

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**



**EVALUACIÓN DEL USO DEL SEMEN SEXADO EN VAQUILLAS HOLSTEIN BAJO
ENFRIAMIENTO ARTIFICIAL EN VERANO COMPARADO CON INVIERNO: TASA
DE CONCEPCIÓN Y RESPUESTA FISIOLÓGICA.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTA

NORBERTO ISMAEL ANGULO VALENZUELA

DIRECTOR DE TESIS

Ph. D ABELARDO CORREA CALDERÓN

MEXICALI, B.C. MÉXICO

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

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California.

Ph. D. Abelardo Correa Calderón
Director de Tesis

Dr. Ulises Macías Cruz
Sinodal

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes
Sinodal

Dr. Fernando Rivera Acuña
Sinodal

M.C. Francisco Daniel Álvarez Valenzuela
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por darme el apoyo económico para realizar mis estudios de maestría.

A mi asesor PhD Abelardo Correa Calderón por su apoyo y consejos tanto en lo académico y personal, además de demostrarme que antes de ser alumno me considera amigo.

Al Dr. Ulises Macías Cruz y Ph. D Leonel Avendaño, por sus valiosos consejos y aportaciones importantes a este trabajo y a mi formación dentro de la maestría, solo me queda agradecer por su apoyo y ayuda.

Al Ing. Rubén Fregoso por permitirnos realizar el experimento además de compartir sus experiencias, de darnos la oportunidad de laborar dentro de la explotación que el maneja.

A los maestros Daniel Álvarez, Salome Saucedo, Mónica Avilés, Noemí Torrentera, por ser parte de las personas que aportaron para mi formación académica y demostrarme su apoyo incondicional cuando se necesitaban.

A todos los compañeros y amigos que a lo largo de mi estancia en Mexicali lucharon a la junto conmigo ayudándonos a realizar nuestros trabajos poniendo cada quien su granito de arena tanto en campo como en las aulas solo queda decir que muchas gracias.

Un agradecimiento especial a todos los trabajadores de ICA los cuales me formaron parte de su equipo y tratándome como uno de ellos dándome todo el apoyo, confianza y hasta compartirme su comida además de permitir ser parte de los CHIQUILLOS, gracias mi gente por ayudarme en los momentos más difíciles de mi estancia. No menciono nombres porque me faltarían hojas para hacerlo, pero de verdad siempre los llevare en el corazón y muchas gracias por todos esos buenos ratos y sobre todo el apoyo incondicional y solo queda decir ¡¡ANIMO MI GENTE!!

DEDICATORIAS

A mi DIOS que me permitió terminar otra etapa importante en mi vida profesional y personal y siempre ayudándome a elegir el mejor camino aunque enfrente me ponga retos gracias SEÑOR en ti confié.

A mis PADRES doña MARINA y don AURELIO, los cuales simplemente son mis motores los cuales me impulsan a seguir adelante, además de darme los ánimos para demostrarme que los límites se los pone uno mismo, muchas gracias viejos y esta va para ustedes.

A mis hermanos MIRIAM, CARLOS y MAURICIO, los cuales a lo largo de mi vida han sido mis mayores ejemplos y sobre todo guías, gracias mis locos que la unión siga siempre.

A mi TERE, la cual ha sido mi pilar más importante aquí en Mexicali ya que ella me animo a estar aquí y demostrarme que sí podía, además de darme sus consejos y regaños pero sobre todo apoyo y amor, gracias hija por eso te amo porque siempre me haces ver las mejores cosas de mi persona.

A todas esas personas que a lo largo de mi vida me han ayudado y aconsejado, los cuales me han dado la confianza para salir adelante, crecer y tratar de ser mejor en lo que hago, de verdad mi más sincero agradecimiento por su apoyo mis familiares y amigos mis respeto esto es por ustedes y apenas viene lo bueno...

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Semen sexado.....	3
2.1.1 Procesamiento del semen sexado por citometria de flujo.....	3
2.1.2 Ventajas de la utilización de semen sexado en la ganadería lechera.....	4
2.1.3 Desventajas de la utilización de semen sexado en la ganadería lechera..	5
2.2 Factores que afectan la reproducción.....	6
2.2.1 Nutrición.....	6
2.2.2 Condiciones climáticas.....	8
2.3 Estrés calórico.....	9
2.4 Fisiología del estrés calórico.....	10
2.5 Respuestas fisiológicas al estrés calórico.....	11

