

Niveles de progesterona sérica en ovejas Pelibuey y Suffolk sometidas a estrés térmico

Serum progesterone levels in Pelibuey and Suffolk ewes under thermal stress

Mario Rodríguez Mendoza* Hugo H. Montaldo**
Juan Alberto Balcázar Sánchez* Joel Hernández Cerón*

Abstract

In this study it was assessed the effect of high environmental temperature on the serum progesterone levels and whether this effect is smaller in sheep (Pelibuey) adapted to hot climate than in not adapted sheep (Suffolk). Thirty two ewes, 16 of the Pelibuey breed and 16 of the Suffolk breed, were synchronized with intravaginal sponges with FGA. At day two of the estrous cycle (day of estrus = day 0), the ewes were assigned to two treatments: a) Thermal stress group [$n=16$ (eight Pelibuey and eight Suffolk)]. From day two up to the return to estrus the ewes remained six hours a day in an environmental chamber at $> 32^{\circ}\text{C}$ ($35 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$) and 31% of relative humidity (RH); b) control group [$n=16$ (eight Pelibuey and eight Suffolk)], stayed at ambient temperature during all the study ($19 \pm 4^{\circ}\text{C}$ and 31% of RH). Two blood samples were taken daily (at 9:00 am and 4:00 pm) from day 0 until the following estrus. Progesterone was measured by radioimmunoassay. Progesterone concentration data were analyzed using mixed linear models. The effects of the treatment, breed, time of measurement and interactions were tested. The random effect of the ewe nested in breed was added to the model to consider the repeated structure of the information. The length of the luteal phase and the estrous cycle was analyzed with a model that included the effects of the treatment, breed, and breed x treatment interaction. The length of the luteal phase (11.1 ± 0.15 versus 11.5 ± 0.15 days for thermal stress and control groups, respectively) and the estrous cycle (17.1 ± 0.24 versus 17.3 ± 0.3 days for thermal stress and control groups, respectively) was similar ($P > 0.05$) between groups. Progesterone concentrations were similar between treatments and there were no effects of the breed, neither treatment x breed interaction ($P > 0.05$). There is no evidence in this study that a high environmental temperature affects the serum progesterone levels in Pelibuey and Suffolk ewes.

Key words: CORPUS LUTEUM, THERMAL STRESS, SHEEP.

Resumen

En este trabajo se probó si la alta temperatura ambiental afecta los niveles séricos de progesterona y si este efecto es menor en las ovejas (Pelibuey) adaptadas al clima cálido que en las no adaptadas (Suffolk). Se utilizaron 32 ovejas, 16 de la raza Pelibuey y 16 de la raza Suffolk, sincronizadas con esponjas intravaginales con FGA. El día dos del ciclo estral (día del estro = día 0), las ovejas fueron asignadas a dos tratamientos: a) estrés térmico [$n=16$ (ocho Pelibuey y ocho Suffolk)], desde el día dos y hasta el retorno al estro las ovejas permanecieron durante seis horas al día en una cámara climática a $> 32^{\circ}\text{C}$ ($35 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$) y 31% de humedad relativa (HR); b) testigo [$n=16$ (ocho Pelibuey y ocho Suffolk)], se alojaron a temperatura ambiente durante todo el estudio ($19 \pm 4^{\circ}\text{C}$ y 31% de HR). Se tomaron dos muestras de sangre diariamente (9:00 am y 4:00 pm) del día 0 hasta el siguiente estro y se determinaron las concentraciones de progesterona mediante radioinmunoanálisis. Las concentraciones de progesterona se compararon mediante modelos lineales mixtos. Se probaron los efectos del tratamiento, raza y hora de medición e interacciones. Se añadió al modelo, el efecto aleatorio de la oveja anidada en la raza, para considerar la estructura repetida de la información. La duración de la fase lútea y del ciclo estral se analizó con un modelo que incluyó el efecto del tratamiento, raza y la interacción raza x tratamiento. La duración de la fase lútea (11.1 ± 0.15 vs 11.5 ± 0.15 días, grupos estrés térmico y testigo, respectivamente) y del ciclo estral (17.1 ± 0.24 vs 17.3 ± 0.3 días, grupos estrés térmico y testigo, respectivamente) fue similar entre grupos ($P > 0.05$). Las concentraciones de progesterona fueron similares entre tratamientos y no se observó efecto de la raza ni de la interacción tratamiento x raza ($P > 0.05$). En este estudio no se encontró evidencia de que la alta temperatura ambiental afecte los niveles séricos de progesterona en ovejas de la raza Pelibuey y Suffolk.

