

## IDENTIFICACIÓN DE LAS LIMITANTES DEL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO Y LA EFICIENCIA DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN GANADO LECHERO DE LA ZONA DE LIMA

Luisa Echevarría C.<sup>1,2</sup>, Wilfredo Huanca L.<sup>1</sup> y Alfredo Delgado C.<sup>3</sup>

### ABSTRACT

The reproductive performance in seven intensive dairy farms of the Lima region was evaluated. The interval from calving to first service (CFSI) in 552 dairy cows and the interval from calving to conception (CCI) in 249 cows were determined considering the effects of parity (uniparous and multiparous), breed (Holstein and Brown Swiss), calving season (G1-Summer, December to April; G2-Winter, May to August; G3-Spring, September to November) and farm. Overall conception rate and conception rate at first service in two periods (1: 1995-1996; 2: 1997-1998) were analyzed. Heat detection and artificial insemination (AI) efficiency was evaluated in 512 services using progesterone levels and pregnancy diagnosis results. Data was analyzed by GLM using analysis of variance and logistic regression. CFSI was  $81.1 \pm 35$  days and CCI was  $113 \pm 61$  days (mean  $\pm$  s.d.). Factors that significantly affected CFSI were parity and calving season. CFSI in uniparous was  $89.9 \pm 3.8$  days (LS  $\pm$  SE,  $n = 148$ ) and in multiparous was  $81.3 \pm 2.6$  days ( $n = 404$ ,  $P < 0.01$ ). CFSI for G1, G2 and G3 was  $87.3 \pm 2.7$ ,  $68.8 \pm 2.8$  and  $100.9 \pm 5.7$  days, respectively ( $P < 0.01$ ). CCI was  $117.4 \pm 4.6$ ,  $95.0 \pm 6$  and  $154.6 \pm 12$  days for G1, G2 and G3, respectively, with differences between G2 and the other groups ( $P < 0.01$ ). Parity did not affect CCI. Interval from calving to first ovulation (COI) was  $45 \pm 19.9$  days ( $n = 65$ ), and was affected by BCS at calving, season of calving and farm ( $P < 0.01$ ). COI in cows that calved in spring was  $42.8 \pm 2.6$  days whereas in cows that calved in summer was  $23.2 \pm 6.1$  days. Cows inseminated in spring were more prone to be inseminated at inappropriate time. Overall conception rate and conception rate at first service were affected by the study period, service number, and origin of semen. Cows that calved in the September - April period had the longest intervals and should be included in a special AI scheme for improving their performance.

**Key words:** reproductive efficiency, performance, service, fertility

### RESUMEN

Se evaluó el comportamiento reproductivo en siete establos lecheros de crianza intensiva en Lima. El Intervalo Parto Primer Servicio (IPPS) en 552 vacas y el Intervalo Parto Concepción (IPC) en 249 vacas fueron determinados considerando el efecto de número de parto (uníparos y múltiparos), raza (Holstein y Brown Swiss), estación de parto (G1-Verano, diciembre a abril; G2-Invierno, mayo a agosto; G3-Primavera, septiembre a noviembre) y establo. Se consideró la tasa de concepción global y la tasa de concepción al primer servicio en dos periodos de estudio (1: 1995-1996; 2: 1997-1998). La eficiencia de la detección de celo y de la inseminación artificial (IA) fue analizada en 512

