, con el propósito de retener el flujo de aire con aspersion de agua además de evitar la radiación directa del sol al atardecer.

La provisión de alimento para las vaquillas se realizó dos veces al día (900 y 1600 h) con una dieta integral. Los ingredientes que formaron la ración así como la composición química en base seca de la misma se encuentran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Ingredientes y composición química en base seca de la dieta.

Ingrediente	Porcentaje
<i>Composición de la dieta</i>	
Ensilado de sorgo	52
Paja de trigo molido	10
Revuelto de alfalfa	10
Alfalfa limpia	13
Trigo rolado	10
DDGs maíz	03
Minerales (premix recria, trivet)	02
<i>Composición química</i>	
Materia seca (MS)	94.93
Humedad	05.07
Proteína cruda	11.00
Extracto etéreo	02.93
Cenizas	12.06
Fibra Detergente Acido (FDA)	15.91
Fibra Detergente Neutra (FDN)	46.60

Animales y tratamientos experimentales

La investigación se llevo a cabo durante el verano del año 2010. El verano fue dividido en tres periodos experimentales de cuatro semanas cada uno. El periodo 1 se inicio el 29 de junio y finalizó el 31 de julio. El periodo 2 inicio el 22 de julio y finalizó el 23 de agosto. Finalmente el tercer periodo inicio 23 de agosto y finalizó el 14 de septiembre. Se consideró como día 0 el día de ingreso de los animales al corral.

Se utilizaron 120 vaquillas de la raza Holstein, con una edad entre los 12 y 14 meses y peso promedio de 350 kg. Las cuales ingresaron al experimento en grupos de 40 animales por periodo. Estas vaquillas se asignaron de acuerdo a su edad, color, peso y ciclicidad a uno de los dos tratamientos: 1) grupo testigo (TT), corral con solo sombra en la parte central, y 2) grupo con enfriamiento artificial (TEA), corral con sombra provisto de un sistema de enfriamiento artificial. Se considero como día 0 el ingreso de los animales a ambos tratamientos, permaneciendo 32 d en los mismos.

Se determino ciclicidad antes de iniciar el experimento tomando dos muestras sanguíneas con un intervalo de 10 d, mediante la prueba de ELISA, utilizando un kit comercial, se determinaron los niveles de P₄. Niveles mayores a 1 ng/ml en uno de los dos muestreos fue considerado como ciclando (Perry et al., 1991).

Las vaquillas de TEA fueron sincronizadas utilizando un dispositivo intravaginal (1.9 gramos P₄) colocado 7 d antes de la inseminación artificial (IA). El dispositivo intravaginal se colocó nuevamente del día 17 al día 22 después de la IA. Esta investigación no consideró al protocolo de sincronización como efecto sobre el tratamiento y las variables de respuesta. En el TT el celo fue detectado de manera visual e IA.

Variables evaluadas

Las variables fisiológicas evaluadas fueron: Frecuencia respiratoria, que se registró al contar los movimientos observados en el espacio intercostal durante un minuto en diez vaquillas por tratamiento a las 1500 h, tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes). La temperatura rectal se registró con un termómetro digital (Fluke 51 II, E.U.) en todas las vaquillas a las 1600 h tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes). La temperatura de la superficie corporal fue registrada utilizando una pistola de rayos infrarrojos (Fluke 62, USA), tomando la temperatura corporal de un punto cercano al centro del área del cuello y anca en cada tratamiento. Estas mediciones se realizaron a las 1500 h, tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes).

Se consideraron como variables metabólicas la concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol en plasma. Para lo cual se colectó una muestra de sangre de la vena coccígea de 10 vaquillas por tratamiento. La toma sanguínea se realizó a las 600 h el día 0 y los días 19, 27, 29 y 32 posteriores al inicio del experimento. La muestra se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min a una

temperatura de 25°C y se colectó el suero para su posterior análisis en un Auto-analizador de química sanguínea modelo DT 60 II (Johnson & Johnson Co.).

Las variables hematológicas evaluadas fueron el conteo leucocitario para TT (n=10) y TEA (n=10) del segundo periodo. Se obtuvieron muestras de sangre de la vena coccígea a las 600 h, en diez animales por tratamiento, utilizando tubos vacutainer (10 ml) adicionados con Heparina, una 10 y 32 d. Posterior a la colecta de muestras, estas fueron transportadas para su análisis al laboratorio de diagnostico clínico de la facultad de medicina de la Universidad Autónoma de Baja California, utilizando un equipo automatizado (SYSMEX, 2000. E.U.) Los parámetros para el conteo leucocitario fueron: leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monofilos, eosinófilos, plaquetas, los cuales se consideraron como variables de respuesta hematológica.

Capacidad antioxidante

Tratamientos

Se utilizaron dos tratamientos, el tratamiento I fue considerado como la época de verano, y el tratamiento II la época de invierno.

Animales experimentales y manejo

Se utilizaron vaquillas con las mismas características del experimento 1, bajo el mismo manejo del TT. Se utilizaron 35 vaquillas para el muestreo del verano y 40 animales para el muestreo de invierno. Fueron alimentadas dos veces al día, recibiendo la misma dieta del experimento 1.

Muestreo para obtener la Capacidad Antioxidante Total

Se realizaron dos muestreos, uno el 2 de agosto y otro el 2 de febrero. La muestra sanguínea se obtuvo de la vena coccígea a las 600 h, utilizando tubos vacutainer (10 ml) sin anticoagulante, posteriormente fue se centrifugada a 3500 g durante 15 min a una temperatura de 25°C, retirando el suero para análisis sanguíneo utilizando “Antioxidant Assay Kit” del catalogo No. 709001 de Cayman Chemical Company, USA, 2010 y determinar la capacidad antioxidante total.

Datos climáticos

En la parte norte del rancho se colocó una estación meteorológica a 2.5 m del suelo, la cual registró diariamente por hora las condiciones de velocidad de viento, radiación solar, temperatura ambiental y humedad relativa, con estos dos últimos datos se calculó el ITH mediante la siguiente fórmula propuesta por Hahn (1999):

$$ITH = 0.81 T_{amb} + HR (T_{amb} - 14.4) + 46.4$$

Donde: ITH = Índice de Temperatura Humedad (Unidades), T_{amb} = Temperatura ambiental (°C), y HR = Humedad Relativa (%)

Adicionalmente se registró la temperatura de tres bulbos negros, los cuales se ubicaron, uno bajo el techo de cada uno de los tratamientos (2) y otro a la intemperie (1). Adicionalmente se registró la temperatura del suelo en cada uno de los tratamientos y del agua en el bebedero a las 1500 h, con una frecuencia de tres veces por semana (lunes, martes y miércoles).

Análisis estadísticos

Las variables metabólicas se analizaron por periodo mediante un diseño factorial 2 x 4 cuyos niveles fueron tratamiento (1 y 2) y día del muestreo (10, 19, 27 y 32), así como la interacción tratamiento por día. Se utilizaron los comandos MIXED y RANDOM donde el efecto aleatorio (unidad experimental) se consideró al animal dentro de tratamiento. Para evaluar las variables hematológicas se utilizó un diseño factorial 2 x 2 cuyos niveles fueron: tratamiento (corral bajo sistema de enfriamiento y corral bajo solo sombra) y día del muestreo (10 y 32 d), y la interacción tratamiento por día. El análisis se realizó utilizando el procedimiento GLM. Las variables fisiológicas se analizaron mediante un diseño completamente al azar con mediciones repetidas utilizando un modelo que incluyó efectos del tratamiento. Como efecto aleatorio (unidad experimental) se consideró al animal dentro de tratamiento, con el cual se obtuvieron pruebas de F. Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM. La capacidad antioxidante (verano comparado contra invierno) se analizó por medio de un diseño completamente al azar. En todos los análisis se utilizó el programa estadístico SAS (2002). En los diseños las diferencias se declararon significativas a un nivel de 0.05 y 0.01; considerándose como tendencia de 0.05 a 0.10 el valor de p.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Datos Climatológicos

En el Cuadro 2 se muestran los promedios, máximos y mínimos de temperatura ambiental, humedad relativa, velocidad de viento, radiación solar e ITH registrados durante el desarrollo del experimento. La media del ITH fue de 80 unidades, siendo similar para los tres periodos, el máximo registrado fue de 88 unidades, mientras que la temperatura máxima alcanzó los 44.2 °C en promedio, la humedad relativa mínima registrada fue del 10%, estas condiciones son características de los desiertos en el norte del país (SMN, 2010).