Palabras clave: CUERPO LÚTEO, ESTRÉS TÉRMICO, OVEJAS.

Recibido el 17 de octubre de 2007 y aceptado el 1 de diciembre de 2008.

*Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F., correo electrónico: jhc@servidor.unam.mx

**Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

Introduction

The exposure of Merino ewes to ambient temperature higher than 32°C during the mating season decreases fertility and number of newborn lambs.^{1,2} Likewise, the maximum ambient temperature during the three next weeks to breeding has been negatively correlated with the number of newborn lambs.² Thermal stress exposure during six hours is enough to affect embryo development in the ewe³ and in the cow.^{4,5} Progesterone subnormal concentrations are related to embryo development delay and to conception failure,⁶ and can be the cause of low fertility observed in thermal stress conditions.⁷ The exposure of dairy cows to high temperatures decreases progesterone production,^{8,9} studies *in vitro* have found that progesterone production by ovary luteal cells collected during summer is lower than the one secreted by ovary luteal cells collected in winter.⁹ Studies about the effect of ambient high temperature on *corpus luteum* function in ewes are limited and contradictory. Sheikheldin *et al.*¹⁰ found a marginal increase of serum progesterone levels in ewes exposed to thermal stress, while Hill and Alliston¹¹ observed less progesterone concentrations in ewes subjected to thermal stress.

Likewise, genetic differences in thermal stress tolerance have been observed; in this way, breeds that evolved in warm climates better regulate their body temperature in heat stress conditions than breeds that evolved in temperate or cold climates. Pelibuey or Tabasco breed has its origin in sheep who arrived to America during the XVI century coming from the Canary Islands and Africa; it is a hairy breed adapted to subtropical and tropical climates.¹² Pelibuey ewes maintain their body temperature lower and their cells produce higher concentrations of heat shock protein 70 (HSP-70) than Suffolk breed ewes in thermal stress conditions.¹³

It would be interesting to determine if exposure to high ambient temperatures affects the *corpus luteum* function in ewes and to know if there are susceptible genetic differences to such effect; therefore, the aim of this study was to assess serum progesterone levels in Pelibuey and Suffolk ewes exposed to thermal stress.

The experiment was carried out in an experimental unit of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry of the National Autonomous University of Mexico, in Mexico City, with subhumid-temperate climate and summer rains, besides a minimum and maximum annual temperature of 7°C and 24°C, respectively, and annual pluvial precipitation of 800 to 1200 mm.¹⁴

The study was carried out during the months of October and November, which correspond to the bree-

Introducción

En ovejas de la raza Merino la exposición a temperatura ambiental mayor de 32°C durante el empadre disminuye la fertilidad y el número de corderos nacidos.^{1,2} Asimismo, la temperatura ambiental máxima en las tres semanas siguientes al empadre se ha correlacionado negativamente con el número de corderos nacidos.² La exposición a estrés térmico durante seis horas es suficiente para afectar el desarrollo embrionario en la oveja³ y en la vaca.^{4,5} Las concentraciones subnormales de progesterona están relacionadas con retraso del desarrollo embrionario y con falla en la concepción,⁶ además de que pueden ser causa de la baja fertilidad observada en condiciones de estrés térmico.⁷ En la vaca lechera la exposición a altas temperaturas disminuye la producción de progesterona;^{8,9} en estudios *in vitro* se encontró que la producción de progesterona mediante células lúteas de ovarios recolectados durante el verano es menor a la secretada por células lúteas de ovarios recolectados en invierno.⁹ En la oveja los estudios del efecto de la alta temperatura ambiental en la función del cuerpo lúteo son limitados y contradictorios. Sheikheldin *et al.*¹⁰ encontraron un incremento marginal de los niveles séricos de progesterona en ovejas expuestas a estrés térmico, mientras que Hill y Alliston¹¹ observaron menores concentraciones de progesterona en ovejas sometidas a estrés térmico.