<sup>1</sup> Laboratorio de Reproducción Animal, FMV-UNMSM

<sup>2</sup> E-mail: luisa\_ech@hotmail.com

<sup>3</sup> Clínica de Animales Mayores, FMV-UNMSM

inseminaciones usando niveles de progesterona y los resultados del diagnóstico de preñez. Los datos fueron analizados por GLM mediante análisis de varianza y regresión logística. El IPPS global fue de  $81.1 \pm 35$  días (promedio  $\pm$  d.e.) y el IPC fue de  $113 \pm 61$  días. Los factores que afectaron el IPPS fueron el número y la estación de parto. Las uníparas tuvieron un IPPS de  $89.9 \pm 3.8$  días (CM  $\pm$  EE,  $n = 148$ ) y las múltiparas de  $81.3 \pm 2.6$  días ( $n = 404$ ,  $P < 0.01$ ). El IPSS para estación de parto fue de  $87.3 \pm 2.7$ ,  $68.8 \pm 2.8$  y  $100.9 \pm 5.7$  días para G1, G2 y G3 ( $P < 0.01$ ), respectivamente. Los IPC fueron de  $117.4 \pm 4.6$ ,  $95.0 \pm 6$  y  $154.6 \pm 12$  días para G1, G2 y G3, respectivamente, con diferencias significativas entre G2 con los otros grupos ( $P < 0.01$ ). El número de parto no influyó significativamente sobre el IPC. El Intervalo Parto Primera Ovulación (IPPO) fue de  $45 \pm 19.9$  días ( $n = 65$ ), con efecto significativo de condición corporal al parto, estación de parto y establo ( $P < 0.01$ ). El IPPO en las vacas paridas en primavera fue de  $42.8 \pm 2.6$  días, y en las vacas paridas en verano de  $23.2 \pm 6.1$  días. Las vacas inseminadas en la estación de primavera tuvieron más probabilidades de ser inseminadas en el momento inapropiado. Las tasas de concepción global y de primer servicio fueron afectadas por la estación de parto, el número de servicio y el origen del semen. Las vacas paridas entre septiembre y abril tuvieron los intervalos reproductivos más largos y deben ser consideradas en un programa especial de IA para mejorar su comportamiento reproductivo.

**Palabras clave:** eficiencia reproductiva, comportamiento, servicio, fertilidad

## INTRODUCCIÓN

La respuesta reproductiva del vacuno no está influenciada por el fotoperiodo, pero otros componentes del clima afectan su reproducción, especialmente al ganado lechero de tipo europeo. Estos animales tienen su temperatura termoneutral más favorable entre 13 a 18 °C (Gilad *et al.*, 1993), y en el verano de Lima se llega a tener temperaturas ambientales de 31 °C con 80% de humedad relativa. Esto significa que el ganado lechero se encontraría en un índice  $>72$  THI (Índice de temperatura ambiental y humedad relativa) (Armstrong, 1994). Esta situación causa estrés térmico en las vacas (Shearer y Beede, 1990), lo que origina un comportamiento reproductivo deficiente (Hansen, 1997; Cheminau, 1993).

Algunos reportes sobre comportamiento reproductivo del ganado lechero señalan intervalos entre partos con más de 14 meses. La búsqueda de soluciones a esta problemática reproductiva significa determinar en primera instancia ciertos parámetros reproductivos como el intervalo entre el parto y la primera ovulación, la eficiencia de la detección de celo, la tasa de concepción y,

específicamente, el efecto del estrés de calor sobre estos parámetros.

El objetivo principal de la presente investigación fue la identificación de las limitantes de la eficiencia del servicio de IA y su efecto en el comportamiento reproductivo de vacas lecheras.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Clima

La temperatura ambiental en la zona del estudio varía entre 12-16 °C en invierno y 25-30 °C en el verano. La humedad relativa es de 85-90% durante el año y la precipitación pluvial anual promedio es de 26.6 a 29.2 mm (Fig.1).

### Características de los Establos

Los establos utilizados en el estudio estuvieron localizados en los alrededores de la ciudad de Lima, con una población de 80 a 800 vacas por establo, y con extensiones de 2.5 a 120 ha. Las vacas se encuentran reclusas en corrales colectivos. La alimenta-