Los problemas fisiológicos originados por el estrés calórico varían según las unidades de ITH (Vitali et al., 2009). Igono et al. (1988) encontraron que a un ITH de 70 unidades, vacas en producción, disminuyeron la concentración de la hormona de crecimiento con la finalidad de reducir el calor metabólico producido; otros autores sugieren que el ITH superior a las 72 unidades reduce, tanto la ingesta de materia seca como la fertilidad de vacas Holstein (Armstrong, 1994; West, 2003; Berman, 2010). Vitali et al. (2009) indicaron que el nivel igual o mayor a las 80 unidades de ITH ocasiona en los rumiantes un estado crítico de estrés por calor, llegando a ocasionar la muerte del animal. Durante este estudio no se presentó la muerte de ninguna vaquilla, dado que, el promedio de ITH registrado expresa que los animales se encontraron en un nivel de estrés clasificado como moderado (Armstrong, 1994).

El bajo porcentaje de humedad relativa que se registró durante el estudio (Figura 1) pudo permitir que los mecanismos de evaporación en los animales en TEA fueran eficientes, en especial la sudoración y el jadeo, evitando el aumento de temperatura corporal y disminuyendo, como consecuencia, la carga térmica del animal (Bohmanova et al., 2007; Vitali et al., 2009). En el cálculo de ITH solo se incluyen factores de interacción entre la temperatura y humedad relativa, sin considerar velocidad del viento y radiación solar, limitando la estimación del nivel de estrés calórico (Berman, 2005; Bohmanova et al., 2007).

La combinación de un bajo porcentaje de humedad relativa con velocidades de vientos mayores a los 3 km/h alivian el efecto de estrés por calor, esto se ha comprobado mediante evaporación forzada, con el uso de sistemas de enfriamiento controlados (Berman, 2010). El viento reduce los efectos de estrés por calor, ya que mejora los procesos de disipación de calor mediante la convección, optimizándose, cuando la piel del animal esta mojada (Arias et al., 2008). En instalaciones abiertas, los animales llegan a obstaculizar el flujo de aire entre unos a otros, ocasionando que la velocidad del viento percibida sea menor a la que se registra, por lo que los animales no manifiestan confort (Berman, 2005).

Investigaciones señalan la importancia de evaluar el efecto de la resistencia de la superficie corporal de los bovinos al estrés térmico causado por la radiación solar (Hansen, 1990). Proteger a la vaca de la radiación solar directamente mediante el uso de sombras disminuye la carga total de calor de un

30 a 50%, además de reducir la frecuencia respiratoria (Armstrong, 1994; West, 2003). Vacas Holstein disminuyeron su temperatura corporal al estar expuestas a menor radiación solar en distintos porcentajes de sombra (0%, 25%, 50% y 99%) en corral (Tucker et al., 2007). Esta investigación coincide con lo anterior, ya que los animales se observaron durante la mayor parte del día bajo las sombras en ambos tratamientos.

La cantidad de calor radiante absorbido por los animales depende de factores como el color y la textura de la piel (Berman, 2010; Arias et al., 2008). Estudios recientes señalan que animales con piel en color negro presentan mayor temperatura corporal y frecuencia respiratoria (West, 2003; Arias et al., 2008). Pese a lo anterior existen explotaciones donde no se usan sombras durante el verano, ya que la inversión económica no se considera remunerable (Mitlöhner et al., 2001).

La Figura 2 muestra el promedio semanal de temperatura en cada uno de los bulbos negros colocados en distintas ubicaciones del área experimental. Existe una gran variedad de índices para estimar el grado de estrés por calor que afecta a los bovinos y otros animales (Bohmanova et al., 2007; Dikmen and Hansen, 2009), la mayor parte de los estudios sobre estrés por calor utilizan comúnmente el ITH para su evaluación (West, 2003; Correa et al., 2004; Berman, 2005), sin embargo mediante la observación de la temperatura del bulbo negro (BN) en los corrales se puede obtener la eficiencia de las sombras, ya que se presentan temperaturas menores del BN dentro de la sombra

comparado con el BN colocado a la intemperie (Smith et al., 2006; Dikmen and Hansen, 2009), los resultados en esta investigación mostraron una temperatura menor en el BN del TEA en comparación con BN de TT y a la intemperie. Gwazdauskas (1985) indicó una relación negativa entre el incremento de la temperatura del bulbo negro y el porcentaje de fertilidad.

Cuadro 2. Valores promedios, máximos y mínimos de temperatura ambiental, humedad relativa, velocidad del viento, ITH y radiación solar durante el experimento

	Temperatura ambiental (°C)			Humedad Relativa (%)			Velocidad del viento (Km/h)			ITH			Radiación Solar (w/m ²)		
	Min	Max	Media	Min	Max	Media	Min	Max	Media	Min	Max	Media	Min	Max	Media
1	25	44	34	14	71	39	0.4	32	13	74	88	81	0.0	894	265
2	24	43	34	10	73	39	0.0	33	11	71	87	80	0.0	919	273
3	20	44	33	12	75	38	0.0	31	08	67	88	80	0.0	880	262
Media	23	44	34	12	73	38	0.1	32	11	71	88	80	0.0	898	266

