

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**ESTACIONALIDAD, FERTILIDAD *IN VIVO* Y
CALIDAD DE EMBRIONES *IN VITRO* DE
HEMBRAS CRIOLLAS ROMOSINUANO Y
LECHERO TROPICAL**

FROYLAN ROSALES MARTÍNEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: **Estacionalidad, fertilidad *in vivo* y calidad de embriones *in vitro* de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical**, realizada por el alumno: Froylan Rosales Martínez, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR



CONSEJERO (A) _____
DR. CARLOS MIGUEL BECERRIL PÉREZ



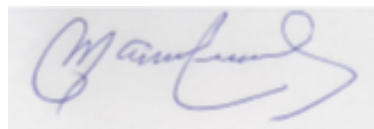
ASESOR (A) _____
DR. ADALBERTO ROSENDO PONCE



ASESOR (A) _____
DR. CÉSAR CORTEZ ROMERO



ASESOR (A) _____
DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ



ASESOR (A) _____
DR. JUAN MANUEL CUCA GARCÍA

ESTACIONALIDAD, FERTILIDAD *IN VIVO* Y CALIDAD DE EMBRIONES *IN VITRO* DE HEMBRAS CRIOLLAS ROMOSINUANO Y LECHERO TROPICAL

Froylan Rosales Martínez, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la temperatura máxima (Tmax) y la humedad relativa (HR) alta y de la estación del año en la fertilidad *in vivo* y la producción de embriones fertilizados *in vitro* de hembras criollas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT). Se realizaron tres estudios (dos retrospectivos y uno experimental); en el primero se utilizaron datos diarios [de 14 años (2000 a 2013)] de precipitación (PP), temperatura máxima (Tmax), media (Tmed) y mínima (Tmin), humedad relativa (RH) y velocidad del viento (VV) del centro de Veracruz y con los cuales se determinaron las estaciones de estudio. Además, se utilizaron 313 registros de inseminación artificial (IA) de 176 vaquillas LT, con los cuales se evaluó la gestación a primer servicio (GP) y la gestación global (GG); en el segundo se utilizaron 960 registros de IA de 172 vacas LT para evaluar el efecto del año y de las estaciones, determinadas en el primer estudio, en la gestación (GE), servicios por concepción (SC) y la fertilidad (FE); en el tercero se evaluó el efecto de las estaciones, determinadas previamente, en la producción de embriones *in vitro*. Se utilizaron 26 donadoras de RM y 29 de LT. Se realizó una sesión en cada estación de recolección de complejos cúmulos-ovocitos (COCs), por aspiración folicular guiada por ultrasonografía (OPU) y fertilización *in vitro* (FIV). Para analizar los datos se utilizaron modelos lineales generalizados. En el primer estudio, se determinaron tres estaciones climáticas, caliente-seca (CS), caliente-húmeda (CH) y fresca-seca (FS). La Tmax y HR afectaron la GP y GG siete días previos a la IA y siete días posteriores, pero no el día del servicio. Las probabilidades más altas de GP y GG se observaron en CH y FS y las más bajas en CS. En el segundo estudio, el año, el número de servicio y el número de parto (NP) afectaron la GE. Sin embargo, en SC y FE solo se observó efecto significativo del año, pero no de la estación, la Tmax, HR ni del NP. En el tercer estudio, la estación afectó la cantidad y calidad de los COCs recolectados y los embriones producidos *in vitro*. Las tasas más altas de COCs madurados *in vitro*, embriones divididos y blastocistos calidad 1 y totales se observaron en CH y FS y las más bajas en CS. De acuerdo a los resultados observados, las mejores estaciones para realizar IA en vaquillas LT y OPU-FIV en las vacas RM y LT son CH y FS.

Palabras clave Clima tropical. Inseminación artificial. Producción de embriones. Razas adaptadas

SEASONALITY, *IN VIVO* FERTILITY AND *IN VITRO* EMBRYO QUALITY OF ROMOSINUANO AND TROPICAL MILKING CRIOLLO FEMALES

Froylan Rosales Martínez, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of maximum temperature (Tmax) and high relative humidity (RH) and of the season of the year on *in vivo* fertility and the production of *in vitro* fertilized embryos of Romosinuano (RM) and Lechero Tropical (LT) criollo females. Three studies were conducted (two retrospective and one experimental); In the first, daily data [from 14 years (2000 to 2013)] of precipitation (PP), maximum temperature (Tmax), mean (Tmed) and minimum (Tmin), relative humidity (RH) and wind speed (WS) were used from the center of Veracruz and with which the study seasons were determined. In addition, 313 records of artificial insemination (AI) of 176 LT heifers were used, with which the first service pregnancy (GP) and overall pregnancy (GG) were evaluated; In the second, 960 AI records from 172 LT cows were used to evaluate the effect of the year and the seasons, determined in the first study, on gestation (GE), services by conception (SC) and fertility (FE); in the third, the effect of the seasons, previously determined, on the production of *in vitro* embryos was evaluated. 26 RM and 29 LT donors were used. A session was held at each collection season for cumulus-oocyte complexes (COCs), by follicular aspiration guided by ultrasound (OPU) and *in vitro* fertilization (IVF). Generalized linear models were used to analyze the data. In the first study, three climatic seasons were determined, hot-dry (HD), hot-humid (HH) and fresh-dry (FD). Tmax and RH affected GP and GG seven days before AI and seven days after, but not the day of service. The highest probabilities of GP and GG were observed in HH and FD and the lowest in HD. In the second study, the year, the service number and the parity number (NP) affected GE. However, in SC and FE, a significant effect was only observed for the year, but not for the season, Tmax, RH or NP. In the third study, the season affected the quantity and quality of the collected COCs and the embryos produced *in vitro*. The highest rates of *in vitro* matured COCs, cleavage embryos and quality 1 and total blastocysts were observed in HH and FD and the lowest in HD. According to the observed results, the best seasons to perform AI in LT heifers and OPU-FIV in RM and LT cows are HH and FD.

Keywords Adapted breeds. Artificial insemination. Embryo production. Tropical climate

Dedico esta tesis a mi familia, mi esposa Citlallis Tejada Pablo y mi hijo Ithan Froylan Rosales Tejada, por toda la paciencia, el amor y el apoyo incondicional que me brindaron durante todo el tiempo que duró el programa doctoral.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que nos permite cumplir nuestros propósitos y alcanzar nuestras metas en la vida.

A mis padres, Luisa Martínez Cruz y Aquilino Rosales Allende, por haberme inculcado valores y motivarme siempre a seguir adelante.

A mis hermanas y hermano, Maribel, Verónica, Columba y Rolando, por apoyarme siempre que he necesitado de ellos.

A los Dres. Carlos Miguel Becerril Pérez y Adalberto Rosendo Ponce, por su amistad, su invaluable asesoría, por estar siempre pendiente en mi formación de postgrado y por todo el esfuerzo que han realizado para que mis estudios de doctorado culminaran con éxito. Además de un agradecimiento especial, ya que gracias a la disposición de las hembras Romosinuano y Lechero Tropical de su propiedad, utilizadas durante la investigación de OPU-FIV, se concluyó con éxito el tercer estudio de esta tesis.

A los Dres. César Cortez Romero, Jaime Gallegos Sánchez y Juan Manuel Cuca García, por el apoyo que siempre me brindaron durante mi preparación académica.

Al Dr. Salvador Romo García y la MC Fátima B. González Silvestry, por su apoyo incondicional, durante la parte técnica de las biotecnologías reproductivas, en el tiempo de realización de mi estancia de investigación nacional, en el Laboratorio de Reproducción 803, de la FES Cuautitlán UNAM.

A la Dra. Fabiola Freitas de Paula-Lopes y el Dr. Marcelo Tigre Moura, y las estudiantes, **Gláucia, Verónica, Júlia, Caroline, Mariah y Thays**, del Laboratorio 28 de la Universidad Federal de Sao Paulo, ElDorado, Diadema, Brasil, que me brindaron todo su apoyo para aprender las técnicas de FIV y determinación de shock calórico en el experimento realizado, durante el periodo que duró mi estancia.

A los MC, Luis Moisés Morales Crispín y Adrián Sánchez Gómez, por su valiosa amistad y su apoyo durante toda la parte de campo.

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron a que concluyera con éxito esta meta en mi vida.

Al campus Montecillo del Colegio de Postgraduados (CP), por abrirme las puertas y brindarme todas las facilidades para la culminación de mi postgrado.

Al campus Veracruz de CP, por los animales, instalaciones y praderas usadas durante la fase experimental.

A todos los integrantes de la empresa Reproducción Genética Avanzada (RGA), por su invaluable colaboración durante la fase experimental, aspiración folicular y producción de embriones *in vitro*, su apoyo fue fundamental en la realización de esta investigación.

Agradecimiento especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), que gracias a la beca de doctorado (número de becario: 243554), hizo posible dedicarme al cien por ciento a mi formación académica.

**Iniciar con ilusión
por el mundo de la ciencia
todo hecho con conciencia
y total admiración
por la investigación
lo digo con mucho agrado
que el concluir un postgrado
es cosa de mucho orgullo
que causa un gran barullo
para cualquier egresado**

CONTENIDO

	PÁGINA
RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCION GENERAL	1
Objetivos.....	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis	4
Hipótesis general.....	4
Hipótesis específicas	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Características de los elementos del clima de la zona intertropical	5
Características del clima de la Región Sotavento de Veracruz, México	5
<i>La ganadería bovina en la Región Sotavento del estado de Veracruz.....</i>	7
Efecto del clima cálido tropical en la fertilidad de los bovinos.....	8
<i>Efecto del estrés calórico en la fisiología reproductiva de la hembra</i>	8
<i>Efecto del estrés calórico en el folículo</i>	9
<i>Efecto del estrés calórico en el complejo cumulus-ovocito</i>	10
<i>Efecto del estrés calórico en la fertilización.....</i>	11
<i>Efecto del estrés calórico en el desarrollo embrionario, implantación y mantenimiento de la gestación</i>	11
<i>Efecto del estrés calórico en la fertilidad de los sementales</i>	12
Origen, características e importancia de las razas bovinas criollas como recurso zoo genético.....	13
Los bovinos criollos de México.....	15
<i>La raza Lechero Tropical.....</i>	17
<i>La raza Romosinuano</i>	18
Estado actual de las biotecnologías reproductivas y su importancia como herramienta para el mejoramiento genético y el incremento de poblaciones bovinas pequeñas	19
La aspiración folicular y fertilización in vitro	20
Literatura citada.....	22
CHAPTER I. RELATION OF THE MAXIMUM TEMPERATURE AND RELATIVE HUMIDITY CLOSE TO THE INSEMINATION WITH THE TROPICAL MILKING CRIOLLO HEIFER 'S GESTATION IN THREE SEASONS	31

1.1. ABSTRACT	31
1.2. INTRODUCTION	31
1.3. MATERIALS AND METHODS	32
1.4. RESULTS	34
1.5. DISCUSSION.....	37
1.6. CONCLUSION	39
1.7. REFERENCES	40
CAPÍTULO II. ESTACIONALIDAD, TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA EN RELACIÓN AL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS CRIOLLAS LECHERO TROPICAL EN VERACRUZ, MÉXICO	
2.1. RESUMEN	45
2.2. INTRODUCCIÓN	45
2.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
2.4. RESULTADOS	48
2.5. DISCUSIÓN.....	50
2.6. CONCLUSIONES.....	52
2.7. REFERENCIAS	53
CAPÍTULO III. PRODUCCIÓN ESTACIONAL DE EMBRIONES <i>IN VITRO</i> DE HEMBRAS CRIOLLAS ROMOSINUANO Y LECHERO TROPICAL EN VERACRUZ, MÉXICO.....	
3.1. RESUMEN	57
3.2. INTRODUCCIÓN.....	57
3.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
3.4. RESULTADOS	61
3.5. DISCUSIÓN.....	65
3.6. CONCLUSIONES.....	70
3.7. REFERENCIAS	71
CONCLUSIONES	77

LISTA DE CUADROS

	PÁGINA
Table 1.1 Climatological variables by season in Veracruz, Mexico, in relation to Tropical Milking criollo reproduction heifers.....	34
Table 1.2 Effect of the maximum temperatura and relative humidity of previous seven days, the service day and posterior seven days the artificial insemination (AI) on gestation at first service for Tropical Milking criollo heifers	35
Table 1.3 Overall pregnancy probability from first to fourth artificial insemination (AI) of Tropical Milking criollo heifers in three seasons.....	37
Cuadro 2.1 Servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) de vacas criollas Lechero Tropical en Veracruz, México durante catorce años.....	48
Cuadro 2.2 Servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) de vacas Lechero Tropical en tres estaciones del año.....	49
Cuadro 2.3 Servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) del primero al séptimo parto de vacas Lechero Tropical en Veracruz, México.....	49
Cuadro 3.1 Cantidad y calidad de complejos cúmulos-ovocitos recolectados por aspiración folicular (OPU) en vacas criollas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT) en tres estaciones del año.....	61
Cuadro 3.2 Cantidad y calidad de embriones fertilizados <i>in vitro</i> (FIV) de vacas criollas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT) en tres estaciones del año...	62
Cuadro 3.3 Relación de la edad, el peso vivo y la condición corporal con la cantidad y calidad de complejos cúmulos-ovocitos recolectados por aspiración folicular (OPU) y embriones fertilizados <i>in vitro</i> (FIV) de vacas criollas ROMosinuano y Lechero Tropical en tres estaciones del año.....	63
Cuadro 3.4 Relación de las variables fisiológicas en la cantidad y calidad de complejos cúmulos-ovocitos recolectados por aspiración folicular (OPU) y embriones fertilizados <i>in vitro</i> (FIV) de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical en tres estaciones del año.....	64

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Imagen representativa de la zona intertropical del planeta.....	1
Figura 2. Clasificación climática para las regiones de México localizadas dentro de la zona intertropical del planeta.....	2
Figura 3. Climagrama del municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz....	6
Figura 4. Región Sotavento del estado de Veracruz, México.....	7
Figura 5. Representación de los primeros bovinos que arribaron al Nuevo Mundo, en el segundo viaje de Cristóbal Colón en 1493, provenientes de la Península Ibérica y las Islas Canarias.....	14
Figura 6. Número de embriones producidos in vitro por continente a) y producidos in vivo e in vitro a nivel mundial b) de los años 2000 a 2018.....	21
Figure 1.1. Service seasons for artificial insemination of Tropical Milking criollo heifers obtained in Veracruz Mexico.....	34
Figure 1.2. Relationship between the maximum temperatures (Tmax, °C) of previous seven days a) , and the relative humidity (RH, %) of seven posterior days b) the artificial insemination in three seasons and the pregnancy probability to first service for Tropical Milking criollo heifers.....	36
Figura 1.3. Gestation at first service a) and global gestation b) of artificial insemination of Tropical Milking criollo heifers during fourteen years and three years seasons.....	36

INTRODUCCION GENERAL

El territorio localizado entre los trópicos de Cáncer y de Capricornio, es conocido como la Región Intertropical (ITCZ) del planeta y comprende el 17% de la superficie terrestre (Fig. 1; Kang et al. 2018). Una de sus principales características es la incidencia vertical de los rayos solares dos veces al año, además, los días y las noches tienen periodos de duración similar durante todo el año, razón por la cual las temperaturas diurnas sobrepasan los 30 °C y las nocturnas pueden disminuir hasta los 15 °C. Sin embargo, la temperatura media del mes más frío es de 18 °C (Göltenboth y Erdelen 2006).

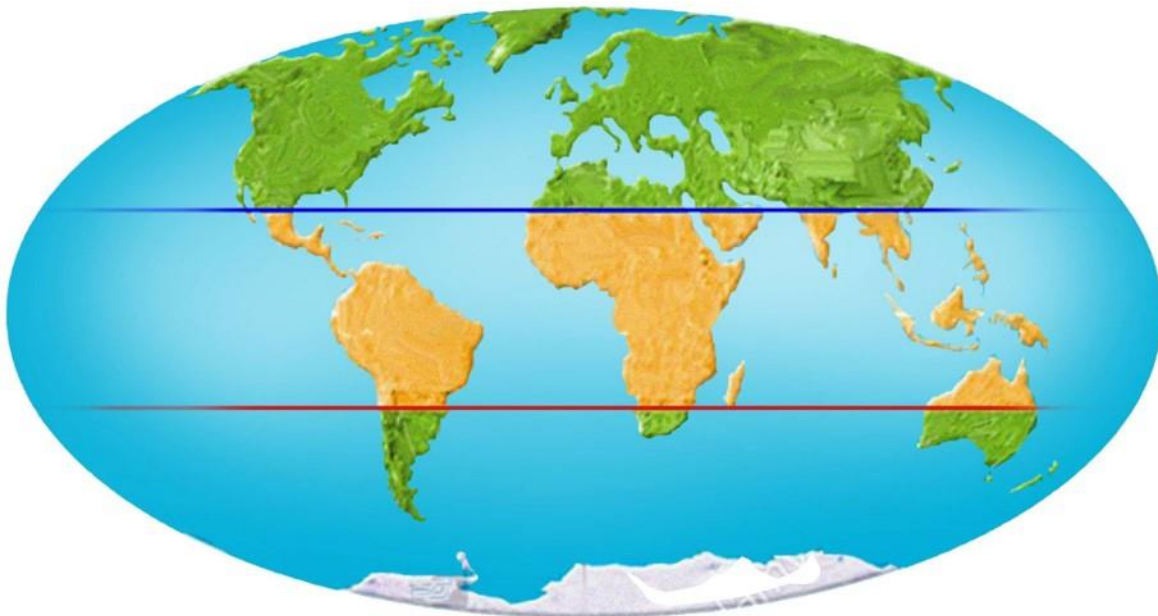


Fig. 1 Imagen representativa de la zona intertropical del planeta

En la ITCZ, es la lluvia, el elemento del clima que presenta la mayor variabilidad interanual, la cual da origen a los diferentes climas y microclimas de las diferentes aéreas geográficas de países ubicados dentro de esta región, en esta zona se presenta el 32% del total de la precipitación global (Kang et al. 2018).

Aunque se han determinado los climas para todas las regiones del mundo y dividido para muchas zonas en estaciones (primavera, verano, otoño e invierno), en los últimos años se ha observado una gran variabilidad interanual, producida en gran medida por los efectos del cambio climático (Trewin 2014). Los fenómenos meteorológicos son cada vez más impredecibles y las zonas más afectadas han sido las localizadas en la ITCZ, las precipitaciones en abundancia se concentran cada vez más en periodos de tiempo muy cortos lo cual provoca inundaciones en la temporada de lluvias, y sequías extremas en los meses de mayor radiación (Byrne et al. 2018).

Aproximadamente la mitad del territorio mexicano se encuentra localizado dentro de la ITCZ, los climas predominantes en esta zona se muestran en la Fig. 2.

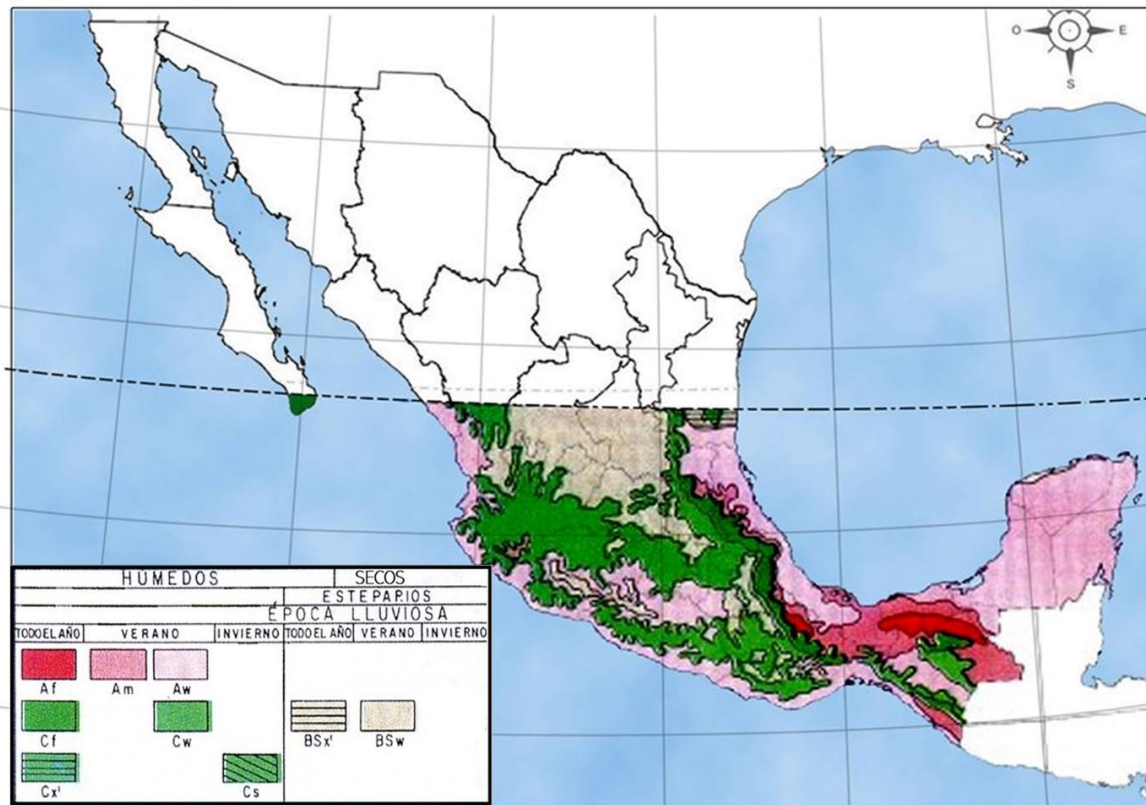


Fig. 2 Clasificación climática para las regiones de México localizadas dentro de la zona intertropical del planeta (Edición de imagen Rolando Rosales Martínez; Adaptado de García, 2004). Af: *cálido húmedo con lluvias todo el año*; Am: *cálido húmedo con lluvias en verano*; Aw: *cálido subhúmedo con lluvias en verano*; Cf: *templado húmedo con lluvias todo el año*; Cw: *templado húmedo con lluvias en verano*; BSw: *semiseco o estepario con lluvias en verano*; BSx': *semiseco o estepario con lluvias poco abundantes en todas las estaciones*

En México, la ganadería bovina de la ITCZ en los climas cálidos o calientes se caracteriza por su producción en base a pastoreo extensivo. El ganado de estos climas cálidos puede presentar índices productivos y reproductivos bajos comparados con los de los climas templados, en parte, atribuidos a las condiciones climatológicas adversas al ganado presentes en estos climas (Osorio-Arce y Segura-Correa 2002), los ganaderos han optado por el cruzamiento debido a las condiciones agrestes presentes en esta zona.

El uso de las biotecnologías reproductivas (BR) en la ITCZ de climas cálidos de México es escasa, similar a otros países en vías de desarrollo (Bin et al. 2011), lo cual se atribuye a los altos costos de su implementación que se generan por la dificultad para lograr el éxito en los programas de reproducción asistida (Pilling et al. 2007), los cuales se ven afectados por la

impredecible variabilidad climática de la ITCZ, ya que se ha observado que las altas temperaturas y humedades relativas pueden tener efectos negativos en la población folicular (Peralta-Torres et al. 2017a), el tamaño del folículo preovulatorio y la manifestación y duración de los estros (Wilson et al. 1998; Schüller et al. 2017), daños en el ovocito y en los primeros estadios de desarrollo embrionario (Hansen, 2019), con lo cual, disminuyen los porcentajes de gestación en los programas de IA (García-Ispierto et al. 2007) y la cantidad y calidad de embriones producidos *in vivo* e *in vitro* (Sakatani 2017).

En la Región del Sotavento del estado de Veracruz, México, se cuenta con poblaciones de bovinos criollos *Bos taurus*, de las razas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT), descendientes directos del ganado introducido al continente americano por los conquistadores castellanos en el siglo XV (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez 2015), la naturalización de las razas criollas, por más de 500 años a la ITCZ de climas cálidos de Latinoamérica, les han conferido características particulares que les permiten producir en las condiciones ambientales propias de esas regiones con alimentación en base a pastoreo de gramíneas tropicales (de Alba 2011). Estos genotipos pueden ser una alternativa de producción para la ganadería de esta región. Sin embargo, como en la mayoría de las razas criollas, sus poblaciones de animales puros son pequeñas (Lucero et al. 2010).

Las biotecnologías reproductivas se han usado para mejorar genéticamente los hatos de ganado bovino y para el incremento de poblaciones pequeñas y animales en peligro de extinción (Comizzoli et al. 2000). Sin embargo, los ganaderos de la Región del Sotavento se han hecho dependientes del germoplasma proveniente de los países del norte (sobre todo de Estados Unidos), con la intención de mejorar genéticamente sus hatos de ganado, más aun, el comportamiento productivo de estos genotipos en esta región dista mucho de ser la misma que en sus países de origen (Rege 1998; Ramírez-Valverde et al. 2014). Por lo cual, con el conocimiento de los elementos del clima en la Región Sotavento de Veracruz, se pueden agrupar estaciones climatológicas que permitirán el mayor éxito en los programas de IA y en la producción de embriones *in vitro* de razas de ganado RM y LT y de esta manera contribuir a la producción de alimentos de origen animal con las razas de ganado propias de la ITCZ de climas cálidos y dejar de depender de germoplasma de animales inadaptados, provenientes de climas templados.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura máxima y la humedad relativa alta y de la estación del año en la fertilidad *in vivo* y la producción de embriones fertilizados *in vitro* de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical.

Objetivos específicos

1. Determinar las estaciones del año de acuerdo a las características climatológicas de la Región del Sotavento de Veracruz.
2. Determinar el efecto de las estaciones del año en la gestación de vaquillas y vacas Lechero Tropical.
3. Conocer el efecto de las temperaturas máximas y la humedad relativa alta siete días anteriores, el día del servicio y siete posteriores a la IA en la gestación de vaquillas y vacas Lechero Tropical en las estaciones del año.
4. Evaluar las constantes fisiológicas de hembras Romosinuano y Lechero Tropical y su relación con la cantidad de folículos, calidad de ovocitos y su porcentaje de maduración *in vitro* en las estaciones del año.
5. Evaluar el efecto de las estaciones del año en la producción de embriones *in vitro* de hembras Romosinuano y Lechero Tropical.

Hipótesis

Hipótesis general

Las temperaturas máximas y humedades relativas altas de tres estaciones del año afectan la fertilidad *in vivo* y disminuyen la calidad y cantidad de embriones producidos *in vitro* de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical.

Hipótesis específicas

1. Las características climatológicas de la Región del Sotavento permiten diferenciar tres estaciones del año en diferente número y duración, que las cuatro convencionales.
2. Las estaciones más húmedas y frescas favorecen altos índices de gestación en las vaquillas y vacas Lechero Tropical.
3. Las temperaturas máximas y la humedad relativa alta de siete días anteriores, el día del servicio y siete posteriores a la IA afectan negativamente el porcentaje de gestación de vaquillas y vacas Lechero Tropical en cada una de las estaciones.
4. Las estaciones más húmedas y frescas favorecen las constantes fisiológicas observándose los niveles más bajos y las mayores cantidades de folículos, mejores calidades de ovocitos y los mayores porcentajes de maduración *in vitro*.

5. Las estaciones más húmedas y frescas permiten obtener mayores cantidades de embriones de mejor calidad.

REVISIÓN DE LITERATURA

Características de los elementos del clima de la zona intertropical

La ITCZ se extiende a lo largo del planeta formando un cinturón que abarca desde el norte de América del Sur, parte de Centroamérica y el centro de África. Dentro de la ITCZ los vientos alisios que emanan de ambos hemisferios convergen en la troposfera inferior, lo cual genera el suministro de humedad característico de esta zona. Los vientos se caracterizan por su discontinuidad en la superficie con convergencia de velocidad horizontal y movimiento ascendente a escala global (Iyengar et al. 2001). La convergencia de los vientos alisios entre hemisferios conduce a fuertes sistemas de nubes convectivas y por lo tanto precipitaciones abundantes e intenso calor (Hu et al. 2007). En la ITCZ, la incidencia de los rayos solares se presenta de manera vertical dos veces al año y las temperaturas diurnas y nocturnas sobrepasan los 30 °C y los 15 °C, respectivamente (Göltenboth y Erdelen 2006).

La precipitación en abundancia es una característica particular de la ITCZ, en esta región se presenta el 32% de la precipitación global (Kang et al. 2018). Sin embargo, las precipitaciones se agrupan con mucha intensidad en algunas regiones y en periodos cortos de tiempo, resultando en grandes periodos de sequía en algunas regiones e inundaciones en otras. En años recientes, se ha observado una intensa variación en los climas de la ITCZ, lo que provoca variaciones en algunos fenómenos como es el caso del fenómeno de EL Niño, que manifiesta variada frecuencia y diversas características en todo el fenómeno (Yeh et al. 2009). Además, la presencia de huracanes es cada vez más constante (Van Hengstum et al. 2016), lo que se atribuye, entre otras cosas, al cambio climático. Aunque la variación en el clima es una característica de la ITCZ, se presenta de manera diferente para cada una de las regiones, por lo cual es necesario realizar estudios para conocer el cambio actual en diferentes territorios de la ITCZ (Byrne et al. 2018).