2.6 Manejo ambiental.....	13
2.6.1 Sombras.....	13
2.6.2 Enfriamiento artificial.....	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 Ubicación geográfica.....	15
3.2 Animales y tratamientos.....	15
3.3 Instalaciones.....	16
3.4 Datos climatológicos.....	17
3.5 Variables de estudio.....	17
3.5.1 Temperatura rectal y frecuencia respiratoria.....	17
3.5.2 Temperatura vaginal.....	18
3.5.3 Tasa de concepción.....	18
3.5.4 Progesterona y metabolitos.....	18
3.6 Análisis estadístico.....	19
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1 Datos climatológicos.....	20
4.2 Variables fisiológicas.....	21

4.2.1 Frecuencia respiratoria.....	21
4.2.2 Temperatura rectal.....	22
4.2.3 Temperatura vaginal.....	22
4.3 Progesterona.....	23
4.4 Tasa de concepción.....	25
4.5 Metabolitos.....	28
4.5.1 Glucosa.....	28
4.5.2 Colesterol.....	29
4.5.3 Urea.....	30
V. CONCLUSIONES.....	42
VI. LITERATURA CITADA	43

LISTA DE CUADROS

	Páginas
Cuadro 1. Ingredientes y análisis bromatológico de la dieta ofrecida durante la época de verano e invierno	32
Cuadro 2. Promedios generales de las variables climáticas registradas durante la época de verano e invierno.....	33
Cuadro 3. Respuesta fisiológica en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno	34
Cuadro 4. Tasa de concepción a primer servicio en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno	35

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Temperatura vaginal durante el día y noche en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno.....	36
Figura 2. Concentración de progesterona en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno	37
Figura 3. Concentración de progesterona en vaquillas Holstein gestantes y no gestantes durante la época de verano (A) e invierno (B) inseminadas con semen sexado	38
Figura 4. Concentración de glucosa en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno.....	39
Figura 5. Concentración de colesterol en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno.....	40
Figura 6. Concentración de urea en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno...	41

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la tasa de concepción y respuesta fisiológica de vaquillas inseminadas con semen sexado en dos diferentes épocas del año. Se utilizaron 80 vaquillas Holstein fueron divididas en dos grupos. Grupo de verano que consistió de 40 vaquillas con detección de celo visualmente e inseminadas por la mañana durante el verano, adicionalmente se les proporciono enfriamiento artificial de las 10:00 a 18:00 h. El grupo de invierno, formado por 40 vaquillas bajo el mismo protocolo reproductivo que el grupo de verano, durante la época de invierno. La temperatura rectal y frecuencia respiratoria se tomó dos veces por semana siendo mayor ($P < 0.05$) en el grupo de verano para ambas variables. La temperatura vaginal, se registró cada hora durante las 24 h, del día obteniendo valores más altos en la época de verano ($P < 0.05$) en la mayoría de las horas del día a excepción de las 11.00 y 12:00 h ($P > 0.05$). Las concentraciones de progesterona (P_4) se determinó por medio de muestras sanguíneas tomadas cada 3 días desde la IA hasta el día 21 post-IA, encontrándose mayores niveles ($P < 0.05$) en verano en únicamente el día 21 post-IA para vaquillas gestantes mientras que en no gestantes fue mayor ($P < 0.05$) en invierno también el día 21. La tasa de concepción (TC) fue mayor ($P < 0.05$) para invierno (65%) en comparación a verano (37 %), en base a los resultados encontrados se concluye que el uso de sistemas de enfriamiento ayuda a mejorar la temperatura corporal durante las horas más calientes del día, sin embargo, no mejoro la TC en vaquillas con semen sexado.

Palabras claves: sistema de enfriamiento, tasa de concepción, semen sexado

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of using sex-sorted semen on conception rate (RC) and physiological response, during summer and winter seasons. Eighty Holstein heifers were divided into two groups. Summer consisted 40 heifers, with visual heat detection and AI during morning additionally were provided with artificial cooling from 10:00 to 18:00 h. Winter consisted 40 heifers under the same reproductive protocol the summer groups. The rectal temperature and respiratory rate recorded twice per week were higher ($P < 0.05$) for summer both variables. The vaginal temperature was recorded every hour for 24 h, getting higher values in the summer ($P < 0.05$) in most of the daylight hours except 11:00 and 12:00 h ($P > 0.05$). The progesterone concentrations (P4) were determined through blood samples taken every 3 days from the IA until 21 d after AI, P4 with high values ($P < 0.05$) in summer only 21d post-AI for pregnant heifers while not pregnant was higher ($P < 0.05$) in winter. The conception rate (TC) was higher ($P < 0.05$) for winter (65%) compared to summer (37%). Based on the results it is concluded that the use of cooling systems helps improve body temperature during the hottest part of the day, however, did not improve the CR in heifers with sexed semen.