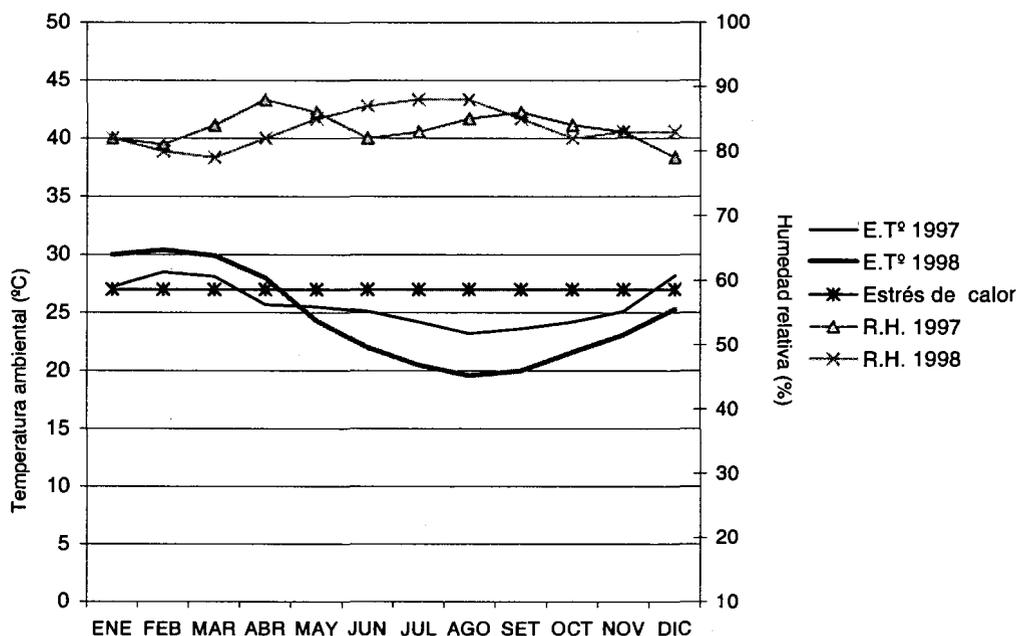


Figura 1. Temperatura ambiental y humedad relativa en Lima durante 1997 - 1998

ción se basa en forraje cortado y concentrado. El ordeño se realiza dos veces al día. Los establos grandes procesan la leche y envían al mercado una variedad de productos lácteos tales como yogur y queso.

La inseminación artificial (IA) se realiza con semen congelado importado, y en menor escala con semen nacional. Cada establo tiene sus propios técnicos de IA. La detección de celos es visual y se realiza de 2 a 5 veces al día.

#### Obtención de la Información

El trabajo se desarrolló en 7 establos. Tres de ellos estuvieron localizados al norte y cuatro establos al sur de Lima.

#### Estudio A:

Con el fin de evaluar el Intervalo Parto Primer Servicio (IPPS) y el Intervalo Parto Concepción (IPC), se seleccionaron 557 vacas al parto, las que fueron monitoreadas desde la primera inseminación hasta la concepción, en la mayoría de los casos, o hasta el ter-

cer servicio en otros. Se obtuvo información relevante de los establos, los técnicos inseminadores, las vacas inseminadas, la expresión de celo, así como del proceso de la inseminación.

Asimismo, con el fin de evaluar la eficiencia del servicio de IA, se monitoreó la actividad ovárica postservicio a través de la medición de progesterona en leche. Se recolectó muestras de leche el día del servicio, y dos muestras adicionales en los días 10-12 y 22-24 postservicio. En los casos en que las vacas retornaban en celo antes de la colección de la 2<sup>da</sup> ó 3<sup>ra</sup> muestra, éstas eran omitidas, la vaca era reinseminada y el protocolo de muestreo se iniciaba nuevamente.

La información se agrupó en Periodo de Estudio 1 (1995-1996) y Periodo de Estudio 2 (1997-1998).

#### Estudio B:

Con el fin de evaluar el Intervalo Parto Primera Ovulación (IPPO) se utilizaron 150 vacas lecheras. La actividad ovárica

postparto fue seguida a través de la determinación de progesterona en muestras de leche. Se registró la condición corporal (CC) al parto, y de allí en adelante, cada 30 días usando la escala de 1-5 (Ferguson *et al.*, 1994), así como la producción de leche y el comportamiento de celo. Se recolectó muestras de leche dos veces a la semana a partir de los 15 días del parto y hasta la confirmación de la concepción.