Asimismo, se han observado diferencias genéticas en la tolerancia al estrés térmico; de esta forma, las razas que evolucionaron en climas cálidos regulan mejor su temperatura corporal en condiciones de estrés calórico que las razas que lo hicieron en climas templados o fríos. La raza Pelibuey o Tabasco tiene su origen en las ovejas que llegaron a América durante el siglo XVI procedentes de Islas Canarias y África; se trata de una raza de pelo adaptada a los climas subtropical y tropical.¹² Las ovejas Pelibuey mantienen su temperatura corporal más baja y sus células producen mayores concentraciones de la proteína de choque térmico 70 (HSP-70) que las ovejas de la raza Suffolk en condiciones de estrés térmico.¹³

Sería interesante determinar si la exposición a temperaturas ambientales altas afecta la función del cuerpo lúteo en la oveja y conocer si hay diferencias genéticas en la susceptibilidad a dicho efecto; por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar los niveles séricos de progesterona en ovejas Pelibuey y Suffolk expuestas a estrés térmico.

El experimento se llevó a cabo en una estación experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la Ciudad de México, con clima templado-subhúmedo y lluvias en verano, además de

ding season of this breed in Mexico.¹⁵ Thirty two ewes (16 Pelibuey and 16 Suffolk) were used. The animals were synchronized with intravaginal sponges with 40 mg of fluorogestone acetate (FGA) for ten days; at the time of removing them, a luteolytic dose of PGF₂ α was administered. Twenty four hours later, estrous was detected (morning and noon) with the use of a ram fitted with an apron. The day in which the ewes allowed the male to mount was considered as zero. Two groups were formed at day two of the cycle: a) thermal stress [n = 16 (eight Pelibuey and eight Suffolk)], from day two of the cycle until next estrous, ewes stayed for six hours a day (11:00 am to 17:00 pm) in a climate chamber at > 32°C (35 $\pm$ 1.4°C) and relative humidity (RH) of 31% [temperature-humidity index (THI) = 27.2]; b) control group [n = 16 (eight Pelibuey and eight Suffolk)], were allocated at ambient temperature during all the time of study (19 $\pm$ 4°C and RH of 31%; THI = 17.6). Two blood samples were taken each day (9:00 am and 4:00 pm) from day zero until they returned to estrous. Samples were collected by jugular vein puncture in vacuum tubes with anticoagulant (EDTA) and were centrifuged at 1 500 g for 15 minutes. Plasma was separated and was kept at -20°C until analyzed. Progesterone concentrations were determined by radioimmunoanalysis on solid phase,¹⁶ with an assay sensitivity of 0.1 ng/mL and an intra-assay coefficient of variance of 4.1%.

Luteal phase beginning was considered when progesterone concentrations were higher than 1 ng/mL, and its end when they were less than 1 ng/mL.¹⁷

Progesterone concentrations were compared with mixed linear models. Treatment, breed, and measurement and interaction hour effects were tested. Random effect of the nested ewe in the breed was added to consider the repeatedly structure of the information. SAS® Mixed procedure was used to carry out the analyses.¹⁸ Luteal phase and estrous cycle duration was analyzed by a model which included treatment, breed, and breed interaction $\times$ treatment effect (SAS® GLM).¹⁸

All ewes showed estrous 47 $\pm$ 10 hours later after withdrawing the FGA sponge. Luteal phase duration (11.1 $\pm$ 0.15 vs 11.5 $\pm$ 0.15 days, thermal stress and control groups, respectively) and estrous cycle (17.1 $\pm$ 0.24 vs 17.3 $\pm$ 0.3 days, thermal stress and control groups, respectively) was similar between groups (P > 0.05). Progesterone concentrations were alike between treatments and neither breed or treatment interaction $\times$ breed effect was observed (P > 0.05; Figure 1). The results of the present study contrast with the study done by Hill and Alliston¹¹ on White Face ewes, in which the animals subjected to thermal stress had less plasmatic progesterone concentrations than ewes that were kept under thermoneutrality. Likewise, they

temperatura anual de 7°C y 24°C, mínima y máxima, respectivamente; la precipitación pluvial es de 800 a 1 200 mm anuales.¹⁴