Key words: sexed semen, conception rate, cooling system

I. INTRODUCCIÓN

Debido a la importancia económica y productiva que las hembras representan en la producción de leche siempre se ha tratado de manipular el sexo de las crías con el propósito de aumentar la disponibilidad de reemplazos (Chebel et al., 2010), por lo que se ha buscado alternativas, que ayuden a incrementar la progenie de un sexo predeterminado (Olynk y Wolf., 2007). El uso de semen sexado ha sido una tecnología que en los últimos tiempos ha ayudado a incrementar el número de hembras en los hatos lecheros (Weigel, 2004). Sin embargo, la cantidad de espermatozoides por dosis es baja y el daño sufrido en el espermatozoide por el procesamiento de sexado es alta (De Graaf et al., 2009) por lo cual se considera que este tipo de semen presenta una fertilidad más baja comparada con el semen convencional por lo que se recomienda su uso preferencialmente en vaquillas (Weigel, 2004). De igual manera la obtención de un mayor número de hembras ayuda a tener mejor selección de reemplazos, además de controlar la introducción de enfermedades al hato ya que se tienen suficientes hembras propias, sin la necesidad de comprar reemplazos de otros hatos (Seidel, 2003).

Existen varios factores que afectan la reproducción como lo son: La calidad del semen, la nutrición, sanidad, manejo y medio ambiente (Senger, 2003), siendo este último uno de los que más impactan debido a la irregularidad de climas que hay en nuestro país (Lemus-Flores et al., 2002). En el noroeste de México, se presentan temperaturas extremas durante el verano lo cual trae como consecuencia que disminuya la actividad reproductiva o en su defecto los productores detengan en su totalidad la inseminación de sus animales (Correa-Calderón et al., 2002), Se ha

mencionado que el uso correcto de los sistemas de enfriamiento artificial en bovinos lecheros ayuda a mitigar el estrés por calor ayudando a que la caída de los parámetros productivos y reproductivos no sea tan marcada en los animales (Marcillac-Emberson et al., 2009). Es por ello que es de suma importancia mantener a los animales en un estado de confort el mayor tiempo posible a pesar de estar en épocas que no favorecen a ello tal como es el caso del verano en la zona noroeste de México. El utilizar un sistema de enfriamiento en vaquillas que se inseminan con semen sexado durante el verano podría contrarrestar un poco el efecto del estrés por calor y tratar de aumentar la tasa de concepción bajo estas condiciones. En base a lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la tasa de concepción y respuesta fisiológica de vaquillas inseminadas con semen sexado y bajo enfriamiento artificial en verano, comparado con la época de invierno.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Semen sexado

Con la introducción de la inseminación artificial en la ganadería lechera se ha logrado un incremento eficiente de los parámetros productivos, lo cual ha traído muchos beneficios como el mejoramiento genético de las vacas que se encuentran en los hatos (Hayacawa, 2012). Las hembras representan un factor muy importante ya que a partir de ellas se miden parámetros los cuales se relacionan directamente con la eficiencia de la actividad lechera (Chebel et al., 2010). El productor siempre ha tratado de que un mayor número de prole nacida en sus establos sean hembras ya que esto reduce los costos de producción, además de elevar su índice de selección debido a la mayor disponibilidad de vaquillas (Mallory et al., 2013).

La utilización del semen sexado de toros genéticamente superiores ha sido en los últimos tiempos la herramienta más eficiente para poder obtener mayor número de hembras de calidad en los hatos lecheros (Weigel, 2004). Muchos estudios se han realizado a partir del uso de semen sexado obteniendo diferentes resultados (Espinoza-Cervantes y Córdova Izquierdo, 2013). El semen sexado disminuye la tasa de concepción hasta un 30 % (Norman et al., 2010), mientras que por otro lado ayuda al incremento de reemplazos y disminuye los partos distócicos (Chebel et al., 2010).

2.1.1. Procesamiento del semen sexado por citometría de flujo

El método más utilizado para la separación de las células sexuales es la citometría de flujo, la cual ha logrado incrementar la comercialización de semen sexado (Garner

y Seidel, 2008). Este sistema se basa en la diferenciación de la cantidad de información genética que hay entre los espermatozoides con cromosoma X y cromosoma Y, ya que el primero tiene alrededor del 3.8 % más de ADN en relación con el cromosoma Y (Garner, 2006).