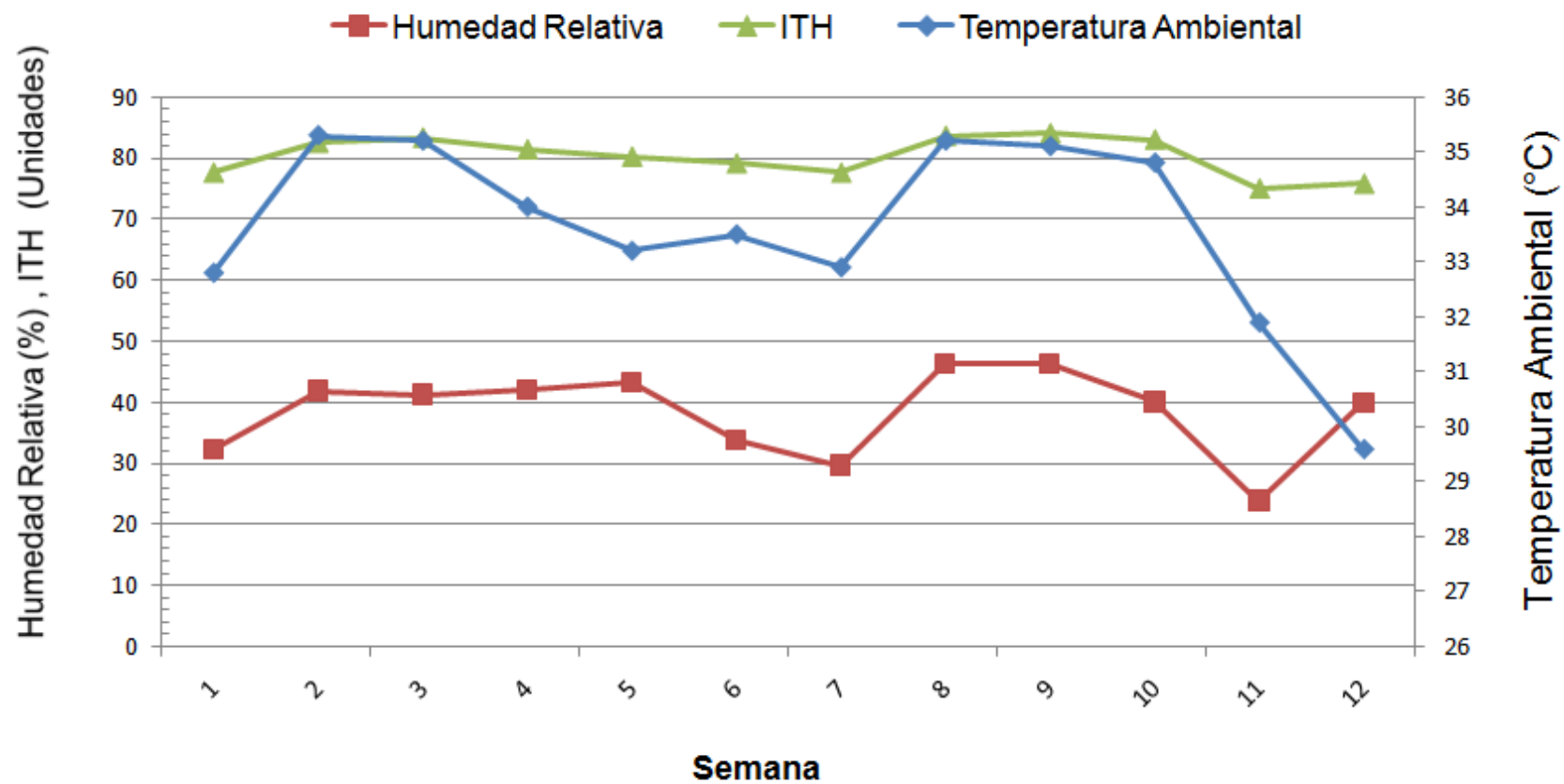


Figura 1. Temperatura ambiental, humedad relativa e ITH por semana durante la fase experimental.

Otras variables registradas fueron la temperatura en suelo y en el agua del bebedero (Figura 3). La temperatura del suelo contribuye al aumento de la temperatura del aire, debido a la exposición directa que presenta con la radiación solar. (Berman, 2005). Por otra parte, un comportamiento importante en la vaca es permanecer “echada” en el suelo del establo, ya que le permite descansar; características como la dureza, humedad y material de los suelos afectan directamente la salud y el bienestar de los animales (Fulwider and Palmer, 2004). En TT se observó la mayor parte de los animales de pie, esto puede deberse a la temperatura elevada del suelo ($> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$), el permanecer “echada” en suelos calientes, evita que el animal pierda calor por medio de la conducción, además de reducir el área de la piel en contacto con el viento (Fuquay, 1981).

Con respecto a la temperatura del agua, Bewley et al. (2008) realizaron un experimento en donde proporcionaron a vacas Holstein agua bajo distintas temperaturas, concluyendo que el consumo de agua “caliente” ($> 34.3\text{ }^{\circ}\text{C}$) afecta la temperatura rectal del ganado y por lo tanto la disipación de calor para disminuir la temperatura corporal interna, esto al compararse con vacas que consumieron agua “fresca” ($7.6\text{ }^{\circ}\text{C}$) y las cuales no presentaron problemas en la disipación de la carga térmica. Este efecto pudo ocurrir durante este experimento, ya que la temperatura del agua promedio fue de 32.5°C , con una máxima registrada de 35°C y mínima de 28.4°C durante los periodos experimentales.

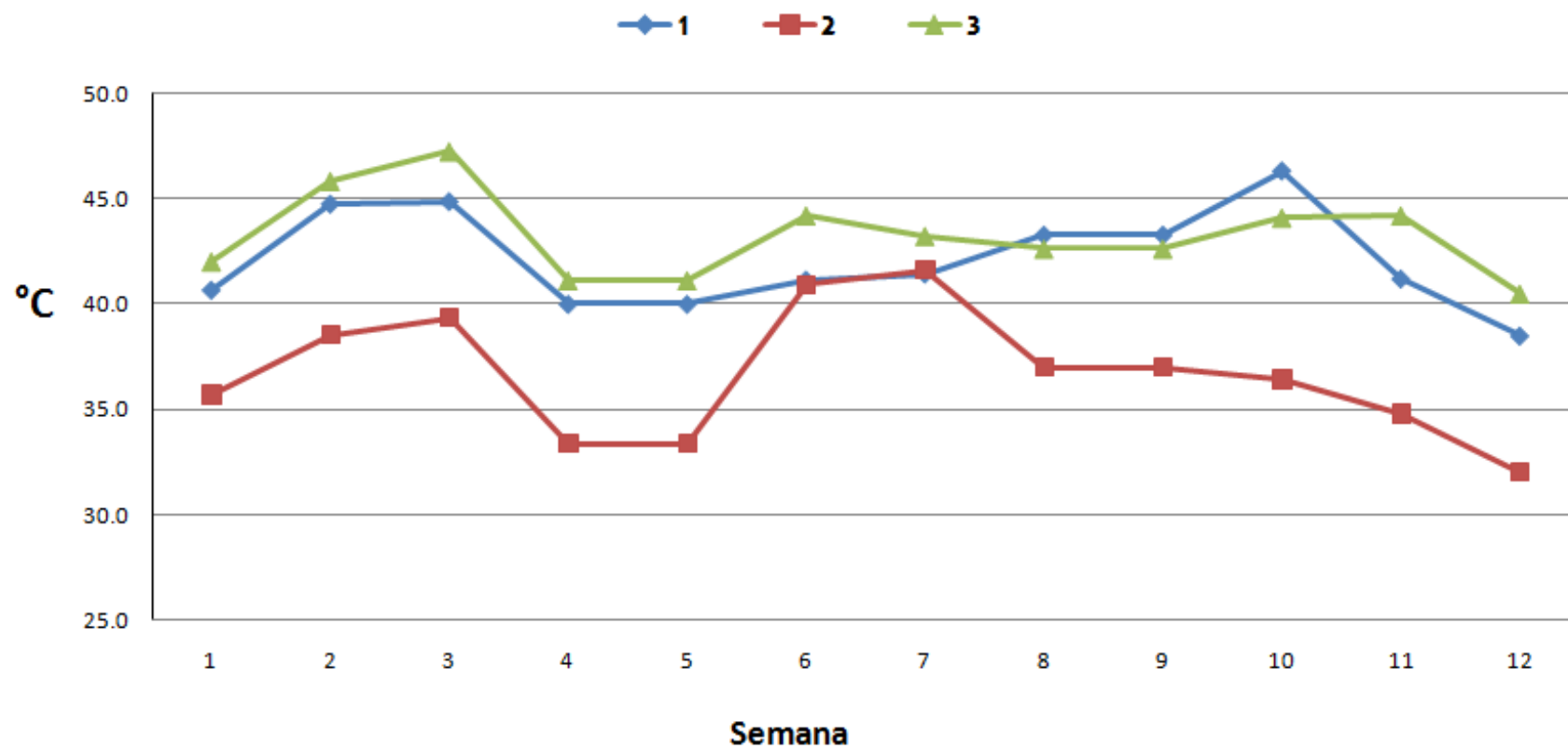


Figura 2. Temperatura del bulbo negro en diferentes ubicaciones del área experimental. (1. Bulbo negro dentro de TT, 2. Bulbo negro bajo de TEA y 3. Bulbo negro a la intemperie)