El estudio se realizó durante octubre y noviembre, que corresponden a la plena época reproductiva de esta especie en México.¹⁵ Se utilizaron 32 ovejas (16 Pelibuey y 16 Suffolk). Los animales se sincronizaron mediante la aplicación de esponjas intravaginales con 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA) durante diez días; al momento de retirarlas se aplicó una dosis luteolítica de PGF₂ α . Veinticuatro horas después se detectaron estros (mañana y tarde) con un macho provisto con mandil. El día en que las ovejas aceptaron la monta se consideró como cero. Al día dos del ciclo se formaron dos grupos: a) estrés térmico [n = 16 (ocho Pelibuey y ocho Suffolk)], desde el día dos del ciclo y hasta el retorno al estro, las ovejas permanecieron durante seis horas al día (11:00 am a 17:00 pm) en una cámara climática a > 32°C (35 $\pm$ 1.4°C) y humedad relativa (HR) de 31% [índice de temperatura-humedad (THI) = 27.2]; b) testigo [n = 16 (ocho Pelibuey y ocho Suffolk)], se alojaron a temperatura ambiente durante todo el estudio (19 $\pm$ 4°C y HR de 31%; THI = 17.6). Se tomaron dos muestras de sangre al día (9:00 am y 4:00 pm), del día cero hasta el día en que regresaron a estro. Las muestras fueron recolectadas mediante punción en la vena yugular en tubos al vacío con anticoagulante (EDTA) y se centrifugaron a 1 500 g durante 15 minutos. Se separó el plasma y se conservó a -20°C hasta su análisis. Se determinaron las concentraciones de progesterona mediante radioinmunoanálisis en fase sólida,¹⁶ con sensibilidad del ensayo de 0.1 ng/mL y un coeficiente de variación intraensayo de 4.1%.

Se consideró el inicio de la fase lútea cuando las concentraciones de progesterona superaron 1 ng/mL, y su final cuando se redujeron a menos de 1 ng/mL.¹⁷

Las concentraciones de progesterona se compararon mediante modelos lineales mixtos. Se probaron los efectos del tratamiento, raza y hora de medición e interacciones. Se añadió el efecto aleatorio de la oveja anidada en la raza para considerar la estructura repetida de la información. Para realizar los análisis se utilizó el procedimiento Mixed de SAS®.¹⁸ La duración de la fase lútea y del ciclo estral se analizó con un modelo que incluyó el efecto del tratamiento, raza, y de interacción raza $\times$ tratamiento (GLM de SAS®).¹⁸

Todas las ovejas mostraron estro 47 $\pm$ 10 horas después de retirar la esponja con FGA. La duración de la fase lútea (11.1 $\pm$ 0.15 vs 11.5 $\pm$ 0.15 días, grupos estrés térmico y testigo, respectivamente) y del ciclo estral (17.1 $\pm$ 0.24 vs 17.3 $\pm$ 0.3 días, grupos estrés térmico y testigo, respectivamente) fue similar entre grupos (P > 0.05). Las concentraciones de progesterona fueron similares entre tratamientos y no se observó efecto de

differ from cow studies, where the reduction of progesterone concentrations during the exposure period to thermal stress is evident.^{8,19} and less progesterone synthesis capacity by ovary luteal cells collected during the thermal stress period.⁹ Nevertheless, they are similar to the ones obtained from dairy goats subjected to thermal stress conditions (33°C). In this study, goats under thermal stress had progesterone concentrations similar to goats kept under thermoneutrality.²⁰

The lack of thermal stress effect on the luteal function observed here and the negative effect found in the study of Hill and Alliston¹¹ can be due to the high temperature exposure period, since in this study ewes were permanently kept during the whole estrous cycle at 36.1°C and RH of 71%, while during the present study they were only subjected to thermal stress during six hours a day. In the mentioned study, hyperthermia did not only affect luteal function but it also caused estrous behavior and preovulatory LH peak decrease.