### Colección y Análisis de las Muestras

Se recolectó 5 ml de leche en el momento del ordeño. Los viales contenían azida de sodio como preservante. Las muestras fueron descremadas por centrifugación a 5,000 g por 10 minutos, separándose por aspiración la leche libre de grasa. Las muestras resultantes se almacenaron a 20 °C hasta el ensayo.

La progesterona fue determinada por radioinmunoensayo usando un kit comercial de Fase Sólida para Progesterona con I<sup>125</sup>, que fué validado para ganado bovino por el Organismo Internacional de Energía Atómica-OIEA (Nachreiner *et al.*, 1986). Los coeficientes de variación intra e inter ensayo de los controles interno bajo y alto fueron 12.5, 17.4, y 10.2, 18.8%, respectivamente.

### Manejo de los Datos y Análisis

#### *Estudio A:*

Los datos de laboratorio y campo fueron ingresados en el programa de cómputo AIDA (Artificial Insemination Database Application), base de datos desarrollada en MS Access 2.0 para Windows, por la Sección de Producción y Salud Animal del OIEA. El programa permite que los datos se ingresen de manera sistemática, y sean chequeados por inconsistencias en fechas, rangos fisiológicos y errores tipográficos.

Las vacas fueron clasificadas por número de parto (Primípara y Multípara), por raza (Holstein y Brown Swiss) y por esta-

ción de parto: G.1-Verano: enero a abril; G.2-Invierno: mayo a agosto; y G.3-Primavera: septiembre a diciembre.

La eficiencia del servicio de IA fue analizada mediante la interpretación del perfil de progesterona y los resultados del diagnóstico de preñez por rectopalpación. La concentración de progesterona en las tres muestras de leche fueron clasificadas como Bajo (B: <3.18 nmol/L) y Alto (A: >3.18 nmol/L), e interpretando los resultados según se indica en el Cuadro 1.

El análisis consideró la eficiencia de la inseminación (si se realizó en el momento oportuno) como variable dependiente, y como factores de variación al intervalo parto-IA, número de servicios, intervalo celo-IA, tumefacción de la vulva, estación de IA (G1-verano, G2-invierno, G3-primavera), número de parto, establo y localización, utilizando la prueba de regresión logística en forma univariada y multivariada.

La tasa de concepción global del total de servicios IA y la tasa de concepción al primer servicio fueron analizadas por regresión logística en forma univariada y multivariada, considerando localización del establo, establo, periodo de estudio, raza de la vaca, número de parto, estación del servicio, intervalo parto primer servicio, número de servicio, mes de IA, signos de celo, tumefacción de vulva, inseminador y origen de semen (local e importado).

El IPPS y el IPC se analizó por GLM (Modelo Lineal Generalizado), donde se consideró como factores de variación a la región, establo, raza de la vaca, número de parto y estación de parto.

#### *Estudio B:*

Las vacas fueron agrupadas por estación de parto (G1-Primavera, septiembre-noviembre, y G2-Verano, diciembre-marzo).

Cuadro 1. Interpretación de datos de RIA de progesterona sólo o en combinación con información clínica para la evaluación de los servicios de IA (Alto:  $\geq 3$  nmol/l; Bajo  $\leq 1$  nmol/l) usando muestras de leche recolectadas a diferentes intervalos post-IA

Nº de muestras	Día de recolección			Diagnóstico de preñez	Interpretación
	0	10-12	22-24		
Tres	Bajo	Alto	Alto	Positivo	Preñez
	Bajo	Alto	Bajo	Negativo	Sin fertilización, muerte embrionaria temprana (post IA-anestro)
	Bajo	Alto	Alto	Negativo	Muerte embrionaria tardía (>día 16), quiste luteal, CL persistente
	Alto	Alto	Alto	Positivo	IA en un animal preñado
Dos	Bajo	Alto	--	--	Ciclo ovulatorio
	Bajo	Bajo	--	--	Anestro, anovulación, fase luteal corta
	Alto	Alto	--	--	IA en un animal preñado, quiste luteal
	Alto	Bajo	--	--	IA durante la fase luteal
Una	Bajo	--	--	--	IA fuera de la fase luteal
	Alto	--	--	--	IA durante la fase luteal

La eficiencia en la detección de celo fue estimada por la relación existente entre los celos detectados por el personal del establo y el número de ovulaciones detectadas a través del análisis de progesterona.