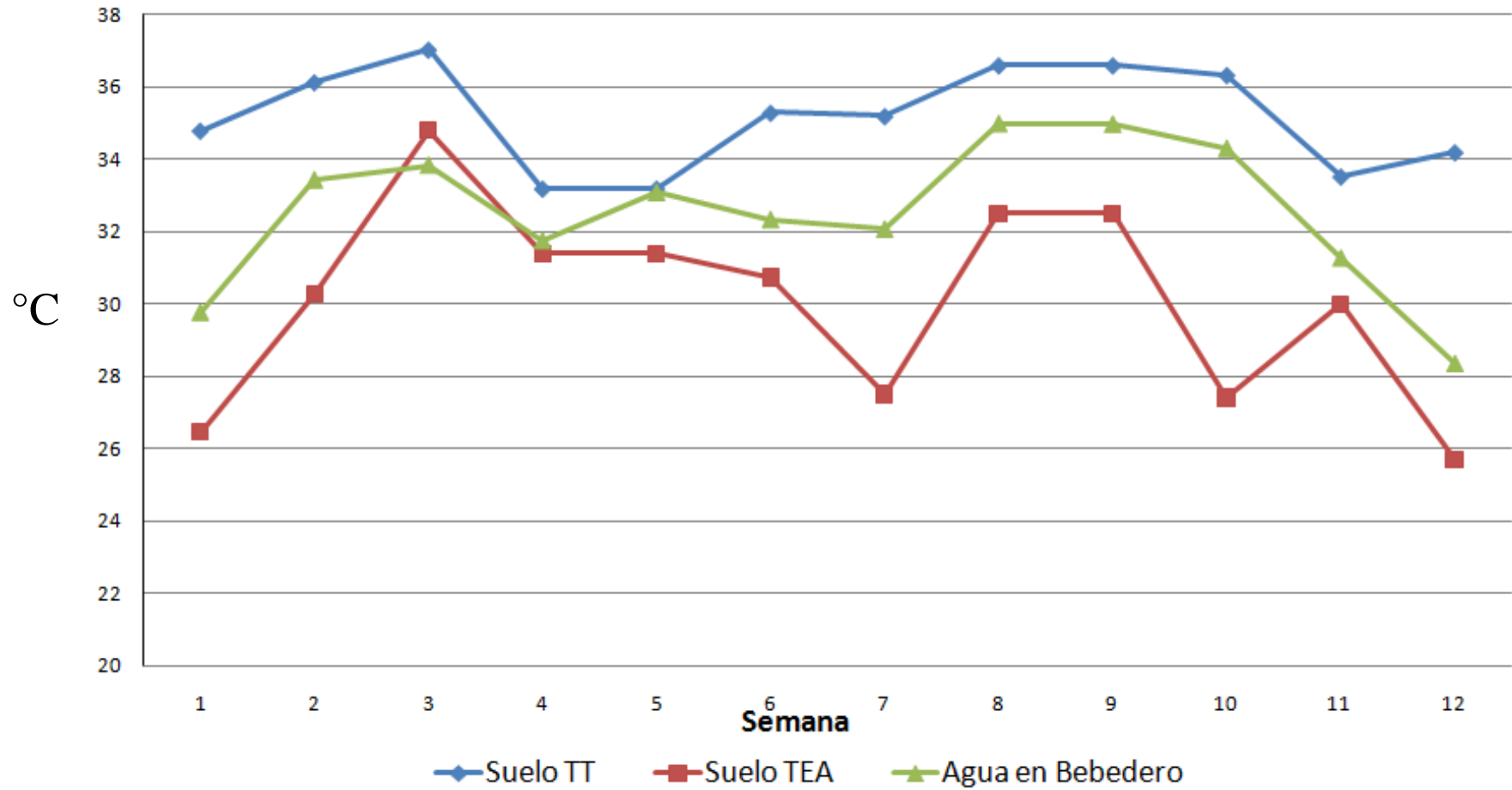


Figura 3. Temperatura del suelo en diferentes ubicaciones del área experimental y temperatura del agua en bebedero.

Variables Fisiológicas

Las medias y error estándar de frecuencia respiratoria (FR) temperatura del cuello (TC), del anca (TA) y temperatura rectal (TR), se reportan en el Cuadro 3. Todas las variables fisiológicas fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$) entre tratamientos. La frecuencia respiratoria (FR) normal en bovinos de un año de edad promedia en 30 respiraciones por minuto (rpm), con un rango de 15-40 rpm (González et al., 1986). En el presente estudio, los animales de TT se encontraron por arriba de los límites máximos de lo denominado como “normal”. La tasa de respiración es un indicador que caracteriza el nivel de estrés calórico (Gaughan et al., 2000; Arias et al., 2008), acompañado de jadeo, el cual se ha clasificado en rápido y poco profundo ó con la boca abierta (NRC, 1981; González et al., 1986). En este estudio las vaquillas presentaron en general la primera característica. Una alta frecuencia respiratoria indica mayor sensibilidad a las altas temperaturas ambientales, demostrando una condición no adaptativa y respuestas severas al estrés calórico (Mitlöchner et al., 2001). Vacas con elevadas FR requieren estrategias para aliviar el estrés por calor, ya que la FR aumenta linealmente a medida que aumenta la temperatura ambiental (Berman, 2005).

En condiciones extremas elevar la frecuencia respiratoria no resulta eficiente para eliminar calor en el animal, por lo que la respiración se vuelve lenta y profunda, ya que mayores FR demandan también un incremento en la actividad muscular, contribuyendo a elevar la producción total de calor (Arias et

al., 2008). Corrales con solo sombras reducen la FR, al evitar el contacto directo de radiación solar con el animal, sin embargo, las sombras no modifican la temperatura del aire ni la humedad relativa, no obstante los sistemas combinados de abanicos con aspersores de gota fina, además de disminuir la FR proporcionan un ambiente fresco (West, 2003), esta investigación coincide con lo anterior, pues las variables fisiológicas fueron significativamente menores ($P < 0.001$) en el TEA al compararse con TT.

La temperatura corporal normal de una vaquilla de un año de edad oscila entre los 37.5 a 39.5°C (González et al., 1986); durante el desarrollo del experimento, ambos tratamientos reportaron temperaturas corporales que sobre pasaron lo antes descrito. Los sistemas de enfriamiento artificial, que incluyen aspersores de agua en gotas finas, modifican la temperatura ambiental y humedad relativa, por lo que la vaca aumenta la pérdida de calor mediante mecanismos de evaporación y convección (Berman, 2010). El permanecer en condiciones húmedas y ventiladas provocan una reducción de la temperatura superficial o de la piel, ya que los tejidos se ven favorecidos al estar en contacto con un ambiente fresco (Berman, 2010). Otro mecanismo que influye en la disipación de calor es la vasodilatación, en donde el flujo sanguíneo se desplaza hacia la piel, con el propósito de incrementar las pérdidas evaporativas y enfriar al animal (West, 2003). La temperatura de la piel depende de la diferencia entre el calor que fluye del interior del cuerpo hacia la piel y del pelo hacia el ambiente que rodea al animal (Gebremedhin and Wu, 2001; Berman, 2010). La pérdida

de calor por convección es proporcional al gradiente de temperaturas entre la piel y el ambiente, este se puede invertir bajo condiciones extremas, donde la capacidad de contrarrestar el calor exterior ya no es suficiente (Gebremedhin and Wu, 2001; Berman, 2010).