La citometría de flujo inicia con la combinación del semen en colorante fluorescente, posteriormente se introduce a una pieza de cristal-eléctrico la cual vibra a 90,000 RPM encargándose de transformar el flujo de semen en microgotas, cada una de estas gotas es iluminada por un láser de argón, la cual emite fluorescencia que es analizada por fotoreceptores, en los cuales los espermatozoides con más ADN tendrán mejor fluorescencia obteniendo así mayor carga eléctrica logrando que puedan separarse según su carga, las partículas que no cumplan los criterios no se reconocen y son enviados a otro contenedor (Garner, 2006).

2.1.2 Ventajas de la utilización de semen sexado en la ganadería lechera

Con el uso de semen sexado se reduce la incidencia de partos distócicos, ya que las crías hembras tienden a nacer con menor peso en relación a los machos, lo cual conlleva a tener un adecuado proceso posparto mejorando así los parámetros productivos y reproductivos en la lactancia subsecuente (Chebel et al., 2010).

Norman et al. (2010) recopilaron de una base de datos alrededor de 1.5 y 12.1 millones de servicios con inseminación artificial en vaquillas y vacas con semen sexado y convencional, encontrando que el porcentaje de partos distócicos y muerte fetal en vaquillas bajo I.A. con semen sexado, fue de 4.3 % y 11.3 % respectivamente, mientras que para semen convencional fue de 6.0 % para distocias

y 10.4 % para muertes embrionarias. Por otra parte en vacas se obtuvo un 2.5 % y 3.6% en distocia y muertes embrionarias respectivamente utilizando semen convencional, mientras que en vacas inseminadas con semen sexado se obtuvo un 0.9 % para distocias y un 2.7 % para muertes fetales, concluyendo que el semen sexado reduce los partos distócicos, mientras que la muerte fetal no fue influenciada por el tipo de semen que se utilizó.

Con el uso de semen sexado se puede traer beneficios adicionales como mejorar la sanidad y la bioseguridad al no requerir la entrada de hembras provenientes de otros hatos a la explotación. (De Vries et al., 2008).

2.1.3 Desventajas de la utilización de semen sexado en la ganadería lechera

El procesamiento de sexado de semen, trae como consecuencia que el número de espermatozoides por pajilla sea 10 veces menor debido a la manipulación a la que es expuesto, en comparación con el semen convencional (2×10^6 semen sexado, 20×10^6 semen convencional), lo cual se refleja negativamente sobre la fertilidad por el uso de semen sexado (De Jarnette et al., 2011). Debido a lo anterior, el semen sexado se ha recomendado solo usarse en vaquillas vírgenes con celo natural ya que la fertilidad es mayor en vaquillas en comparación con vacas productoras y así aumentar la tasa de concepción (Mallory et al., 2013).

En un experimento realizado por De Jarnette et al. (2011), se evaluó la tasa de concepción de diferentes toros, los cuales fueron sometidos a procesamiento de sexado de semen y semen convencional en una misma dosis de concentración espermática (2.1×10^6 y 10×10^6), encontrando que existe una diferencia en

fertilidad entre el semen sexado y convencional a concentración de 2 millones de espermatozoides por dosis, sin embargo en la concentración de 10 millones se observó mayor tasa de concepción con el semen sexado. Sin embargo usar esta concentración no es rentable comercialmente comparado con semen convencional. Otras desventajas que presenta el semen sexado es que algunos productores se basan en seleccionar semen sexado de un toro, sin tomar en cuenta las características específicas que las vaquillas necesitan, provocando un posible retroceso genético si no se tiene al toro adecuado para dichas vaquillas (De Vries et al., 2008).

2.2 Factores que afectan la reproducción

Para poder tener una reproducción óptima dentro de la explotación ganadera, es muy importante que previo a que se sometan los animales al empadre se tenga que cumplir ciertos criterios los cuales determinarán el éxito reproductivo. Dichos factores son principalmente la nutrición, sanidad del animal y condiciones climáticas (Senger, 2003).

2.2.1 Nutrición

Para vacas altas productoras de leche se han elaborado diferentes estrategias de alimentación con la finalidad de poder cubrir sus requerimientos, una de ellas es aumentar la proteína cruda (PC) hasta un 19% dentro de la dieta, lo cual puede producir un aumento en la concentración de urea a nivel sanguíneo si esta proteína es altamente degradable en rumen modificando así el pH, del organismo ocasionando baja viabilidad embrionaria (Butler, 1998). Este efecto está relacionado

con la alteración de las células del endometrio, provocando un incremento en la secreción de $\text{PGF2}\alpha$ (Findlay et al., 1990).