Características del clima de la Región Sotavento de Veracruz, México

El estado de Veracruz se encuentra localizado dentro de la ITCZ, los climas característicos se clasifican como: Am y Aw, cálido húmedo y cálido subhúmedo con lluvias en verano (García 2004), siendo el Aw el existente en la Región del Sotavento, que significa “lugar donde azotan los vientos”. El clima de la zona es muy variable durante todo el año, las temperaturas más bajas se observan desde noviembre a febrero, con temperaturas mínimas cercanas a los 15 °C y las más altas en los meses de marzo a octubre, con temperaturas máximas cercanas a los 33

°C. La precipitación en esta región varía, de noviembre a abril se presentan promedios menores a 50 mm anuales y en los meses de mayo a octubre la precipitación más abundante por arriba de los 300 mm (SMN 2020). En la Fig. 3 se muestran la temperatura máxima, media y mínima, al igual que la precipitación en un climograma del municipio de Manlio Fabio Altamirano, uno de los 12 municipios que conforman la Región del Sotavento (Fig. 4).

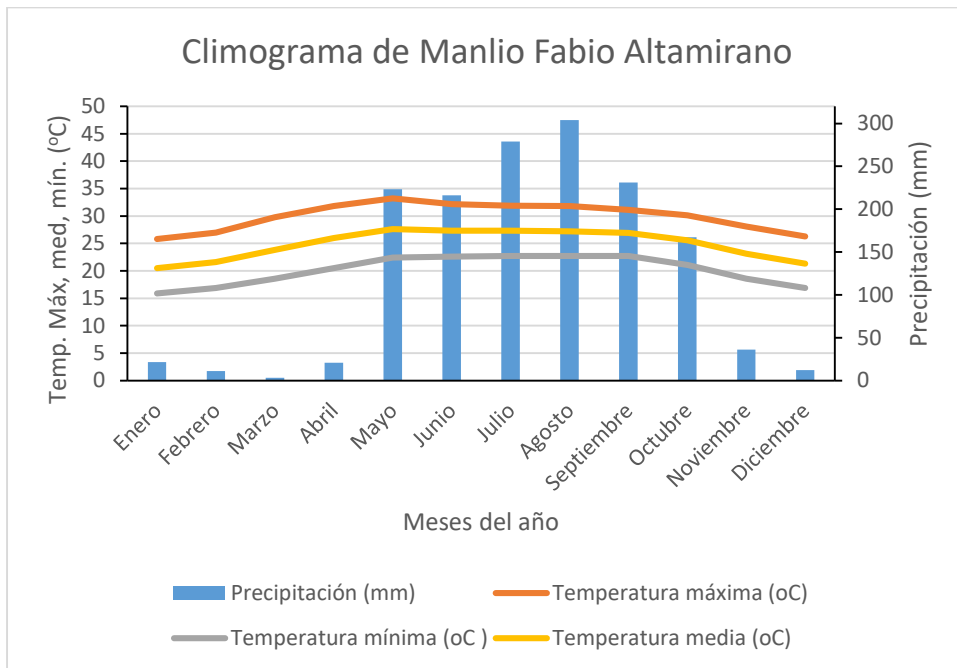


Fig. 2 Climograma del municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz (datos tomados de SMN, 2020)

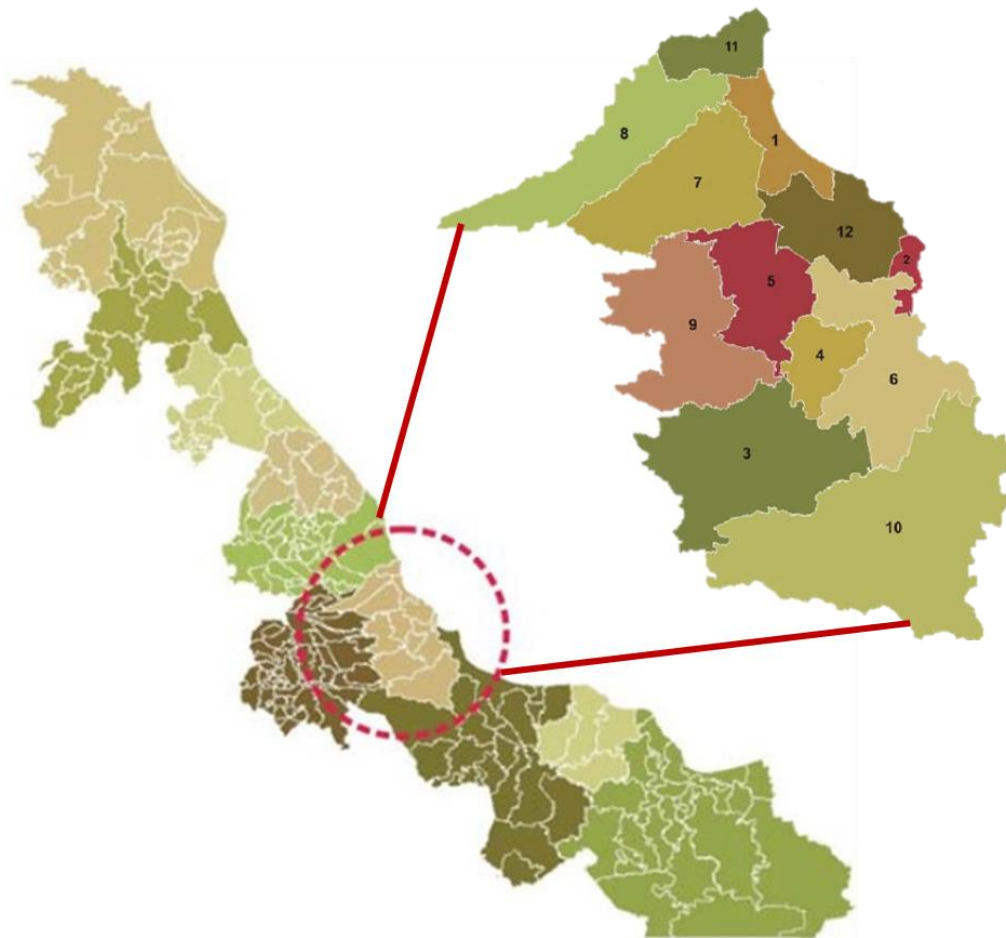


Fig. 3 Región Sotavento del estado de Veracruz, México (Adaptado de GOBVER, 2011)

1 = La Antigua; 2 = Boca del Río; 3 = Cotaxtla; 4 = Jamapa; 5 = Manlio Fabio Altamirano; 6 = Medellín; 7 = Paso de Ovejas; 8 = Puente Nacional; 9 = Soledad de Doblado; 10 = Tlalixcoyan; 11 = Úrsulo Galván; 12 = Veracruz.

Aunque el periodo de lluvias inicia en los últimos días de mayo y termina en octubre, desde la tercera semana de julio hasta la cuarta semana de agosto se presenta un periodo de sequía llamado “*canícula*”, que se caracteriza por temperaturas medias que alcanzan los 25 °C (Peralta-Hernández et al. 2008), durante este periodo la precipitación se ve reducida hasta en un 40% (Small 2007).

Otra característica del clima en la Región Sotavento, es la llegada, en el mes de octubre, de masas de aire frío, en ocasiones acompañadas de precipitaciones, llamadas “*nortes*”, las cuales hacen descender la temperatura durante varios días (Zavala-Hidalgo et al. 2014).

La ganadería bovina en la Región Sotavento del estado de Veracruz

La ganadería bovina de la Región Sotavento en el estado de Veracruz, al igual que los bovinos de climas cálidos tropicales del resto de América Latina, se caracteriza por ser de

bovinos mestizos de razas *Bos indicus* x *Bos taurus*, provenientes de regiones de climas templados (Absalón-Medina et al. 2012), los ganaderos han optado por estos cruzamientos para la producción de leche y carne, debido a la poca capacidad de adaptación de las razas exóticas especializadas a las condiciones adversas de la región. La alimentación de estos genotipos se basa en el pastoreo de gramíneas nativas e introducidas, la duración de su lactancia es de 270 días, con medias menores de 10 kg d⁻¹, el ordeño de las vacas se lleva a cabo con apoyo del becerro, debido a la dificultad del descenso de la leche (Absalón-Medina et al. 2012), la producción de carne se sustenta por la venta de becerros destetados y vacas de desecho (Urdaneta 2009). La ganancia de peso de los becerros se caracteriza por ser muy baja, los cuales se destetan con pesos promedio de 137 kg, con una ganancia diaria de solo 371 g (Salamanca et al. 2011).

La reproducción de los bovinos en la zona se caracteriza por presentar, en las vaquillas, una edad al primer servicio de 31.5 meses (González-Stagnaro et al. 2007), con intervalos entre partos de 488 días (Absalón-Medina et al. 2012). La información genética de estos genotipos es escasa y resulta muy difícil mejorar mediante selección genética debido a la multitud de razas utilizadas en los cruzamientos. Sin embargo, desde el año 2000 se introdujo a la Región Sotavento un hato de ganado criollo LT, formado en México en la década de los años 60, con mayor influencia del ganado Reyna (adaptado a los climas cálidos de la ITCZ), que fue ubicado en el campus Veracruz del Colegio de Postgraduados (CP), a partir de su introducción, se han realizado diferentes investigaciones para conocer la capacidad productiva y reproductiva de la raza y además ha servido de base para el inicio de otros hatos de ganado LT en esta región en manos de ganaderos particulares (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez, 2015). De igual forma, en años recientes se introdujo a la región un lote de ganado Romosinuano, que ha servido de base para el inicio de una ganadería con esta raza especializada en producción de carne, con características que lo hacen adaptado a los climas cálidos de la Región Sotavento.

Efecto del clima cálido tropical en la fertilidad de los bovinos

Efecto del estrés calórico en la fisiología reproductiva de la hembra

Los bovinos, al igual que la mayoría de los mamíferos mantienen su temperatura corporal en un rango de 38.3 – 38.8 °C. Sin embargo, las condiciones climáticas de altas temperaturas y humedades relativas alteran la fisiología de las hembras (Asres y Amha 2014). En animales mantenidos en condiciones de estrés calórico, se presenta un aumento en la frecuencia respiratoria, temperatura rectal y en el ritmo cardiaco (Calderaro et al. 2016), como resultado

del incremento en la temperatura corporal y el intento del animal por expulsar el calor, si la temperatura corporal continúa siendo alta, el estrés causado en el animal trae consigo un aumento en la secreción de la hormona adrenocorticotrópica y el cortisol (Bova et al. 2014), con lo cual se reduce la liberación de estradiol, hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), entre otras (Khodaei-Motlagh et al. 2011).

Se ha observado que el estrés calórico provoca una disminución en las concentraciones de hormona luteotrópica (LH), la amplitud en los pulsos se ven reducidos (Gilad et al. 1993), al igual que su frecuencia (Wise et al. 1988). Por otro lado, los estudios relativos al efecto del estrés calóricos en los niveles de progesterona (P_4) han sido controversiales. Wilson et al. (1998b) en vacas Holstein de EU, evaluaron el efecto del calor en la secreción de P_4 y observaron concentraciones similares de 4.7 y 4.8 ng/ml en vacas mantenidas en temperaturas de 19 y 39 °C durante todo un ciclo estral. Trout et al. (1998) en vacas Holstein de Florida EU, observaron diferencias de 11 a 15 ng/ml en los animales mantenidos en temperaturas de 24 y 40 °C durante un ciclo estral. Por otro lado, Howell et al. (1994) en vacas Holstein de California EU mantenidas en temperaturas de 31.1 ± 0.3 y 21.2 ± 0.9 °C, observaron que los niveles de P_4 disminuyeron durante el verano en relación a los observados en primavera (4.8 ± 0.9 y 7.4 ± 0.9).

Efecto del estrés calórico en el folículo

La foliculogénesis en los mamíferos inicia en la etapa fetal con la formación de los folículos primordiales (Garverick, et al. 2010). El proceso de selección de folículos y el desarrollo de la dominancia dependen de una actividad coordinada de las gonadotropinas, hormonas esteroides y factores intraováricos. Se han observado 143 grupos de proteínas en el líquido folicular, las cuales van cambiando de acuerdo al grado de desarrollo de los folículos (de Andrade et al. 2017), además, el líquido folicular interviene en importantes procesos fisiológicos, durante la ovulación proporciona un medio para transportar los ovocitos al estigma y después al oviducto, de igual forma sirve como medio de transporte de nutrientes al ovocito (Tripathi et al. 2015). Se ha observado que el estrés calórico, que incluye el efecto de las temperaturas y humedades relativas altas, en bovinos afecta las vías de señalización en las células de la granulosa (Vanselow et al. 2016), y en ocasiones reduce la concentración de estradiol sérico y provoca un aumento en la actividad de la caspasa 3, generando apoptosis celular (Li *et al.*, 2016; Li et al. 2016). Zeebaree et al. (2018) en células de la granulosa de folículos bovinos observaron que la exposición de las mismas a temperaturas de 37.5 °C por 48 h, provocaron una disminución de 6 a 4.5×10^5 células viables. Por otro lado, el estrés por calor durante el periodo

de dominancia reduce el crecimiento del folículo preovulatorio. Wilson et al. (1998) observaron en vaquillas Holstein de Estados Unidos, sometidas a temperaturas medias de 32.2 °C, un tamaño en el folículo preovulatorio de 12.4 ± 0.7 mm en comparación a los 15.4 ± 0.7 mm alcanzados por aquellas mantenidas a 21 °C.

Efecto del estrés calórico en el complejo cumulus-ovocito

Las células del cumulus juegan un papel importante durante la maduración y desarrollo del ovocito, ya que influyen en el aporte de nutrientes y mensajes moleculares para su correcto desarrollo (Kidder et al. 2010). La presencia y maduración de las células del cumulus es esencial para que los ovocitos continúen su desarrollo a metafase II y se presenta como respuesta a una oleada de gonadotropinas en vivo y se caracteriza por la expansión de la vestimenta del cumulus y la extracción del primer cuerpo polar (Rispoli et al. 2013). Las células del cumulus están principalmente influenciadas por su asociación cercana con el ovocito, el cual puede amortiguar potentemente los efectos continuos de la FSH para mantener las células diferenciadas (Sánchez y Smith 2012). Sin embargo, factores externos como la temperatura y humedad relativa en la hembra pueden generar estrés y a medida que este se incrementa se presenta un aumento en el cortisol que genera una pobre maduración de los ovocitos (Paes et al. 2016; Mahdy et al. 2018) y provoca alineaciones cromosómicas aberrantes en los usos meióticos (Gharibzadeh et al. 2014). Una parte vital de la fisiología celular, es detectar y responder al estrés exógeno, por lo que cualquier cambio puede alterar el procesamiento de proteínas (Latham 2015). Se ha observado que en ovocitos sometidos a estrés por calor ocurren cambios en el núcleo y en el citoplasma, lo cual explica por qué los ovocitos maduros son susceptibles a los efectos directos de la elevada temperatura de las hembras (Rispoli et al. 2011), por lo que a medida que el estrés calórico se incrementa, la maduración y la activación disminuye (Jun-Zuo et al. 2009).

En estudios recientes se observó, que el estrés por calor durante la maduración del ovocito se asocia con una reducción en los eventos citoplasmáticos y el aumento en la apoptosis en las células del cumulus (Ahmed et al. 2017) y provoca cambios a nivel de transcriptomas (Rispoli et al. 2013), lo que disminuye la correcta expansión de las células, necesarias para un reordenamiento extenso del citoesqueleto a través del ensamblaje de microfilamentos de actina y la inducción de la síntesis de ácido hialurónico que transforma las células en una masa mucho mayor de células mucificadas, esta expresión es necesaria para la extrusión óptima de la masa celular de los ovocitos (Kidder et al. 2010). Se ha observado que una alta densidad de células apoptóticas en el cumulus disminuye el porcentaje de fertilización del ovocito (Lourenco et al.

2014). De igual forma el estrés por calor provoca en el ovocito un aumento en el número de especies reactivas de oxígeno (ERO) mitocondriales y disminuye su cantidad en el citoplasma, lo cual repercute en el correcto funcionamiento de la mitocondria (Payton et al. 2018).

Peralta-Torres et al. (2017b) en vacas *Bos indicus* de México, observaron que en la época de seca con temperaturas de 30.1 °C y humedad relativa de 68 % la maduración de los ovocitos in vitro se redujo un 9 %.

Efecto del estrés calórico en la fertilización

La fertilización en los animales con reproducción sexual, es un proceso indispensable para que las células femeninas y masculinas generen un cigoto que al dividir sus células se convertirá en un embrión (Klinovska et al. 2014). Tanto el espermatozoide como el ovocito necesitan realizar un recorrido en el tracto reproductivo de la hembra para concluir la fecundación (Ikawa et al. 2010; Ezzati et al. 2014), por lo cual ambas células deben estar en buen estado para cumplir con su propósito (Inoue et al. 2010).

Se ha observado que el estrés por calor afecta la calidad de los ovocitos y los espermatozoides (dos Santos et al. 2016; Paes et al. 2016). En los toros, la temperatura testicular debe mantenerse 5 °C por debajo de la temperatura corporal, por lo cual incrementos en la misma generan daños en la membrana acrosomal (dos Santos et al. 2016).

Se ha observado que las altas temperaturas y humedades relativas provocan un aumento en las temperaturas corporal y vaginal de vacas lecheras (Nabenishi et al. 2011), por lo cual, al momento de la IA o la cópula pueden reducir la viabilidad y motilidad de los espermatozoides en el tracto reproductivo, lo que induce bajos porcentajes de gestación (Monterroso et al. 1995).

Efecto del estrés calórico en el desarrollo embrionario, implantación y mantenimiento de la gestación

Durante los primeros días de desarrollo (1-3), los embriones son altamente sensibles al incremento de temperatura, siendo en esta fase donde se presentan las mayores pérdidas por reabsorción embrionaria, atribuidas a una mala comunicación entre el blastocisto y el endometrio materno antes del reconocimiento (Ayobami 2017).

Se ha observado que el estrés por calor durante la etapa de cigoto y en el embrión de dos células, repercute en un menor número de células al alcanzar la etapa de blastocisto, la razón por la cual los cigotos son susceptibles al estrés por calor se debe a que la transcripción es muy limitada en esta etapa (Sakatani et al. 2012), se reduce la síntesis de proteínas, se inchan las mitocondrias y se presentan cambios en el citoesqueleto, caracterizado por el movimiento de los organelos hacia el centro del blastómero. Además, el factor de crecimiento insulínico tipo

1 (IGF-1, por sus siglas en inglés) no protege a los cigotos ni embriones de 2 células del shock por calor, debido a que el impacto es demasiado grande para que el IGF-1 lo supere en embriones de esa edad (Bonilla et al. 2011). Sin embargo, se ha observado que a medida que avanza la edad del embrión, este se vuelve más resistente al estrés calórico, en la etapa de mórula (día 5) presenta una gran resistencia debida a la activación del genoma embrionario (Hansen 2013) y se activan las proteínas de shock calórico (Sakatani et al. 2013). Silva et al. (2013) en genotipos bovinos *Bos taurus* y *Bos indicus*, observaron que el estrés por calor disminuyó el número de células en los embriones en etapa de blastocisto, de igual forma, observaron un mayor número de células apoptóticas en los embriones sometidos a estrés calórico *in vitro*.

Una vez fertilizado el ovocito y después de haber pasado por las diferentes etapas de división, eclosión y alargamiento del concepto tiene lugar la implantación, la cual consta de tres etapas: la aposición, en la cual el blastocisto hace contacto con el sitio de implantación en el endometrio; la adhesión, en la cual las células trofoblasticas del blastocisto se adhieren al epitelio endometrial receptor; la invasión, en la cual las células trofoblasticas invasivas atraviesan la membrana basal epitelial endometrial e invaden el estroma endometrial (Bajaj y Sharma 2011; Su-Mi y Jong-Soo 2017).

Aunque los mayores porcentajes de pérdida embrionaria se presentan durante el desarrollo del embrión, se ha observado que el estrés por calor puede generar pérdidas durante la implantación, si no se produce el reconocimiento materno después de la concepción, el ciclo estral se reinicia como si no hubiera existido fecundación (Wiltbank et al. 2016), por lo cual la implantación embrionaria sigue siendo un paso limitante en el éxito de programas de reproducción asistida, como la fertilización *in vitro* y la transferencia de embriones, así como la reproducción *in vivo* de los mamíferos (Su-Mi y Jong-Soo 2017).

Efecto del estrés calórico en la fertilidad de los sementales

Uno de los aspectos de mayor importancia en una empresa ganadera, es la fertilidad de los sementales, debido al número de crías que se obtienen de ellos por empadres o por IA. Sin embargo, se ha observado que los sementales mantenidos en condiciones de estrés por calor se agotan tanto física como fisiológicamente y presentan una reducción en su comportamiento reproductivo, la libido disminuye dando como resultado un aumento en el tiempo de reacción, generando mayores tiempos en la eyaculación (Mandal et al. 2000).

La temperatura de los testículos es regulada por el plexo pampiniforme en donde se lleva a cabo el intercambio de calor a contracorriente entre la sangre arterial entrante y la sangre

venosa saliente, la sangre entrante se encuentra a temperaturas más elevadas en comparación con la sangre de las venas de salida, por lo tanto, en condiciones normales los toros mantienen la temperatura testicular entre 4-5 °C por debajo de la temperatura corporal (Ahmad et al. 2018).

La hipertermia en los toros de regiones de clima templado causa aumentos de temperatura en el escroto, se ha observado que en toros de razas cárnicas de clima fríos un Índice de Temperatura y Humedad (ITH) de 83 en el verano y 69 en invierno provocaron una temperatura de 32.6 °C y 30.3 °C en la temperatura del polo proximal y el polo distal en comparación a los 28.3 y 23.7 °C observados en invierno (Oliveira et al. 2014). Estos aumentos de temperatura escrotal afectan la espermatogénesis, la cual tiene una duración aproximada de 61 días, desde la formación de la espermatogonia hasta la elongación de las espermátidas (Staub y Johnson, 2018). Además, el estrés calórico causa severos daños en la conformación de la cromatina y anomalías espermáticas (Bozlu et al. 2018). En sementales de razas cárnicas de clima templado expuestos a ITH máximos de 89.92 en verano y mínimos de 58.6 en primavera, se observó un deterioro significativo en la calidad espermática, la integridad del acrosoma se redujo 25%, la motilidad casi un 40%, la concentración espermática 40% y los espermatozoides anormales aumentaron más del 20% (Chen et al. 2016). De igual forma, se han observado cambios estructurales en las mitocondrias, incluyendo desorientación, hinchazón y algunas estructuras vacuolares en los espermatozoides (Gong et al. 2017).

Pese a todos los daños observados por el estrés calórico en los sementales de clima cálido, Villatoro et al. (2016) evaluaron en dos épocas del año (Caliente y Fresca) las características seminales de toros de la raza LT y observaron una mayor motilidad individual y masal y una mayor cantidad de células espermáticas normales en la época caliente, pudiendo atribuirse al grado de naturalización de este genotipo a las condiciones calientes tropicales.

Origen, características e importancia de las razas bovinas criollas como recurso zoo genético

Los primeros bovinos fueron introducidos al continente americano por Cristóbal Colón en su segundo viaje en el año 1493, estos animales provenían de la Península Ibérica y las islas Canarias (Perezgrovas 2015), y desembarcaron en la isla que hoy forman la República Dominicana y Haití y que a su arribo nombraron La Española (Fig. 5).



Fig. 4 Representación de los primeros bovinos que arribaron al Nuevo Mundo, en el segundo viaje de Cristóbal Colón en 1493, provenientes de la Península Ibérica y las Islas Canarias (Edición de imagen, Rolando Rosales Martínez)

En los años presentes de la introducción del ganado bovino al Nuevo Mundo, no existían las razas como son conocidas en la actualidad, en estos años aún no existía el concepto de raza, el cual fue adquirido en el año 1822 al inaugurar el libro genealógico de la raza Shorthorn en Inglaterra (el Coates Herd Book), el primer libro de ganado bovino que ha perdurado hasta el día de hoy (Feliuss et al. 2014).

La rápida adaptación de los bovinos criollos a las condiciones de La Española, les permitió multiplicarse en gran número, iniciando así su introducción al resto del continente americano, encontrándose bovinos criollos desde Sudamérica hasta los Estados Unidos (de Alba 2011).

Debido al aislamiento geográfico, por más de 500 años en las diferentes áreas geográficas de América, estos bovinos generaron características propias que los definieron como razas. Actualmente existen 33 razas de bovinos criollos de las cuales ocho poseen un hatillo nacional o estatal oficial; seis poseen una asociación de criadores que expide certificados individuales;

cuatro realizan evaluaciones genéticas de productividad; la gran mayoría se encuentran en hatos aislados con un número limitado de animales y en peligro de extinción (de Alba 2011).

Los bovinos criollos comparten características similares, producto de años de naturalización a los ambientes agrestes, entre las que se encuentran: la mansedumbre natural; el predominio natural de una sola capa de pelo que va del color amarillo claro al rojo cereza, excepto en la raza Blanco Oreginegro, la criolla de Argentina, Uruguay, la criolla Lageana y algunas criollas de México; cabeza con cuernos delgados y afilados, excepto en el Romosinuano, el Mocho Nacional y el Caracú; fertilidad, habilidad materna y longevidad; piel pigmentada y ombligo corto; desprendimiento alto de la cola; partos normales y terneros fuertes al nacimiento; toros sexualmente activos durante todo el año; alto vigor híbrido en cruces con razas cebuinas; tolerancia a parásitos internos y externos; producción de leche y carne en base a pastoreo de pastos nativos (Primo 1992; de Alba 2011).

En años cercanos a su introducción, los bovinos criollos fueron muy abundantes. Sin embargo, con la introducción de los genotipos *Bos indicus* y recientemente los *Bos taurus* alto productores de regiones templadas, sus poblaciones disminuyeron drásticamente, en muchas razas llegando incluso a estar al borde de la extinción. En la actualidad, la demanda de productos derivados de las razas criollas nuevamente comienza a crecer, ya que ha surgido el interés por la calidad de los productos que ofrecen estos genotipos, ejemplos de ello es la demanda de bovinos criollos Rarámuri del estado de Chihuahua en México, que, aunque desde hace muchos años se exportaban becerros para suertes de rodeo a Estados Unidos (Anderson et al. 2015), hoy en día estos genotipos son muy cotizados por la calidad de su carne (Morales 2018).

Por otro lado, el cambio climático ha provocado un incremento en las temperaturas, escases de forraje y agua y consecuentemente aumento de enfermedades en las poblaciones bovinas, afectando en su mayoría a las poblaciones bovinas introducidas y no adaptadas, en este contexto las características de adaptación de los bovinos criollos, los posicionan como un recurso zoo genético que genera garantías productivas y económicas a los productores frente a estos cambios de tipo ambiental.

Los bovinos criollos de México

Los primeros bovinos que llegaron a México, arribaron a Veracruz provenientes de Cuba, después de la caída de México-Tenochtitlan en 1521 (Perezgrovas 2015), estos animales tenían las características de aquellos primeros bovinos introducidos a La Española. A los escasos 20

años después de su introducción, los bovinos se multiplicaron rápidamente en el territorio mexicano, a tal grado que llegaron a existir animales sin dueño a los que se les llamó “*mesteños*” haciendo referencia a que estos animales eran reclamados por la mesta (organización originada en Europa e implementada en América para regular el tránsito del ganado; de Alba 2011).

Con el paso de los años, los bovinos se multiplicaron en las diferentes regiones geográficas de México, adquiriendo características raciales propias, conservando la rusticidad y tolerancia a endo y ectoparásitos que caracteriza a los criollos. En Baja California Sur se desarrollaron los bovinos Chinampos, también conocidos como Frijolillos, adaptados a los climas áridos. En la Sierra Madre Occidental de México, especialmente en Jalisco y Nayarit fue donde ha prevalecido el ganado criollo del Nayar, en manos de indígenas de la región. En el estado de Chihuahua destacan los criollos Rarámuri, animales caracterizados por su fertilidad y agilidad para desplazarse en terreno abrupto, razón por la cual son muy cotizados en los Estados Unidos para algunas suertes de rodeo. En la región del Golfo de México, se puede encontrar el llamado Criollo Mexicano, en los estados de Tamaulipas y el norte de Veracruz, estos animales presentan las características que identifican a los criollos, sin embargo, hacen falta más estudios para determinar su pureza. En Campeche, prevalecieron los criollos de Nunkini, animales criados por indígenas mayas, que los mantienen en pastoreo sin la obtención de datos productivos y reproductivos y en algunas temporadas alimentándose juntos con todos los animales de la comunidad (de Alba, 2011; Perezgrovas y de la Torre 2015).