Cuadro 3. Media y desviación estándar de variables fisiológicas de vaquillas enfriadas y no enfriadas

Variable	Tratamientos		Valor de P
	TEA	TT	
FR (rpm)	68.83 ± 1.00	78.51 ± 0.87	< 0.0001
TC (°C)	38.03 ± 0.13	40.67 ± 0.11	< 0.0001
TA (°C)	37.86 ± 0.14	40.98 ± 0.12	< 0.0001
TR (°C)	39.37 ± 0.03	39.9 ± 0.03	< 0.0001

La TR normal en la vaca lechera se estima en los 39°C (West, 2003). Durante este experimento las vaquillas alcanzaron temperaturas en recto de hasta 40°C (Cuadro 3), vaquillas inseminadas con elevada temperatura rectal (<39.8°C) presentan pérdida embrionaria o no permiten la implantación del cigoto (Jordan, 2003). Se ha reportado que tanto en corrales con sombra o con enfriamiento artificial la temperatura rectal disminuye (0.4 a 0.5°C) comparado con vacas en corrales sin sombra (Mitlöhner et al., 2001; Jordan, 2003). Los

resultados de esta investigación coinciden con otras publicaciones, en donde, los sistemas de enfriamiento reducen la TR llegando a temperaturas normales o por debajo de las mismas (West, 2003; Rhoads et al., 2009; Wheelock et al., 2010), ya que mejoran el confort de las vaquillas (West, 2003; Correa et al., 2004; Smith et al., 2006).

Metabolitos sanguíneos

a) Glucosa

El Cuadro 4 muestra la media y error estándar de la concentración de glucosa, el cual fue mayor ($P < 0.05$) en los días 10 y 19 del TEA (59.3 ± 1.8 y 69.0 ± 1.7 mg/dL) comparado con TT (51.3 ± 2 y 48.0 ± 2 mg/dL); en el día 27 no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos, mientras que en el día 32 se observó una tendencia ($P = 0.06$) de mayor concentración en TEA comparado con TT (62.0 ± 1.7 vs 56.3 ± 2 mg/dL) respectivamente. Los niveles para glucosa en plasma sanguíneo de bovinos oscilan en 50 mg/dL, con un rango de 40-70 mg/dL, bajo condiciones termoneutrales (Gürtler et al., 1976), los resultados de esta investigación coinciden con en el rango reportado por el autor.

La absorción de glucosa en bovinos es muy baja, debido a que es un animal gluconeogénico, mediante su fermentación ruminal condiciona la disponibilidad de glucosa en el organismo (Galvis et al., 2002). La concentración de glucosa en plasma sanguíneo es un indicador de la variación en la dieta, de proteína y energía, señalando posibles deficiencias de las mismas (Lee et al., 1978).

Durante verano con índices superiores a las 72 unidades de ITH, se observa una disminución en la ingesta de alimento, las vaquillas en este experimento pudieron presentar este comportamiento negativo debido a que los ITH promediaron arriba de 80 unidades durante el experimento (Fuquay, 1981; Armstrong, 1994; West, 2003).

Cuadro 4. Media y desviación estándar de la concentración de glucosa (mg/dL) de vaquillas enfriadas y bajo solo sombra

Día	Tratamientos		Valor de P
	TEA	TT	
10	59.34 ± 1.86	51.36 ± 2.05	0.0044
19	69.00 ± 1.74	48.06 ± 2.02	<0.0001
27	58.31 ± 1.73	55.44 ± 2.07	0.2899
32	62.02 ± 1.72	56.34 ± 2.55	0.0667

Lo anterior determina directamente una necesidad de adaptación metabólica, donde se mantiene un bajo gasto energético cuando se eleva la temperatura ambiental, afectando los niveles de glucosa (Rhoads et al., 2009). Animales mal alimentados presentan una concentración de glucosa relativamente baja, sin embargo en investigaciones donde la dieta no es deficiente, y solo se ha modificado la temperatura ambiental, se ha encontrado que la concentración de glucosa, de vacas en condiciones bajo estrés calórico, es similar a la de vacas

en condiciones termoneutrales (Wheelock et al., 2010); contradictoriamente Itoh et al. (1998) encontraron que en ambientes con temperaturas elevadas existe una disminución de la concentración de glucosa, comparado con vaquillas en condiciones termoneutrales.

Las bajas concentraciones de glucosa en plasma alteran la función ovárica, reducen la concepción y elevan la incidencia de muerte embrionaria (Leroy et al., 2006). Durante la maduración del ovocito la glucosa suministra energía para el desarrollo meiótico; alteraciones en la concentración de glucosa obstaculizan procesos como la división del ovocito durante su maduración, el desarrollo del blastocito después de la fecundación y la división del embrión (Hashimoto et al., 2010; Leroy et al., 2006). Existen alteraciones negativas de glucosa que traen como consecuencia la presencia de glucemia, a pesar de esto en etapas posteriores, las concentraciones de glucosa, se vuelven homogéneas por el mecanismo de homeostasis (Rodríguez et al., 2004). Otras investigaciones señalan que la concentración de glucosa a nivel de embrión afecta el sexo del mismo, se ha encontrado que los embriones de hembras presentan el doble de glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa comparado con los embriones masculinos (Bredbacka and Bredbacka, 1996).

b) Triglicéridos

El Cuadro 5 muestra la concentración promedio de triglicéridos durante la investigación; los días 10, 19, 27 y 32 presentaron una menor ($P < 0.05$) concentración en TEA (40.5 ± 3.4 , 42.7 ± 3.1 , 41.8 ± 3.1 y 32.5 ± 3.3 mg/dL) comparado con las concentraciones en TT (55.9 ± 3.3 , 55.2 ± 3.3 , 57.32 ± 3.5 y 43.4 ± 3.6 mg/dL) respectivamente. Diversos autores difieren en la concentración exacta de triglicéridos en sangre de bovinos, ya que varía según la raza y el estado fisiológico, el valor comúnmente reportado es < 50 mg/dL (Marin et al., 2007).

Cuadro 5. Media y desviación estándar de la concentración de triglicéridos (mg/dL) de vaquillas de vaquillas enfriadas y bajo solo sombra

Día	Tratamientos		Valor de P
	TEA	TT	
10	40.55 ± 3.40	55.95 ± 3.38	0.0015
19	42.78 ± 3.19	55.25 ± 3.36	0.0076
27	41.80 ± 3.19	57.32 ± 3.51	0.0012
32	32.58 ± 3.38	43.42 ± 3.67	0.0311

Wheelock et al. (2010), señalaron que el estrés calórico aumento el balance energético negativo, el cual ocasionó deficiencias metabólicas en todo el organismo. Durante la gestación la concentración de triglicéridos en sangre aumenta de manera progresiva durante el primer trimestre y en gran medida depende de la ingesta de alimento bajo esa misma etapa, esto se ha comprobado en ratas y en humanos debido a necesidades específicas durante el desarrollo del feto (Smith y Welch, 1975; Martínez y Lozano, 2005). Los resultados de esta investigación no coincide con lo anterior, debido a que las concentraciones disminuyeron ($P < 0.05$) en ambos tratamientos del día 10 al 32, a pesar de que el 50% de las vaquillas se encontraban gestantes al día 32, sin embargo la literatura específica que este cambio se observa al final del primer trimestre.

c) Colesterol

Las concentraciones medias y error estándar de colesterol en plasma se presentan en el Cuadro 6, no encontrándose diferencia significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos para los días 10, 19, 27 y 32. En la comparación de medias se observa una disminución ($P < 0.05$) en ambos tratamientos del inicio hacia el final del muestreo.

La concentración normal de colesterol para la vaca lechera varía desde 120 hasta 180 mg/dL, bovinos bajo estrés térmico reportan rangos de 42.9 hasta 195 mg/dL (Taylor et al., 1966). Los datos de esta investigación, en ambos tratamientos, coinciden con la concentración normal y no exceden de lo

reportado para bovinos bajo estrés calórico. En novillas se registran valores de colesterol menores, asociado con las mínimas necesidades productivas y reproductivas, debido a que la disponibilidad de colesterol dependerá de la demanda de síntesis de hormonas esteroideas, primordiales en los procesos de reproducción (Francisco et al., 2003). La pregnenolona es la primer hormona esteroide derivada del colesterol, la síntesis de esta hormona es estimulada por la ACTH, a partir de la misma se obtiene progesterona la cual da origen a los corticosteroides y a las hormonas sexuales (Aranda et al., 2002).