Likewise, the difference with the observed in dairy cows can be explained by the metabolic differences between these two species. In dairy cows thermal stress effects are highlighted by metabolic heat generation due to high milk production and to the incapacity of dairy breeds to effectively eliminate heat.²¹ The aforementioned causes that rectal temperature in cows under thermal stress increase more than 1.5°C, while in ewes exposed to thermal stress only show increases of no more than 0.7°C.^{22,23} Thus, dairy cows which experiment increase in body temperature during thermal stress conditions is such that it affects ovulatory follicular characteristics^{24,25} and luteinization process,²⁶ besides it decreases progesterone synthesis, which causes lower serum concentrations of this hormone.⁹ According to the results of the present study, reduction of fertility in ewes naturally exposed to temperatures > 32°C can be consequence of the direct effects of temperature on the oocyte maturation and the early embryo development, as it occurs in the cow^{4,27} and less to alterations of the *corpus luteum* function.

la raza ni de la interacción tratamiento × raza ($P > 0.05$; Figura 1). Los resultados del presente trabajo contrastan con el estudio de Hill y Alliston¹¹ en ovejas White Face, en el cual los animales sometidos a estrés térmico tuvieron menores concentraciones plasmáticas de progesterona que las ovejas que estuvieron en termoneutralidad. Asimismo, difieren de los trabajos en vacas, en los que es evidente la reducción en las concentraciones de progesterona durante el periodo de exposición a estrés térmico^{8,19} y menor capacidad de síntesis de progesterona por las células lúteas de ovarios recolectados durante el periodo de estrés térmico.⁹ Sin embargo, son similares a los obtenidos en cabras lecheras sometidas a condiciones de estrés térmico (33°C). En este estudio las cabras bajo estrés térmico tuvieron concentraciones de progesterona similares a las cabras mantenidas en termoneutralidad.²⁰

La falta de efecto del estrés térmico en la función lútea observada aquí y el efecto negativo encontrado en el estudio de Hill y Alliston¹¹ puede ser consecuencia del periodo de exposición a la alta temperatura, ya que en este estudio las ovejas estuvieron durante todo el ciclo estral a 36.1°C y HR de 71%, mientras que en el presente trabajo sólo se sometieron a estrés térmico durante seis horas al día. En el estudio mencionado, la hipertermia no sólo afectó la función lútea sino también ocasionó disminución del comportamiento estral y del pico preovulatorio de LH.

Asimismo, la diferencia con lo observado en la vaca lechera se puede explicar por las diferencias metabólicas entre estas dos especies. En la vaca lechera los efectos del estrés térmico se agudizan por la generación de calor metabólico debido a la abundante producción de leche y a la incapacidad de las razas lecheras para eliminar eficazmente el calor.²¹ Lo anterior ocasiona que la temperatura rectal de las vacas bajo estrés térmico aumente más de 1.5°C mientras que en las ovejas expuestas a estrés térmico sólo muestran incrementos de no más de 0.7°C.^{22,23} Así, el aumento de la temperatura corporal que experimentan las vacas lecheras durante condiciones de estrés térmico

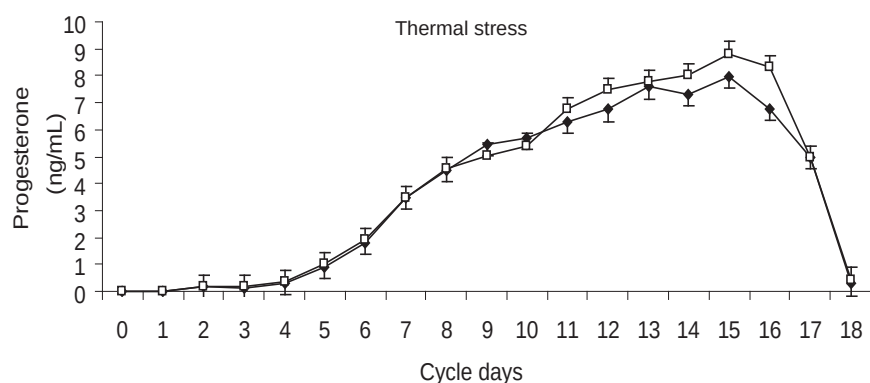


Figura 1: Concentraciones de progesterona durante el ciclo estral en ovejas Pelibuey y Suffolk testigos (-□-) y en condiciones de estrés térmico (-♦-). No hubo efecto del tratamiento, de la raza ni de la interacción tratamiento × raza ($P > 0.05$).