Se ha mencionado que una deficiencia de energía en la etapa de desarrollo se manifiesta en una reducida actividad reproductiva en hembras bovinas (Williams,1989) ya que por efecto de un balance energético negativo, el crecimiento y desarrollo folicular es inadecuado, dando como resultado una mala manifestación de estro, por ende una reducida actividad reproductiva (Montiel y Ahuja,2005). Una mala nutrición se manifiesta en la utilización de las reservas de energía, trayendo como consecuencia que el animal sufra alteración en su condición corporal, lo cual conlleva a que se alteren algunos mecanismos hormonales (Jolly et al., 1995).

La condición corporal (CC) es un método de evaluación para determinar las reservas corporales de energía en el ganado lechero, además es muy utilizado en la práctica para estimar la calidad nutricional de la dieta que se proporciona a los animales (Ruegg y Milton, 1995).

En el ganado lechero se ha utilizado para la medición de la CC la escala 1 a 5 donde 1= muy flaca y 5= obesa (Wildman et al., 1982), este método implica hacer observación de la zona lumbar y sacra del animal determinando su CC por medio de la exposición ósea (Edmonson et al., 1989).

De acuerdo a la etapa productiva en la que se encuentre el animal, cuando sea necesario hará movilización de las reservas corporales lo que trae como consecuencia que su CC se vea afectada, al aumentar sus necesidades de energía y la dieta no cumple con los requerimientos del animal puede presentar un balance

energético negativo (BEN), además de alterar el metabolismo y las concentraciones hormonales, trayendo como consecuencia una afectación a la actividad reproductiva (Samarütel et al., 2008). Una baja CC se ve reflejada en una disminución en la actividad reproductiva provocado por una insuficiencia de energía en el ovario afectando directamente los parámetros reproductivos (López- Gatus et al., 2003).

2.2.2 Condiciones climáticas

Las altas temperaturas y la humedad relativa son factores ambientales perjudiciales para la producción en animales comerciales tanto en los destinados para producción de carne como los productores de leche (St-Pierre et al., 2003). El ganado lechero es mayormente susceptible al estrés por calor, reduciendo el consumo de alimento y como consecuencia la disminución de la producción lechera y la eficiencia reproductiva (Wilson et al., 1998). El impacto negativo del clima sobre la reproducción en ganado lechero ha sido muy documentada, afirmándose que la manifestación del celo, crecimiento folicular, desarrollo de cuerpo lúteo, desarrollo embrionario y tasa de concepción se ven afectadas negativamente (Jordan, 2003).

Wilson et al. (1998) determinaron que someter a las vacas a temperatura termoneutral mantuvo la función ovárica normal en bovinos lecheros en lactación, observándose que tanto la cantidad de folículos maduros, el tamaño de cuerpo lúteo y la concentración de hormonas reproductivas fue menor en los animales sometidos a estrés por calor en forma continua. Posteriormente, en vaquillas Holstein, Ferreira et al. (2011) evaluaron el efecto negativo del estrés calórico sobre la calidad del ovocito y la baja fertilidad, obteniendo como resultado que el estrés calórico está

asociado en forma negativa a la calidad del ovocito y disminuyen el desarrollo embrionario temprano.

Basado en resultados similares a los mencionados anteriormente, se ha optado por la implementación de diferentes prácticas de manejo reproductivo y nutricional para poder aumentar la fertilidad en los meses más calientes. Tal es el caso de inseminar durante las horas más frescas del día (Berman, 2011), además de uso de sistemas de enfriamiento (Correa-Calderón et al., 2002), entre otras.

2.3 Estrés calórico

El estrés por calor se produce cuando cualquier combinación de factores ambientales tales como temperatura ambiental, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento, causan que la temperatura efectiva del medio ambiente sea más alta que el límite superior de la zona termoneutral del animal (Armstrong, 1994).

Las altas temperaturas ambientales incrementan la temperatura corporal provocando una disminución en el crecimiento, producción y fertilidad en el ganado lechero. Algunos estudios sugieren que la temperatura normal en vacas altas productoras (38.5°C) se mantiene estable a temperaturas de 25 a 26 °C. Es por ello que cuando se presenta una temperatura ambiental alta, la temperatura corporal aumenta drásticamente, sin embargo este cambio no se observa tan marcado en vaquillas (Takahashi, 2007).