El IPPO se analizó mediante regresión múltiple, considerando como variables independientes el establo, número y estación de parto, y cambios de CC postparto.

## RESULTADOS

### Comportamiento Reproductivo

El IPSS fue de  $81.1 \pm 35$  días ( $x \pm de$ ;  $n=552$ ). El IPPS para las vacas primíparas fue de  $89.9 \pm 3.8$  días ( $CM \pm EE$ ) y para las vacas múltiparas fue de  $81.3 \pm 2.6$  días ( $P < 0.01$ ).

La estación de parto tuvo un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) en los resultados (Cuadro 2), en tanto que la raza de las vacas y el establo no afectaron significativamente los resultados.

El intervalo parto concepción (IPC) fue de  $113 \pm 61$  días ( $x \pm de$ ;  $n = 249$ ). Las variables con efecto significativo en IPC fueron la época de parto (Cuadro 2), período de estudio e IPPS (estimado  $0.86 \pm 0.07$ ). El número de parto y el establo no influyeron significativamente en los resultados.

El IPPO fue de  $45 \pm 19.9$  días ( $x \pm de$ ;  $n = 65$ ). Hubo un efecto significativo de CC al parto, estación de parto y establo. Las vacas paridas durante la primavera tuvieron un IPPO de  $42.8 \pm 2.6$  días ( $CM \pm EE$ ), en tanto que para las paridas en verano fue de  $23.2 \pm 6.1$  días.

Cuadro 2. Intervalo parto-primer servicio e intervalo parto-concepción en vacas Holstein de lecherías de crianza intensiva de la zona de Lima, según la estación de parto

Estación de parto	Intervalo Parto-Primer Servicio		Intervalo Parto-Concepción	
	Nº	CM ± EE <sup>1</sup>	Nº	CM ± EE
G1 - Verano (enero-abril)	271	87.3 ± 2.7	152	117.4 ± 4.6
G2 - Invierno (mayo-agosto)	215	68.6 ± 2.8	74	95.0 ± 6.7
G3 - Primavera (setiembre-diciembre)	66	100.9 ± 5.7	23	154.6 ± 1.2

<sup>1</sup>Cuadrado medio + Error estándar

La eficiencia en la detección de celo fue de 58, 38, 51, 26 y 0% en los establos 1 (n = 29), 2 (n = 18), 3 (n = 18), 4 (n = 11), y 5 (n = 4), respectivamente.

#### Eficiencia en la Detección de Celos y Actividad Ovárica Post IA

Los principales problemas detectados en el servicio de IA a través del protocolo de muestreo de leche fueron debidos a inseminaciones incorrectas por fallas en la detección de celo (11%), y a vacas que no quedaron preñadas en el servicio, pero que por errores en la detección de celos subsiguientes se las encontró vacías en el diagnóstico

de preñez (28.9%). Dentro del primer grupo se encontró que el 2% de las vacas fueron inseminadas con la presencia de un cuerpo lúteo activo y que el 9% de vacas estaban en anestro en el momento de la inseminación.

La época del año en que se realizó la IA y el número de parto fueron los factores que influenciaron significativamente la frecuencia de inseminaciones erróneas.

Las vacas inseminadas durante la estación de primavera (G3) tuvieron tres veces más probabilidades de riesgo de ser inseminadas en el momento inapropiado (v.g. presencia de actividad luteal o ausencia de