Figure 1: Progesterone concentrations during the estrous cycle in Pelibuey and Suffolk control ewes (-□-) and in thermal stress conditions (-♦-). There was no effect on treatment, breed or treatment × breed interaction ($P > 0.05$).

Neither rectal temperature or respiratory frequency was measured here to determine if ewes suffered from thermal stress; nevertheless, temperature-humidity index is indicator of the stress grade caused by ambient temperature.^{18,28,29} In this study, THI (27.2) was superior to the index from which negative effects are observed on ewe milk production (THI of 23).²⁸ Also, the temperature to which the ewes were subjected (35°C in average) was higher than the temperature (32°C) to which negative effects exist on the fertility of this species.^{1,2} Likewise, a study in the same climatic chamber and with similar temperatures, increase of rectal temperature and respiratory frequency in ewes was observed, proper of stress caused by high ambient temperatures.²³

Finally, no evidence was found in regard to high ambient temperature affecting progesterone serum levels in Pelibuey and Suffolk ewes.

Acknowledgements

Special thanks to the financing given by the Support Program for Research and Technological Innovation Projects (PAPIIT) of the National Autonomous University of Mexico, Project IN222305.

Referencias

1. KLEEMANN DO, WALKER SK. Fertility in South Australian commercial Merino flocks: relationships between reproductive traits and environmental cues. *Theriogenology* 2005;63:2416-2433.
2. LINDSAY DR, KNIGHT TW, SMITH JF, OLDHAM CM. Studies in ovine fertility in agricultural regions of Western Australia: ovulation rate, fertility and lambing performance. *Aust J Agric Res* 1975;26:189-198.
3. NAQVI SMK, MAURYA VP, GULYANI R, JOSHI A, MITTAL JP. The effect of thermal stress on superovulatory response and embryo production in Bharat Merino ewes. *Small Ruminant Res* 2004;55:57-63.
4. RIVERA RM, HANSEN PJ. Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction* 2001;121:107-115.
5. HERNANDEZ-CERON J, CHASE JRCC, HANSEN PJ. Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano and Angus breeds. *J Dairy Sci* 2004;87:53-58.
6. MANN GE, LAMMING GE. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod Dom Anim* 1999;34:269-274.
7. WOLFENSON D, ROTH Z, MEIDAN R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 2000;60-61:535-547.
8. HOWELL JL, FUQUAY JW, SMITH AE. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J Dairy Sci* 1994;77:735-739.
9. WOLFENSON D, SONEGO H, BLOCH A, SHAHAM-

es de tal magnitud que afecta las características del folículo ovulatorio^{24,25} y el proceso de luteinización,²⁶ además de que disminuye la síntesis de progesterona, ello ocasiona menores concentraciones séricas de esta hormona.⁹ De acuerdo con los resultados del presente estudio, la reducción de la fertilidad de las ovejas expuestas en forma natural a temperaturas > 32 °C puede ser consecuencia de los efectos directos de la temperatura en la maduración del ovocito y en el desarrollo temprano del embrión, como ocurre en la vaca^{4,27} y menos a alteraciones de la función del cuerpo lúteo.

Aquí no se midió la temperatura rectal ni la frecuencia respiratoria para determinar si las ovejas sufrieron estrés térmico; sin embargo, el índice de temperatura-humedad es indicador del grado de estrés causado por la temperatura ambiental.^{18,28,29} En este trabajo el THI (27.2) fue superior al índice a partir del cual se observan efectos negativos en la producción de leche en la oveja (THI de 23).²⁸ Además, la temperatura a la cual se sometieron las ovejas (35°C en promedio) fue superior a la temperatura (32°C) en la cual ya hay efectos negativos en la fertilidad en esta especie.^{1,2} Asimismo, en un estudio en la misma cámara climática y con temperaturas similares, se observó incremento de la temperatura rectal y de la frecuencia respiratoria en las ovejas, propias de estrés provocado por elevada temperatura ambiental.²³

Finalmente, no se encontró evidencia de que la alta temperatura ambiental afecte los niveles séricos de progesterona en ovejas de las razas Pelibuey y Suffolk.

Agradecimientos

Se agradece el financiamiento otorgado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Universidad Nacional Autónoma de México, Proyecto IN222305.