En años recientes, se formó en México la raza LT, utilizando animales de la vertiente del Océano Pacífico y en su mayor influencia bovinos de la raza Reyna (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez 2015). De igual forma, en México tiene presencia el criollo RM, introducido a partir del ható formado en los Estados Unidos. Al igual que los criollos del resto de América, las poblaciones de México se han visto disminuidas, la introducción de razas alto productoras especializadas en producción de carne y leche, provenientes de clima templado, han generado la reducción de animales puros, debido a las cruces sin control. Actualmente en México, solo los criollos Rarámuri, los LT y los RM se encuentran registrados en Asociaciones que expiden registros genealógicos y en las cuales sus socios recaban datos productivos y reproductivos. Es importante generar conciencia y abrir los ojos para poder ver el importante aporte de los bovinos criollos de México, antes de que las modas terminen por extinguir estos valiosos recursos genéticos bovinos propios y naturalizados a las condiciones climatológicas de nuestro país.

La raza Lechero Tropical

La raza LT tuvo sus inicios en la época de los años 60s, periodo en el cual el Dr. Jorge de Alba junto con algunos de sus ex estudiantes interesados en estos animales importaron de Rivas Nicaragua 17 vacas y dos sementales, así como vacas Oaxaqueñas y una vaca del estado de Colima en México (vaca mexicana que realmente contribuyó a la formación del núcleo en México, al dejar descendencia). El hato fundador se mantuvo en el Apuro, un rancho de Tampico, Tamaulipas, y después en el respiro, en el norte de Veracruz, donde se incrementaron estos animales hasta el día en que decidieron distribuir el ganado a manos de diferentes ganaderos del país (de Alba 2011).

En el año 2000, el CP adquirió 63 hembras y 5 machos, además de 10 madres de toros que se ubicaron en el campus Veracruz, desde ese año hasta la fecha, el núcleo LT del CP ha estado sujeto a diversos estudios científicos y a un riguroso programa de mejora genética, ha provisto de pajillas de semen y algunos vientres para la formación de nuevos hatos en los estados de Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Tabasco y Campeche (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez 2015).

El ganado LT produce leche en lactancias de 305 días en base a pastoreo de gramíneas tropicales nativas e introducidas (Santellano et al. 2011), este genotipo se caracteriza por poseer altas frecuencias alélicas para la k-caseína lo que le confiere mayor rendimiento en queso (Álvarez-Cepeda et al. 2015).

La reproducción del LT se realiza mediante IA utilizando un esquema de seis familias con rotación de sementales para evitar la consanguinidad en la raza (Rosendo et al. 2018). Se ha observado una edad al primer parto de 1207 días en las vaquillas y 1.57 servicios por concepción (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez 2002). Se han realizado estudios para evaluar la conducta estral en vaquillas LT sujetas a distintos protocolos de sincronización y se ha observado que la duración del estro en vaquillas LT es de 10.2 horas con tasas de ovulación del 100% (Montiel et al. 2011) y duración del ciclo estral de 22.3 horas (Rosendo et al. 2017). Además, se han realizado estudios para determinar las dosis de FSH necesarias para inducir superovulación en hembras LT y se ha observado que las donadoras LT por ser animales de talla mediana necesitan dosis bajas, de 210 mg, de Folltropin-V para responder al protocolo de superovulación (Rosales-Martínez et al. 2018).

Actualmente se realizan investigaciones para conocer el efecto del clima cálido de la Región Sotavento de Veracruz, en la producción de embriones *in vivo* e *in vitro* de hembras LT y Romosinuano, además de la determinación de los componentes de la leche de vacas alimentadas en sistemas silvopastoriles, con lo cual se continúa aportando tecnologías de

impacto para los criadores de la raza y los ganaderos de la región interesados en adquirir estos importantes recursos genéticos.

La raza Romosinuano

Después de la expansión de los bovinos criollos en el continente americano, en el Valle del Sinú, Colombia se dio el origen de la raza RM, se cree que sus antecesores fueron los costeños con cuernos o probablemente una mutación genética de la que derivó un animal sin cuernos (Primo 1992). Además de la ausencia de cuernos, el ganado RM se caracteriza por presentar un color de la capa que va desde el rojo encendido, amarillo claro y bayo, la piel es gruesa y bien pigmentada con pelo corto, brillante y grasoso, su talla es mediana y cuerpo cilíndrico, la cola es descarnada, de inserción alta y borla escasa características que lo hacen adaptado para sobrevivir en condiciones de clima cálido tropical (Martínez 1998). Son animales muy precoces capaces de concebir a los 12 meses de edad y con una longevidad en las hembras que pueden alcanzar los 23 años y aún continúan siendo fértiles, además de ser animales muy mansos que producen en base a pastoreo (de Alba 2011). Entre las características carniceras, los Romosinuano pueden alcanzar un incremento de peso diario de hasta 1.60 kg en corral y rendimientos en canal caliente de 59 % (de Alba 2011).

Después de los orígenes de la raza, estos animales se multiplicaron a lo largo del río Sinú, ya que su carne era muy apreciada en los mercados de Medellín. Sin embargo, la introducción de ganado cebú redujo la población pura de esta raza. En el año de 1936 el ministerio de Agricultura de Colombia estableció una granja experimental en Montería, con el propósito de estudiar, conservar y multiplicar los animales Romo (Martínez 1998).

Debido a las cualidades de la raza, los RM fueron importados por diferentes países, en 1982 se enviaron 200 dosis de semen a Venezuela y en 1989 se enviaron vientres puros que en 1991 contribuyeron a formar la Asociación Venezolana de Criadores de Ganado Romosinuano (ASOROMO) integrada por 11 criadores. De igual forma se envió semen a Brasil y Paraguay, sin embargo, se desconoce el uso que se le dio a estas dosis (de Alba 2011). Poco antes de 1950, la Secretaría de Agricultura de Estados Unidos, importó semen RM desde Colombia hasta Carolina del Norte, con el objetivo de desarrollar animales aptos para las zonas inundables en ese estado (de Alba 1984). Sin embargo, en 1960, se anunció la desaparición del programa en Estados Unidos, por lo cual se exportaron a Turrialba Costa Rica animales que formaron un hato en ese país (de Alba 2011).

En los años 90, nuevamente se envía germoplasma a Estados Unidos, esta vez la Estación de Investigación Agrícola Subtropical de Brooksville, Florida transfiere embriones

provenientes del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza de Turrialba Costa Rica. Sin embargo, al no considerarse puros los animales provenientes de Costa Rica, en 1995 se importaron embriones de Venezuela para formar un hato puro en Florida (Lee 1997), que actualmente se encuentra distribuido en manos de ganaderos particulares.

La introducción del ganado RM a México se llevó a cabo a través de semen, vacas y toros del criador Iñigo Labiada, en Tuxpan Veracruz (de Alba 2011) y en la actualidad se pueden encontrar hatos en Campeche, Michoacán, Tabasco y Veracruz y otros en formación en el estado de Oaxaca, por la adquisición de sementales para cruzamientos.

Hoy en día el RM tiene presencia en Estados Unidos, México, Costa Rica, Venezuela y Colombia, algunos de ellos con asociaciones que expiden registros genealógicos como la AMCROLET, A. C. de México, la ASOROMO de Venezuela y la ASOROMO de Colombia.

Estado actual de las biotecnologías reproductivas y su importancia como herramienta para el mejoramiento genético y el incremento de poblaciones bovinas pequeñas

El avance en el uso de las biotecnologías reproductivas ha abierto importantes áreas de estudio, la manipulación de los fenómenos reproductivos *in vivo* e *in vitro* proveen de importantes desarrollos en el mejoramiento genético de los bovinos (Choudhary et al. 2016). Estas biotecnologías se han presentado en generaciones, siendo la IA, en 1945, la primera; la segunda, en 1975, fue la producción de embriones *in vivo*; la tercera, en los años 1980 y 1990, fue la producción de embriones por fertilización *in vitro* (FIV) y la cuarta, a partir de 1995, fue la clonación y transgénesis (Bedasa et al. 2017).

Los avances recientes proveen una poderosa herramienta que puede ser usada para mejorar e incrementar la producción animal en el presente y en el futuro, los productores podrán obtener rápidos cambios genéticos para producir las siguientes generaciones de animales superiores para las características de interés (Hernandez y Gifford 2013).

El uso intensivo de las biotecnologías reproductivas en los países desarrollados ha permitido solucionar algunos de los problemas de infertilidad en el ganado potenciando de esta manera su producción (Sejian et al. 2010). Entre las biotecnologías reproductivas de mayor uso se encuentra la IA, sin embargo, los países en desarrollo continúan dependiendo de la introducción de semen generado por grandes empresas de países desarrollados.

Actualmente, existen razas bovinas locales con importantes contribuciones a la diversidad genética mundial, entre sus características se encuentra su producción con la mínima necesidad de infraestructura. Sin embargo, debido a su baja producción, comparadas con las altas

productoras, muchas de sus poblaciones se encuentran en peligro de extinción. He aquí donde las biotecnologías reproductivas, como es el caso de la FIV, pueden jugar un papel importante en el incremento de sus poblaciones (Biscarini et al. 2015). Sin embargo, el poco éxito y los altos costos de su implementación ha reducido su uso en las poblaciones de bovinos nativos de países en desarrollo (Tonamo 2015). Es necesaria la colaboración de equipos multidisciplinarios entre países, con lo cual se puede potenciar su uso en poblaciones nativas (Onteru et al. 2010), además con los avances en las técnicas de criopreservación de semen y embriones se pueden formar bancos de germoplasma que beneficiarán el incremento y la participación de estas ganaderías en producción mundial de alimentos (Woelders et al. 2012).

La aspiración folicular y fertilización in vitro

La técnica de aspiración folicular (Ovum Pick Up; OPU, por sus siglas en inglés), es una biotecnología utilizada para recuperar ovocitos de hembras donadoras vivas, fue desarrollada a finales de los años 1980s (Pieterse et al. 1988) para su uso en humanos y adaptada a los bovinos en 1987 (van Wagtendonk-de Leeuw 2006). El uso de la OPU, ha permitido obtener ovocitos de donadoras vivas hasta dos veces por semana, con intervalos de tres a cuatro días o dos y cinco días, sin el uso de hormonas para la estimulación de los ovarios y hasta una vez por semana con el uso de ellas. Para realizar la OPU, es necesario utilizar el proceso de anestesia epidural, posicionar el ovario manipulándolo a través del recto, la aspiración del ovocito utilizando una aguja desechable.

La mayoría de los embriones producidos por OPU-FIV son transferidos en fresco para maximizar el porcentaje de gestación. Sin embargo, al utilizar la OPU y la FIV (OPU-FIV) de manera conjunta conforman una herramienta de mucha utilidad para el año actual y futuros, debido al incremento en la demanda de embriones producidos *in vitro* de manera comercial (Boni 2012), ya que al combinar ambas tecnologías tienen la capacidad de producir hasta 50 terneros por donadora al año (van Wagtendonk-de Leeuw 2006).

En los últimos años, el uso de la OPU-FIV se ha incrementado a nivel mundial, comparado con los embriones producidos *in vivo*, presentándose las mayores producciones en Sudamérica y Norteamérica (Fig. 6a y 6b). En el año 2018 se reportaron 1,029,400 embriones bovinos transferibles producidos *in vitro*, de los cuales el 73.2% fueron transferidos en fresco (Viana 2019).

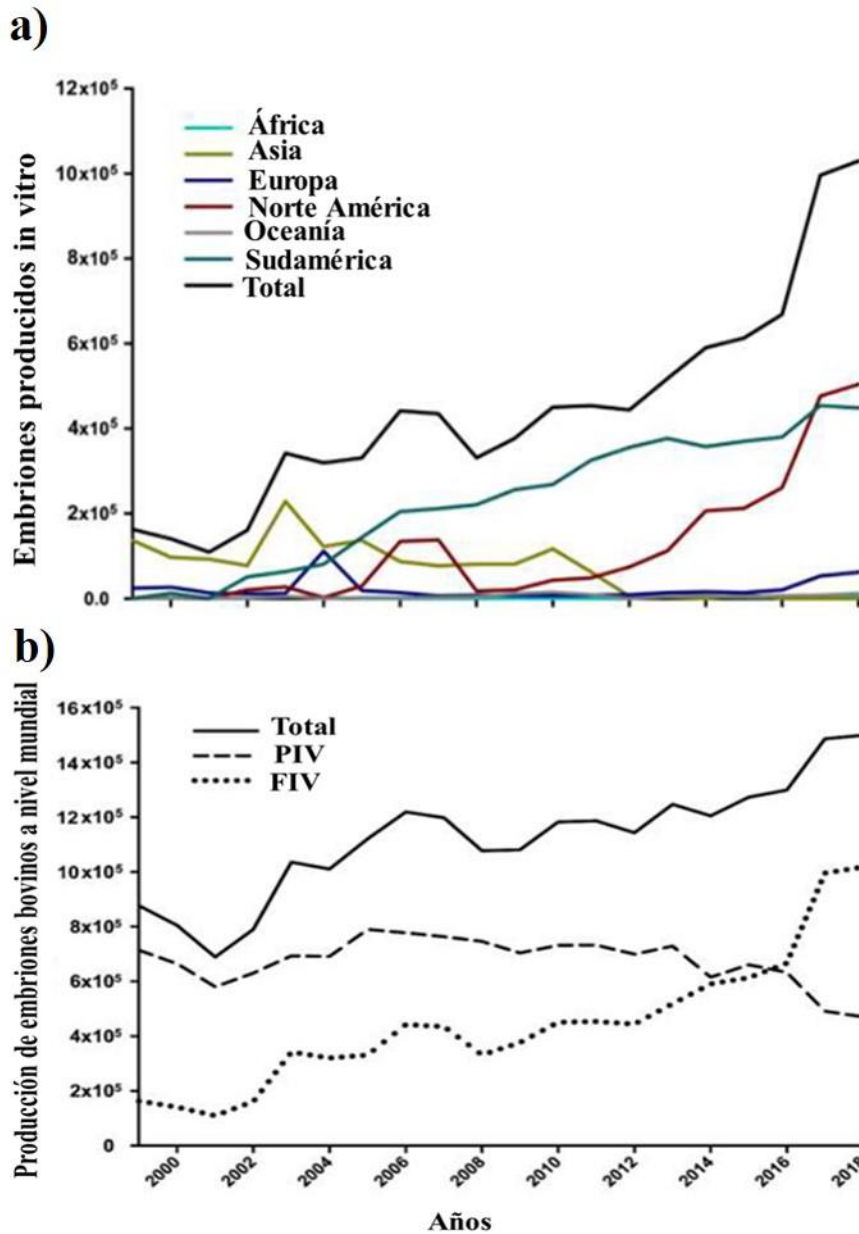


Fig. 5 Número de embriones producidos *in vitro* por continente **a)** y producidos *in vivo* e *in vitro* a nivel mundial **b)** de los años 2000 a 2018 (Adaptado de Viana, 2019)

Aunque las mayores producciones de embriones FIV se han reportado en Norteamérica en ganado *Bos taurus* de razas lecheras especializadas de clima templado y en ganado *Bos indicus* para carne de Brasil, en los países en vías de desarrollo, la producción sigue siendo menor. Sin embargo, año con año estas biotecnologías continúan mejorando y siendo adoptadas por muchos países, con lo cual se espera que, en un futuro no muy lejano, todos los países puedan disponer de estas herramientas biotecnológicas.

Literatura citada

- Absalón-Medina, V.A., Blake, R.W., Gene, D.F., Juárez-Lagunes, F.I., Nicholson, C.F., Canudas-Lara, E.G., Rueda-Maldonado, B.L., 2012. Limitations and potential of dual-purpose cow herds in Central Coast Veracruz, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 44: 1131-1142.
- Ahmed, J. A., Nashiruddullah, N., Dutta, D., Biswas, R.K., P. Borah, P., 2017. Cell expansión and ultrastructural changes in in vitro matured bovine oocytes under heat stress. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(3): 203-207.
- Álvarez-Cepeda, A.A., Rosendo-Ponce, A., Alonso-Morales, R.A., Gayosso-Vázquez, A., Torres-Hernández, G., Becerril-Pérez, C.M., 2015. K-casein genotypic and allelic frecuencies in the Tropical Milking criollo cattle. *Proceeding of the 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*. Vancouver, Canada.
- Anderson, M.D., Estell, E.R., González, L.A., Cibils, F.A., Torell, A., 2015. Criollo cattle: heritage genetics for arid landscapes. *Rangelands*, 37(2): 62-67.
- Asres, A., and Amha. N., 2014. Physiological adaptation of animals to the change of environment: a review. *Journal Biological and Agricultural Health*, 4(25): 146-151.
- Ayobami, R. K. 2017. An insight into maternal recognition of pregnancy in mammalian species. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Science*, 16: 1-6.
- Bajaj, N. K., and Sharma. N., 2011. Endocrine causes of early embryonic death: An overview. *Current Research in Dairy Science*, 3(1): 1-24.
- Bedasa, S., Kebede, A., Abraha, A., 2017. Review on reproductive biotechnology and its role in dairy cattle production and health. *Report and Opinion*, 9(3): 60-70.
- Bin, R.A., Khadijah, W.E.W., Hui, H.S., 2011. Biotechnology in animal production in developing countries. 2nd. *International Conference on Agriculture and Animal Science*. IPCBEE, IACSIT Press, Singapore. Pp. 88-91.
- Biscarini, F., Nicolazzi, L.E., Stella, A., Boettcher, J.P., Gandini, G., 2015. Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds. *Frontiers in Genetics*, 6(33): doi: 10.3389/fgene.2015.00033.
- Boni, R., 2012. Ovum pick up in cattle: a 25 yr retrospective análisis. *Animal Reproduction*, 9(3): 362-369.
- Bonilla, Q. S. A., Oliveira, L.J., Ozawa, M., Newsom, E.M., Lucy, M.C., Hansen, J.P., 2011. Developmental changes in thermoprotective actions of insulin-like growth factor-1 on the preimplantation bovine embryo. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 332, 170-179.
- Bova, T. L., Chiavaccini, L., Cline, G.F., Hart, C.G., Matheny, K., Muth, A.M., Voelz, B.E., Kesler, D., and Memili, E., 2014. Environmental stressors influencing hormones and systems physiology in cattle. *Reproduction Biology and Endocrinology*, 12(58): 1-5.

- Bozalur, R.M., Schellander, K., Llamas, L.N., Van, S.A., 2018. Heat stress response in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle fertility. *Theriogenology*, 113: 102-112.
- Byrne, M.P., Pendergrass, A.G., Rapp, A.D., and Wodzicki, K.R., 2018. Response of the intertropical convergence zone to climate change: location, width, and strength. *Current Climate Change Reports*, 4: 355-370.
- Calderaro, D. V., Fischer, V., dos Santos, D.D., München, A.E.P., Tempel, S.M., Jacob, K.G., Barbosa, S.M.V.G., McManus, C., 2016. Physiological parameters for thermal stress in dairy cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(8):458-465.
- Cheng, Y., Liu, S., Zhang, Y., Su, D., Wang, G., Lv, C., Zhang, Y., Yu, H., Hao, L., Zhang, J., 2016. The effect of heat stress on bull sperm quality and related HSPs expression. *Animal Biology*, 66: 321-333.
- Choudhary, K.K., Kavya, K.M., Jerome, A., Sharma, R.K., 2016. Advances in reproductive biotechnologies. *Veterinary World*, 9(4): 388-395.
- Comizzoli, P., Mermillod, P., Mauget, R., 2000. Reproductive biotechnologies for endangered mammalian species. *Reproduction Nutrition and Development*, 40: 493-504.
- de Alba, J. 1984. El bovino Romosinuano en Turrialba. CATIE. Departamento de producción animal. Turrialba, Costa Rica. 16 p.
- de Alba, J., 2011. El libro de los Bovinos Criollos de América. Ed. Colegio de Postgraduados: Biblioteca Básica de Agricultura, México.
- de Andrade, F. R., Mogollón, H.D.G., Moreira dos Santos, E.S., Mihm, M.C., Ferreira, F.S., Burchmore, R., Sartori, R., Eckersall, P.D., and Pinheiro, J.C.F., 2017. Quantitative proteomic profiling of bovine follicular fluid during follicle development. *Biology of Reproduction*, 97(6): 835-849.
- dos Santos, H. T. R., Mota, C.M., Signori, L.C., Monken, P.A., Perez, A.F.S., Carvalho, J.D., Demarchi, M.G., Muriño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., Nichi, M., Visintin, J.A., and Ortiz, M.E.D.A., 2016. Evaluation of lasting effects of heat stress on sperm profile and oxidative status of ram semen and epididymal sperm. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-12.
- Ezzati, M., Djahanbakhch, O., Arian, S., and Carr, B.R., 2014. Tubal transport of gametes and embryos: a review of physiology and pathophysiology. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31: 1337-1347.
- Felius, M., Beerling, M.L., Buchanan, D.S., Theunissen, B., Koolmees, P.A., Lenstra, J.A., 2014. On the history of cattle genetic resources. *Diversity*, 6: 705-750.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Quinta edición. Instituto de Geografía-UNAM, México. 98 p.

- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Bech-Sabat, G., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C., De Rensis, F., López-Béjar, M., 2007. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology*, 67, 1379-1385.
- Garverick, A. H., Juengel, J.L., Smith, P., Health, D.A., Burkhart, M.N., Perry, G.A., Smith, M.F., and McNatty, K.P., 2010. Development of the ovary and ontogeny of mRNA and protein for P450 aromatase (arom) and estrogen receptors (ER) and β during early fetal life in cattle. *Animal Reproduction Science*, 117(1-2): 24-33.
- Gharibzadeh, Z., Riasi, A., Ostadhosseini, S., Hosseini, S.M., Hajian, M., and Nasr-Esfahani, M.H., 2014. Effects of heat shock during the early stage of oocyte maturation on the meiotic progression, subsequent embryonic development and gene expression in ovine. *Zygote*, 23(4): 573-582.
- Gilad, E., Meidan, R., Berman, A., Graber, Y., Wolfenson, D., 1993. Effect of heat stress on tonic and GnRH induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *Reproduction Fertility*, 99(2): 315-321.
- GOBVER (Gobierno del estado de Veracruz)., 2011. Estudios regionales para la planeación. Región Sotavento. Gobierno del estado de Veracruz. 32 p.
- Göltenboth, F., Erdenlen, W., 2006. Climate, Chapter two. In: *Ecology of Insular Southeast Asia*. (Ed.) Göltenboth, F., Timotius, K.H., Milan, P.P., Pp. 17-26.
- Gong, Y., Guo, H., Zhang, Z., Zhou, H., Zhao, R., He, B., 2017. Heat stress reduces sperm motility via activation of glycogen synthase kinase-3 α and inhibition of mitochondrial protein import. *Frontiers in Physiology*, 8: 718. Doi: 10.3389/fphys.2017.00718.
- González-Stagnaro, C., Madrid-Bury, N., Goicochea-Llaque, J., González-Villalobos, D., Rodríguez-Urbina, M.A., 2007. Primer servicio en novillas de doble propósito. *Revista Científica (Maracaibo)*, 17(1): 39-46.
- Hansen, J. P. 2013. Cellular and molecular basis of therapies to ameliorate effects of heats stress on embryonic development in cattle. *Animal Reproduction*, 10(3): 322-333.
- Hansen, J.P., 2019. Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: implications for fertility and assisted reproduction. *Animal Reproduction*, 16, 497-507.
- Hernandez, G.A.J., Gifford, A.C., 2013. Role of reproductive biotechnologies in enhancing food security and sustainability. *Animal Frontiers*, 3(3): 14-19.
- Howell, J. L., Fuquay, J.W., Smith, A.E., 1994. Corpus luteum growth and unction in lactating Holstein cows during spring and summer. *Journal of Dairy Science*, 77: 735-739.
- Hu, Y., Li, D., Liu, J., 2007. Abrupt seasonal variation of the ITCZ and the Hadley circulation. *Geophysical Research Letters*, 34: L18814, doi:10.1029/2007GL030950.
- Ikawa, M., Inoue, N., Benham, A.M., and Okabe, M., 2010. Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(4): 984-994.

- Inoue, N., Ikawa, M., and Okabe, M., 2010. The mechanism of sperm egg interaction and the involvement of IZUMO1 in fusión. *Asian Journal of Andrology*, 13: 81-87.
- Iyengar, G.R., Ramesh, K.J., Paliwal, R.K., Madan, O.P., 2001. Structural characteristics of the intertropical convergence zone over the equatorial Indian Ocean during INDOEX-1999 field phase experiments. *Current Science (Supp.)* 80: 18-24.
- Jun-Zuo, W., Hong-Shu, S., De-qiang, M., Liu, N., Zhou, P., Ge, L., and Jing-He, T., 2009. Effect of heat stress during in vitro maturation on cytoplasmic versus nuclear components of mouse oocytes. *Reproduction*, 137: 181-189.
- Kang, S.M., Shin, Y., Xie, S., 2018. Extratropical forcing and tropical rainfall distribution: energetics framework and ocean Ekman advection. *npj Climate and Atmospheric Science*, 1: 20172; doi:10.1038/s41612-017-00046.
- Khodaei-Motlagh, M., Shahneh, A.Z., Masoumi, R., and Derensis, F., 2011. Alterations in reproductive hormones during heat stress in dairy cattle. *African Journal of Biotechnology*, 10, 5552-5558.
- Kidder, M. G., and Vanderhyden B.C., 2010. Bidirectional communication between oocytes and follicle cells: ensuring oocyte developmental competence. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 88(4): 399-413.
- Klinovska, K., Sebkova, N., and Dvorakova-Hortova, K., 2014. Sperm-egg fusión: a molecular enigma of mammalian reproduction. *International Journal of Molecular Science*, 15: 10652-10668.
- Latham, K. 2015. Endoplasmic reticulum stress signaling in mammalian oocytes and embryos: life in the balance, *International Review of Cell and Molecular Biology*, 316: 227-265.
- Lee, J. 1997. International cooperation delivers livestock embryos. *Agricultural Research. ProQuest Agriculture Journals*. Pp. 14.
- Li, L., Wu, J., Luo, M., Sun, Y., and Wang, G., 2016. The effect of heat stress on gene expressions, síntesis of steroids, and apoptosis in bovine granulosa cells. *Cell Stress and Chaperones*, 21: 467-475.
- Li, J., Gao, H., Tian, Z., Wu, Y., Wang, Y., Fang, Y., Li, L., Han, Y., Wu, S., Haq, I., and Zeng, S., 2016. Effects of chronic heat stress on granulosa cell apoptosis and follicular atresia in mouse ovary. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(57): 1-10.
- Lourenco, B., Sousa, A.P., Almeida-Santos, T., Ramalho-Santos, J., 2014. Relation of cumulus cell status with single oocyte maturity, fertilization capability and patient age. *Journal Reproduction and Fertility*, 15(1): 15-21.
- Lucero, C., Guintard, C., Betti, E., Mallard, J. 2010. Origine et évolution des races créoles (*Bos taurus*) de Colombie. *Revue de Medecine Veterinaire*, 116(11): 485-493.
- Mahdy, K. H. A., Moreira, M.H.S., and Moreira, F.S., 2018. Effect of cortisol on bovine oocytes maturation and further embryonic development after in vitro fertilization. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*, 10(4): 1-6.

- Mandal, D.K., Nagpaul, P.K., Gupta, A.K., 2000. Seasonal variation in seminal attributes and sexual behaviour of Murrah buffalo Bulls. *Indian Journal of Dairy Science*, 53(4): 278-283.
- Martínez C.G., 1998. El ganado criollo Romosinuano. *Animal Genetic Resources Information*. 24: 1-11.
- Monterroso, V.H., Drury, K.C., Ealy, A.D., Edwards, J.L., Hansen, P.J., 1995. Effect of heat shock on function of frozen/thawed bull spermatozoa. *Theriogenology*, 44, 947-961.
- Montiel, P.F., Pérez, H.P., Gallegos, S.J., Rosendo, P.A., 2011. Manifestación de estro y gestación en vaquillas Criollo Lechero Tropical sincronizadas con dosis baja de PGF_{2α}. *Zootecnia Tropical*, 29(2): 179-185.
- Morales, D., 2018. Ganado criollo origina las mejores carnes: experto argentino. *El Heraldo de Chihuahua*. Consultado en Línea, 26 de marzo de 2020. <https://www.elheraldodechihuahua.com.mx/local/ganado-criollo-origina-las-mejores-carne-experto-argentino-2080075.html>.
- Nabenishi, H., Ohta, H., Nishimoto, T., Morita, T., Ashizawa, K., and Tsuzuki, Y., 2011. Effect of the temperature-humidity index on body temperature and conception rate of lactating dairy cows in south western Japan. *Journal of Reproduction and Development*, 57, 450-456.
- Oliveira, M.S.R., Jardim, B.J.O., Antunes, D.E., Koets Jr, C., Ribas, P.G., Peripolli, V., McManus, C., Andrighetto, C.M.E., Guiselli, L.F., 2014. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effect on sperm traits in Braford Bulls. *International Journal Biometeorology*. DOI 10.1007/s00484-014-0847-z.
- Onteru, K.S., Ampire, A., Rothschild, F.M., 2010. Biotechnology developments in the livestock sector in developing countries. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 27(1): 217-228.
- Osorio-Arce, M., Segura-Correa, J., 2002. Preproductive performance of dual-purpose cows in Yucatán, México. *Livestock Research for Rural Development*, 14(3): 65-71.
- Paes, M. V., Viera, L.A., Correia, H.H.V., Sa, N.A.R., Moura, A.A.A., Sales, A.D., Rodrigues, A.P.R., Magalhaes-Padilha, D.M., Santos, F.W., Apgar, G.A., Campello, C.C., Camargo, L.S.A., and Figueiredo, J.R., 2016. Effect of heat stress on the survival and development of in vitro cultured bovine preantral follicles and on in vitro maturation of cumulus-oocyte complex. *Theriogenology*, 86:994-1003.
- Payton, R. R., Rispoli, L.A., Nagle, K.A., Gondro, C., Saxton, A.M., Voy, B.H., and Edwards, J.L., 2018. Mitochondrial related consequences of heat stress exposure during bovine oocyte maturation persist in early embryo development. *Journal of Reproduction and Development*, 64(3): 243-251.
- Peralta-Hernández, A.R., Barba-Martínez, L.R., Magaña-Rueda, V.O., Matthias, A.D., Luna-Ruíz, J.J., 2008. Temporal and spatial behavior of temperatura and precipitation during the canicula (midsummer drought) under El Niño conditions in central Mexico. *Atmósfera*, 21(3): 265-280.