Cuadro 6. Media y desviación estándar de la concentración de colesterol (mg/dL) de vaquillas enfiadas y bajo solo sombra.

Día	Tratamientos		Valor de P
	TEA	TT	
10	122.17 ± 2.83	115.55 ± 2.93	0.1062
19	112.23 ± 2.72	114.79 ± 2.84	0.5165
27	110.47 ± 2.71	105.66 ± 2.96	0.2330
32	109.55 ± 2.68	102.87 ± 3.40	0.1250

Conteo leucocitario

No se encontró una diferencia significativa ($P > 0.05$) en las variables comparadas por tratamientos, lo mismo ocurrió para la interacción tratamiento por día. No obstante, al comparar por día, se observó una disminución ($P < 0.05$)

de neutrófilos del día 10 al 32 para T1 ($35.1 \pm 1.8\%$ a $28.6 \pm 1.8\%$) y T2 ($36.5 \pm 1.8\%$ a $27.9 \pm 1.8\%$). Contrariamente, los linfocitos se elevaron ($P < 0.05$) del primero al último día de muestreo en T1 ($59.4 \pm 1.8\%$ a $67.1 \pm 1.8\%$) y en T2 ($58.20 \pm 1.8\%$ a $68.5 \pm 1.8\%$) (Cuadro 7).

El porcentaje de neutrófilos y linfocitos para TT y TEA se encuentran dentro de los rangos normales descritos por Schalm (1964), sin embargo el porcentaje de monocitos y eosinófilos en ambos tratamientos se ubica por debajo de lo especificado por el mismo autor, lo mismo sucede en hembras preñadas y no preñadas en TEA. Este tipo de células se encarga de fagocitar parásitos durante la presencia de enfermedades, aumentando su presencia en sangre (Schalm, 1964).

En el estudio de Aengwanich et al. (2009) concluyeron que los niveles de leucocitos no difieren durante las distintas épocas del año. Contradictoriamente Mitlöhner et al. (2002), al comparar el efecto del uso o no de sombras sobre células leucocitarias del ganado bovino, encontró mayor porcentaje de neutrófilos y menor porcentaje de linfocitos en animales sin sombra comparado con los animales en sombra, en esta investigación, los resultados no coinciden con este autor debido a que solo hubo variación por día y no por tratamiento; al comparar el nivel de monocitos y eosinófilos, atribuyendo este comportamiento al estrés crónico al que los animales se enfrentan por efecto de la temperatura ambiental, por otra parte Mitlöhner et al. (2002) reportaron porcentajes mayores a los encontrados en este experimento. Ratones bajo condiciones de estrés por

calor y frío, aumentaron sus niveles de cortisol ocasionando una disminución de neutrófilos, sin embargo también se encontró una disminución de linfocitos, por efecto de las catecolaminas, lo cual afecta la inmunidad en general del organismo (Castellanos et al., 2006). El-Nouty et al. (1990) analizó el hemograma de vacas Holstein en producción durante verano e invierno, encontrando valores estadísticamente menores durante el verano de hemoglobina, hemoglobina corpuscular total, volumen corpuscular medio y concentración de hemoglobina corpuscular media, sin encontrar diferencias en el número de leucocitos entre invierno y verano. Los resultados por estado fisiológico de esta investigación coinciden con los valores encontrados por estos autores.

Cuadro 7. Media y desviación estándar del conteo leucocitario de vaquillas enfriadas y bajo solo sombra.

Variable	Tratamientos		Valor de P	Día		Valor de P
	TEA	TT		10 d	22 d	
Leucocitos (Cel/nL)	14565 ± 992	15295 ± 992	0.6060	14805 ± 992	15055 ± 992	0.8596
Plaquetas (mm ³)	211250 ± 33865.1	157005 ± 33865.1	0.2649	191650 ± 33865.1	176605 ± 33865	0.7552
Neutrófilos (%)	32.2 ± 1.3	31.8 ± 1.3	0.8502	35.8 ± 1.3	28.25 ± 1.3	0.0002
Linfocitos (%)	63.3 ± 1.3	63.2 ± 1.3	0.9581	58.8 ± 1.3	67.8 ± 1.3	0.0001
Monocitos (%)	2.0 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.5026	2.1 ± 0.2	1.7 ± 0.2	0.184
Eosinófilos (%)	2.45 ± 0.5	3.0 ± 0.5	0.4106	3.25 ± 0.5	2.25 ± 0.5	0.1738
Neutrófilos/Linfocitos	0.52 ± 0.3	0.52 ± 0.3	0.9909	0.62 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.0001

Capacidad Antioxidante Total

La capacidad antioxidante total en el grupo de animales en verano fue de 2.8 ± 0.23 mM el cual no difirió estadísticamente ($P > 0.05$) del grupo de invierno donde se obtuvo 2.7 ± 0.20 mM. Es poca la información que se ha encontrado sobre la relación del estrés oxidativo causado por estrés por calor en vacas Holstein (Bernabucci et al., 2002).

Cuando no se elimina de manera eficiente la presencia de radicales libres en el organismo, el estrés oxidativo al que se enfrenta el organismo afecta la salud de vacas lecheras, tanto directamente con daños importantes en lípidos y macromoléculas e indirectamente con cambios ocasionados por los radicales libres en las membranas celulares, modificando las vías metabólicas, originando una posible patología (Miller et al., 1993; Yokus et al., 2007). Zhang et al. (2011) no encontraron una relación significativa entre vacas que presentaron cetosis y que a su vez sea atribuida al estrés oxidativo, debido al desorden metabólico que produce en vacas en lactación. Ferraro y López (2008) reportaron una la relación de la hepatoesteatosis y el estado de estrés oxidativo en hígado, concluyendo que la administración de melatonina (3 mg/kg durante 15 días) disminuyó el estrés hepático y la hepatoesteatosis; el comprender la relación entre los antioxidantes, las funciones orgánicas y celulares representa una opción para la prevención y tratamiento de enfermedades derivadas o relacionadas con radicales libres en animales.

La producción prolongada de especies reactivas de oxígeno durante la gestación ocasiona un aumento de estrés oxidativo, esto se ha asociado con la presencia de distocia, la cual se considero como bajo peso al nacimiento o presentación de gemelos, en vacas Holstein, sin embargo, otros estudios no han encontrado una relación entre estrés oxidativo y la ocurrencia de este problema, debido a la suplementación de antioxidantes que se proporcionan durante los meses de gestación (Yokus et al., 2007). La suplementación de vitamina E y Se reducen la incidencia de retención placentaria mejorando la reproducción en vacas lecheras (Miller et al., 1993; Hansen y Arechiga, 1999; Ahmed et al., 2010).

La reproducción normal depende de las concentraciones adecuadas de progesterona y estrógenos; enzimas dependientes de la actividad esteroidogénica, reducen la síntesis de hormonas bajo estrés oxidativo (Miller et al., 1993). Rapoport et al. (1998) correlacionaron la capacidad antioxidante con la esteroidogénesis del estado del cuerpo lúteo durante el ciclo estral del bovino revelando un complejo patrón de la regulación posible de enzimas antioxidantes y componentes del cuerpo lúteo, indicando que los mecanismos antioxidantes son activados para contrarrestar el estrés oxidativo que es asociado, a su vez, con la síntesis de hormonas esteroides. Se ha publicado además la modulación de las defensas antioxidantes en el oviducto de vacas durante el ciclo estral mediante distintas enzimas (Lapointe y Bilodeau, 2003).