- ALBALANCY A, KAIM M, FOLMAN Y *et al.* Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells. *Dom Anim Endocrinol* 2002;22:81-90.
10. SHEIKHELDIN MA, HOWLAND BE, PALMER WM. Effects of heat stress on serum progesterone in cyclic ewes and on progesterone and cortisol response to ACTH in ovariectomized ewes. *J Reprod Fertil* 1988;84:521-529.
11. HILL TG, ALLISTON CW. Effects of thermal stress on plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, prolactin and testosterone in the cycling ewe. *Theriogenology* 1981;15:201-209.
12. DELGADO JV, PEREZGROVAS R, CAMACHO ME, FRESNO M, BARBA C. The Wool-Less Canary Sheep and their relationship with the present breeds in America. *Agricultural* 2000;28:27-34.
13. MONTERO A, HERNÁNDEZ-CERÓN J, MONTALDO

- H, CORTÉZ A, ROMERO R. Concentración de la proteína de choque calórico 70 (HSP-70) en linfocitos de ovejas Pelibuey y Suffolk en condiciones de estrés calórico. Memorias de XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 2006 noviembre 6-11; Veracruz (México). México (DF): INIFAP, 2006:4.
14. GARCÍA DE ME. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª ed. México DF: Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, 1988.
 15. ARROYO LJ, GALLEGOS-SÁNCHEZ J, VILLA-GODOY A, BERRUECOS JM, PERERA G, VALENCIA J. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Anim Reprod Sci* 2007;102:24-30.
 16. PULIDO A, ZARCO L, GALINA CS, MURCIA C, FLORES G, POSADAS E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 1991;35:965-975.
 17. ZARCO QL, STABENFELDT GH, KINDAHL H, QUIRKE JF, GRANSTROM E. Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. *Anim Reprod Sci* 1984;7:245-267.
 18. SAS INSTITUTE. User's Guide, Version 8. Cary, NC: Statistical Analysis System Institute, Inc., 2000.
 19. RONCHI B, STRADAIOLI G, VERINI-SUPPLIZI A, BERNABUCCI U, LACETERA N, ACCORSI PA *et al.* Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livest Prod Sci* 2001;68:231-241.
 20. URIBE-VELÁSQUEZ LF, OBA E, DE ALBUQUERQUE LH, NEVES DESE, STÉFANO F. Efeitos do estresse térmico nas concentrações plasmáticas de Progesterona (P4) e Estradiol 17- β (E2) e temperatura retal em cabras da raça Pardo Alpina. *Rev Bras Zootec* 2001;30:388-393.
 21. KADZERE CT, MURPHY MR, SILANIKOVE N, MALTZ E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest Prod Sci* 2002;77:59-91.
 22. SRIKANDAKUMAR A, JOHNSON EH, MAHGOUB O. Effect of heat stress on respiratory rate, rectal temperature and blood chemistry in Omani and Australian Merino sheep. *Small Ruminant Res* 2003;49:193-198.
 23. TABAREZ RA. Efecto del estrés calórico en la calidad de los embriones de ovejas Pelibuey y Suffolk (tesis de maestría). México (DF):UNAM, 2008.
 24. WOLFENSOSN D, THATCHER WW, BADINGA L, SAVIO JD, MEIDAN R, LEW BJ *et al.* Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycling in lactating dairy cattle. *Biol Reprod* 1995;52:1106-1113.
 25. ROTH Z, MEIDAN R, BRAW-TAL R, WOLFENSON D. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J Reprod Fertil* 2000;120:83-90.
 26. WISE ME, ARMSTRONG DV, HUBER JT, HUNTER R, WIERSMA F. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J Dairy Sci* 1988;71:2480-2485 [abstract].
 27. ROTH Z, HANSEN PJ. Disruption of nuclear maturation and rearrangement of cytoskeletal elements in bovine oocytes exposed to heat shock during maturation. *Reproduction* 2005;129:235-244.
 28. FINOCCHIARO R, VAN KAAM JB, PORTOLANO B, MISZTAL I. Effect of heat stress on production of Mediterranean dairy sheep. *J Dairy Sci* 2005;88:1855-1864.
 29. GARCIA-ISPIERTO I, LOPEZ-GATIUS F, SANTOLARIA P, YANIZ JL, NOGAREDA C, LOPEZ-BEJAR M *et al.* Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 2006;65:799-807.