- Peralta-Torres, J.A., Aké-López, J.R., Centurión-Castro, F.G., Segura-Correa, J.C., 2017a. Effect of season and breed group on the follicular population and cyclicity of heifers under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 49(1): 207-211.
- Peralta-Torres, J. A., J. R. Aké-López, J. C. Segura-Correa, J. R. Aké-Villanueva. 2017b. Effect of season on follicular population, quality and nuclear maturation of bovine oocytes under tropical conditions. *Animal Reproduction Science*, 187: 47-53.
- Perezgrovas, G.R.A., 2015. Antecedentes históricos de la ganadería bovina en México: conquista e inicios de la época colonial. In: Perezgrovas, G.R.A., de la Torre, S.F., (Ed.) 2015. Los bovinos criollos de México historia, caracterización y perspectivas. Universidad Autónoma de Chiapas. México. Pp. 47-81.
- Perezgrovas, G.R., y de la Torre, S.F., 2015. Los bovinos criollos de México historia, caracterización y perspectivas. Universidad Autónoma de Chiapas. Tuxtla Gutierrez, Chiapas, México.
- Pieterse, M.C., Kappen, K.A., Kruip, T.A.M., 1988. Aspiration of bovine oocytes using transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, 30: 751-762.
- Pilling, D., Cardelling, R., Zjalic, M., Rischkowsky, B., Tempelman, K.A., and Hoffman, I., 2007. The use of reproductive and molecular biotechnology in animal genetic resources management a global overview. *Animal Genetic Resources*, 40: 1-12.
- Primo, A.T., 1992. El ganado bovino ibérico en las Américas: 500 años después. *Archivos de Zootecnia*, 41(extra): 421-432.
- Qi, M., Yao, Y., Ma, H., Wang, J., Zhao, X., Liu, L., Tang, X., Zhang, L., Zhang, S., Sun, F., 2013. Transvaginal ultrasound-guided ovum pick-up (OPU) in cattle. *Biomimetics Biomaterials and Tissue Engineering*, 18(2): <http://dx.doi.org/10.4172/1662-100X.1000118>.
- Ramírez-Valverde, R., Núñez-Domínguez, R., Palacios-Jiménez, A.L., Jiménez-Carrasco, J.S., 2014. Characterization of dairy cattle germoplasm used in Mexico with national genetic evaluations in importing and exporting countries. *Livestock Science*, 167: 51-57.
- Rege, J.E.O., 1998. Utilization of exotic germplasm for milk production in the tropics. *Proc. 6th World Congress Genetic and Applied Livestock Production*, 25, 193-200.
- Rispoli, L. A., Lawrence, J.L., Payton, R.R., Saxton, A.M., Schrock, G.E., Schrick, F.N., Middlebrooks, B.W., Dunlap, J.R., Parrish, J.J., and Edwards, J.L., 2011. Disparate consequences of heat stress exposure during meiotic maturation: embryo development after chemical activation vs fertilization of bovine oocytes. *Reproduction*, 142: 831-843.
- Rispoli, L. A., Payton, R.R., Gondro, G., Saxton, A.M., Nagle, K.A., Jenkins, B.W., F. Schrick, F.N., and Edwards, J.L., 2013. Heat stress effects on the cumulus cells surrounding the bovine oocyte during maturation: altered matrix metalloproteinase 9 and progesterone production. *Reproduction*, 146, 193-207.

- Rojo-Rubio, R., Vázquez-Armilo, J.F., Pérez-Hernández, P., Mendoza-Martínez, G.D., Salem, A.Z.M., Albarrán-Portillo, B., González-Reyna, A., Hernández-Martínez, J., Rebollar-Rebollar, S., Cardoso-Jiménez, D., Dorantes-Coronado, E.J., Gutierrez-Cedillo, J.G., 2009. Dual purpose cattle production in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 41: 715-721.
- Rosales-Martínez, F., Rosendo-Ponce, A., Canseco-Sedano, R., Cortez-Romero, C., Torres-Hernández, G., Becerril-Pérez, C.M., 2018. Superovulation of Tropical Milking criollo females. *Revista Científica, FVC-LUZ*, 28(2): 146-152.
- Rosendo-Ponce, A., Becerril-Pérez, C.M., 2002. Productive performance and genetic parameters in the Tropical Milking Criollo cattle in Mexico. *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics and Applied Livestock Production, 2002, Montpellier, France*.
- Rosendo-Ponce A., y Becerril-Pérez, C.M., 2015. Avance en el conocimiento del bovino criollo lechero tropical de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2, 233-243.
- Rosendo, P.A., Palacios, J.A.L., Rosales, M.F., Torres, H.G., Ramírez, V.R., Becerril, P.C.M., 2018. Genetic variability of Tropical Milking criollo cattle of Mexico estimated from genealogy information. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 31(3): 196-203.
- Rosendo, P.A., Rosales, M.F., Cruz, R.L., Canseco, S.R., Gallegos, S.J., Becerril, P.C.M., 2017. Sincronización de estro en vaquillas criollas Lechero Tropical puras y mestizas. *Zootecnia Tropical*, 35(1-2): 35-44.
- Santellano-Estrada, E., Becerril-Pérez, C.M., Chang, Y.M., Gianola, D., Torres-Hernández, G., Ramírez-Valverde, R., Domínguez-Vivieros, J., Rosendo-Ponce, A., 2011. Caracterización de la lactancia y evaluación genética del ganado criollo Lechero Tropical utilizando un modelo de regresión aleatoria. *Agrociencia*, 45: 165-175.
- Sakatani, M., Bonilla, L., Dobbs, K.B., Block, J., Ozawa, M., Shanker, S., Yao, J., and Hansen, J.P., 2013. Changes in the transcriptome of morula-stage bovine embryos caused by heat shock: relationship to developmental acquisition of thermotolerance. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(3): 1-12.
- Sakatani, M., 2016. Effect of heat stress on bovine preimplantation embryos produced in vitro. *Journal of Reproduction and Development*, 63(4): 347-352.
- Sakatani, M., Álvarez, N.V., Takahashi, M., and Hansen, J.P., 2012. Consequences of physiological heat shock beginning at the zygote stage on embryonic development and expression of stress response genes in cattle. *Journal of Dairy Science*, 95(6): 3080-3091.
- Salamanca, A.C., Quintero, R.V., Bentez, J.M., 2011. Características de crecimiento predestete en becerros del Sistema Doble Propósito en el municipio de Arauca. *Zootecnia Tropical*, 29(4): 455-465.
- Sánchez, F., and Smitz, J., 2012. Molecular control of oogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822: 1896-1912.

- Sejian, V., Meenambigai, T.V., Chandirasegaran, M., and Naqvi, S.M.K., 2010. Reproductive technology in farm animals: new facets and findings: a review. *Journal of Biological Sciences*, 10(7): 686-700.
- Silva, F. C., Sartori, E.S., Castilho, A.C.S., Satrapa, R.A., Puelker, R.Z., Razza, E.M., Ticianelli, J.S., Eduardo, H.P., Loureiro, B., and Barros, C.M., 2013. Effects of heat stress on development, quality and survival of *Bos indicus* and *Bos taurus* embryos produced *in vitro*. *Theriogenology*, 79: 351-357.
- Small, R.J., Szoek, S.P., Xie, S.P., 2007. The central american midsummer drought: regional aspects and large-scale forcing. *Journal Climate*, 20: 4853-4873.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional), 2020. Consulta de base de datos 2000 – 2020. Sistema de información climatológica y geográfica del estado de Veracruz, México. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>.
- Staub, C., Johnson, L., 2018. Review: Spermatogenesis in the bull. *Animal*. doi:10.1017/S1751731118000435.
- Su-Mi, K., and Jong-Soo, K., 2017. A review of mechanisms of implantation. *Reproduction and Development*, 21(4): 351-359.
- Tonamo, A., 2015. Review on status of animal biotechnology and options for improving animal production in developing countries. *Journal of Biology, Agriculture and Care*, 5(19): 21-31.
- Tripathi, S. K., Farman, M., Nandi, S., Giris, K.V., and Gupta, P.S.P., 2015. Biochemical constituents of ovarian follicular fluid in ruminants and their significance in follicle and oocyte development. *Journal of Veterinary Science and Medical Diagnosis*, 4(3): 1-7.
- Trout, P. J., McDowell, L.R., and Hansen, J.P., 1998. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *Journal of Dairy Science*, 81: 1244-1250.
- Urdaneta, F., 2009. Mejoramiento de la eficiencia productiva de los sistemas de ganadería bovina de doble propósito (*Taurus-Indicus*). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 17(3): 109-120.
- Yeh, S.W., Kug, J.S., Dewitte, B., Kwon, M.H., Kirtman, B.P., Jin, F.F. 2009. El Niño in a changing climate. *Letters*, 461: 511-515.
- Trewin, B., 2014. The climatics of the tropics and how they are changing. In: Harding, S., McComiskie, R., Wolff, M., Trewing, D., Hunter, S. (Eds). *State of the tropics*. 2014. Report. James Cook University. Cairns, Australia.
- Van Hengstum, P.J., Donnelly, J.P., Fall, P.L., Toomey, M.R., Albury, N.A., Kakuk, B., 2016. The intertropical convergence zone modulates intense hurricane strikes on the Western North Atlantic margin. *Scientific Reports*, 6: 21728. DOI: 10.1038/srep21728.

- Vanselow, J., Vernunft, A., Koczan, D., Spitschak, M., and Kuhla, B., 2016. Exposure of lactating dairy cows to acute pre-ovulatory heat stress affect granulosa cell-specific gene expression profiles in dominant follicles. *PloS ONE*, 11(8): 1-19.
- Van Wagtendonk-de Leeuw, A.M., 2006. Ovum Pick Up and in vitro production in the bovine after use in several generations: a 2005 status. *Theriogenology*, 65: 914-925.
- Viana, J., 2019. 2018 Statistic of embryo production and transfer in domestics farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, 36(4): 1-26.
- Wiltbank, C. M., Baez, G.M., García-Guerra, A., Toledo, M.Z., Monteiro, P.L.J., Melo, L.F., Ochoa, J.C., Santos, P.J.E., and Sartori, R., 2016. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimestres of gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 86: 239-253.
- Wilson, S.J., Kirby, C.J., Koenigsfeld, A.T., Keisler, D.H., and Lucy, M.C., 1998a. Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *Journal of Dairy Science*, 81, 2132-2138.
- Wilson, S. J., Marion, R.S., Spain, J.N., Spiers, D.E., Keisler, D.H., and Lucy, M.C., 1998b. Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 81: 2124-2131.
- Wise, M.E., Armstrong, D.V., Huber, J.T., Hunter, R., Wiersma, F., 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 71: 2480-2484.
- Woelders, H., Windig, J., Hiemstra, S.J., 2012. How developments in cryobiology, reproductive technologies and conservation genomics could shape gene banking strategies for (Farm) animals. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(Suppl. 4): 264-273.
- Zavala-Hidalgo, J., Romero-Centeno, R., and Mateos-Jasso, A., 2014. The response of the Gulf of Mexico to wind and heat flux forcing: What has been learned in recent years? *Atmósfera*, 27, 317-334.
- Zeebaree, K. B., Kwong, W.Y., Mann, G.E., Gutierrez, C.G., and Sinclair, K.D., 2018. Physiological response of cultured bovine granulosa cells to elevated temperatures under low and high oxygen in the presence of different concentrations of melatonina. *Theriogenology*, 105: 107-114.

CHAPTER I. RELATION OF THE MAXIMUM TEMPERATURE AND RELATIVE HUMIDITY CLOSE TO THE INSEMINATION WITH THE TROPICAL MILKING CRIOLLO HEIFER'S GESTATION IN THREE SEASONS

1.1. ABSTRACT

The high climatic variability of hot climates of the intertropical zone reduces cattle fertility. In dairy cows in temperate zones, the THI has been used to evaluate the temperature and relative Humidity (RH) joint effect in reproduction, but its use is not recommended in all geographic zones, in hot climates the maximum temperature (Tmax) can provide more convenient information than THI. The objective of this study was to determine the artificial insemination (AI) service seasons and their joint effect with the maximum temperature and relative humidity of the previous seven days, the service day and posterior seven days to the AI in the Tropical Milking criollo (LT) heifer's gestation. Climatic data was used to define three seasons: hot-dry (HD), hot-humid (HH), and fresh-dry (FD), and 313 artificial insemination services from 176 heifers were analyzed over fourteen years. The seasons were determined by cluster analysis. Gestation at first service (GF) was analyzed with a logistic regression model and global gestation (GG) with a mixed linear generalized model. The Tmax of previous seven days insemination $\hat{\beta}1 = -0.20 \pm 0.09$ ($p \leq 0.02$) in HD ($p \leq 0.02$) and RH of seven days posterior insemination $\hat{\beta}2 = -0.08 \pm 0.04$ ($p \leq 0.04$) in HD ($p \leq 0.01$) affected GF. No effect of the Tmax and RH on the service day was observed ($p > 0.05$). The highest GG probabilities were higher than 0.70 in HH and FD, making those seasons the most suitable for inseminating LT heifers.

Key words Adapted breeds. Climate change. Fertility. Genetic resources. Intertropical zone

1.2. INTRODUCTION

The intertropical zone of hot climates has great variability of high temperatures and relative humidity among years and seasons (Trewin 2014) which decreases cattle fertility (Hoffmann 2010; Khodaei-Motlagh et al. 2011). Replacement heifers allow herd continuity (Wathes et al. 2014); getting them pregnant at first artificial insemination (AI) reduces oestrus detection, doses, technical services and costs per pregnancy, and they have a greater opportunity to reproduce the following year (Bormann et al. 2006). High temperatures and relative humidity are detrimental to the presence of oestrus and the opportunity to become pregnant (Donovan et al. 2003) and before insemination they affect the follicles (Peralta-Torres et al. 2017) and inhibit the preovulatory follicle growth during the dominance period. Wilson et al. (1998) observed in Holstein heifers at temperatures of 32.2 °C that the preovulatory follicle growth stopped the last seven days of the oestrus cycle. García-Ispierto et al. (2007) observed three

days prior to insemination, that gestation percentage of Holstein cows decreased 11.4% with the increase of temperature and humidity index (THI) from 70 to 85. Heat stress increases body and vaginal temperatures (Nabenishi et al. 2011) and reduces the viability, motility and sperm fertilizing capacity (Monterroso et al. 1995). In addition, embryos are sensitive to heat stress effects during the first seven days of development (Hansen 2019).

The Tropical Milking criollo (LT) breed comes from cattle introduced to the New World by Europeans in the 15th century (de Alba 2011). In the LT habitat, maximum temperature and relative humidity of above 30 °C and 84% are reached (García 2004; SMN 2018; INIFAP 2018), where the feed availability and quality and the external parasites incidence vary considerably during seasons (Cruz et al. 2011; González-Cerón et al. 2009). Furthermore, the population of pure LT animals is less than 1000 heads (AMCROLET 2015), so it is important to plan their reproduction. The objective was to determine the effect of the seasons and the maximum temperature and relative humidity of the previous seven days, service day, and posterior seven days the AI in the Tropical Milking heifer's gestation.

1.3. MATERIALS AND METHODS

Weather records and season determination

Records from 14 years (2000 to 2013) of rainfall (PP), maximum (Tmax), average (Tmed) and minimum (Tmin) temperature, relative humidity (RH), and wind speed (WS) data were obtained from a weather station located in Veracruz, Mexico, 19° 11' N and 96° 20' W at 23 m.a.s.l. The mean annual temperature and precipitation in the location are 24.8 °C and 1,526 mm (INIFAP 2018; SMN 2018). The climate classification is Aw0(w)(i') gw', hot sub-humid with summer rains (García 2004). This data set was to determine the seasons by using cluster analysis (Bravo et al. 2012). The correlations among standardized climatic variables were negligible and Euclidean distances were calculated by similarity, independent of the measurement direction and not negative; with a directly proportional distance to the size and between two points less than or equal to the distance sum from those points to a third one (Dokmanic et al. 2015). Data were grouped by the closest neighbor method (R 2016), with unknown groups a priori, similar group elements, and dissimilar groups (Rencher 2002). For all seasons, the optimum number of groups with the highest scores was obtained using the K-means method.

Reproductive data and heifer management

Three hundred and thirteen records of AI from the same period (14 years) of 176 LT heifers of 29.3 ± 0.28 age months were used for the analysis. Heifers grazed pastures of Para (*Brachiaria mutica* Forssk) and native grass (*Paspalum spp*). Estrus with a watch bull were

detected daily throughout the year. The heifers were inseminated until the fourth estrus AI took place 12 h after detecting oestrus and gestation diagnosis was made by transrectal palpation 45-55 d after (Rosendo-Ponce and Becerril-Pérez 2015). Gestation at first service (GF, %), independent observations with success and failure responses, and overall pregnancy (GG, %) from the first to the fourth services were studied.

In dairy cows in temperate zones, the THI has been used to evaluate the temperature and RH joint effect in reproduction (García-Ispierto et al. 2007; Dikmen and Hansen 2009), but it is not recommended in all geographic zones (Silva et al. 2007). Tmax can provide more convenient information than THI in hot climates (García-Ispierto et al. 2007).

Statistical analysis

The effect of season, temperature and relative humidity on GF and GG were analyzed previous seven days to the AI service (PRAI), a period in which the preovulatory follicle dominance occurs (Wilson et al. 1998); the service day (DAI), when there is an increase in the uterine temperature and a possible reduction in the sperm fertilizing capacity (Monterroso et al. 1995), and posterior seven days the AI (POAI), a period in which embryos are sensitive to heat stress (Hansen 2019).

The logistic regression model used for GF was:

$$y_{ij} = \mu + E_i + \beta_1(x_{1ij} - \bar{x}_{1..}) + \beta_2(x_{2ij} - \bar{x}_{2..}) + \epsilon_{ij} \text{ where};$$

y_{ij} = It is the i-th season observation, of the j-th heifer, which can take values of 1 pregnant and 0 non-pregnant.

μ = Constant that characterizes the population.

E_i = The i-th season effect. $i = 1$ hot-dry, 2 hot-humid and 3 fresh-dry.

β_1 = Regression coefficient that relates the mean maximum temperatures with the response variable.

x_{1ij} = Maximum temperature mean observed in the i-th season that occurred during the j-th heifer insemination.

$\bar{x}_{1..}$ = Mean of the maximum temperatures.

β_2 = Regression coefficient that relates the mean relative humidity with the response variable.

x_{2ij} = Relative humidity mean observed in the i-th season that occurred during the j-th heifer insemination.

$\bar{x}_{2..}$ = Mean of the relative humidity.

ϵ_{ij} = Random error. $\epsilon_{ij} \sim B(n, p)$.

The data was processed with PROC LOGISTIC (SAS 9.4 2010). Opportunity ratios and 95% confidence intervals were estimated for Tmax and RH. GG was analyzed with a generalized linear model using PROC GLIMMIX (SAS 9.4 2010), including the service number as an independent variable.

1.4. RESULTS

Seasons

The hot-dry (HD, March-May), hot-humid (HH, June-October) and fresh-dry (FD, November-February) seasons were determined (Fig. 1.1). The highest and similar mean Tmax were observed in HD and HH, while the highest RH in HH and FD. In HD the greatest climatic variability occurred in PP, RH and WS (Table 1.1).

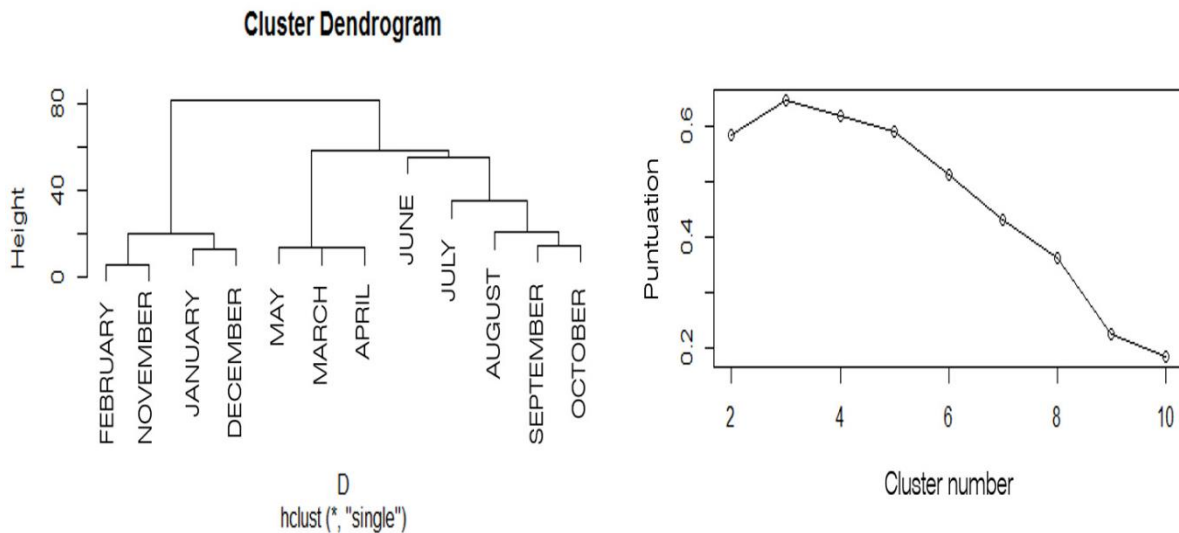


Fig. 1.1 Service seasons for artificial insemination of Tropical Milking criollo heifers obtained in Veracruz Mexico

Table 1.1 Climatological variables by season in Veracruz, Mexico, in relation to Tropical Milking criollo reproduction heifers

Climatological variables	Seasons								
	Hot-dry (HD) (March-May)			Hot-humid (HH) (June-October)			Fresh-dry (FD) (November-February)		
	Mean ± SEM	Max	Min	Mean ± SEM	Max	Min	Mean ± SEM	Max	Min
PP (mm d ⁻¹)	0.9 ± 0.5	1.8	0.1	7.8 ± 0.8	9.8	5.4	0.7 ± 0.2	1.2	0.4
Tmax (°C)	31.6 ± 1.0	33.2	29.8	31.4 ± 0.4	32.2	30.1	26.8 ± 0.5	28.1	25.8
Tmed (°C)	25.8 ± 1.1	27.7	23.8	26.9 ± 0.3	27.3	25.6	21.6 ± 0.5	23.1	20.5
Tmin (°C)	20.5 ± 1.1	22.5	18.6	22.4 ± 0.3	22.8	21.1	17.1 ± 0.6	18.6	15.9

RH (%)	77.2 ± 1.1	79.3	75.8	84.7 ± 1.0	86.6	81.3	84.6 ± 0.3	85.5	84.0
WS (km h ⁻¹)	6.9 ± 3.3	13.4	3.3	2.6 ± 0.1	2.9	2.1	6.3 ± 1.6	9.2	1.8

PP = Rainfall; Tmax = Maximum temperature; Tmed = Average temperature; Tmin = Minimum temperature; RH = Relative humidity; WS = Wind speed; SEM = standard error of the mean; Max = maximum; Min = minimum

Gestation at first service

The first oestrus occurrence by season was HD 40 (22.7%), HH 69 (39.2%) and FD 67 (38.1%) oestrus observed, with GF of 35.0, 57.9 and 58.2%, and annual of 53%. The Tmax had a detrimental effect on GF in PRAI (OR; opportunity ratio <1; p≤0.02); the heifers had 3.89 and 1.62 more opportunities to become pregnant during HH and FD seasons than HD. Tmax had no effect on DAI or POAI (p>0.05). However, RH had a detrimental effect on GF in POAI (p≤0.04), heifers had 4.12 and 2.85 more opportunity to become pregnant during the HH and FD seasons than HD. RH had no significant effect on GF on DAI or PRAI (p>0.05; Table 1.2). The least favorable season to mate heifers was HD (p≤0.02).

Table 1.2 Effect of the maximum temperature and relative humidity of previous seven days, the service day and posterior seven days the artificial insemination (AI) on gestation at first service for Tropical Milking criollo heifers

<i>Period (d) - Seasons</i>	OR	CI	p
<i>Previous seven (PRAI)</i>			
Hot-dry (HD)	1.0		0.0159
Hot-humid (HH)	3.89	1.54 – 10.42	
Fresh-dry (FD)	1.62	0.55 – 4.81	
Tmax	0.81	0.68 - 0.96	0.0199
RH	0.95	0.87 - 1.02	0.1949
<i>AI day (DAI)</i>			
Hot-dry (HD)	1.0		0.3214
Hot-humid (HH)	2.05	0.74 – 5.89	
Fresh-dry (FD)	2.04	0.75 – 5.70	
Tmax	0.99	0.86 - 1.13	0.9081
RH	1.01	0.97 - 1.06	0.4406
<i>Posterior seven POAI)</i>			
Hot-dry (HD)	1.0		0.0095
Hot-humid (HH)	4.12	1.56 – 11.53	

Fresh-dry (FD)	2.85	1.15 – 7.40	
Tmax	0.94	0.78 - 1.13	0.5545
RH	0.92	0.86 - 0.99	0.0352

OR = opportunity ratio, CI = confidence interval (95%), Tmax = maximum temperature, RH = relative humidity

As Tmax in PRAI increased, GF probability decreased, $\hat{\beta}1 = -0.20 \pm 0.09$ ($p \leq 0.02$); in turn, with increasing RH in POAI, GF probability decreased, $\hat{\beta}2 = -0.08 \pm 0.04$ ($p \leq 0.04$) in the three seasons (Fig. 1.2a and 1.2b).

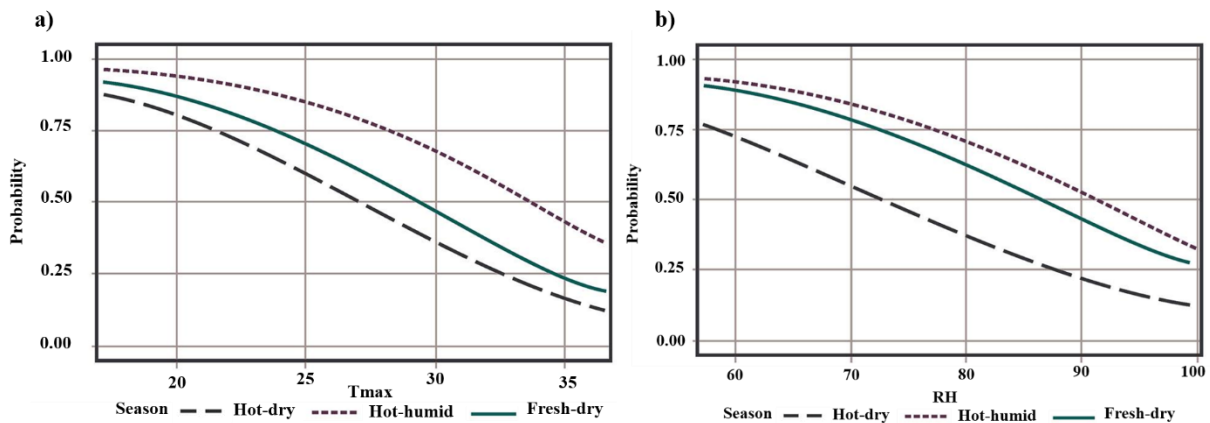


Fig. 1.2 Relationship between the maximum temperatures (Tmax, °C) of previous seven days **a)**, and the relative humidity (RH, %) of seven posterior days **b)** the artificial insemination in three seasons and the pregnancy probability to first service for Tropical Milking criollo heifers

Variability of GF was observed in the three seasons over the years; in HD no pregnancies were observed in six years, three in HH and four in FD (Fig. 1.3a).