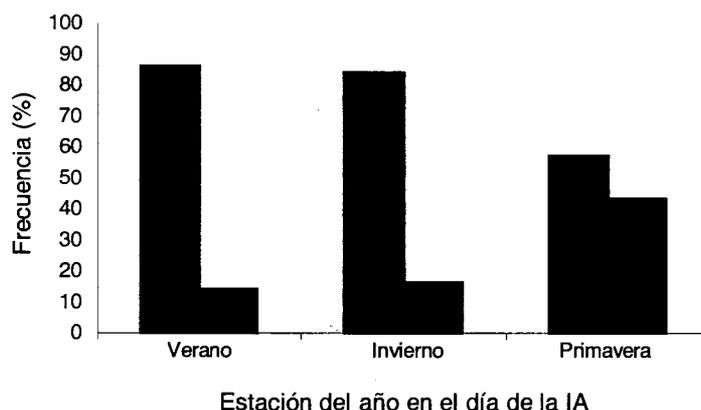


Figura 2. Inseminaciones artificiales en el momento apropiado vs. Inapropiado (%) en bovinos de leche considerando la estación del año

Cuadro 3. Frecuencia de servicios de IA realizados en forma correcta e incorrecta en vacas lecheras en base a la concentración de progesterona en el día del servicio, según el número de parto

Número de parto	Momento apropiado		Momento inapropiado	
	Nº	%	Nº	%
Primíparas	111	94.8	6	5.1
Múltiparas	279	87.1	41	12.8

ciclicidad ovárica) que vacas inseminadas en otras épocas (Fig. 2); y las vacas múltiparas tuvieron 2.4 más probabilidades de ser inseminadas en el momento inapropiado que las uníparas (Cuadro 3).

### Tasa de Concepción

La tasa de concepción al primer servicio fue afectada por el periodo de estudio y origen del semen. Las vacas inseminadas durante el periodo de estudio I (Fig. 3) y las vacas inseminadas con semen importado tuvieron más probabilidades de quedar preñadas.

La tasa global de concepción fue afectada por la estación de parto, el periodo de estudio (Fig. 3) y el número de servicio. Las vacas inseminadas después del 4º servicio tuvieron más probabilidades de quedar vacías.

### DISCUSIÓN

El IPSS es teóricamente afectado por el reinicio de la actividad cíclica del ovario en el postparto, y la eficiencia de la detección de celo. En el IPC es necesario agregar los factores que afectan la fertilidad del rebaño como calidad de semen, técnica de IA, mortalidad embrionaria y el momento de la IA en relación con la ovulación (Lucy *et al.*, 1992); fuera de los problemas infecciosos que pueden presentarse, pero que no se incluyeron en el presente estudio.

El IPSS e IPC observados en el presente trabajo no son tan extensos si se consideran dentro del contexto global; de allí que muchos ganaderos no llegan a percibir la magnitud del problema. Sin embargo, cuando estos índices son estudiados en detalle, considerando variables como la estación de par-

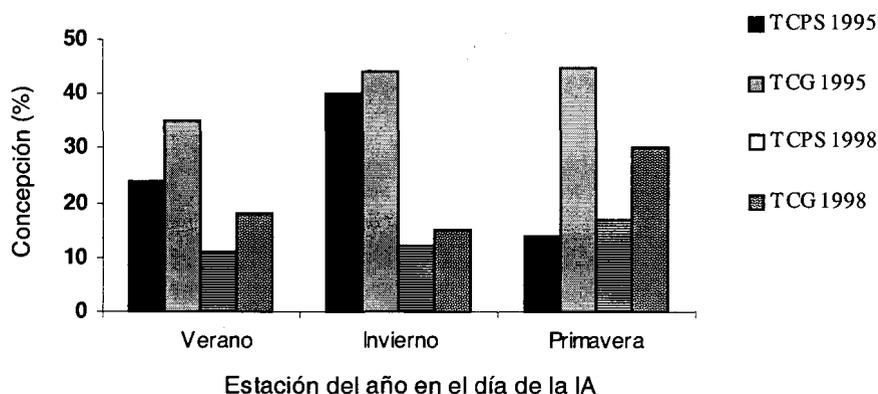


Figura 3. Concepción Global (TCG) y al Primer servicio (TCPS) considerando el año y la estación del año del día de la inseminación en vacas lecheras

to, se pueden determinar importantes diferencias entre vacas paridas en invierno y vacas paridas en otras épocas.