Para determinar el nivel de estrés calórico la mayoría de los estudios en ganadería utilizan solo la temperatura ambiental y la humedad relativa y con ello se calcula el índice de temperatura humedad (ITH) el cual determina el grado de estrés calórico

en que se encuentran los animales (Bohmanova et al., 2007) pudiéndose clasificar como leve, moderado y severo según sea el valor de ITH obtenido (Armstrong, 1994). Cuando los valores de ITH superan las 72 unidades la vaca lechera comienza a mostrar signos de estrés por calor, activando así todos los mecanismos de disipación de calor con la finalidad de regular su temperatura y mantener su homeostasis (Armstrong, 1994). Sin embargo debido a que actualmente se tienen animales con mayor producción de leche, lo cual exige que su metabolismo aumente trayendo como consecuencia que sean más sensibles al estrés por calor, las últimas investigaciones que se han reportado menciona que algunos animales han mostrado signos de estrés calórico a partir de las 68 unidades (Colier et al.,2006)

2.4 Fisiología del estrés calórico

Numerosos cambios ocurren en el sistema digestivo, en la química ácido-base, y en los perfiles hormonales en bovinos bajo estrés calórico. Diversas neuronas son sensitivas a las altas temperaturas ambientales, activando así señales en el cuerpo que mandan información hasta el hipotálamo, el cual activa diversos cambios fisiológicos y conductuales para mantener el balance de su temperatura corporal (West, 2003). Durante períodos de estrés por calor las vacas reducen su consumo de alimento, su actividad motora, e incrementan su tasa respiratoria y el flujo de sangre hacia la periferia, lo cual trae como consecuencia un aumento de los requerimientos energéticos de un 7 a un 25 % (NRC, 1981).

Diversas hormonas actúan en el metabolismo como lo es somatotropina y hormonas tiroideas (T_3 y T_4), las cuales puedan disminuir la producción de calor bajo

condiciones de estrés calórico. La activación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal ayuda a la liberación de corticotropina, lo que estimula la liberación de cortisol y de mineralocorticoides a nivel de glándula adrenal y de igual manera actúa en la liberación de somatostatina, hormona que se encarga de inhibir la secreción de hormona de crecimiento (GH) y de la hormona estimuladora de la tiroides (TSH), lo cual ayuda reduciendo la producción de calor interno en respuesta al aumento de la temperatura ambiental (Collier et al., 2006).

2.5 Respuestas fisiológicas al estrés calórico

La habilidad del animal para soportar el estrés calórico, ha sido evaluada a través de la temperatura corporal y la frecuencia respiratoria (Legates et al., 1991). Cuando la temperatura ambiente supera a la del animal, el flujo de calor se invertirá y el animal tiende a ganar calor, provocando que se activen los métodos evaporativos (aumento de frecuencia respiratoria y sudoración) para la disipación del calor (Collier et al., 2006).

La frecuencia respiratoria es el medio de pérdida de calor por evaporación, más práctico de evaluar, este sistema se activa cuando el animal necesita disipar la ganancia de calor obtenido a partir de las altas temperaturas y del metabolismo del mismo animal (Hahn, 1997).

Las estrategias básicas para poder perder el calor acumulado a partir de las altas temperaturas ambientales y metabolismo del animal, es por medio de cuatro rutas básicas, convección, radiación, conducción y evaporación (Collier et al., 2006). La pérdida de calor del cuerpo depende en parte del gradiente de temperatura entre la

piel, los objetos sólidos y el aire. Los mecanismos no evaporativos son viables cuando el gradiente de temperatura ambiental es menor al de la temperatura corporal, en caso contrario la TA supera a la del animal, activándose las pérdidas evaporativas e incrementando el flujo sanguíneo hacia la periferia (Kadzere et al., 2002).

Cuando la radiación solar es alta, los animales tratan de refugiarse bajo sombra para evitar así la radiación directa del sol (Berman y Horovitz, 2012). Las pérdidas de calor por radiación se presentan principalmente durante la noche cuando el animal irradia calor hacia el exterior (Silanikove, 2000). Los animales con piel de color negra tienen absorbanza de hasta 37 % mayor de calor en comparación con animales de piel blanca (Kadzere et al., 2002).

El flujo de calor entre dos medios que tienen contacto directo se le denomina intercambio de calor por conducción (Silanikove, 2000). Cuando el aire frío entra en contacto con un cuerpo caliente, la capa de aire que rodea al cuerpo se calienta y se desplaza, llevando con ella el calor, y por lo tanto el enfriamiento del cuerpo se logra a través del proceso de convección, en caso contrario si la temperatura del aire es mayor a la temperatura de la piel, entonces el movimiento del aire ocasionara la perdida de calor del animal hasta que la temperatura del aire sea igual a la temperatura del cuerpo (Kadzere et al., 2002).