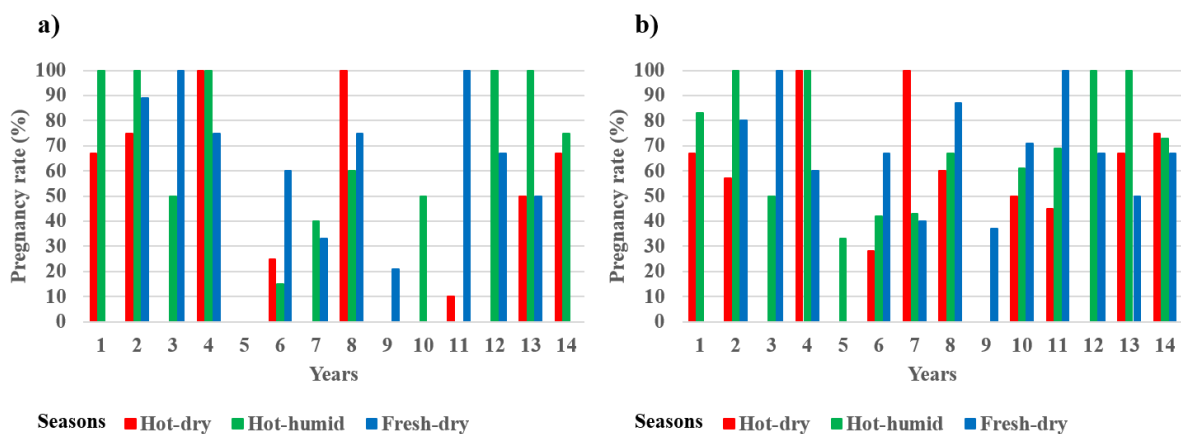


Fig. 1.3 Gestation at first service **a)** and global gestation **b)** of artificial insemination of Tropical Milking criollo heifers during fourteen years and three years seasons

Global Gestation

GG also showed variability through the years and by season; in HD no pregnancies were observed in four years, in HH one and two in FD (Fig. 1.3b).

The oestrus occurrence by season was HD 77 (24.6%), HH 132 (42.2%) and FD 104 (33.2%) oestrus observed with GG of 39.0 (18.2, 13, 5.2 and 2.6% to first, second, third and four AI), 61.4 (30.3, 11.4, 13.6 and 6.1% to first, second, third and four AI) and 61.5% (37.5, 17.3, 3.8 and 2.9% to first, second, third and four AI), and annual of 55.9%. The Tmax had a detrimental effect on GG in PRAI, $\hat{\beta}1 = -0.15 \pm 0.07$ ($p \leq 0.02$) and RH had a detrimental effect on GG in POAI, $\hat{\beta}2 = -0.07 \pm 0.03$ ($p \leq 0.02$); both had no effect in DAI ($p > 0.05$). The season effect was significant in GG for PRAI ($p \leq 0.01$) and POAI ($p \leq 0.001$) but not for DAI. The difference in GG was 50 to 65% greater in favor of HH compared to HD (Table 1.3).

Table 1.3 Overall pregnancy probability from first to fourth artificial insemination (AI) of Tropical Milking criollo heifers in three seasons

Period of Tmax and HR effect (d)	Seasons		
	Hot-dry	Hot-humid	Fresh-dry
Previous seven days	0.50 ± 0.08 ^b	0.75 ± 0.05 ^a	0.62 ± 0.08 ^{ab}
AI day	0.51 ± 0.08 ^a	0.67 ± 0.05 ^a	0.69 ± 0.06 ^a
Posterior seven days	0.43 ± 0.07 ^b	0.71 ± 0.06 ^a	0.71 ± 0.06 ^a

^{a, b}: Different literals per row indicate statistical differences ($p \leq 0.05$). Tmax = maximum temperature, RH = relative humidity

1.5. DISCUSSION

The climatic variability of Veracruz Mexico allows us to differentiate three climatic seasons (HD, HH and FD; Fig. 1.1) with similar characteristics (Table 1.1). The low PP from November to May, cause a severe drought that lasts seven months (HD + FD) with less than 13% of the total PP. The rain concentrates in four months (HH) with the highest amount of PP throughout the year and the highest RH. During FD, winds with little rainfall occur, coming from polar latitudes that produce a sudden drop in temperature, known as *norths* (Zavala-Hidalgo et al. 2014); temperatures below 18 °C were observed in FD. Although in FD, PP was low, RH was similar to HH; if temperature decreases, RH increases if the content of water steam in the air remains constant; during the *norths* the dew point could be reached due to the air moisture content (Ahrens 2008).

The GF was greater than 47.1% of Holstein heifers exposed to temperatures above 25 °C (Donovan et al. 2003). The Tmax in PRIA and the RH in POIA (Fig. 1.2a and 1.2b) had an

effect on GF. Tmax could affect the dominant follicle, animals under heat stress release the adrenocorticotrophic hormone that stimulates the release of cortisol from the adrenal cortex (Minton 1994), this hormone in high concentrations inhibits the frequency of GnRH pulses and affects the release of LH and FSH during the follicular phase, with less estradiol in the pre-ovulatory period (Breen et al. 2005; Oakley et al. 2009). In cows under heat stress inhibin secretion is reduced in the second follicular wave, and there is an increase in FSH and production of large follicles that affect the development of the dominant follicle (Roth et al. 2000). Hyperthermia affects the signaling pathways in granulosa cells (Vanselow et al. 2016) and reduces serum estradiol concentrations causing an increase in the caspase 3 and apoptotic cells activity (Li et al. 2016; Li et al. 2016; Zeebaree et al. 2018).

The non-occurrence of GF and GG during HD in six and four years (Fig. 1.3a and 1.3b) indicates that high temperature with Tmax greater than 32 °C and few PP less than 1.5 mm per day can also directly and indirectly affect the animal, as well as less forage availability and occurrence of pests and diseases (Cruz et al. 2011). The highest GG probabilities were observed in HH and FD (Table 1.3). GG of 55.9% is acceptable in extensive breeding in hot climates, only 5.1% of heifers required a fourth service, impregnate them at first service reduces AI costs (Kim and Jeong 2019). Wilson et al. (1998) in Holstein heifers under heat stress from day 13 of the oestrus cycle with Tmax of 33.5 °C and RH of 60% observed a delay in the development of the preovulatory follicle from day 15 and smaller size on day 21. In Holstein cows exposed to Tmin and Tmax of 1.2 and 28.7 °C and RH of 77.7%, a 0.1 mm decrease in pre-ovulatory follicle size was observed for each 1 °C increase in temperature (Schüler et al. 2017).

In poorly developed dominant follicles, estradiol concentrations are low and LH amplitude and pulses are lower (Wilson et al. 1998; Khodaei-Motlagh et al. 2011), with increased FSH secretion (Roth et al. 2000) that affects ovulation and decreases the pregnancy rate (Khodaei-Motlagh et al. 2011). Heat stress during oocyte maturation reduces cytoplasmic events and increases the apoptosis in cumulus cells (Ahmed et al. 2017), with changes in transcriptomes (Rispoli et al. 2013), decreasing the correct expansion of cells necessary for a cytoskeleton rearrangement (Kidder et al. 2010). In *in vitro* matured oocytes, it was observed that exposure to 41 °C for 22 h, caused a greater number of amorphous pellucid zones (Báez et al. 2019). In zebu cows, oocytes obtained in a hot-dry season with a temperature of 30.1 °C and an RH of 68%, showed an *in vitro* maturation reduction of 9% (Peralta-Torres et al. 2017).

Although the Tmax was lower in the FD season (Table 1.1), GF and GG probabilities were higher in the HH season, in which the Tmax reached 32.2 °C. However, in HH the PP was much higher, the effect of low solar radiation, high precipitation and wind speed altogether can

modify the thermal environment of cattle. In addition, among other factors, in HH the high PP generates abundant forage growth with higher nutritional quality that affects positively the body condition score of the heifers. In Holstein cows water spraying decreases respiratory rate and body temperature and improves the pregnancy rate (Wolfenson et al. 1988; Chen et al. 2015). In dairy cows from intertropical and subtropical zones, heat stress induced an increase in body temperature (Vasconcelos et al. 2011; Lima et al. 2013). Vaginal temperatures higher than 40 °C for three hours, decreased the spermatozoa motility of frozen/thawed straws; in addition, its viability was reduced from 65 to 45% (Monterroso et al. 1995).

Neither the season nor the Tmax and RH in DIA affected GF and GG (Tables 1.2 and 1.3), similar to Holstein cows results (Schüller et al. 2016). The LT bull's semen had better individual and mass motility and greater number of normal sperm cells in the HD season (Villatoro et al. 2016) and could have maintained its vigor until fertilization.

Heat stress damages the embryo in the first two days of gestation (Ealy et al. 1993; Hansen and Aréchiga 1999); however, it is still unknown how it is less damaging as development progresses. Demetrio et al. (2007) observed in Holstein cows an increase of 0.1 to 0.7 in the probability of embryonic loss as body temperature increased from 38.5 to 40.5 °C on day seven after AI. In this study, the Tmax in POIA had no effect on GF or GG. Hernández-Cerón et al (2004) observed that Romosinuano female embryos had greater tolerance to heat stress than those of non adapted breeds.

The RH effect on the development and viability of bovine embryos from fertilization to blastocyst is unknown; in chicken embryos, the RH of 60 to 65% increased incubation mortality (Noiva et al. 2014). In the LT heifers with increasing 1% RH in POAI, GF and GG decreased. In hot climates, high RH makes it difficult for cattle to dissipate heat, which increase their respiratory rate (Gaughan et al. 2000), sweating and evaporation (Silanikove 2000; Berman 2011; Yan et al. 2017). RH greater than 84% during HH and FD, would able to reduce evaporation in the heifers, increase body temperature and affect the embryo in POAI.

1.6. CONCLUSION

Based on our results, HH and FD seasons are the most suitable time of year to mate the Tropical Milking criollo heifers.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical statement The manuscript contains no clinical studies or patient data.

1.7. REFERENCES

- Ahmed, J.A., Nashiruddullah, N., Dutta, D., Biswas, R.K., and Borah, P., 2017. Cell expansion and ultrastructural changes in vitro matured bovine oocytes under heat stress. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18, 203-207.
- Ahrens, D.C., 2008. *Meteorology today: an introduction to weather, climate, and the environment*. 9th ed. Cengage Learning, United States.
- AMCROLET (Asociación Mexicana de criadores de ganado Romosinuano y Lechero Tropical. A. C.), 2015. *Catálogo Criollo Lechero Tropical*. Villahermosa, Tabasco, México.
- Baez, F., Camargo, A., Reyes, A.L., Márquez, A., Paula-López, F., Viñoles, C., 2019. Time-dependent effects of heat shock on the zona pellucida ultrastructure and in vitro developmental competence of bovine oocytes. *Reproductive Biology*, 19, 195-203.
- Berman, A., 2011. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? *Journal of Dairy Science*, 94, 2147-2158.
- Bormann, J.M., Totir, L.R., Kachman, S.D., Fernando, R.L., and Wilson, D.E., 2006. Pregnancy rate and first-service conception rate in Angus heifers. *Journal of Animal Science*, 84, 2022-2025.
- Bravo, C.J.L., Azpra, R.E., Zarraluqui, S.V., Gay, G.C., and Estrada, P.F., 2012. Cluster analysis for validated climatology stations using precipitation in Mexico. *Atmósfera*, 25, 339-354.
- Breen, M.K., Billings, J.H., Wagenmaker, R.E., Wessinger, W.E., and Karsch, J.F., 2005. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. *Endocrinology*, 146, 2107-2115.
- Chen, J.M., Schütz, K.E., and Tucker, C.B., 2015. Cooling cows efficiently with sprinklers: Physiological responses to water spray. *Journal of Dairy Science*, 98, 6925-6938.
- Cruz, L.P., Hernández, G.A., Enríquez, Q.J.F., Mendoza, P.S.I., Quero, C.A.R., y Joaquín, T.B.M., 2011. Desempeño agronómico de genotipos de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick en el trópico húmedo de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34: 123-131.
- de Alba, J., 2011. *El libro de los Bovinos Criollos de América*. Ed. Colegio de Postgraduados: Biblioteca Básica de Agricultura, México.
- Demetrio, D.G.B., Santos, R.M., Demetrio, C.G.B., and Vasconcelos, J.L.M., 2007. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 5073-5082.
- Dikmen, S., and Hansen, P.J., 2009. Is the temperature-humidity index the best indicator of the heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *Journal of Dairy Science*, 92, 109-116.

- Dokmanic, I., Parhizkar, R., Ranieri, J., and Vetterli, M., 2015. Euclidean distance matrices: essential theory, algorithms, and applications. *IEEE Signal Processing Magazine*, 32, 12-30.
- Donovan, G.A., Bennett, F.L., and Springer, F.S., 2003. Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous Holstein Heifers. *Theriogenology*, 60, 67-75.
- Ealy, A.D., Drost, M., and Hansen, P.J., 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *Journal of Dairy Science*, 76, 2899-2905.
- García, E., 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. Instituto de Geografía. 5ta ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Bech-Sabat, G., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C., De Rensis, F., and López-Béjar, M., 2007. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology*, 67, 1379-1385.
- Gaughan, J.B., Holt, S.M., Hahn, G.L., Mader, T.L., and Eigenberg, R., 2000. Respiration rate- Is it a good measure of heat stress in cattle? *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 13, 329-332.
- González-Cerón, F., Becerril-Pérez, C.M., Torres-Hernández, G., Díaz-Rivera, P., Santellano-Estrada, E., y Rosendo-Ponce, A., 2009. Infestación natural por *Amblyomma cajennense* y *Boophilus microplus* en bovinos criollo Lechero Tropical durante la época de lluvias. *Agrociencia*, 43, 577-584.
- Hansen, P.J., 2019. Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: implications for fertility and assisted reproduction. *Animal Reproduction*, 16, 497-507.
- Hansen, P.J., and Aréchiga, C.F., 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *Journal of Animal Science*, 77(Suppl. 2), 36-50.
- Hernández-Cerón, J., Chase Jr, C.C., and Hansen, P.J., 2004. Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano, and Angus breeds. *Journal of Dairy Science*, 87, 53-58.
- Hoffmann, I., 2010. Climate change and the characterization, breeding and conservation of animal genetics resources. *Animal Genetics*, 41 (Suppl.1), 32-46.
- INIFAP (Laboratorio Nacional de Modelaje y Sensores Remotos), 2018. Datos históricos climatológicos, 2000 – 2013, del estado de Veracruz, México. <http://clima.inifap.gob.mx/lnmysr>.
- Khodaei-Motlagh, M., Shahneh, A.Z., Masoumi, R., and Derensis, F., 2011. Alterations in reproductive hormones during heat stress in dairy cattle. *African Journal of Biotechnology*, 10, 5552-5558.
- Kidder, M.G., and Vanderhyden, B.C., 2010. Bidirectional communication between oocytes and follicle cells: ensuring oocyte developmental competence. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 88, 399-413.

- Kim, H.I, and Jeong., J.K., 2019. Risk factors limiting first service conception rate in dairy cows and their economic impact. *Asian-Australas Journal of Animal Science*, 32, 519-526.
- Li, L., Wu, J., Luo, M., Sun, Y., and Wang, G., 2016. The effect of heat stress on gene expressions, síntesis of steroids, and apoptosis in bovine granulosa cells. *Cell Stress and Chaperones*, 21, 467-475.
- Li, J., Gao, H., Tian, Z., Wu, Y., Wang, Y., Fang, Y., Li, L., Han, Y., Wu, S., Haq, I., and Zeng, S., 2016. Effects of chronic heat stress on granulosa cell apoptosis and follicular atresia in mouse ovary. *Journal of Animal Science and Biotechnolgy*, 7, 57.
- Lima, I.A., Azevedo, M., Borges, C.R.A., Ferreira, M.A., Guim, A., and Almeida, G.L.P., 2013. Thermorregulation of Girolando cows during summer time, in Pernambuco state, Brasil. *Acta Scientiarum, Maringá*, 35, 193-199.
- Minton, E.J., 1994. Function of the hipotalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *Journal of Animal Science*, 72, 1891-1898.
- Monterroso, V.H., Drury, K.C., Ealy, A.D., Edwards, J.L., and Hansen, P.J., 1995. Effect of heat shock on function of frozen/thawed bull spermatozoa. *Theriogenology*, 44, 947-961.
- Nabenishi, H., Ohta, H., Nishimoto, T., Morita, T., Ashizawa, K., and Tsuzuki, Y., 2011. Effect of the temperature-humidity index on body temperature and conception rate of lactating dairy cows in south western Japan. *Journal of Reproduction and Development*, 57, 450-456.
- Noiva, M.R., Menezes, C.A., and Peleteiro, C.M., 2014. Influence of temperature and humidity manipulation on chicken embryonic development. *BMC Veterinary Research*, 10, 234.
- Oakley, E.A., Breen, M.K., Clarke, J.I., Kasch, J.F., Wagenmaker, R.E., and Tilbrook, J.A., 2009. Cortisol reduces gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in follicular pase ewes: influence of ovarian steroids. *Neuroendocrinology*, 150, 341-349.
- Peralta-Torres, J. A., Aké-López, J.E., Segura-Correa, J.C., and Aké-Villanueva, J.R., 2017. Effect of season on follicular population, quality and nuclear maturation of bovine oocytes under tropical conditions. *Animal Reproduction Science*, 187, 47-53.
- R (R Core Team). 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rencher, A.C., 2002. *Methods of multivariate analysis*, 2nd ed. John Wiley & Sons Inc., United States.
- Rispoli, L. A., Payton, R.R., Gondro, G., Saxton, A.M., Nagle, K.A., Jenkins, B.W., F. Schrick, F.N., and Eduards, J.L., 2013. Heat stress effects on the cumulus cells surrounding the bovine oocyte during maturation: aletered matrix metallopeptidase 9 and progesterone production. *Reproduction*, 146, 193-207.

- Rosendo-Ponce A., y Becerril-Pérez, C.M., 2015. Avance en el conocimiento del bovino criollo lechero tropical de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2, 233-243.
- Roth, Z., Meidan, R., Braw-Tal, R., and Wolfenson, D., 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 120, 83-90.
- SAS (Statistical Analysis System), 2010. User's Guide: Statistic, Version 9.4 for Windows. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Schüller, L.K., Burfeind, O., and Heuwieser, W., 2016. Effect of short- and long-term heat stress on the conception risk of dairy cows under natural services and artificial insemination breeding programs. *Journal of Dairy Science*, 99, 2996-3002.
- Schüller, L.K., Michaelis, I., and Heuwieser, W., 2017. Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows. *Theriogenology*, 102, 48-53.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional), 2018. Consulta de base de datos 2000 – 2013. Sistema de información climatológica y geográfica del estado de Veracruz, México. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>.
- Silanikove, N., 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, 67, 1-18.
- Silva, R.G., Morais, D.A.E.F., and Guilhermino, M.M., 2007. Evaluation of thermal stress indexes for dairy cows in tropical regions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36, 1192-1198.
- Trewin, B., 2014. The climatics of the tropics and how they are changing. In: Harding, S., McComiskie, R., Wolff, M., Trewing, D., and S. Hunter. (Eds). *State of the tropics*. 2014. Report. James Cook University. Cairns, Australia.
- Vanselow, J., Vernunft, A., Koczan, D., Spitschak, M., and Kuhla, B., 2016. Exposure of lactating dairy cows to acute pre-ovulatory heat stress affect granulosa cell-specific gene expresión profiles in dominant follicles. *PloS ONE*, 11. e0160600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160600>.
- Vasconcelos, J.L.M., Cooke, R.F., Jardina, D.T.G., Aragon, F.L., Veras, M.B., Soriano, S., Sobreira, N., and Scarpa, A.B., 2011. Associations among milk production and rectal temperature on pregnancy maintenance in lactating recipient dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 127, 140-147.
- Villatoro, S.R.J., Rosendo, P.A., Canseco, S.R., Cortez, R.C., Torres, H.G., Rosales, M.F., and Becerril, P.C.M., 2016. Seminal characteristics of Tropical Milking bulls in two seasons in Veracruz, México. *Zootecnia Tropical*, 34, 301-308.
- Wathes, D.C., Pollott, G.E., Johnson, K.F., Richardson, H., and Cooke, J.S., 2014. Heifer fertility and carry over consequences for life time production in dairy and beef cattle. *Animal*, 8, 91-104.

- Wilson, S.J., Kirby, C.J., Koenigsfeld, A.T., Keisler, D.H., and Lucy, M.C., 1998. Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *Journal of Dairy Science*, 81, 2132-2138.
- Wolfenson, D., Flamenbaum, I., and Berman, A., 1988. Hypertermia and body energy store effects on oestrus behavior, conception rate, and corpus luteum function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71, 3497-3504.
- Yan, X., Qing-Shi, M., Jie, G., Xian-Fang, T., and Hong-Fu, Z., 2017. Effects of relative humidity on animal health and welfare. *Journal of Integrative Agriculture*, 16, 1653-1658.
- Zavala-Hidalgo, J., Romero-Centeno, R., and Mateos-Jasso, A., 2014. The response of the Gulf of Mexico to wind and heat flux forcing: What has been learned in recent years? *Atmósfera*, 27, 317-334.
- Zeebaree, K. B., Kwong, W.Y., Mann, G.E., Gutierrez, C.G., and Sinclair, K.D., 2018. Physiological response of cultured bovine granulosa cells to elevated temperatures under low and high oxygen in the presence of different concentrations of melatonin. *Theriogenology*, 105, 107-114.

CAPÍTULO II. ESTACIONALIDAD, TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA EN RELACIÓN AL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS CRIOLLAS LECHERO TROPICAL EN VERACRUZ, MÉXICO

2.1. RESUMEN

La variación en el clima observada en años recientes en Veracruz afecta la reproducción de los bovinos. El objetivo del estudio fue conocer el efecto de año, estación con la temperatura máxima (Tmax) y humedad relativa (HR) de siete días previos (PRIA), el día realizado (DIA) y siete días posteriores del servicio de IA (PRIA), número de servicio (NS) y número de parto (NP) en la gestación (GE), servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) de vacas Lechero Tropical (LT). El estudio se realizó en tres estaciones del año: caliente-seca, caliente-húmeda y fresca-seca, durante catorce años, en Veracruz, México. Se utilizaron 960 registros de servicios de IA de 172 vacas LT. Se evaluó la GE, los SC y la FE, incluyendo en el modelo el NS y NP, además del efecto de la Tmax y HR medias de PRIA, DIA y POIA. GE se analizó con una distribución binomial de enlace logit, con el procedimiento PROC GLIMMIX. SC y FE se analizaron con el procedimiento GENMOD. No se observó efecto de la estación, la Tmax ni HR en ninguna variable de respuesta ($p > 0.05$). Se observó efecto de año, NS y NP en GE ($p \leq 0.001$, $p \leq 0.04$, ≤ 0.04). De igual forma el año afectó SC ($p \leq 0.05$) y FE ($p \leq 0.05$) pero no el NP ($p > 0.05$). De acuerdo a los resultados observados, las vacas LT manifiestan alta capacidad reproductiva en las condiciones de clima cálido subhúmedo de Veracruz.

Palabras clave Gestación. Inseminación artificial. Razas adaptadas. Recursos genéticos. Zona intertropical

2.2. INTRODUCCIÓN

Aproximadamente la mitad del territorio mexicano se encuentra localizado dentro de la zona intertropical. En los últimos años en Veracruz, vertiente del Golfo de México, se ha observado mayor variación climática, la precipitación pluvial se concentra en periodos más cortos, con eventuales inundaciones y el periodo de sequía se ha prolongado con temperaturas máximas (Tmax) superiores de 34 °C (Fuentes-Franco et al., 2014; SMN, 2020); de octubre a marzo, ocurren vientos fríos provenientes de latitudes polares cada vez más variables que provocan descensos repentinos de temperatura (Zavala-Hidalgo et al. 2014). La variación del clima induce diferentes estaciones que inciden en la disponibilidad de forrajes y ocurrencia de parásitos y enfermedades, entre otros factores (Cruz et al. 2011; González-Cerón et al., 2009; Rosales-Martínez et al. 2020).

La ganadería en Veracruz se basa en el pastoreo extensivo, donde los bovinos están más expuestos a los diferentes factores climáticos a través de los años y estaciones con Tmax

mayores a 34 °C y humedad relativa (HR) de 84%; el estrés calórico es un factor importante que afecta la fertilidad del ganado (Wolfenson y Roth, 2019).

Se han realizado estudios para conocer el efecto del estrés calórico en días previos a la IA en vacas lecheras de clima templado y se ha observado que la Tmax y HR han afectado la dominancia del folículo preovulatorio, reduciendo su crecimiento por bajas concentraciones de estradiol, menor intensidad y duración de la manifestación de estros y bajas tasas de ovulación (Schûler et al., 2017; Wolfenson y Roth, 2019). Tmax y HR altas al momento de la IA, inducen aumento en la temperatura corporal y vaginal de las hembras, lo cual afecta la viabilidad y motilidad de los espermatozoides en el tracto reproductivo (Monterroso et al. 1995). Además, se ha observado que en los días posteriores a la IA, los embriones son sensibles al estrés calórico y ocurre mayor muerte embrionaria (Hansen, 2019; Sakatani, 2017).

La raza criolla Lechero Tropical (LT), es un *Bos taurus* naturalizada y adaptada a climas cálidos, que descende de los bovinos introducidos al Nuevo Mundo por los conquistadores castellanos en el siglo XV (de Alba, 2011; Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez, 2015). El objetivo del estudio fue conocer el efecto de año, estación con la Tmax y HR de siete días previos, el día realizado y siete días posteriores del servicio de IA, número de servicio y número de parto en la gestación, servicios por concepción y fertilidad de vacas criollas Lechero Tropical.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Características de las estaciones del año

El estudio se realizó en tres estaciones climáticas con Tmax y HR a saber: caliente-seca (CS, marzo-mayo, 31.6 ± 1.0 °C y $77.2 \pm 1.1\%$), caliente-húmeda (CH, junio-octubre, 31.4 ± 0.4 °C y $84.7 \pm 1.0\%$) y fresca-seca (FS, noviembre-febrero, 26.8 ± 0.5 °C y $84.6 \pm 0.3\%$; Rosales-Martínez et al. 2020, en proceso) en Veracruz, México, a 19° 11' N y 96° 20' O, a 23 msnm, con temperatura y precipitación medias anuales de 24.8 °C y 1,525.8 mm (INIFAP 2018; SMN 2020). El clima de la región es AW₀ (w)(i')gw'', caliente subhúmedo con lluvias en verano (García 2004).

Manejo de las vacas y fuente de datos

La alimentación de las vacas se realizó en pastoreo de pará (*Brachiaria mutica* Forssk) y grama nativa (*Paspalum spp*); el ordeño fue manual, una vez al día por la mañana, con presencia del becerro. Los estros se detectaron diariamente, durante todo el año, con apoyo de un toro celador. La IA se realizó 12 h después de detectado el estro, con pajillas de sementales LT con 25 millones de espermatozoides (0.5 mL) y motilidad individual progresiva mayor de 60%. El diagnóstico de gestación se efectuó por palpación transrectal 45-55 d después de realizada la

IA (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez, 2015). Se estudio la gestación (GE, %), con respuesta de éxito y fracaso, servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE=1/SC).

Los datos fueron de 14 años (2000 – 2013) de vacas de 82.12 ± 1.15 meses de edad. El estudio se realizó con dos bases de datos. Para GE se utilizaron 960 registros de 172 vacas, registrando la estación en la cual ocurrió la gestación de cada vaca; sin embargo, para SC y FE se utilizaron 336 (35%) registros de 150 vacas, ya que para estas variables se consideraron exclusivamente vacas con servicios y gestaciones en la misma estación.

Analisis estadístico

Para el estudio de GE en el modelo se incluyeron como variables independientes el año, estación y Tmax y HR siete días previos al servicio de IA (PRIA), cuando ocurre la dominancia del folículo preovulatorio (Wilson et al. 1998), el día del servicio de IA (DIA), cuando incrementa la temperatura uterina y se reduce la capacidad fecundante del espermatozoide (Monterroso et al. 1995) y siete días posteriores a la IA (POIA), cuando los embriones presentan sensibilidad al estrés calórico (Hansen, 2019), además el número de servicio de IA (NS) y el número de parto (NP).

El modelo estadístico utilizado fue:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + E_j + S_k + P_l + \beta_1(x_{1ijkl} - \bar{x}_{1\dots}) + \beta_2(x_{2ijkl} - \bar{x}_{2\dots}) + \epsilon_{ijkl} \text{ donde;}$$

μ = Constante que caracteriza a la población.

A_i = Efecto del i-ésimo año. $i = 1-14$.

E_j = Efecto de la j-ésima estación del año. $j = 1$ caliente-seca, 2 caliente-húmeda y 3 fresca-seca.