Las posibles causas de las diferencias en IPPS según la época del año en que parieron los animales no son fáciles de explicar. Éstas se basan en que las vacas paridas durante la primavera pudieron tener problemas para reiniciar la ciclicidad ovárica; de allí que el IPPO fuera de  $42.8 \pm 2.6$  días, el cual es un intervalo más largo que lo reportado en la literatura (Lucy *et al.*, 1992). Esto estaría relacionado con el balance energético negativo (BEN) postparto causado por la alta producción de leche durante este periodo (Confield *et al.*, 1991). El BEN origina hipoglicemia, lo que aumenta la concentración circulante de Hormona Liberadora de Corticotropina, que a su vez estimula la liberación de ACTH y  $\beta$ -endorfina (Thun *et al.*, 1996), afectándose negativamente la pulsabilidad de la secreción de LH, y por lo tanto el reinicio de la ciclicidad ovárica (Gilad *et al.*, 1993).

Las vacas paridas en verano tuvieron un mejor IPC, que pudo haber sido facilitado por el menor IPPO. En análisis posterior, se encontró que los cambios de CC postparto fueron afectados significativamente por la estación de partos; así, vacas paridas en primavera pierden más CC porque producen más leche, y no pueden recuperar su CC tan rápido como lo hicieron las paridas en verano, de allí que tendrían un IPO más largo que las vacas de parto en verano. Se sugiere que para que ocurra la primera ovulación en las vacas postparto, sería más importante el grado de balance negativo al inicio de la lactación (Confield y Butler, 1991; Schillo, 1992) que el efecto del estrés de calor.

Otro factor importante que afectaría el IPPS es la eficiencia en la detección de celo. Se observa que establos con alta eficiencia en la detección de celo tendrían un menor IPPS.

Los animales paridos en verano tuvieron un mayor IPC a pesar de estar

ciclando regularmente, debido probablemente al estrés de calor (Trout *et al.*, 1998, Wolfenson *et al.*, 1995). Por otro lado, las vacas paridas en primavera tuvieron el IPPS más largo. Estas vacas tendrían que haber comenzado a presentar celo al inicio del verano, pero la baja eficiencia en la detección de celo y la baja tasa de concepción en esa época (estrés de calor), les impidió quedar preñadas. Estas vacas serían normalmente las vacas problemas del hato.

La baja tasa de concepción durante el estrés de calor (Hansen, 1997) es explicada por un patrón irregular de secreción de estradiol o temperatura uterina elevada que causa mortalidad embrionaria temprana (Ealy *et al.*, 1994). En el presente estudio, se obtuvo una tasa de concepción de 40% durante el invierno en el Periodo 1 (Fig. 3), lo cual puede ser considerado normal en nuestro país; sin embargo las vacas de los grupos 1 y 3 debieron ser inseminadas con un HTI > 72 (27 - 32° C y 80% de humedad relativa), que es considerado dentro de los niveles de estrés de calor de la vaca lechera (Armstrong, 1994). Adicionalmente, en el Periodo 2, tanto la Tasa de Concepción Global y de Primer Servicio disminuyeron durante todo el año, debido a que hubo una elevación continua de la temperatura ambiental durante 1997 e inicios de 1998 por efecto del fenómeno de El Niño (Fig. 1).

Un alto porcentaje de inseminaciones realizadas en momentos inapropiados ocasionó una merma importante en la tasa de concepción. La ocurrencia de 2% de servicios realizados durante la fase luteal es similar a otros reportes (Heersche, 1994), pero un 9% de inseminaciones que no son seguidos de niveles de progesterona compatibles con CL en el día 10 postservicio es motivo de preocupación. Estos servicios fueron probablemente realizados en vacas en anestro, en vacas con quistes ováricos o en situaciones de celos anovulatorios. Es muy posible que esta situación fuera causada por un error en el manejo, especialmente en la primavera,

cuando los técnicos estarían urgidos de inseminar a las vacas para que queden gestantes antes de la llegada del verano, sin tener la certeza de que estén en celo.

Los resultados permiten recomendar dos esquemas de manejo reproductivo; uno para las paridas en invierno y otro para las vacas paridas en primavera y verano; y en donde las vacas paridas en primavera deben quedar gestantes lo más pronto posible para evitar que entren vacías al verano, cuando sería más difícil preñarlas.