Los mecanismos evaporativos son más eficientes en climas donde la humedad relativa es baja y la temperatura ambiental es más alta (Kadzere et al., 2002), las pérdidas evaporativas son llevadas a cabo por medio de la respiración y sudoración

(Silanikove, 2000).lo que puede ocasionar fuertes jadeos aumentando la pérdida de CO_2 , a través de la ventilación pulmonar, lo cual provoca que disminuya la concentración de ácido carbónico, alterando así el equilibrio acido-básico, y como consecuencia una alcalosis respiratoria (West, 2003).

En lo que respecta a la tasa de sudoración se ha mencionado que existe mucha diferencia entre las razas de bovinos, además de que se ha relacionado con la humedad del ambiente (Berman, 2011).

La tasa de sudoración y la convección están muy relacionados entre sí ya que la ventilación de las corrientes de aire ayudan a disminuir las temperaturas corporales (Kadzere et al., 2002).

2.6 Manejo ambiental

2.6.1 Sombras

La exposición a altas temperaturas ambientales afecta la función fisiológica del ganado y puede poner en peligro el bienestar de los animales, para lo cual se han utilizado técnicas para controlar el efecto negativo de la carga de calor. La técnica más común para contrarrestar el estrés por calor en los bovinos lecheros ha sido el uso de sombras (Schütz et al., 2010) lo cual es de gran ayuda en climas cálidos y en muchas ocasiones un buen espacio de sombra es suficiente para evitar la ganancia del calor (Armstrong, 1994). Se ha estimado que la radiación solar se ve disminuida de 30 a 50 % al utilizar sombras adecuadas (Collier et al., 2006). Aunque la sombra reduce la ganancia de calor proveniente de la radiación solar, no hay efecto sobre la

temperatura del aire o la humedad relativa, por lo que se requiere enfriamiento adicional para las vacas durante el verano (West, 2003).

2.6.2 Enfriamiento artificial

El uso de sistemas de enfriamiento a base de aspersores y abanicos, pueden disminuir la carga de calor, ayudando a mejorar el comportamiento productivo y la condición corporal del ganado (Marcillac-Emberson et al., 2009). Se ha reportado que el uso de sistemas de enfriamiento artificiales ha disminuido la tasa respiratoria de 81 a 65 rpm, al igual que la temperatura rectal que disminuye hasta 1 °C con relación a los animales sometidos a solo sombra (Collier et al., 2006).

El enfriamiento de ganado a base de sistemas evaporativos se utiliza a base de alta presión, neblina fina, y grandes volúmenes de aire para evaporar la humedad de esta manera refrescando el aire circulante dentro del corral (Collier et al., 2006), Este sistema de enfriamiento ha sido eficaz en lugares con baja humedad, incluso en ambientes donde se tenga alta humedad en la noche, siempre y cuando durante el día la humedad relativa sea lo suficientemente baja para permitir que el sistema de enfriamiento evaporativo sea más eficiente (Armstrong, 1994).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Ubicación geográfica

El experimento se realizó en las instalaciones de la recria San Carlos, rancho especializado en el desarrollo de vaquillas Holstein, el cual se localiza en el Km 15 de la carretera Mexicali - San Felipe ubicado en el valle de Mexicali, con las coordenadas geográficas 32° 43', latitud norte 30° 52" latitud sur 114° 42" longitud este y 115° 56" de longitud oeste (INEGI, 2009). La región se caracteriza por presentar condiciones climáticas áridas, con temperaturas máximas en verano de 50°C y mínimas durante invierno de 0°C, con una precipitación promedio de 85 mm por año (SMN, 2013).

3.2 Animales y tratamientos

El estudio se dividió en dos épocas (verano e invierno), que correspondieron del 13 de junio del 2013 y finalizó el 21 de septiembre de 2014 la época de verano, mientras que la época de invierno correspondió del 15 de enero del 2014 al 13 de marzo del 2014. El manejo y alojamiento que se les proporciono a los animales fue similar en ambas épocas. Antes de iniciar cada periodo experimental, dos muestras sanguíneas en cada vaquilla usada fueron tomadas por punción en la vena coccígea a intervalos de 10 d entre una y otra. La sangre fue procesada para obtener suero, el cual se usó para medir las concentraciones séricas de progesterona. A partir de los niveles de progesterona se determinó si las vaquillas estaban ciclando. Se consideró a las vaquillas ciclando cuando la concentración de progesterona fue superior a 1 ng/ml en al menos uno de los dos muestreos, Adicionalmente, las vaquillas tuvieron un manejo