S_k = Efecto del k-ésimo número de servicio. $1-5$.

P_l = Efecto del l-ésimo número de parto. $1-7$.

β_1 = Coeficiente de regresión que relaciona las temperaturas máximas medias con la variable de respuesta.

x_{1ijkl} = Media de la temperatura máxima observada en la estación del año i-ésima ocurrida durante la inseminación de la vaca j-ésima.

$\bar{x}_{1\dots}$ = Media de las temperaturas máximas medias.

β_2 = Coeficiente de regresión que relaciona las humedades relativas medias con la variable de respuesta.

x_{2ijkl} = Media de la humedad relativa observada en la estación del año i-ésima ocurrida durante la inseminación de la vaca j-ésima.

$\bar{x}_{2\dots}$ = Media de las humedades relativas medias.

ϵ_{ijkl} = Error aleatorio. $\epsilon_{ijkl} \sim B(n, p)$.

Se utilizó un modelo lineal generalizado. La variable GE se analizó con una distribución binomial con función de enlace logit con el procedimiento PROC GLIMMIX. SC y FE se analizaron con el procedimiento GENMOD del SAS (SAS 9.4 2010). La producción de leche acumulada no se incluyó en el modelo al no tener efecto significativo.

2.4. RESULTADOS

No se observó efecto de la estación en alguna de las variables de respuesta ($p > 0.05$); ni tampoco de la Tmax, ni HR en los tres periodos de PRIA, DIA y POIA ($p > 0.05$). Vale decir que la ocurrencia de estros por estación fue en CS 234 (24.4%), CH 485 (50.5%) y FS 241 (25.1%).

Gestación

El año afectó GE ($p \leq 0.001$), su intervalo en catorce años fue de [0.36, 0.67], la máxima observada fue casi dos veces la mínima, con la mayor frecuencia de cinco años entre [.50, .59], sin observarse alguna tendencia; la GE global fue de 0.51 ± 0.02 . GE por estación fue muy similar con valores de CS 0.49 ± 0.04 , CH 0.51 ± 0.03 y FS 0.53 ± 0.04 ($p > 0.05$). Las mayores GE se observaron al tercero y quinto servicio 0.59 ± 0.05^a 0.62 ± 0.07^a , y en el primero y segundo de 0.47 ± 0.03^b y 0.48 ± 0.04^b ($p \leq 0.05$).

Se observó efecto del NP en GE ($p \leq 0.04$). La mayor gestación ocurrió al tercer parto, 0.60 ± 0.05 , con valores cercanos al cuarto 0.58 ± 0.05^a y quinto 0.56 ± 0.06^{ab} , intermedios al primero y segundo con 0.53 ± 0.04^b y menores al sexto y séptimo 0.40 ± 0.06^c , 33% menor al tercer parto.

Servicios por concepción y fertilidad

En las vacas que se gestaron en la misma estación de servicios, el año también afectó SC y FE ($p \leq 0.05$). SC fue inferior de 2.0 en todos los años, inclusive de 1.1; el número de SC global fue 1.3 ± 0.3 . La FE varió de [0.60, 0.90] y la global estimada fue 0.79 ± 0.26 (Cuadro 2.1). En las tres estaciones SC fue menor de 1.5 y la fertilidad superior de .75 (Cuadro 2.2) ($p > 0.05$).

Cuadro 2.1 Servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) de vacas criollas Lechero Tropical en Veracruz, México durante catorce años

Año	Variable de respuesta	
	SC	FE (%)
1	1.4 ± 0.2^b	0.85 ± 0.33^b
2	1.4 ± 0.2^b	0.80 ± 0.27^b
3	1.8 ± 0.2^c	0.75 ± 0.23^d
4	1.1 ± 0.2^a	0.95 ± 0.37^a

5	1.0 ± 0.3 ^a	1.0 ± 0.50 ^a
6	1.5 ± 0.2 ^a	0.82 ± 0.28 ^c
7	1.3 ± 0.1 ^{ab}	0.88 ± 0.16 ^b
8	1.5 ± 0.1 ^b	0.77 ± 0.14 ^c
9	1.5 ± 0.1 ^b	0.82 ± 0.15 ^c
10	1.0 ± 0.1 ^a	0.98 ± 0.23 ^a
11	1.4 ± 0.1 ^b	0.82 ± 0.15 ^b
12	1.1 ± 0.1 ^a	0.92 ± 0.20 ^a
13	1.3 ± 0.1 ^{ab}	0.86 ± 0.15 ^b
14	1.2 ± 0.1 ^a	0.89 ± 0.17 ^a

^{a,b,c}. Diferente literal por fila indica diferencia estadística ($p < 0.03$).

Cuadro 2.2 Servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) de vacas Lechero Tropical en tres estaciones del año

Estación	Variable de respuesta	
	SC	FE (%)
Caliente-seca (CS)	1.3 ± 0.8	0.85 ± 0.03
Caliente-húmeda (CH)	1.4 ± 0.6	0.84 ± 0.02
Fresca-seca (FS)	1.2 ± 0.8	0.90 ± 0.03

Del total de vacas 52% quedaron gestantes al primer servicio, 24.8% al segundo, 12.3% al tercero, 5.1% al cuarto y 5.8% al quinto servicio.

No se observó efecto de NP en SC y FE ($p > 0.05$; Cuadro 2.3). SC fue inferior de 1.6 en todos los partos. Aunque NP no afectó SC se observó un incremento de 0.4 en el séptimo parto (1.6 ± 0.2) con respecto al primero (1.2 ± 0.1). Si bien NP tampoco afectó FE, esta fue superior de 0.75, excepto en el séptimo parto.

Cuadro 2.3 Servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE) del primero al séptimo parto de vacas Lechero Tropical en Veracruz, México

Número de parto	Variable de respuesta	
	SC	FE (%)
1	1.2 ± 0.1	0.90 ± 0.03
2	1.2 ± 0.1	0.89 ± 0.03
3	1.3 ± 0.1	0.89 ± 0.03
4	1.3 ± 0.1	0.89 ± 0.03

5	1.2 ± 0.1	0.90 ± 0.04
6	1.4 ± 0.1	0.82 ± 0.05
7	1.6 ± 0.2	0.78 ± 0.05

2.5. DISCUSIÓN

Los bovinos son homeotermos con temperatura media corporal de 38.5 ± 0.5 °C; temperaturas corporales superiores indican estrés calórico (Henry et al. 2012). En climas cálidos tropicales la GE está influida por cambios ambientales a través de los años, principalmente relacionados a efectos directos de altas temperaturas y humedad relativa e indirectos a la disponibilidad de forraje, agua (Bernabucci, 2019; Rust, 2019) e incidencia de parásitos (González-Cerón et al. 2009) que afectan la fisiología reproductiva de hembras y machos (Khodaei-Motlagh et al. 2011).

Aunque no se observó efecto de la estación en la GE de las vacas LT, en vaquillas nulíparas si fue significativa (Rosales-Martínez et al. 2020, en proceso), que pudiera estar relacionada a la capacidad de las vacas para regular su temperatura y resistir efectos adversos del ambiente al aumentar la edad; en un ambiente subtropical se observó mayor tolerancia al estrés calórico en embriones de la raza criolla Romosinuano en comparación de las Holstein y Angus (Hernández-Cerón et al. 2004).

Son muchos los factores que afectan la GE en vacas lecheras. En este estudio, se observó efecto del NS en la GE de las LT, observándose las probabilidades más altas en el quinto servicio (0.62 ± 0.07). Sin embargo, es deseable gestar las vacas al primer servicio de IA, ya que disminuye los costos de detección de estros, las dosis de semen, el servicio técnico y las hembras tienen mayor oportunidad de gestarse en el siguiente año (Borman et al. 2006).

Se ha observado que en vacas lecheras la GE disminuye a medida que aumenta el NP (Balendran et al. 2008). En este estudio, las GE más altas se observaron en los primeros cinco partos y las más bajas en el sexto y séptimo. Khan et al. (2015) en vacas *Bos indicus* y sus cruces Holstein Friesian y Sahiwal observaron una disminución en la GE de 15.79 en el tercer parto a 1.50 en el séptimo. Sin embargo, Segura et al. (2017) en vacas *Bos indicus* (Nelore, Brahman y Guzerat) del Sureste de México, reportaron un incremento de 35.1 a 81.7 % a medida que NP se incrementó de 1 a 7. La disminución en GE al aumentar el NP en las hembras bovinas puede atribuirse a que por cada parto las vacas manifiestan más estros y la cantidad de folículos disponibles en la reserva folicular se hace cada vez menor, además de modificaciones hormonales y en algunos casos problemas en el tracto reproductivo, con lo cual disminuyen las probabilidades de GE (Balendran et al. 2008).

La mayoría de los SC fueron aún inferiores a 1.7 (Cuadro 2.1) considerado como óptimo para vacas Holstein de México (Ortíz et al. 2005) y en algunos años cercanos a 1.0. Más de 2.5 SC ha sido considerado un indicador de problemas reproductivos (Ortíz et al. 2005); la media global de 1.3 SC de las vacas criollas LT es menor a los 1.57 SC observados en un estudio previo con la raza LT (Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez, 2002) y a los 1.39 SC observados por Quijano y Montoya (2003) en vacas criollas Blanco Oreginegro de Colombia, lo cual es indicativo de buena fertilidad, a pesar de producir en sistemas extensivos de pastoreo y sin suplementación. En concordancia, la FE observada a través de los años fue alta y hasta 0.90 (Cuadro 2.1), que confirman la adaptación de las vacas LT a climas cálidos tropicales.

Una intensa selección genética para producción de leche, entre otros factores, en vacas alto productoras de climas templados ha disminuido su fertilidad (Berman et al. 1985; Royal et al. 2008). Las vacas LT producen bajo condiciones climáticas adversas, se alimentan básicamente del pastoreo y se ordeñan a mano una vez al día por la mañana en presencia del becerro, su producción de leche es moderada de 1,200 – 1,500 kg por lactancia (Rosendo y Becerril, 2015; Santellano-Estrada et al. 2011), aunque con contenido de sólidos superior de 12% (Becerril-Pérez et al. 2020); este nivel de producción no incide en la capacidad de las vacas para poder gestarse una vez reiniciado su ciclo estral, el cual puede retrasarse por el ordeño con la presencia y amamantamiento del becerro y una deficiente alimentación cuando la disponibilidad de pasto es baja.

No se observó efecto de la estación, ni Tmax y HR en SC y FE en las vacas LT (Cuadro 2.2). En vaquillas Brahman y mestizas Brahman x Simmental se observó mayor población folicular, diámetro del cuerpo lúteo y mayor fertilidad en la estación Caliente-húmeda (Peralta-Torres et al. 2017). Las vacas lecheras de regiones templadas han perdido su habilidad de termorregulación cuando son expuestas a estrés calórico (Berman et al. 1985). Los SC de las vacas LT fueron similares entre estaciones, a diferencia de vacas Holstein en el clima subtropical de Taiwan con SC de 1.56 ± 0.29 en enero y 2.53 ± 0.24 SC en agosto con temperaturas de 12.21 y 32.81 °C (Wen-Bor et al. 2018) y en Egipto de 1.84 ± 0.91 , 1.60 ± 0.75 , 1.48 ± 0.76 y 1.29 ± 0.57 en primavera, verano, otoño e invierno (Elmetwally et al 2016). Características corporales que pueden favorecer la adaptación y el comportamiento reproductivo de las LT en condiciones climáticas adversas de altas temperaturas incluyen su tamaño mediano, pelo corto y sedoso, piel gruesa y pigmentada y el color de capa bayo a rojo que les permite tolerar intensas radiaciones solares (de Alba, 2011). En vacas Holstein en un clima cálido tropical de Brasil, el número de SC estuvo relacionado al color del manto y al largo y densidad de pelo (Bertipaglia et al. 2005). En toros adultos LT la estación del año no

tuvo efecto en diversas características espermáticas y aún mayor motilidad espermática, individual y masal en la estación caliente-seca (Villatoro et al. 2016); la evidencia muestra que tanto hembras como machos LT pueden mantener su comportamiento reproductivo a través de las estaciones del año.

Los SC en este estudio fueron muy bajos y similares en todos los partos, con un ligero incremento de 0.1 en el sexto y 0.3 en el séptimo parto ($p>0.05$) (Cuadro 2.3). Se ha reportado que las razas criollas como la LT son longevas, encontrándose ejemplares con más de 20 años de edad y con excelente fertilidad (de Alba, 2011), condición que no se presenta en genotipos desadaptados originados en regiones templadas y mantenidos en regiones tropicales. Bertipaglia et al. (2005) en vacas Holstein de Brasil observaron que a medida que NP aumentó, los SC se incrementaron de 1.87 en el primer parto a 3.6 en vacas con más de cinco partos.

Es sabido que la baja FE del hato lechero reduce la rentabilidad de la empresa ganadera; la alta FE de las vacas LT gestadas en la misma estación, superior de 0.75 en las tres estaciones, indica la capacidad de esta raza para reproducirse en ambientes cambiantes y desfavorables (Cuadro 2.2), producto de sus procesos de adaptación y naturalización por más de 500 años (O'Neill et al. 2010).

De igual forma, la FE en este estudio fue similar en todos los partos (Cuadro 2.3), por lo que las vacas LT pueden mantenerse en producción aún después de siete partos, sin necesidad de ser reemplazadas por problemas reproductivos. Balendran et al. (2008) observaron en vacas Holstein de Canadá una disminución del 20% en FE a medida que NP se incrementó de 1 a 4. Es preferible mantener la fertilidad de las vacas en producción por varios años, a costear los gastos de crianza de un mayor número de vaquillas de reemplazo que tendrán una vida productiva reducida (Whathes et al. 2014).

2.6. CONCLUSIONES

El año tuvo efecto en la gestación, servicios por concepción y fertilidad. Ni la estación, la Tmax ni HR tuvieron efecto en ninguna variable de respuesta. Sin embargo, el número de servicio afectó la gestación. Se observó efecto del número de parto en gestación, pero no en servicios por concepción y fertilidad. De acuerdo a los resultados observados, las vacas LT manifiestan alta capacidad reproductiva bajo condiciones de clima cálido subhúmedo de Veracruz.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses

Declaración de ética

El manuscrito no contiene estudios clínicos ni datos de pacientes.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca para estudios doctorales del primer autor. Con gratitud al campus Veracruz, del Colegio de Postgraduados por los datos disponibles y a la colaboración del Rancho Huilango, de Cotaxtla, Veracruz por la disponibilidad de espacios y ganado.

2.7. REFERENCIAS

- Balendran, A., Gordon, M., Pretheeban, T., Singh, R., Perera, R., and Rajamahedran, R., 2008. Decreased fertility with increasing parity in lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Sciences*, 88, 425-428.
- Becerril-Pérez, C.M., Álvarez-Cepeda, A.A., Rosendo-Ponce, A., Alonso-Morales, R.A., Gayosso-Vázquez, A., Torres-Hernández, G., and Rosales-Martínez, F., 2020. Kappa-casein genotyping in tropical milking criollo and its association to milk production and composition. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 3885-3888.
- Berman, A., Folkman, Y., Kaim, M., Mamen, M., Herz, Z., Wolfenson, D., Arieli, A., Graber, Y., 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical environments. *Journal of Dairy Science*, 68, 1488-1495.
- Bernabucci, U., 2019. Climate change: impact on livestock and how can we adapt. *Animal Frontiers*, 9, doi:10.1093/af/vfy039.
- Bertipaglia, E.C.A., Silva, R.G., Maia, A.S.C., 2005. Fertility and hair coat characteristics of Holstein cows in a tropical environment. *Animal Reproduction*, 2, 187-194.
- Borman, J.M., Totir, L.R., Kachman, S.D., Fernando, R.L., and Wilson, D.E., 2006. Pregnancy rate and first service conception rate in Angus heifers. *Journal of Animal Science*, 84, 2022-2025.
- Cruz, L.P., Hernández, G.A., Enríquez, Q.J.F., Mendoza, P.S.I., Quero, C.A.R., Joaquín, T.B.M., 2011. Desempeño agronómico de genotipos de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickt en al trópico húmedo de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34, 123-131.
- de Alba, J., 2011. *El libro de los Bovinos Criollos de América*. Ed. Colegio de Postgraduados: Biblioteca Básica de Agricultura, México.
- Elmetwally, M., AMontaser, Nelsadany, WBedir, MHussein, and SZaabel., 2016. Effects of parity on postpartum fertility parameters in Holstein dairy cows. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 9, 91-99.
- Fuentes-Franco, R., Coppola, E., Giorgi, F., Pavia, G.E., Diro, T.G., Graef, F., 2015. Inter-annual variability of precipitation over Southern Mexico and Central America and its relationship to sea surface temperatura from a set of future projections from CMIP5 GCMs and RegCM4 CORDEX simulations. *Climate. Dynamics*. 45, 425-440. <https://doi.org/10.1007/s00382-014-2258-6>.
- García, E., 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. Instituto de Geografía. 5ta ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

- González-Cerón, F., Becerril-Pérez, C.M., Torres-Hernández, G., Díaz-Rivera, P., Santellano-Estrada, E., y Rosendo-Ponce, A., 2009. Infestación natural por *Amblyomma cajennense* y *Boophilus microplus* en bovinos criollo Lechero Tropical durante la época de lluvias. *Agrociencia*, 43, 577-584.
- Hansen, P.J., 2019. Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: implications for fertility and assisted reproduction. *Animal Reproduction*, 16, 497-507.
- Henry, B., Charmley, E., Eckard, R., Gaughan, J.B., and Hegarty, R., 2012. Livestock production in a changing climate: adaptation and mitigation research in Australia. *Crop Pasture Science*, 63, 191-202.
- Hernández-Cerón, J., Chase Jr, C.C., and Hansen, P.J., 2004. Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano, and Angus breeds. *Journal of Dairy Science*, 87, 53-58.
- INIFAP (Laboratorio Nacional de Modelaje y Sensores Remotos), 2018. Datos históricos climatológicos, 2000 – 2013, del estado de Veracruz, México. <http://clima.inifap.gob.mx/lnmysr>.
- Khan, M.R.K., Uddin, J., and Gofur, Md.R., 2015. Effect of age, parity and bree don conception rate and number of service per conception in artificially inseminated cows. *Bangladesh Livestock Journal*, 1, 1-4.
- Khodaei-Motlagh, M., Zare, S.A., Masoumi, R., and Derensis, F., 2011. Alterations in reproductive hormones during heat stress in dairy cattle. *African Journal of Biotechnology*, 10, 5552-5558.
- Monterroso, V.H., Drury, K.C., Ealy, A.D., Edwards, J.L., and Hansen, P.J., 1995. Effect of heat shock on function of frozen/thawed bull spermatozoa. *Theriogenology*, 44, 947-961.
- O'Neill, J.C., Swain, L.D., and Kadarmideen, N.H., 2010. Evolutionary process of *Bos taurus* cattle in favourable versus unfavourable environments and its implications for genetic selection. *Evolutionary Applications*, 5-6, 422-433.
- Ortíz, S.J.A., García, T.O., y Morales, T.G., 2005. Manual de manejo de bovinos productores de leche. Colegio de Postgraduados y Secretaría de la Reforma Agraria. México. 53 p.
- Peralta-Torres, J.A., Aké-López, J.R., Centurión-Castro, F.G., y Segura-Correa, J.C., 2017. Effect of season and breed group on the follicular population and cyclicity of heifers under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 49, 207-211.
- Quijano, B.H.J., y Montoya, S.C., 2003. Comparación reproductiva de vacas Holstein, BON y F1 Bon x Holstein en el centro Paysandú, 2. Edad al primer parto, intervalo entre partos, días abiertos y servicios por concepción. *Revista de la Facultad Nacional de Medellín*, 56, 1877-1886.
- Rosendo-Ponce, A., and Becerril-Pérez, CM., 2002. Productive performance and genetic parameters in the Tropical Milking Criollo cattle in Mexico. Proceed: 7th. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, Montpellier, France. Communication 25-25.

- Rosendo-Ponce, A., Becerril-Pérez, C.M., 2015. Avance en el conocimiento del bovino criollo lechero tropical de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2, 233-243.
- Royal, M.D., Smith, R.F., and Friggens, N.C., 2008. Fertility in dairy cows: bridging the gaps. *Animal*, 2, 1101-1103.
- Rust, J.M., 2019. The impact of climate change on extensive and intensive livestock production systems. *Animal Frontiers*, 9(1), doi:10.1093/af/vfy028.
- Sakatani, M., 2017. Effects of heat stress on bovine preimplantation embryos produced in vitro. *Journal of Reproduction and Development*, 63, 347-352. <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-045>.
- Santellano-Estrada, E., Becerril-Pérez, C.M., Mei-Chang, Y., Gianola, D., Torres-Hernández, G., Ramírez-Valverde, R., Domínguez-Vivieros, J., y Rosendo-Ponce, A., 2011. Caracterización de la lactancia y evaluación genética del ganado criollo lechero tropical utilizando un modelo de regresión aleatoria. *Agrociencia*, 45, 165-175.
- SAS (Statistical Analysis System), 2010. User's Guide: Statistic, Version 9.4 for Windows. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Segura, C.J.C., Magaña, M.J.G., Ake, L.J.R., and Segura, C.V.M., 2017. Season and parity number influence the conception rate of zebu breed cows in South-eastern Mexico. *Livestock Research for Rural Development*, 29, <http://www.lrrd.org/lrrd29/11/jose29215.html>.
- Schuller, K.L., Michaelis, I., Heuwieser, 2017. Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrous under field conditions in dairy cows. *Theriogenology*, 102, 48-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.004>.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional), 2020. Consulta de base de datos 2000 – 2013. Sistema de información climatológica y geográfica del estado de Veracruz, México. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>.
- Villatoro, S.R.J., Rosendo, P.A., Canseco, S.R., Cortez, R.C., Torres, H.G., Rosales, M.F., and Becerril, P.C.M., 2016. Seminal characteristics of Tropical Milking bulls in two seasons in Veracruz, México. *Zootecnia Tropical*, 34, 301-308.
- Wathes, D.C., Pollott, G.E., Johnson, K.F., Richardson, H., and Cooke, J.S., 2014. Heifer fertility and carry over consequences for life time production in dairy and beef cattle. *Animal*, 8, 91-104.
- Wen-Bor, L., Huo-Cheng, P., Chien-Kai, W., Mancova, C.M., Chih-Feng, C., and Hsin-I, C., 2018. Effect of seasonal changes on fertility parameters of Holstein dairy cows in subtropical climate of Taiwan. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 31, 820-826.
- Wilson, S.J., Kirby, C.J., Koenigsfeld, A.T., Keisler, D.H., and Lucy, M.C., 1998. Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *Journal of Dairy Science*, 81, 2132-2138.

- Wolfenson, D., Roth, Z., 2019. Impact of heat stress on cow reproduction and fertility. *Animal Frontier*. 9, 32-38. <https://doi.org/10.1093/af/vfy027>.
- Zavala-Hidalgo, J., Romero-Centeno, R., and Mateos-Jasso, A., 2014. The response of the Gulf of Mexico to wind and heat flux forcing: What has been learned in recent years? *Atmósfera*, 27, 317-334.

CAPÍTULO III. PRODUCCIÓN ESTACIONAL DE EMBRIONES *IN VITRO* DE HEMBRAS CRIOLLAS ROMOSINUANO Y LECHERO TROPICAL EN VERACRUZ, MÉXICO

3.1. RESUMEN

Las variables climatológicas de las estaciones del año pueden afectar la cantidad y calidad de los complejos cúmulos-ovocitos y los embriones fertilizados *in vitro*. El objetivo de este estudio fue conocer el efecto de la estación y de la raza en la cantidad y calidad de los complejos cúmulos-ovocitos y embriones producidos *in vitro* de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical. El estudio se realizó en tres estaciones del año de Veracruz, México: caliente-seca (CS), caliente-húmeda (CH) y fresca-seca (FS). Se utilizaron 26 donadoras de RM y 29 de LT. En cada estación se realizó una sesión de aspiración folicular guiada por ultrasonografía (OPU) y fertilización *in vitro* (FIV). Se midió la frecuencia respiratoria (FRAM y FRPM), la frecuencia cardíaca (FCAM y FCPM) y la temperatura rectal (TRAM y TRPM) un día antes de cada OPU-FIV. Los datos se analizaron con un modelo lineal generalizado con el PROC GENMOD del SAS. La interacción estación x raza afectó los complejos cúmulos-ovocitos totales, los inviábiles, los desnudos, los viables y el total de complejos cúmulos-ovocitos madurados *in vitro*. Además de los embriones degenerados, blastocistos calidad 1 y blastocistos totales, pero no los embriones divididos y blastocistos calidad 2. La estación afectó todas las variables de respuesta a excepción de los blastocistos calidad 2. La raza solo afectó totales madurados *in vitro* y los embriones divididos. Las covariables edad, peso vivo, condición corporal, FRAM, FRPM, FCAM, FCPM, TRAM y TRPM afectaron las variables de respuesta. Las medias más altas de blastocistos calidad 1 y blastocistos totales se observaron en CH y FS, por lo que estas estaciones son las más indicadas para realizar OPU-FIV en vacas criollas Romosinuano y Lechero Tropical.

Palabras clave Aspiración folicular. Climas cálidos. Razas adaptadas. Recursos genéticos

3.2. INTRODUCCIÓN

La aspiración folicular guiada por ultrasonografía (OPU, por sus siglas en inglés) y fertilización *in vitro* (FIV) se utilizan en bovinos para acelerar la diáspora de genotipos y hembras genéticamente superiores; además, posibilitan la multiplicación de poblaciones adaptadas a medios adversos de poblaciones pequeñas e incluso en peligro de extinción (de Souza et al. 2011). La OPU-FIV ha sido exitosa en genotipos *Bos taurus* de países de clima templado y en genotipos *Bos indicus* de países tropicales de climas cálidos (Sartori et al. 2016; Viana et al. 2010); en genotipos *Bos taurus* de razas criollas de la región tropical de climas cálidos los resultados han sido menos satisfactorios (Pessoa et al. 2010; Rocha et al., 1997); estos

resultados pueden atribuirse, entre otros factores, al efecto de las variables climatológicas que influyen directa e indirectamente en el comportamiento reproductivo de la hembra (Breuel et al. 1993). La baja fertilidad de los bovinos en la región tropical de climas cálidos está relacionada, entre otros factores, al estrés calórico causado por las altas temperaturas y humedad relativa (HR; Boni, 2019). Aunque la OPU-FIV contribuyen a incrementar rápidamente los hatos de animales puros, la variabilidad climática interanual con temperaturas máximas (Tmax) y HR superiores a 30 °C y 84% (García, 2004; SMN, 2020) pueden disminuir el éxito de los programas reproductivos.

En años recientes, en Veracruz, México la precipitación se ha concentrado en periodos cortos de tiempo, que ha prolongado la estación de sequía, caracterizada por escasa precipitación y altas temperaturas (Gutiérrez-García y Ricker, 2011; Ortega-Gaucin et al. 2018). En la hembra bovina el incremento de la temperatura corporal reduce la población folicular y disminuye el tamaño del folículo preovulatorio; además, un grado Celsius mayor en la temperatura de los folículos que de los ovarios, inhibe la ovulación (López-Gatius y Hunter, 2019). En el ovocito, las altas temperaturas producen daños en los organelos celulares y en el ADN (Sakatani, 2017) y en los primeros estadios de desarrollo del embrión, se generan cambios celulares y epigenéticos que limitan su desarrollo y calidad (Barros y Paula-Lopes, 2018).

Las razas criollas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT), son *Bos taurus* adaptadas a climas cálidos de la región tropical, con poblaciones establecidas en diferentes países, aunque relativamente pequeñas de miles de cabezas (AMCROLET, 2015; de Alba, 2011; Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez, 2015). El objetivo de este estudio fue conocer el efecto de la estación climatológica y de la raza en la cantidad y calidad de los complejos cúmulos-ovocitos y embriones producidos *in vitro* de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Características de las estaciones del año

El estudio se realizó en tres estaciones climáticas: caliente-seca (CS, marzo-mayo, con Tmax y HR medias de 31.6 ± 1.0 °C y $77.2 \pm 1.1\%$), caliente-húmeda (CH, junio-octubre, con Tmax y HR medias de 31.4 ± 0.4 °C y $84.7 \pm 1.0\%$) y fresca-seca (FS, noviembre-febrero, con Tmax y HR medias de 26.8 ± 0.5 °C y $84.6 \pm 0.3\%$; Rosales-Martínez et al. 2020, en proceso) en Veracruz, México, a 19° 11' N y 96° 20' O, a 23 msnm, con temperatura y precipitación medias anuales de 24.8 °C y 1,525.8 mm (INIFAP 2018; SMN 2020). El clima de la región es AW₀ (w)(i')gw'', caliente subhúmedo con lluvias en verano (García 2004).