Es importante reconocer que otros factores involucrados en la técnica de IA, y que fueron considerados en la encuesta, no influenciaron la tasa de concepción. No hubo diferencias significativas entre razas debido a que ambas provienen de climas templados, y por lo tanto, el efecto de la temperatura ambiental sería similar para ambas. La excepción fue el origen del semen, ya que el uso de semen local mermó la tasa de concepción, lo que sería explicado por una falta de control de calidad del semen vendido, así como del control sanitario de los reproductores.

Existen diferentes tecnologías para mejorar la baja tasa de concepción encontrada en el verano, así como para mejorar el manejo nutricional (Esslemont y Deeler, 1993), pero su aplicación debería ser recomendada después de una evaluación costo-beneficio. Sin embargo, el semen congelado local debe ser evaluado constantemente y analizado para el descarte de enfermedades infectocontagiosas como BVD (Arthur *et al.*, 1991).

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la contribución de ganaderos y personas que colaboraron en la colección de datos y muestras; al Organismo Internacional de Energía Atómi-

ca que apoyó económica y técnicamente el desarrollo del estudio; y al Dr. Enrique Pérez por su asesoría en el análisis estadístico.

#### LITERATURA CITADA

1. **Armstrong, D.V.** 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77: 2044-2050.
2. **Arthur, G.; D. Nakes; H. Pearson.** 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6ª ed. p 702. Ed. Interamericana. España.
3. **Confield, R.W.; W.R. Butler.** 1991. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early post partum dairy cows. *J. Anim. Sci.* 69: 740.
4. **Chemineau, P.** 1993. Medio ambiente y reproducción animal. *Revista Mundial de Zootecnia, FAO* 77: 2-14.
5. **Ealy, A.D.; C. Arechiga; D. Obray; C. Risco; P. Hansen.** 1994. Effectiveness of short term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 3601-3607.
6. **Esslemont, R.J.; E.J. Deeler.** 1993. The scope for raisings margins in dairy herds by improving fertility and health. *Br. Vet. J.* 149: 537-546.
7. **Ferguson, J.D.; D.T. Galligan; N. Thomsen.** 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77: 2695-2703.
8. **Gilad, E.; R. Median; A. Berman; Y. Graber; D. Wolfenson.** 1993. Effect of heat stress on tonic and Gn-RH-induced gonadotropin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *J. Reprod. Fertility* 99: 315-321.
9. **Hansen, P.J.** 1997. Effects of environment on bovine reproduction. En: *Current therapy in large animal theriogenology*. Vol I., W.B. Saunders Company. 478 p.

10. **Heersche, G. 1994.** Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *J. Dairy Sci.* 77: 2754-2760.
11. **Lucy M.C.; J. Beck; C.R. Staples; H.H. Head; R.L. De la Sota; W.W. Thatcher. 1992.** Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod. Nutr. Dev.* 32: 331-341.
12. **Nachreiner, R.F.; S.J. Oschmann; L.E. Edqvist; J.I. Richards. 1986.** Solid-phase radioimmunoassay (RIA) appropriated for use in developing countries. *Nuclear and Related techniques in Animal Production and Health (Proc. Symposium. Vienna, 1986) IAEA, Viena.* p 653-659.
13. **Schillo, K. 1992.** Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70: 1271-1282.
14. **Shearer, J.K.; D.K. Beede. 1990.** Thermoregulation and physiological responses of dairy cattle in hot weather. *Thermal stress. Part.1 Agri-Practice* 11: 5-17.
15. **Thun, R.; C. Kaufmann; H. Binder; M. Dobelli; H. Kundig; T. Scheurmann. 1996.** *Reprod. Dom. Anim.* 31: 571-574.
16. **Trout, J.P.; L.R. McDowell; P. Hansen. 1998.** Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.* 81: 1244-1250.
17. **Wolfenson, D.; W.W. Thatcher; L. Bandinga; J.D. Savio; R. Meidan; B.J. Lew; R. Braw-Tal; A. Berman. 1995.** Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52: 1106-1113.