La capacidad antioxidante también se ha evaluado en el área de nutrición, a través del consumo de alimentos que contienen antioxidantes tanto en humanos como animales (Helmut, 2007). Mandevu et al. (2003) encontraron valores mayores de capacidad antioxidante total en vacas secas alimentadas con distintas dietas (40, 50 o 60% de concentrado), proponiendo que la capacidad antioxidante total es una herramienta para evaluar el estado nutricional de animales alimentados con diferentes régimen dietéticos a lo largo del año. La presencia del balance energético negativo provoca un incremento en el estrés oxidativo debido a la alteración de funciones metabólicas, por ejemplo la reducción de gluconeogénesis en hígado, en especial en las dietas de inicio las cuales pueden alterar la utilización de glucosa. (Gabai et al., 2004).

CONCLUSIONES

- i. El sistema de enfriamiento artificial durante el verano disminuyó la frecuencia respiratoria, la temperatura en cuello, anca y en recto en vaquillas Holstein mejorando, además, el confort del animal.

- ii. Se encontró una respuesta positiva en la concentración de glucosa en las vaquillas bajo enfriamiento artificial, mientras que los triglicéridos fueron mayores en el grupo testigo, la concentración de colesterol no fue afectada por los tratamientos.

- iii. El sistema de enfriamiento artificial no influyó sobre el conteo leucocitario de vaquillas comparado con vaquillas bajo solo sombra durante el verano.

- iv. la Capacidad Antioxidante Total (CAT) durante el verano fue similar a la CAT en invierno de vaquillas Holstein.

LITERATURA CITADA

- Abeni, F., M. G. Terzano, M. Speroni, L. Migliorati, M. Capelletti, F. Calza, L. Bianchi, and G. Pirlo. 2008. Evaluation of milk enzymes and electrolytes, plasma metabolites, and oxidative status in twin cows milked in an automatic milking system or twice daily in a conventional milking parlor. *J. Dairy Sci.* 91:3372-3384.
- Aengwanich, A., A. Chantiratikul, and S. Pamok. 2009. Effect of seasonal variation on hematological values and health monitor of crossbred beef cattle at slaughterhouse in northeastern part of Thailand. *J. Agric. & Environ. Sci.* 5:644-648.
- Ahmed, W. M., G. M. Nabil, H. H. El-Khadrawy, E. M. Hanafi, S. I. El-Moez, and A. R. El-Hameed. 2010. The relationship between oxidants/antioxidants imbalance and fertility in buffalo-cows. *International Journal of Academic Research.* 2:5-9.
- Aranda, M. V., N. Brave, y R. Casagrande. 2002. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/26-colesterol_en_bovinos.pdf Consultado el 3 de enero del 2011.
- 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.* 40:7-42.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. Symposium: Nutrition and heat stress. *J. Dairy Sci.* 77:2044-2050.
- Beede, D. K., and R. J. Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Dairy Sci.* 62:543-554.
- Berman, A. 2005. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 83:1377-1384.
- Berman, A. 2010. Forced heat loss from body surface reduces heat flow to body surface. *J. Dairy Sci.* 93:242-248.
- Bernabucci, U., B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J. Dairy Sci.* 85:2173-2179.
- Bewley, J. M., M. W. Grott, M. E. Einstein, y M. M. Schutz. 2008. Impact of intake water temperatures on reticular temperatures of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:3880-3887.

- Bilby, T. 2010. Retos reproductivos y soluciones durante el estrés calórico en vacas lecheras lactantes. Ponencia. XX Reunión internacional sobre producción de carne y leche en climas cálidos. Mexicali, Baja California, México. 7 y 8 de Octubre.
- Bohmanova, J., I. Misztal, y J. Cole. 2007. Temperature humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947-1956.
- Botelho, S. y C. A. Conde. 2003. Modelos animales de estrés post-traumático. *Rev. Salud de la Universidad Industrial de Santander.* 35:97-107.
- Bredbacka, K. and P. Bredbacka. 1996. Glucose controls sex-related growth rate differences of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 106:169-172.
- Calamari, L., M. G. Maianti, F. Amendola, and G. Lombardi. 1999. On some aspects of the oxidative status and on antioxidants in blood of dairy cows during summer. 13th Associazione Scientifica Produzioni Animali Congress, Piacenza, Italy. Pp. 449-451
- Campos, R., E. S. Carreño and F. D. Gonzalez. 2004. Perfil metabólico de vacas nativas colombianas. *Rev. Orinoquia.* 8:32-41.
- Catellanos, P. E., Sebazco P. C., M. Fernández, y S. E. Pérez. 2006. Alteración de los niveles leucocitarios en ratones BALB/C sometidos a estrés. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 25:2-5.
- Chrousos, G. P. 2009. Stress and disorders of the stress system. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5:374-381.
- 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.
- Correa, A., V. Yañez, F. Verdugo, A. Pérez, L. Avendaño, V. M. González, F. Ponce, y M. Tarazón. 2004. Efectos de un sistema de enfriamiento a espacio abierto en la eficiencia productiva de novillos Holstein durante el verano. *Interciencia.* 29:86-88.
- Dikmen, S., y P. J. Hansen. 2009. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment?. *J. Dairy Sci.* 92:109-116.
- El-Nouty, F. D., A. A. Al-Haidary, and M.S. Salah. 1990. Seasonal Variation in Hematological Values of High-and Average-yielding Holstein Cattle in Semi-arid Environment. *J. King Saud. Univ. Agri. Sci.* 2:173-182.

- Ferin, M. 2006. Stress and the reproductive cycle. *J. Clin. End. & Metab.* 84:1768-1774.
- Ferraro, S. M., y A. López. 2008. Actividad antioxidante de la melatonina sobre el hígado graso inducido por etionina en ratones. *Arch. Med. Vet.* 40:51-57.
- Francisco, C. C., L. J. Spicer, and M. E. Payton. 2003. Predicting cholesterol, progesterone, and days to ovulation using postpartum metabolic and endocrine measures. *J. Dairy Sci.* 86:2852-2863.
- Fulwider, W. K., y R. W. Palmer. 2004. Use of impact testing to predict softness, cow preference, and hardening over time of stall bases. *J. Dairy Sci.* 87:3080-3088.
- Fuquay, J.W. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52:164-174.
- Gabai, G., S. Testoni, R. Piccinini, L. Marinelli, and G. Stradaioli. 2004. Oxidative stress in primiparous cows in relation to dietary starch and progress of lactation. *J. Anim. Sci.* 79:99-108.
- Galvis, R. D., y H. J. Correa. 2002. Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: ¿Es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido?. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 15:36-50.
- Gaughan, J. B., S. M. Holt, G. L. Hahn, T. L. Mader, and R. Eigenberg. 2000. Respiration rate. Is it a good measure of heat stress in cattle? *J. Anim. Sci.* 13: 329-332.
- Gebremedhin, H. K., and B. Wu. 2001. A model of evaporative cooling of wet skin surface and fur layer. *J. Thermal. Biol.* 26:537-545.
- Ghiselli, A., M. Serafini, F. Natella, and C. Scaccini. 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *J. Free Radicals in Biology & Medicine* 29:1106-1114.
- González, M., E. Posada, A. Olguín, y J. C. Reza. 1986. Manual de clínica propedéutica bovina. Editorial Limusa. 1er. Edición. México. Pp: 57 y 77.
- Gürtler, H., H. A. Ketz, E. Kolb, L., Schröder, y H. Seidel. 1976. Fisiología Veterinaria. 2da. Edición, Editorial Acribia. Pp: 440.
- Gutierrez, J. H., A. C. Warnick, J. J. Cowley and J. F. Hentges. 1971. Environmental physiology in the sub-tropics. I. Effect of continuous environmental stress on some hematological values of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 32:968-973.