Manejo de las donadoras

Se utilizaron 26 donadoras RM y 29 LT, nulíparas y de hasta tres partos, seleccionadas por ultrasonografía para determinar la presencia de folículos; las vacas tuvieron edad media de 95.9 ± 5.5 y 54.2 ± 4.9 meses, peso vivo (PV) de 429.3 ± 7.2 y 368.7 ± 17.8 kg, y condición corporal (CC) de 2.6 ± 0.1 y 2.9 ± 0.1 (escala 1 emaciada – 5 obesa) en RM y LT; la CC por estación fue de 2.6 ± 0.3 , 2.9 ± 0.5 y 2.7 ± 0.4 en CS, CH y FS (Wildman et al. 1982). Se realizó una sesión OPU-FIV por estación, CS (10, 10), CH (9, 9) y FS (7, 10) de RM y LT. Las donadoras se alimentaron en pastoreo con rotación de pará (*Brachiaria mutica* Forssk) y grama nativa (*Paspalum spp*) y antes de las sesiones de OPU-FIV se desparasitaron con Ivermectina (Virbamec® Platinum, Virbac, Mexico) y recibieron una aplicación de fósforo (Phospho® 20, Virbac, México) mensual por cuatro ocasiones, además de sal mineral (Vimifos®) a libertad.

Variables fisiológicas

Se midieron, en cada donadora un día antes de la OPU-FIV a las 6.00 y 15.00 h (más fresca y más calurosa del día), la frecuencia respiratoria (FRAM y FRPM) por expansión torácico-abdominal en el flanco izquierdo, la frecuencia cardiaca (FCAM y FCPM) con un estetoscopio de doble campana y temperatura rectal (TRAM y TRPM) con un termómetro digital.

Aspiración folicular y producción de embriones in vitro

Los químicos más utilizados fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St Louis, Mo, USA).

Para las OPU se utilizó un ultrasonido (Mindray, modelo DP 50) con un transductor microconvexo de 7.5 MHz (Mindray). Solo los folículos de 2 a 8 mm fueron aspirados. Se usó una línea de aspiración plástica de 1 mm de diámetro x 120 cm y agujas de OPU de 20 G x 50 mm. El líquido folicular aspirado se recogió en un tubo cónico de 50 mL que contenía medio de colecta (DPBS; Dulbecco's Phosphate buffered saline: Sigma Aldrich, suplementado con 1 % de suero fetal bovino y 125 UI /mL de heparina) a 37 °C.

Los complejos cumulus-ovocitos (COCs) recolectados fueron lavados con el mismo DPBS y evaluados en el microscopio. Los COCs se clasificaron de acuerdo al número de capas de células del cumulus y características del ooplasma (Leibfried y First, 1979): grado 1 con más de tres capas completas de células del cumulus y granulación uniforme, el ooplasma llena la zona pelúcida uniformemente; grado 2 con menos de tres capas de espesor, el ooplasma llena la zona pelúcida; grado 3 con ooplasma encogido y degenerado, lejos de la zona pelúcida con un llenado parcial y grado 4 ovocitos desnudos solo encerrados por la zona pelúcida, además de presentar daños y restos de ooplasma. Se consideraron viables de grado 1 y 2, inviables de grado 3 y 4 y desnudos de grado 4. Solamente los COCs viables fueron seleccionados para su posterior maduración. Los COCs se transportaron al laboratorio en cryotubos de 1.5 mL con medio de maduración *in vitro* (MIV; TCM-199, L-glutamina y rojo de fenol suplementado con

2.2 mg/mL de bicarbonato de sodio, 1% (v/v) de suero fetal bovino conteniendo 2 μ L de heparina, 0.01 μ g/mL de estreptomina, 0.01 μ g/mL de penicilina-G), en una incubadora portátil labmix (WTA). Al llegar al laboratorio, los COCs fueron colocados en gotas de 50 μ L de medio MIV (10 por gota), cubiertas con aceite mineral y transferidos a la incubadora fija para completar el periodo de 22 h de MIV a 38 °C, 5 % de CO₂ y humedad a saturación. Concluida la maduración los COCs fueron transferidos a gotas de 90 μ L de medio de fertilización *in vitro* (FIV; suplementado con 20 μ L/mL de heparina y 6 mg/mL de ácidos grasos esenciales, libre de ácidos grasos BSA) y cubiertas con aceite mineral. La FIV se realizó en cada estación utilizando dos pajillas de alta fertilidad de sementales RM y LT. El semen fue preparado mediante un gradiente discontinuo de percoll y se utilizaron 1000 espermatozoides/mL para cada una de las gotas. Transcurrido el periodo de 18 h de FIV, los presuntos cigotos fueron parcialmente desnudados con hialuronidasa, en un vórtex durante 5 min. El cultivo se realizó usando medio de cultivo *in vitro* (CIV; KSOM, MR-107-D; suplementado con 10% de suero fetal bovino, 0.25 μ g/mL de gentamicina y 0.5% de aminoácidos no esenciales) durante 7 d después de la FIV, momento el en cual se realizó la evaluación del número y calidad de los blastocistos. Solamente los embriones de calidad 1 fueron criopreservados por vitrificación.

Variables embrionarias

Se analizaron los COCs totales (COCsT) en campo al realizar la aspiración folicular, incluyendo inviábiles (INV), desnudos (DES) y viables (VIAB); INV con una capa o solo una parte de las células del cúmulo y aquellos completamente desnudos y citoplasma no homogéneo; DES con ninguna capa de célula del cúmulo; VIAB con dos o tres capas de células del cúmulo, citoplasma homogéneo y zona pelúcida intacta; total madurados *in vitro* (TMIV) observados maduros, con las células del cúmulo expandidas después del periodo de maduración en la incubadora; embriones divididos (DIV) con al menos dos células después de la fertilización; blastocistos calidad 1 (BC1) con masa celular interna simétrica y esférica con blastómeros individuales uniformes en tamaño, color y densidad con al menos 85% del material celular intacto; blastocistos calidad 2 (BC2) con irregularidades menores en la masa celular interna o en tamaño, color y densidad de las células individuales y al menos 50% de su masa celular intacta y blastocistos totales (BLAST) todos los embriones en blastocisto, incluyendo calidad uno y dos (Bó y Mapletoft 2013).

Análisis estadístico

Se utilizó un modelo lineal de efectos fijos.

$y_{ijk} = \mu + E_i + G_j + E_i * G_j + \epsilon_{ijk}$ donde;

y_{ijk} = Es la observación de la i-ésima estación del año, del j-ésimo genotipo, de la k-ésima hembra.

μ = Constante que caracteriza a la población.

E_i = Efecto de la i-ésima estación del año. $i = 1$ caliente-seca, 2 caliente-húmeda y 3 fresca-seca.

G_j = Efecto del j-ésima raza. $j = 1$ Romosinuano, 2 Lechero Tropical.

$E_i * G_j$ = Efecto de la interacción estación del año por raza.

ϵ_{ijk} = Error aleatorio. $\epsilon_{ijk} \sim IIP(\lambda)$.

Los datos fueron procesados usando modelos lineales generalizados con el procedimiento GENMOD del SAS (SAS 9.4 2010). La edad de la donadora, el peso vivo (PV), la CC y las variables fisiológicas se incluyeron como covariables.

3.4. RESULTADOS

Se observó efecto de la estación en COCsT ($p \leq 0.001$), INV ($p \leq 0.001$), DES ($p \leq 0.001$), VIAB ($p \leq 0.005$), y TMIV ($p \leq 0.001$); en CH la media fue 7.6, 13.7% superior de FS y CS. También en CH, TMIV la media fue superior en 16% de CS. El efecto de raza fue importante en TMIV ($p \leq 0.021$), 4% superior en LT en relación a RM. La interacción estación x raza afectó los COCsT ($p \leq 0.001$), INV ($p \leq 0.002$), DES ($p \leq 0.001$), VIAB ($p \leq 0.001$) y TMIV ($p \leq 0.001$). La media más alta de COCsT se observó en CH x LT, 33% superior a CS x LT la más baja. En VIAB fue mayor en CH x LT y menor en FS x LT. Para TMIV se observaron medias superiores en CH para RM y LT con 5.3 y 28.3% más que en CS (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Cantidad y calidad de complejos cúmulos-ovocitos recolectados por aspiración folicular (OPU) en vacas criollas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT) en tres estaciones del año

Variable	Estación			
	Caliente-seca	Caliente-húmeda	Fresca-seca	Global
<i>Totales</i>				
RM	23.7 ± 1.9 ^b	22.1 ± 1.7 ^b	26.4 ± 2.3 ^b	24.0 ± 1.2 ^A
LT	15.2 ± 1.6 ^c	48.4 ± 3.7 ^a	23.9 ± 1.8 ^b	26.0 ± 1.3 ^A
Global	19.0 ± 1.2 ^Z	32.7 ± 1.8 ^X	25.1 ± 1.5 ^Y	
<i>Inviabiles</i>				
RM	1.4 ± 0.5 ^b	2.1 ± 0.5 ^{bc}	1.7 ± 0.5 ^{bc}	1.7 ± 0.3 ^A
LT	0.3 ± 0.2 ^a	5.6 ± 1.4 ^d	1.5 ± 0.4 ^{bc}	1.4 ± 0.3 ^A

Global	0.7 ± 0.2^X	3.4 ± 0.6^Z	1.6 ± 0.4^Y	
<i>Desnudos</i>				
RM	9.4 ± 1.2^{bc}	8.4 ± 1.2^{bc}	7.4 ± 1.2^b	8.3 ± 0.7^A
LT	3.1 ± 0.5^a	10.8 ± 1.7^{bc}	10.9 ± 1.4^c	7.2 ± 0.6^A
Global	5.4 ± 0.6^X	9.5 ± 1.0^Y	9.0 ± 0.9^Y	
<i>Viabiles</i>				
RM	11.5 ± 1.2^c	10.3 ± 1.1^{cd}	16.5 ± 1.9^b	12.5 ± 0.8^A
LT	13.8 ± 1.9^{bc}	28.5 ± 2.8^a	8.8 ± 1.0^d	15.2 ± 1.0^A
Global	12.6 ± 1.0^Y	17.4 ± 1.3^X	12.1 ± 1.0^Y	
<i>Total madurados in vitro</i>				
RM	16.8 ± 1.5^d	22.1 ± 1.8^{bc}	19.8 ± 2.0^{cd}	19.6 ± 1.0^A
LT	12.0 ± 1.3^e	40.5 ± 3.4^a	27.1 ± 2.1^b	23.6 ± 1.2^B
Global	14.2 ± 1.0^Z	30.2 ± 1.8^X	23.1 ± 1.5^Y	

^{X,Y,Z}. Diferente literal por columna indica diferencia estadística ($p \leq 0.002$)

^{A,B}. Diferente literal por fila indica diferencia estadística ($p \leq 0.02$)

^{a,b,c,d,e}. Diferente literal por columna y fila indica diferencia estadística ($p \leq 0.002$)

Se observó efecto de la estación en DIV ($p \leq 0.001$), DEG ($p \leq 0.013$), BC1 ($p \leq 0.030$) y BLAST ($p \leq 0.005$), pero no en BC2 ($p > 0.05$). La media más alta de embriones DEG se observó en CS, cinco veces más DEG que en CH y FS. De igual forma, las medias más altas de BC1 y BLAST se observaron en CH con el doble de embriones en relación a las más bajas observadas en FS. La interacción estación x raza afectó los embriones DEG ($p \leq 0.008$), BC1 ($p \leq 0.033$) y BLAST ($p \leq 0.028$), pero no en DIV y BC2 ($p > 0.050$). Las medias más altas de BC1 se observaron en CH x LT (4.1 ± 1.1) con 3% más respecto a las más bajas CS x LT (1.1 ± 0.5) y FS x LT (1.1 ± 0.3). De igual forma, la media más alta de BLAST se observó en CH x LT (6.0 ± 1.3) y las más bajas en FS x RM (1.7 ± 0.5) y FS x LT (1.7 ± 0.4) (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2 Cantidad y calidad de embriones, fertilizados *in vitro* (FIV) de vacas criollas Romosinuano (RM) y Lechero Tropical (LT) en tres estaciones del año

Variable	Estación			
	Caliente-seca	Caliente-húmeda	Fresca-seca	Global
<i>Divididos</i>				
RM	7.3 ± 1.0^a	11.4 ± 1.4^a	10.6 ± 1.6^a	9.6 ± 0.8^A
LT	3.9 ± 0.7^a	9.6 ± 1.5^a	8.7 ± 1.2^a	6.8 ± 0.6^B
Global	5.3 ± 0.6^Y	10.5 ± 1.0^X	9.6 ± 1.0^X	

<i>Degenerados</i>				
RM	3.2 ± 1.4 ^d	0.1 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.2 ^{ac}	0.5 ± 0.2 ^A
LT	0.3 ± 0.3 ^{ac}	0.4 ± 0.2 ^{bc}	0.1 ± 0.1 ^{ac}	0.3 ± 0.1 ^A
Global	1.1 ± 0.4 ^Y	0.2 ± 0.1 ^X	0.2 ± 0.1 ^X	
<i>Blastocistos calidad 1</i>				
RM	1.5 ± 0.5 ^b	1.5 ± 0.5 ^b	1.2 ± 0.4 ^b	1.4 ± 0.3 ^A
LT	1.1 ± 0.5 ^b	4.1 ± 1.1 ^a	1.1 ± 0.3 ^b	1.7 ± 0.3 ^A
Global	1.2 ± 0.3 ^Y	2.5 ± 0.5 ^X	1.1 ± 0.3 ^Y	
<i>Blastocistos calidad 2</i>				
RM	0.4 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^A
LT	0.9 ± 0.5 ^a	1.5 ± 0.8 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.8 ± 0.2 ^A
Global	0.6 ± 0.2 ^X	0.7 ± 0.3 ^X	0.3 ± 0.1 ^X	
<i>Blastocistos totales</i>				
RM	3.6 ± 0.8 ^{ab}	2.4 ± 0.5 ^{bcd}	1.7 ± 0.5 ^{cd}	2.4 ± 0.4 ^A
LT	3.1 ± 0.9 ^{ad}	6.0 ± 1.3 ^a	1.7 ± 0.4 ^{cd}	3.2 ± 0.4 ^A
Global	3.3 ± 0.5 ^X	3.8 ± 0.6 ^X	1.7 ± 0.3 ^Y	

^{a,b,c,d}. Diferente literal por columna para estación y fila para raza indica diferencia estadística (p≤0.033)

La edad de la donadora afectó los COCs DES (p≤0.001), VIAB (p≤0.001), COCsT (p≤0.001), TMIV (p≤0.001), así como los embriones DIV (p≤0.001), BC1 (p≤0.003) y BLAST (p≤0.014). A medida que la edad de la donadora se incrementó se observó una disminución en la cantidad de estructuras a excepción de INV, DEG y BC2 (p>0.05). El peso afectó los COCs DES (p≤0.001), VIAB (p≤0.001), COCsT (p≤0.001), TMIV (p≤0.001), DIV (p≤0.001), DEG (p≤0.001) y BC2 (p≤0.014). Por cada kg de incremento en el peso de la donadora se incrementó la cantidad de estructuras obtenidas. Sin embargo, los DEG disminuyeron. La CC afectó INV, DES, VIAB, COCsT, TMIV, DIV, BC1, BC2 Y BLAST (p≤0.01). Los coeficientes estimados ($\hat{\beta} \pm ee$) se muestran en el Cuadro 3.3.

Cuadro 3.3 Relación de la edad, el peso vivo y la condición corporal con la cantidad y calidad de complejos cúmulos-ovocitos recolectados por aspiración folicular (OPU) y embriones fertilizados *in vitro* (FIV) de vacas criollas Romosinuano y Lechero Tropical en tres estaciones del año

Variable	Covariable		
	Edad	Peso vivo	Condición corporal

Inviabiles	-0.009 ± 0.006	0.001 ± 0.003	-0.958 ± 0.369***
Desnudos	-0.019 ± 0.003***	0.007 ± 0.001***	-0.899 ± 0.199***
Viabiles	-0.012 ± 0.002***	0.007 ± 0.001***	-1.220 ± 0.141***
Totales	-0.015 ± 0.002***	0.006 ± 0.001***	-1.133 ± 0.108***
Total madurados <i>in vitro</i>	-0.011 ± 0.002***	0.006 ± 0.001***	-0.652 ± 0.115***
Divididos	-0.016 ± 0.003***	0.005 ± 0.001***	-1.123 ± 0.189***
Degenerados	0.001 ± 0.009	-0.011 ± 0.003***	0.499 ± 0.568
Blastocistos calidad 1	-0.018 ± 0.006**	0.004 ± 0.003	-0.928 ± 0.380**
Blastocistos calidad 2	-0.021 ± 0.012	0.011 ± 0.006**	-2.009 ± 0.788***
Blastocistos totales	-0.011 ± 0.005**	0.002 ± 0.002	-0.726 ± 0.282**

$p \leq 0.01^{**}$, $p \leq 0.001^{***}$

La FRAM afectó los COCs TMIV ($p \leq 0.0458$) y los embriones DEG ($p \leq 0.0458$) y la FRPM los INV ($p \leq 0.0019$), VIAB ($p \leq 0.0001$), COCsT ($p \leq 0.0027$), DIV ($p \leq 0.0519$), DEG ($p \leq 0.0001$), BC1 ($p \leq 0.0001$) y BLAST ($p \leq 0.0001$). La FCAM solo influyó en DES ($p \leq 0.0040$) y TMIV ($p \leq 0.0152$) pero la FCPM en DES ($p \leq 0.0001$), COCsT ($p \leq 0.0001$), TMIV ($p \leq 0.0001$) y DIV ($p \leq 0.0010$). La TRAM afectó los COCs DES ($p \leq 0.0001$), VIAB ($p \leq 0.0002$) y BC1 ($p \leq 0.0149$) y la TRPM DES ($p \leq 0.0001$), VIAB ($p \leq 0.0001$), TMIV ($p \leq 0.0002$) y DEG ($p \leq 0.0268$). Los estimadores ($\hat{\beta} \pm ee$) se muestran en el Cuadro 3.4.

Cuadro 3.4 Relación de las variables fisiológicas en la cantidad y calidad complejos cúmulos-ovocitos recolectados por aspiración folicular (OPU) y embriones fertilizados *in vitro* (FIV) de hembras criollas Romosinuano y Lechero Tropical en tres estaciones del año

Variable	Covariable					
	FRAM	FRPM	FCAM	FCPM	TRAM	TRPM
INV	0.025±0.032	-0.059±0.021***	0.005±0.007	-0.007±0.010	0.030±0.533	-0.298±0.524
DES	0.018±0.015	0.010±0.008	0.009±0.003**	-0.035±0.005***	-1.360±0.243***	-1.212±0.231***
VIAB	-0.001±0.012	-0.024±0.060***	-0.002±0.003	-0.003±0.004	-0.690±0.186**	0.855±0.195***
COCsT	0.006±0.009	-0.014±0.005**	0.004±0.002	-0.016±0.003***	0.183±0.139	-0.052±0.140
TMIV	0.019±0.009*	0.001±0.005	0.005±0.002**	-0.013±0.003***	0.277±0.148	-0.566±0.152**
DIV	-0.005±0.014	0.015±0.077*	0.005±0.003	-0.017±0.005***	0.023±0.249	-0.417±0.236
DEG	-0.130±0.066*	-0.192±0.044***	0.025±0.015	0.020±0.018	0.149±1.014	2.103±0.931*
BC1	0.024±0.034	-0.071±0.020***	-0.007±0.008	0.004±0.011	-1.301±0.528**	0.525±0.532
BC2	0.021±0.063	-0.017±0.032	0.022±0.014	-0.003±0.019	0.077±1.012	-0.747±1.011
BLAST	0.009±0.027	-0.069±0.016***	0.001±0.006	0.013±0.008	-0.996±0.437	-0.309±0.421

$p \leq 0.05^*$, $p \leq 0.01^{**}$, $p \leq 0.001^{***}$. INV = inviabilizados, DES = desnudos, VIAB = viables, COCsT = complejos cúmulos-ovocitos totales, TMIV = total de complejos cúmulos-ovocitos madurados *in vitro*, DIV = embriones divididos, DEG = embriones degenerados, BC1 = blastocistos calidad 1, BC2 = blastocistos calidad 2, BLAST = blastocistos totales, FRAM = frecuencia respiratoria AM, FRPM = Frecuencia respiratoria PM, FCAM = frecuencia cardiaca AM, FCPM = frecuencia cardiaca PM, TRAM = temperatura rectal AM y TRPM = temperatura rectal PM

3.5. DISCUSIÓN

La OPU-FIV son herramientas útiles para incrementar poblaciones pequeñas con animales genéticamente superiores. Sin embargo, la variabilidad climatológica interanual de las regiones tropicales cálidas afecta los resultados de su implementación. Peralta-Torres et al. (2017a) observaron en vaquillas Brahman y Simmental x Brahman de Yucatán, México una mayor cantidad de folículos medianos (4.1-8 mm, recomendados para MIV) en las estaciones caliente-húmeda (3.1 ± 0.2) y fresca-húmeda (4.0 ± 0.2), con respecto a caliente seca (2.9 ± 0.2). En este estudio la mayor cantidad de COCsT recuperados por estación se observó en CH (32.7 ± 1.8) y FS (25.1 ± 1.5) con respecto a CS (19.0 ± 1.2 ; Cuadro 3.1). Aunque en CH se presentaron Temperaturas y HR altas, también la precipitación fue mayor, lo que modifica el ambiente y el confort de los animales. En CH el forraje es de mejor calidad y en mayor abundancia que le confiere al ganado una mejor nutrición (Jarillo-Rodríguez et al. 2011) y CC que influye en los COCsT recuperados (Cuadro 3.3). Los resultados de este estudio son mayores a los observados por Takuma et al., (2010) en vacas Negro Japonés quienes recuperaron por OPU 11.2 ± 0.8 y 23.2 ± 1.9 COCsT en una estación caliente (temperatura de 28.3 ± 0.3 °C y HR de 66.5%) y una fresca (temperatura de 17.5 °C y HR de 62.9%) y a los observados por Torres-Júnior et al. (2008) en vacas Gyr de Brasil quienes recuperaron 11.2 ± 2.8 y 14.3 ± 2.5 COCsT en un ambiente termoneutral (25 °C) y en estrés calórico (38°C). Se ha reportado que la edad de la donadora (Su et al. 2012) y la CC (Kouamo et al. 2015) afectan los COCsT obtenidos por OPU, efecto que se observó en esta investigación (Cuadro 3.3). A medida que se incrementa la edad de las donadoras, la cantidad de folículos en los ovarios se reduce debido a los folículos perdidos en cada onda folicular (Burns et al. 2005). De igual forma hembras bien alimentadas y con buena CC manifiestan mayor fertilidad (Bezdicsek et al. 2020). Por otro lado, la frecuencia respiratoria (FR), frecuencia cardiaca (FC) y la temperatura rectal (TR) han sido usadas para evaluar el estrés calórico en las vacas (Ferreira et al. 2011; Karimi et al. 2015; Lima et al. 2020). En este estudio a medida que la FRPM, la FCPM y la TRPM aumentaron los COCsT disminuyeron (Cuadro 3.4). Se ha reportado que por cada grado Celsius de aumento en la

temperatura ambiente la FR de las vacas aumenta de 2.8 a 3.3 respiraciones por minuto (Gaughan et al. 2000). De igual forma, al incrementarse la temperatura rectal de vacas sometidas a estrés calórico, se incrementa la temperatura uterina que repercute en la cantidad de folículos pequeños (3-5 mm) y medianos (6-9 mm; Wolfenson et al. 1995).

La mayor cantidad de COCs INV se observó en CS y FS en LT pero no en RM, sin embargo en estas estaciones se recuperó la mayor cantidad de COCsT, lo que puede relacionarse al incremento de COCs INV observados en LT (Cuadro 3.1). El estrés calórico es uno de los factores que afecta la calidad de los COCs recolectados para FIV. Se ha observado que los ovocitos recolectados en estaciones calientes presentan menor capacidad para alcanzar el estadio de blastocisto (Ferreira et al. 2011), probablemente porque el estrés calórico altera los componentes del citoesqueleto y las funciones mitocondriales y la correcta expansión en las células del cúmulo durante la maduración, lo que induce apoptosis celular (Ahmed et al. 2017) y es necesario de dos a tres ciclos estrales para recuperar COCs de buena calidad que fueron dañados en la estación CS (Gendelman y Roth, 2012). Se han realizado estudios de MIV *in vitro* a 41 °C, para evaluar el daño causado por el choque térmico en los COCs y se ha observado que los daños en la zona pelúcida, con mayor cantidad de poros, así como las anomalías aumentan después de 22 h de exposición al estrés (Báez et al. 2019). De igual forma, las vacas de este estudio se mantuvieron expuestas a las condiciones climatológicas de pastoreo durante todo el año, por lo que en la estación CS se observó la CC más baja (2.6 ± 0.3), con una mínima de 2 y máxima de 3. Sin embargo, a medida que esta se incrementó los COCs INV disminuyeron ($\hat{\beta} = -0.958 \pm 0.369$; cuadro 3.3).

Se ha reportado que la frecuencia y velocidad en la OPU se relaciona con el incremento en los ovocitos DES (Harkal et al. 2019; Ward et al. 2000), no existen reportes del efecto de la estación en el número de ovocitos DES, en este estudio se observó una mayor cantidad de DES en CH y FS en LT y aunque sin diferencia estadística, mayores cantidades en CS y CH en RM (Cuadro 3.1). Torres-Júnior et al. (2008) observaron en vacas Gir de Brasil, 15.8 y 23.0 % de ovocitos desnudos en ambiente termoneutral a 25 °C y en estrés calórico a 38°C. Por otro lado, la edad ($\hat{\beta} = -0.019 \pm 0.003$), el PV ($\hat{\beta} = 0.007 \pm 0.001$) y la CC ($\hat{\beta} = -0.899 \pm 0.199$) de las vacas de este estudio (Cuadro 3.3) afectaron los ovocitos DES. Lo cual puede atribuirse a que a mayor edad de la donadora el manejo se hace más eficiente lo que permite realizar la OPU con mayor eficacia. El aumento en la CC indica de una mejor alimentación que contribuye a aumentar los COCs viables y disminuir los DES e INV (Ashworth et al. 2009). Se observó efecto de la FCAM y FCPM así como la TRAM y TRPM en ovocitos DES. Un aumento en la

frecuencia cardiaca indica estrés causado por el manejo (Kovács et al. 2016) o el clima (Lees et al. 2019), las razas criollas se caracterizan por su mansedumbre, sin embargo, las medias más altas de FCPM y TRPM se observaron en CS (80 ± 14.1 y 38.7 ± 0.4) y CH 78.7 ± 14.4 y 38.3) respecto a FS (69.2 ± 9.11 latidos por minuto y 38.4 ± 0.3 °C) que influyeron en los ovocitos DES (Cuadro 3.4).

Es importante someter a FIV solo los COCs viables, ya que de ello depende la correcta MIV y posterior FIV y desarrollo hasta el estadio de blastocisto (Krisher, 2004). Las medias más altas de COCs VIAB se observaron en FS y CH para RM y LT (Cuadro 3.1). Las temperaturas más bajas y la mayor precipitación en Veracruz se presentan en FS y CH repercutiendo positivamente en los COCs INV. El aumento en la temperatura de CS afecta directamente el desarrollo folicular y la competencia de los ovocitos (Al-Katanani et al. 2002). Los resultados de este estudio difieren a los observados por Torres-Júnior et al. (2008) en vacas Gir de Brasil quienes no observaron efecto del estrés calórico en el porcentaje de COCS VIAB (27.7 y 31.5%) en un ambiente termoneutral a 25 °C y en estrés calórico a 38°C. La edad, el PV y la CC influyeron en los COCs VIAB de este estudio. A medida que la edad de la donadora incrementó, los COCs VIAB disminuyeron con $\hat{\beta} = -0.899 \pm 0.199$ (Cuadro 3.3), lo que puede atribuirse que a medida que avanza la edad de la donadora, el número de células de la granulosa disminuye en los folículos, con menores secreciones hormonales, que afectan la calidad de los COCs (Iwata, 2017). A medida que la FRPM, la TRAM y TRPM se incrementó, los COCs VIAB disminuyeron (Cuadro 3.4), lo cual puede atribuirse a que en estaciones calientes el estrés calórico incrementa la temperatura corporal y rectal que a su vez incrementa la frecuencia respiratoria teniendo como resultado COCs de mala calidad (Ahmed et al. 2017).