- Gwazdauskas, F. C. 1985. Effects of climate on reproduction in cattle. *J. Dairy Sci.* 68: 1568-1578.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 77:10-20.
- Hansen, P. J. 1990. Effects of coat color on physiological responses to solar radiation in Holstein. *Vet. Rec.* 27:333-334.
- Hansen, P.J., and Arechiga C. F. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77:36-50.
- Harmon, R. J., M. Lu, D. S. Trammel, and B. A. Smith. 1997. Influence of heat stress and calving on antioxidant activity in bovine blood. *J. Dairy Sci.* 80:264-267.
- Hashimoto S., N. Minami, M. Yamada, and H. Imai. 2000. Excessive concentration of glucose during *in vitro* maturation impairs the developmental competence of bovine oocytes after in vitro fertilization: relevance to intracellular reactive oxygen species and glutathione contents. *Mol. Reprod. Dev.* 56:520-526.
- Helmut, S. 2007. Total antioxidant capacity: appraisal of a concept. *J. Nutr.* 137:1493-1495.
- Huang, D., B. Ou and R. L. Prior. 2005. The chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.* 53:1841-1856.
- Huerta, M., M. E. Ortega, M. Cobos, J. G. Herrera, A. Díaz-Cruz y R. Guinzberg. 2005. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Interciencia.* 30:728-734.
- Igono, M. O., H. D. Johnson, B. J. Hainen, W. A. Shanklin. 1988. Effect of season on milk temperature, milk growth hormone, prolactin, and somatic cells counts of lactating cattle. *Int. J. Biometeorol.* 32:194-200.
- Itoh, F., Y. Obara, M. T. Rose, H. Fuse and H. Hashimoto. 1998. Insulin and glucagon secretion in lactating cows during heat exposure. *J. Anim. Sci.* 76:2182-2189.
- Jordan, E.R. 2003. Effects of heat stress on reproduction. *J. Dairy Sci.* 86:E104-E114.
- Lapointe, J., and J. F. Bilodeau. 2003. Antioxidant defenses are modulated in the cow oviduct during the estrous cycle. *Biol. Reprod.* 68:1157-1164.
- Lee, A. J., A. R. Twardock, R. H. Bubar, J. E. Hall and C. L. Davis. 1978. Blood metabolic profiles: their use and relation to nutritional status of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 61:1652-1670.

- Leroy, J. L., T. Vanholder, G. Opsomer, A. Van Soom, and A. de Kruif. 2006. The *In vitro* development of bovine oocytes after maturation in glucose and beta-Hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.* 41:119-123.
- Mandebvu, P., J. B. Castillo, D. J. Steckley and E. Evans. 2003. Total antioxidant capacity: A tool for evaluating the nutritional status of dairy heifers and cows. *Can. J. Anim. Sci.* 83:605-608.
- Marin, A., J. C. Tinoco, J. Herrera, L. Sanchez, V. Sánchez, J. L. Solorio, y A. García. 2007. Reinicio de la actividad ovárica y nivel de metabolitos de lípidos en vacas lecheras suplementadas con aceite vegetal durante el posparto temprano. *Interciencia.* 32:180-134.
- Martínez, A. L., M. Pérez, L. Pérez, G. Gómez y D. Carrión. 2010. Metabolismo de los lípidos en los rumiantes. *REDVET.* Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080810/081004.pdf>. Consultado el día 28 de enero del 2011.
- Martínez, M. P., y J. G. Lozano. 2005. Hipertrigliceridemia y preclamsia: papel fisiopatológico y evidencia actual. *Med. UNAB.* 8:118-124.
- Mathews, C. K., K. E. Van Holde, and K. G. Ahern. 2004. *Bioquímica. Metabolismo de lípidos.* Tercera edición. Ed. Pearson Addison Wesley. Pp. 701-741.
- Miller, J.K. and E. Brezezinska-Slebodzinska. 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Sci.* 76:2812-2823.
- Mitlöhner, F. M., M. L. Galyean, and J. J. McGlone. 2002. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. *J. Anim. Sci.* 80:2043-2050.
- Mitlöhner, F. M., J. L. Morrow, J. W. Dailey, S. C. Wilson, M. L. Galyean, M. F. Miller, and J. J. McGlone. 2001. Shade and water misting effects on behavior, physiology, performance, and carcass traits of heat-stressed feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 79:2327-2335.
- NRC. National Research Council. 1981. *Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals.* Washinton, DC, USA: National Academy Press.
- Perry, R. C., L. R. Corah, G. H. Kiracofe, J. S. Stevenson, and W. E. Beal. 1991. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles. *J. Anim. Sci.* 69:2548-2555.

- Ramirez, N. L. Torres, L.P. Leon, K. K. Azuaje, F. Sanchez, and D. A. Ramirez. 1998. Hematological observation in several tropical ruminants. *Revista Científica FCV-LUZ*. 8:105-112.
- Rapoport, R., D. Sklana, 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. *Biochimica et Biophysica Acta* 1380:133-140.
- 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.
- 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.
- Rodríguez, I., C.C. Pérez, F. España, J. Dorado, M. Hidalgo, y J. Sanz. 2004. Niveles químicos plasmáticos en vacas repetidoras tras I. A. *Arch. Zootec.* 53: 59-68.
- SAS. Institute Inc. 2002. *SAS/STAT User's Guide*, Release 9.1 Cary, NC, USA.
- Schalm, O. W., N. C. Jain, and E. J. Carroll. 1964. *Hematología veterinaria*. 1ra Edición Español. Editorial Hemisferios sur. S. A. Buenos Aires. Argentina. Pp.: 126, 147, 151 y 159.
- Schütz, K.E., A.R. Rogers, N.R. Cox, J.R. Webster, and C.B. Tucker. 2011. Dairy cattle prefer shade over sprinklers: Effects on behavior and physiology. *J. Dairy Sci.* 94:273-283.
- Senay C. L., and L. M. Christensen. 1965. Changes in blood plasma during progressive dehydration. *J. App. Phy.* 20:1136-1149.
- Smith, R. W., and V. A. Welch. 1975. Effect of pregnancy and lactation on triglycerides of very-low density lipoproteins of rat plasma. *J. Dairy Sci.* 59:876-879.
- Smith, T.R., A. Chapa, S. Willard, C. Herndon, R. J. Williams, J. Crouch, T. Riley, and D. Pouge. 2006. Evaporative tunnel cooling of dairy cows in the Southeast. I: Effect on body temperature and respiration rate. *J. Dairy Sci.* 89: 3904-3914.
- SMN, 2010. Sistema Meteorológico Nacional. Disponible en: http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=208&Itemid=118. Consultada el día 10 de mayo de 2010.

- Stott, G.H. 1981. What is animal stress and how is it measured?. *J. Anim. Sci.* 52:150-153.
- Taylor, R. L., O. F. Pahnish, C. B. Roubicek, and W. H. Hale. 1966. Plasma cholesterol concentration in unsupplemented range cattle. *J. Anim. Sci.* 22:1035-1039.
- Tucker, C. B., R. A. Rogers, and K. E. Schütz. 2007. Effect of solar radiation on dairy cattle behavior, use of shade and body temperature in pasture-based system. *Animal Behaviour Science.* 109:141-154.
- Vitali, A., M. Seganali, L. Bertocchi, U. Bernabucci, A. Nardone, and N. Lacetera. 2009. Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature-humidity index in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3781-3790.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- Wheelock, J. B., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, S. R. Sanders, and L. H. Baumgard. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93:644-655.
- Yokus, B., S. Bademkiran, and D. U. Cakir. 2007. Total anti-oxidant capacity and oxidative stress in dairy cattle and their associations with dystocia. *Medycyna Wet.* 63:167-170.
- Zhang, Z., Z. Wang, W. Guo, X. Bing, and H. Bin-Wang. 2011. Serum antioxidant capacity of dairy cows with subclinical ketosis. *Vet. Rec.* 168:22-32.