Las medias más altas de TMIV se observaron en CH y FS y en LT y las más bajas en CS y en RM (Cuadro 3.1), son similares a los reportados por Peralta-Torres et al. (2017b) en ovocitos de ovarios de vacas *Bos indicus* y *Bos indicus* x *Bos taurus*, recolectados en Yucatán, México quienes observaron en tres estaciones del año, 76.9, 52.2 y 39.1 % de maduración nuclear después de la MIV en las estaciones caliente-húmeda, caliente-seca y fresca-húmeda. En COCs sometidos a choque térmico de 41 °C en las primeras 12 h de MIV se incrementa el estrés oxidativo y la apoptosis, se altera la distribución de los granulos corticales y se reduce la formación y el potencial de la membrana mitocondrial y daños en el citoesqueleto, reduciendo la organización cortical de la actina (Rodrigues et al. 2016), además de que se reduce 20% la expansión de las células del cumulus (Ahmed et al. 2017). Andrew-Vázquez et al. (2010) observaron 14.5 veces más anomalías en la morfología de los ovocitos en metafase II sometidos

a choque térmico de 41.5 °C en las primeras 3 h de MIV. En este estudio la edad, el PV, la CC, la FRAM, la FCAM, la FCPM y la TRPM afectaron el TMIV (Cuadro 3.3 y 3.4). Sin embargo, este efecto negativo puede venir desde la selección de los COCs VIAB, que traen como consecuencia una menor cantidad de TMIV.

Varios factores que afectan la división de los presuntos cigotos, entre los que se encuentra la calidad del semen utilizado (Chaveiro et al. 2010), el medio de cultivo (Lee et al. 2016) y la calidad del ovocito recolectado de donadoras en estrés calórico (Ealy et al. 1993). En este estudio las medias más altas se observaron en las estaciones CH y FS y las más bajas en CS (Cuadro 3.1) donde se presentó la menor precipitación y altas temperaturas ambientales. Se ha observado que más de seis horas de exposición a estrés calórico disminuye la división, presentándose menor cantidad de embriones de 6 a 8 células (Payton et al. 2004) y un menor porcentaje de embriones que alcanzan el estadio de blastocisto (Rodrigues et al. 2016). Los 66, 69.4, y 64.7% de DIV observados en este estudio en CS, CH y FS son menores a los observados por Torres-Junior et al. (2008) en vacas Gir de Brasil, quienes obtuvieron 74.6 y 80% de DIV en un ambiente termoneutral a 25°C y en estrés calórico a 38°C. Sin embargo, son mayores al 56.5% de DIV observados por Silva et al. (2013) en embriones de vacas Jersey de Brasil, genotipo no adaptado a ambientes cálidos tropicales, sometidos a choque térmico de 41°C durante la MIV. En un estudio realizado por Hernández-Cerón et al. (2004) en embriones de vacas RM en Florida Estados Unidos sometidos a estrés calórico de 41 °C durante la MIV observaron 70 % de DIV, resultado similar al 69.4% observado en este estudio en RM en la estación CS. La edad, el PV y la CC de las vacas de este estudio afectaron los INV (Cuadro 3.3). Resultados similares han sido reportados por Su et al. (2012) quienes observaron que a medida que aumenta la edad de las donadoras disminuye el porcentaje de DIV. De igual forma, una buena nutrición mejora el porcentaje de DIV, si los niveles de glucosa de las hembras disminuyen se refleja en un bajo porcentaje de división embrionaria (Sutton et al. 2003).

La media más alta de embriones DEG de este estudio se observó en CS (1.1 ± 0.4), respecto a CH (0.2 ± 0.1) y FS (0.2 ± 0.1), sin diferencia entre razas (Cuadro 3.2). En CS de Veracruz, se presenta menor precipitación y mayor radiación solar y temperatura ambiente. Se ha observado que altas temperaturas inducen la fragmentación del ADN y afectan los niveles de ARN (Lima et al. 2013; Barros y Paula-Lopes, 2018), por lo cual, si los COCs son expuestos a altas temperaturas en las estaciones calientes, se reduce el número de células en los pocos embriones que alcanzan el estadio de blastocisto, además de un mayor daño en los blastómeros (Rodrigues et al. 2016). En este estudio por cada kg de incremento en el peso de las donadoras

se observó una reducción de $\hat{\beta} = -0.011 \pm 0.003$ en los embriones DEG (Cuadro 3.3), las donadoras con una buena nutrición presentan ovocitos de mejor calidad con mayor capacidad de desarrollar blastocistos de calidad 1 (Ashworth et al. 2009). De igual forma, se observó efecto de la FRAM, FRPM y TRPM en DEG (Cuadro 3.4). Las altas temperaturas ambientales incrementan la temperatura rectal (Zubor et al. 2020) que se asocia a incrementos en la frecuencia respiratoria (Gaughan et al. 2000) y a mayores daños en el ovocito que incrementan los embriones DEG después del cultivo *in vitro*.

Los esfuerzos en producción de embriones *in vitro* se enfocan en incrementar los BC1, ya que tienen la mayor capacidad de generar una gestación después de ser transferidos (Erdem et al. 2020) o sobrevivir a la criopreservación (Marsico et al. 2019). En este estudio, la media más alta de BC1 se observó en CH y las más bajas en CS y FS (Cuadro 3.1). La mayor precipitación en Veracruz se presenta en la estación CH, con mayor disponibilidad y calidad de forraje (Jarillo-Rodríguez et al. 2011). Las medias de 1.4 ± 0.3 y 1.7 ± 0.3 de RM y LT no fueron diferentes para ambas razas adaptadas a ambientes cálidos (Hernández-Cerón et al. 2004). Por otro lado, la edad, la CC, la FRPM y la TRAM afectaron los BC1 (Cuadros 3.3 y 3.4). En vacas con edades avanzadas se presentan menores secreciones hormonales en los COCs que disminuyen la calidad de los ovocitos cultivados *in vitro* (Iwata, 2017) y que afecta la calidad de los blastocistos. Es importante perfeccionar las biotecnologías reproductivas en las poblaciones de bovinos adaptados y contribuir con la mejora genética de animales de excelente calidad (Woelders et al. 2012) o contribuir a los bancos de germoplasma de bovinos criollos para la formación de hatos puros en otras regiones (Chase Jr et al. 1997; Martínez et al. 2005).

No se observó efecto de la estación ni de la raza en BC2 (Cuadro 3.1), sin embargo, las medias fueron muy bajas, menores a 0.8 ± 0.2 . Es preferible obtener BC1 y menores cantidades de BC2 ya que las gestaciones están influidas por la calidad del blastocisto (Erdem et al. 2020).

La calidad del ovocito es un aspecto de suma importancia, ya que de ello depende su desarrollo (Krisher, 2004). Sin embargo, en regiones tropicales cálidas, la exposición de más de 12 h a estrés calórico reduce la capacidad de los embriones para alcanzar el estadio de blastocisto (Payton et al. 2004). La media más alta de BLAST de este estudio se observó en CH (3.8 ± 0.6 ; 48%) con 6.3% más respecto a CS (3.3 ± 0.5 ; 41.7%) y 17.7% más respecto a las más baja FS (1.7 ± 0.3 ; 30.3%). Los BLAST de este estudio son similares a los 3.0 ± 0.5 y 1.7 ± 0.5 BLAST observados por Torres-Junior et al. (2008) en vacas Gyr de Brasil mantenidas en un ambiente de 38°C y termoneutral de 25°C. Hernández-Cerón et al. (2004) obtuvieron en

vacas RM de Florida Estados Unidos 30% y 18% de BLAST en ovocitos sometidos a choque térmico de 41°C y termoneutral de 38.5°C durante la MIV. De igual forma, Al-Katanani et al. (2002) observaron en BLAST derivados de ovarios de vacas Holstein de Florida, recolectados en invierno y verano, 34.3 y 11.4%, respectivamente, con una disminución de 22.9%. La media global de 3.6 ± 0.6 BLAST obtenidos en este estudio, son similares a los 3 y 4 BLAST obtenidos por OPU-FIV en vaquillas y vacas criollas de Ecuador (Méndez et al., 2018; 2020). Las poblaciones pequeñas necesitan de la adopción de nuevas tecnologías que faciliten el incremento de animales puros y genéticamente superiores (Biscarini et al. 2015). En Colombia se ha creado un banco de germoplasma de bovinos criollos con embriones obtenidos *in vivo* e *in vitro* (Martínez et al. 2005), esta actividad puede ser de gran apoyo para el establecimiento de nuevos hatos de ganado puro o el intercambio entre países de germoplasma de bovinos criollos de alta calidad genética (Chase Jr et al. 1997).

3.6. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados observados en el presente estudio, la exposición de las vacas criollas Romosinuano y Lechero Tropical a la variación climática estacional de Veracruz ejerce diferentes efectos que se manifiestan en una mayor cantidad y mejor calidad de complejos cúmulos-ovocitos, maduración *in vitro* y desarrollo de blastocistos de calidad 1 y blastocistos totales en la estación caliente-húmeda y fresca-seca en comparación a la caliente-seca. Por lo que las estaciones caliente-húmeda y fresca-seca de Veracruz son las más recomendables para realizar OPU-FIV en vacas criollas Romosinuano y Lechero Tropical.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de doctorado otorgada a FRM, a la empresa Reproducción Genética Avanzada (RGA) por el trabajo de laboratorio de la fase experimental y a los Dres. Adalberto Rosendo Ponce y Carlos Miguel Becerril Pérez, por facilitar su ganado Romosinuano y Lechero Tropical para esta investigación.

Cumplimientos de estándares éticos

Todos los procedimientos en los animales muestreados de este estudio fueron realizados por un veterinario de acuerdo con los estándares éticos redactados en la Declaración de Helsinki de 1964 (y sus posteriores modificaciones en 2008) y la Norma Oficial Mexicana-062-ZOO-199, sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales para experimentación y de acuerdo con la normativa de uso y cuidado de animales para investigación en el Colegio de Postgraduados.

Conflictos de intereses Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

3.7. REFERENCIAS

- Ahmed, J.A., Nashiruddullah, N., Dutta, D., Biswas, R.K., and Borah, P., 2017. Cumulus cell expansion and ultrastructural changes in matured bovine oocytes under heat stress. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18, 203-207.
- Al-Katanani, Y.M., Paula-Lopes, F.F., and Hansen, J.P., 2002. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 390-396.
- AMCROLET (Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Romosinuano y Lechero Tropical, A.C.), 2015. Libro de registro de raza Criollo Lechero Tropical. Veracruz, México.
- Andreu-Vázquez, C., López-Gatius, F., García-Ispierto, I., Maya-Soriano, M.J., Hunter, R.H.F., and López-Béjar, M., 2010. Does heat stress provoke the loss of continuous layer of cortical granules beneath the plasma membrane during oocyte maturation? *Zygote*, 18, 293-299.
- Ashworth, J.C., Toma, M.L., and Hunter, G.M., 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 364, 3351-3361.
- Báez, F., Camargo, A., Reyes, A.L., Márquez, A., Paula-Lopes, F., Viñoles, C., 2019. Time-dependent effects of heat shock on the zona pellucida ultrastructure and *in vitro* developmental competence of bovine oocytes. *Reproductive Biology*, 19, 195-203.
- Barros, R.O.F., and Paula-Lopes, F.F., 2018. Cellular and epigenetic changes induced by heat stress in bovine preimplantation embryos. *Molecular Reproduction and Development*, 85:810-820.
- Bezdicek, J., Nesvadbova, A., Makarevich, A., and Kubovicova, E., 2020. Relationship between the animal body condition and reproduction: the biotechnological aspects. *Archives Animal Breeding*, 63, 203-209.
- Biscarini, F., Nicolazzi, E.L., Stella, A., Boettcher, P.J., and Gandini, G., 2015. Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds. *Frontiers in Genetics*, 6: doi: 10.3389/fgene.2015.00033.
- Bó, A.G., and R.J. Mapletoft., 2013. Evaluation and classification of bovine embryos. *Animal Reproduction*, 10(3): 344-348.
- Boni, R., 2019. Heat stress, a serious threat to reproductive function in animals and humans. *Molecular Reproduction and Development*, 86, 1307-1323.
- Breuel, K.F., P.E. Lewis., F.N. Schrick., A.W. Lishman., E.K. Inskeep., R.L. Butcher., 1993. Factors affecting fertility in the postpartum cow: role of the oocyte and follicle in conception rate. *Biology of Reproduction*, 48:655-661.
- Burns, S.D., Jimenez-Krassel, F., Ireland, L.H.J., Knight, G.P., and Ireland, J.J., 2005. Number of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among

- animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biology of Reproduction*, 73, 54-62.
- Chase Jr, C.C., Hammond, A.C., Olson, T.A., Murphy, C.N., Tewolde, A., and Griffin, J.L., 1997. Introduction and evaluation of Romosinuano in the USA. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 5(Supp. 2), 57-70.
- Chaveiro, A., Santos, P., Carvalhais, I., Agrícola, R., Faheem, M., Habibi, A., and Silva, M.F., 2010. Sire effect and sperm apoptosis on bovine embryonic cleavage and subsequent in vitro embryo development. *Veterinary Science*, doi:10.3814/2010/324529.
- de Alba, J., 2011. *El libro de los Bovinos Criollos de América*. Ed. Colegio de Postgraduados: Biblioteca Básica de Agricultura, México.
- de Souza, M.G.J., R.I.T.P. Batista., L.M. Melo., V.J.F. Freitas., 2011. Reproductive biotechnologies applied to the conservation of endangered ruminat – past, present and future. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias*, 106(577-580): 31-38.
- Ealy, D.A., Drost, M., and Hansen, J.P., 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effect of maternal heat stress in cows. *Journal of Dairy Science*, 76, 2899-2905.
- Erdem, H., Karasahin, T., Alkan, H., Dursun, S., Satilmis, F., and Guler, M., 2020. Effect of embryo quality and developmental stages on pregnancy rates during fresh embryo transfer in beef heifers. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 2541-2547.
- Ferreira, M.R., Ayres, H., Chiaratti, R.M., Ferraz, L.M., Araújo, B.A., Rodrigues, A.C., Watanabe, F.Y., Vireque, A.A., Joaquim, C.D., Smith, C.L., Meirelles, V.F., and Baruselli, S.P., 2011. The low fertility of repeated-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to developed into blastocysts. *Journal of Dairy Science*, 94, 2383-2392.
- García, E., 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. Instituto de Geografía. 5ta ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Gaughan, J.B., Holt, S.M., Hahn, G.L., Mader, T.L., and Eigenberg, R., 2000. Respiration rate is it a Good measure of heat stress in cattle. *Asian Australian Journal of Animal Science*, 13, 329-332.
- Gendelman, M., and Roth, Z., 2012. Incorporation of coenzyme Q10 into bovine oocytes improves mitochondrial features and alleviates effects of summer thermal stress on developmental competence. *Biology of Reproduction*, 87, 118, doi: 10.1095/biolreprod.112.101881.
- Gutiérrez-García, G., and Ricker, M., 2011. Climate and climate change in the región of Los Tuxtlas (Veracruz, Mexico): A statistical analysis. *Atmósfera*, 24, 347-373.
- Harkal, S.B., Pawshe, C.H., Ingawale, M.V., Deshmukh, S.G., Ambalkar, M.B., and Kale, S.D., 2019. Effect of frequency of follicular aspiration on recovery of oocytes and follicular development. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7, 568-571.

- Hernández-Cerón, J., Chase, Jr.C.C., and Hansen, J.P., 2004. Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano, and Angus breeds. *Journal of Dairy Science*, 87, 53-58.
- INIFAP (Laboratorio Nacional de Modelaje y Sensores Remotos)., 2018. Datos históricos climatológicos, 2000 – 2013, del estado de Veracruz, México. <http://clima.inifap.gob.mx/lnmysr>.
- Iwata, H., 2017. Age, associated changes in granulosa cells and follicular fluid in cows. *Journal of Reproduction and Development*, 63, 339-345.
- Jarillo-Rodríguez, J., Castillo-Gallegos, E., Flores-Garrido, A.F., Valles-de la Mora, B., Ramírez, A.L., Escobar-Hernández, R., and Ocaña-Zavaleta, E., 2011. Producción de forraje, calidad y eficiencia de utilización de pastos nativos bajo diferente carga animal y época del año en el trópico húmedo mexicano. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13, 417-427.
- Karimi, T.M., Ghorbani, R.G., Kargar, S., and Drackley, K.J., 2015. Late-gestation heat stress abatement on performance and behavior of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 6865-6875.
- Kouamo, J., Tidjou, S.G., Zoli, A.P., and Mfopit, Y.M., 2015. Effect of nutritional status on the ovarian follicular population, yield and quality of oocytes in the Ngaoundere Gudali zebu (*Bos indicus*). *Veterinary World*, 8, 502-507.
- Kovács, L., Luca, K.F., Tozsér, J., Szenci, O., Póti, P., and Pajor, F., 2015. Heart rate and heart rate variability in dairy cows with different temperament and behavioural reactivity to humans. *Plos One*, 10, doi: [10.1371/journal.pone.0136294](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136294).
- Krisher, R.L., 2004. The effect of oocyte quality on development. *Journal of Animal Science*, 82(E. Suppl.), E14-E23.
- Lee, Y.J., Jung, G.Y., and Seo, B.B., 2016. Effects of culture media conditions on production of eggs fertilized in vitro of embryos derived from ovary of high grade Hanwoo. *Journal of Animal Science and Technology*, 58, DOI 10.1186/s40781-016-0093-5.
- Lees, M.A., Sejian, V., Wallage, L.A., Steel, C.C., Mader, L.T., Lees, C.J., and Gaughan, B.J., 2019. The impact of heat load on cattle. *Animals*, 9, 322, doi: [10.3390/ani9060322](https://doi.org/10.3390/ani9060322).
- Leibfried, L., and First, N.L., 1979. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. *Journal of Animal Science*, 48, 76-86.
- Lima, S.R., Assumpcao, O.D.M.E., Visintin, J.A., and Paula-Lopes, F.F., 2013. Alteracoes celulares inducidas pelo estresse térmico em embriões bovinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 50, 257-264.
- Lima, B.G.P.N.P.S., Bonvino, S.N., Pires, V.B., Bonilha, F.M.S., Cyrillo, N.S.G.J., Negrao, A.J., and Paz, C.P.C., 2020. Effect of high temperatura on physiological parameters of Nelore (*Bos taurus indicus*) and Caracu (*Bos taurus taurus*) cattle breeds. *Tropical Animal Health and Production*, <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02249-y>.

- López-Gatius, F., and R.H.F. Hunter., 2019. Pre-ovulatory follicular cooling correlates positively with the potential for pregnancy in dairy cows: Implications for human IVF. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 48: 419-422.
- Marsico, V.T., Camargo, J., Valente, S.R., and Sudano, J.M., 2019. Embryo competence and cryosurvival: molecular and celular features. *Animal Reproduction*, 16, 423-439.
- Martínez, R., Ávila, O., Pérez, J., Gallego, J., y Onofre, H., 2005. Estructura y función del banco de germoplasma *in vitro* en Colombia. *Archivos de Zootecnia*, 54, 545-550.
- Méndez, S.M., Soria, E.M., Galarza, R.L., Perea, P.F., and Argudo, E.D., 2018. Effect of fetal calf serum on production and cryotolerance of *in vitro* bovine embryos from ecuadorian creole heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, 31, 141-142.
- Méndez, S.M., Argudo, E.D., Soria, E.M., Galarza, R.L., Perea, P.F., 2020. Efecto de la adición de melatonina en el medio de maduración y/o vitrificación de ovocitos sobre la producción *in vitro* de embriones bovinos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(1), <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17557>.
- Ortega-Gaucin, D., Cruz, B.J., and Castellano, B.H.V., 2018. Drought vulnerability índices in Mexico. *Water*, 10, 1671; doi:10.3390/w10111671.
- Payton, R.R., Romar, R., Coy, P., Saxton, A.M., Lawrence, J.L., and Edwards, J.L., 2004. Susceptibility of bovine germinal vesicle-stage oocytes from antral follicles to direct effects of stress *in vitro*. *Biology of Reproduction*, 71, 1303-1308.
- Pessoa, G. A., R. B. Navarro, L. P. Rauber, K. E. Brass, C. A. M. Silva, M. I. B. Rubin. 2010. Influence of climatic conditions on *in vitro* production of bovine embryos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Vetarinnaria e Zootecnia*, 62, 1381-1387.
- Peralta-Torres, J.A., Aké-López, J.R., Centurión-Castro, F.G., Segura-Correa, J.C., 2017a. Effect of season and breed group on the follicular population and cyclicity of heifers under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 49, 207-211.
- Peralta-Torres, J.A., Aké-López, J.R., Segura-Correa, J.C., and Aké-Villanueva, J.R. 2017b. Effect of season on follicular population, quality and nuclear maturation of bovine oocytes under tropical conditions. *Animal Reproduction Science*, 187, 47-53.
- Rocha, A., R. D. Randel, J. R. Broussard, J. M. Lim, R. M. Blair, J. D. Roussel, R. A. Godke, and W. Hansel. 1997. High environmental temperatura and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, 49: 657-665.
- Rodríguez, A.T., Ispada, J., Risolia, H.B.P., Rodrigues, T.M., Lima, S.R., Assumpcao, E.O.A.M., Visintin, A.J., Paula-Lopes, F.F., 2016. Thermoprotective effect of insulin-like growth factor 1 on *in vitro* matured bovine oocyte exposed to heat shock. *Theriogenology*, 86, 2028-2039.
- Rosendo-Ponce A., y Becerril-Pérez, C.M., 2015. Avance en el conocimiento del bovino criollo lechero tropical de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2, 233-243.
- Sakatani, M., 2017. Effects of heat stress on bovine preimplantation embryos produced *in vitro*. *Journal of Reproduction and Development*, 63(4): 347-352.

- Sartori, R., Prata, A.B., Figueiredo, A.C.S., Sanches, B.V., Pontes, G.C.S., Viana, J.H.M., Pontes, J.H., Vasconcelos, J.L.M., Pereira, M.H.C., Dode, M.A.N., Monteiro Jr. P.L.J., and Baruselli, P.S., 2016. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. *Animal Reproduction*, 13, 300-312.
- SAS (Statistical Analysis System), 2010. User's Guide: Statistic, Version 9.4 for Windows. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Silva, F.C., Sartorelli, S.E., Castilho, C.S.A., Satrapa, A.R., Puelker, Z.R., Razza, M.E., Ticianelli, S.J., Eduardo, P.H., Loureiro, B., and Barros, M.C., 2013. Effects of heat stress on development, quality and survival of *Bos indicus* and *Bos taurus* embryos produced *in vitro*. *Theriogenology*, 79, 351-357.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional), 2020. Consulta de base de datos 2000 – 2013. Sistema de información climatológica y geográfica del estado de Veracruz, México. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>.
- Su, L., Yang, S., He, X., Li, X., Ma, J., Wang, Y., Presicce, G.A., and Ji, W., 2012. Effect of donor age on the developmental competence of bovine oocytes retrieved by ovum pick up. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 184-189.
- Sutton, M.L., Gilchrist, R.B., and Thompson, J.G., 2003. Effects of *in vivo* and *in vitro* environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complexes and its influence on oocyte developmental capacity. *Human Reproduction update*, 9, 35-48.
- Takuma, T., Sakai, S., Ezoe, D., Ichimaru, H., Jinnouchi, T., Kaedei, Y., Nagai, T., and Otoi, T., 2010. Effect of season and reproductive phase on the quality, quantity and developmental competence of oocytes aspirated from Japanese Black cows. *Journal of Reproduction and Development*, 56, 55-59.
- Torres-Júnior, S.J.R., Pires, F.A.M., Sá, F.W., Ferreira, M.A., Viana, M.J.H., Camargo, A.L.S., Ramos, A.A., Folhadella, M.I., Polisseni, J., Freitas, C., Clemente, A.C.A., Sá Filho, M.F., Paula-Lopes, F.F., Baruselli, S.P., 2008. Effect of maternal heat-stress on follicular growth competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, 69, 155-166.
- Viana, J.H.M., L.G.B. Siquiera., M.P. Palhao., and S.A. Camargo., 2010. Use of *in vitro* fertilization technique in the last decade and its effect on Brazilian embryo industry and animal production. *Acta Scientiae Veterinariae*, 38(Supl. 2): s661-s674.
- Ward, F.A., Lonergan, P., Enright, B.P., and Boland, M.P., 2000. Factors affecting recovery and quality of oocytes for bovine embryo production *in vitro* using ovum pick-up technology. *Theriogenology*, 54, 433-446.
- Wildman, E.E., Jones, G.M., Wagner, P.E., Boman, R.L., Trout, J.R., Lesch, T.N., 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, 65, 495-512.
- Woelders, H., Windig, J., and Hiestra, S.J., 2012. How developments in cryobiology, reproductive technologies and conservation genomics could shape gene banking strategies for (farm) animals. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(Suppl. 4), 264-273.

- Wolfenson, D., Thatcher, W.W., Badinga, L., Savio, J.D., Meidan, R., Lew, B.J., Braw-tal, R., and Berman, A., 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction*, 52, 1106-1113.
- Zubor, T., Holló, G., Pósa, R., Nagy-Kiszlinger, H., Vigh, Z., and Húth, B., 2020. Effect of rectal temperatura on efficiency of artificial insemination and embryo transfer technique in dairy cattle during hot season. *Czech Journal of Animal Science*, 65, 295-302.

CONCLUSIONES

La estación afecta considerablemente la gestación de las vaquillas, las probabilidades más altas de gestación a primer servicio (GP) y global (GG) se observaron en las estaciones caliente-húmeda (CH) y fresca-seca (FS) y las más bajas en caliente-seca (CS). Las temperaturas máximas (Tmax) más altas en los siete días anteriores al servicio de inseminación artificial (IA; PRIA) afectaron negativamente GP y GG. Ni la estación, ni Tmax y humedad relativa (HR) del día del servicio de IA (DIA) afectaron GP y GG; sin embargo, la HR alta de los siete días posteriores a la IA (POIA) disminuyó GP y GG; por consiguiente, las estaciones CH y FS son las más favorables para servir a las vaquillas Lechero Tropical (LT).

Por otro lado, el año de servicio de IA, el número de servicio (NS) y el número de parto (NP) afectaron la gestación (GE) de las vacas LT. Sin embargo, ni la estación ni la Tmax ni HR de PRIA, DIA y POIA tuvieron efecto significativo en GE. Solo se observó efecto del año en servicios por concepción (SC) y fertilidad (FE), pero no de la estación ni del número de parto. Las medias de 1.3 SC y la FE superior de 0.75 son indicativos de la alta FE que las vacas LT manifiestan durante todo el año, producto de su naturalización a los climas adversos de Veracruz.

La estación afectó considerablemente la cantidad y calidad de los complejos cúmulos-ovocitos (COCs) recuperados por aspiración folicular guiada por ultrasonografía (OPU). Al igual que los embriones fertilizados *in vitro* (FIV) de las hembras criollas Romosinuano (RM) y LT. El daño causado en los COCs durante la estación CS se refleja en un menor número de COCs que maduraron *in vitro* y en menores tasas de división embrionaria, y blastocistos calidad 1. Los COCs recolectados en CH y FS tienen la mayor capacidad de dividirse y alcanzar la etapa de blastocisto. Por lo cual, las estaciones CH y FS son las más recomendables para realizar OPU-FIV en hembras criollas RM y LT en Veracruz.

ANEXOS

Anexo 1. Materiales y equipos para aspiración folicular guiada por ultrasonografía (OPU).

Equipos

- ❖ Ultrasonido.
- ❖ Transductor microconvexo.
- ❖ Guía transvaginal para aspiración folicular para animales adultos.
- ❖ Bomba de aspiración con calentador de tubos de 50 ml.
- ❖ Rolia (tapa hermética de aluminio) para tubo de 50 ml.
- ❖ Sistema de alimentación ininterrumpida con 8 tomas de corriente marca.

Materiales para aspiración

- Línea de aspiración plástica 120cm de largo de 1 mm de diámetro.
- Manguera de vacío.
- Agujas de OPU de 20G por 50 mm.
- Gel para ultrasonografía.
- Fundas para OPU.
- Tubos de 50 ml.
- Agujas 18g por 1'1/2 de largo.
- Inyectadora de 5ml.
- Clorhidrato de lidocaina al 2%.
- Guantes de palpación.
- Guantes de nitrilo.
- Alcohol 7%.
- Servilletas.

Equipos para búsqueda

- Lupa esterioscópica.
- Placa térmica.
- Calentador de tubos, capacidad 4 tubos de 50 ml y 6 criotubos.
- Fomentará con regulador de temperatura.
- Pipeta 100 microlitros.
- Pipeta 10 microlitros.
- Trípode sostenedor de filtros.
- Transportador de ovocitos, con almacenamiento de mezcla de gases.
- Hielera.

Insumos para búsqueda

- ✓ Complete flush de 1000 ml.
- ✓ Heparina 5000 UI.
- ✓ Inyectora 1 ml.
- ✓ Inyectora 20 ml.
- ✓ Agujas 16g por 1'1/2.
- ✓ Placas de petry 35mm de diámetro.
- ✓ Medios de maduración ovocitaria.
- ✓ Puntas para pipetas 10 microlitros.
- ✓ Puntas para pipeta 200 microlitros.
- ✓ Filtros para OPU.
- ✓ Pinza hemostatica.
- ✓ Servilletas.
- ✓ Campo quirúrgico.
- ✓ Bolígrafo.
- ✓ Marcador indeleble.
- ✓ Planillas de aspiración folicular.