preventivo el cual consistió en el descorné e introducción de imán en el rumen, además de vacunación con bovi-shield gold® fp® 5 v15 HB (Pfizer), aplicación de bacterina- toxoide ultrabac 7® (Pfizer), desparasitación a base de ivermectina Virbamec® (Virbac) y aplicación de vitamina ADE Vigantol ADE® (Bayer). La alimentación antes y durante el experimento se proporcionó tres veces al día (6:00,9:00,16:00 hrs) en ambas épocas y consistió en una ración integral con los requerimientos necesarios de la etapa de desarrollo de las vaquillas (Cuadro 1).

En general, 40 vaquillas Holstein en verano y 40 en invierno fueron seleccionadas basados en su peso vivo (360 ± 20 kg) y edad en meses (14 ± 1) para ser inseminadas con semen sexado a calor natural detectado. Así, los tratamientos del estudio fueron los siguientes: 1) verano con enfriamiento artificial a base de aspersores y abanicos (tratado, G1), y 2) invierno con solo sombra en el centro del corral (testigo, G2). El sistema de enfriamiento de verano consistió en 7 abanicos de 90 cm de diámetro con un motor de $\frac{1}{2}$ HP por abanico, instalados a una distancia de 3 m entre cada uno, produciendo un movimiento de aire por abanico de 180 m³/minuto. Cada abanico tenía dos válvulas de aspersion de agua, con un gasto aproximado de 50 L/h por abanico. El sistema de enfriamiento operó en forma continua entre 10:00 y 18:00 h.

3.3 Instalaciones

Las vaquillas se mantuvieron bajo condiciones de estabulación en corrales provistos de sombra, comederos y bebederos. La dimensión de los corrales fue de 29.9 x 33.5 m, con una área total de 1001.55 m² (25.03 m² /animal). En los comederos se tenían

trampas individuales unidas entre sí (0.63 m de ancho y 0.91 m de altura a partir de la pared interna del comedero). La estructura de la sombra fue de lámina galvanizada con medidas de 18.14 x 5.82 m, con altura de 2.78 m y espacio de 2.6 m²/cabeza. El corral contaba con un bebedero de concreto en la parte sur del corral (2.5 x .95 m y .30 m de fondo).

3.4 Datos climatológicos

La información climatológica se obtuvo de la estación meteorológica portátil (Davis vantage pro2 plus), situada en el área de estudio, la cual registro la información de radiación solar, velocidad de viento, temperatura ambiental (TA) y humedad relativa (HR) en intervalos de 15 minutos. Con la información de TA y HR se estimó el ITH, con la fórmula propuesta por Hanh (1997):

$$ITH = 0.81 (T \text{ } ^\circ\text{C}) + HR (T \text{ } ^\circ\text{C} - 14.4) + 46.4$$

3.5 Variables de estudio

3.5.1 Temperatura rectal y frecuencia respiratoria

La frecuencia respiratoria (FR), se registró en 15 animales por grupo, a través del conteo de movimientos de la región costal por minuto (respiraciones/minuto). La temperatura rectal (TR) se tomó a todos los animales de cada época, utilizando para ello un termómetro digital (FLUKE, 51 II Termómetro, Fluke Co. Everett, WA, USA). La FR y TR se tomaron dos veces por semana (martes y jueves) a las 15:00 h y 16:00 h respectivamente.

3.5.2 Temperatura vaginal

La toma de temperatura vaginal (TV), se registró en tres vaquillas en cada época evaluada, dos veces por semana por medio de sensores de temperatura (HOBO U-12; Onset, MA, USA), el cual fue sujeto a un dispositivo CIDR libre de progesterona, el sensor fue programado para registrar la temperatura vaginal cada 15 minutos, con lo cual se calculó un promedio por hora durante la 24 h del día.

3.5.3 Tasa de concepción

La gestación fue diagnosticada por medio de palpación rectal a los 35 ± 2 días post-IA por un técnico especializado, reconfirmando a los 60 ± 2 y 90 ± 2 días posteriores a la IA.

3.5.4 Progesterona y metabolitos

Muestras sanguíneas se obtuvieron por medio de punción en la vena coccígea usando tubos vacutainer de 10 ml (Becton Dickinson, Franklin Lakes). Las muestras se tomaron al momento de la inseminación artificial (IA) considerándolo como día 0, y posteriormente se colectaron cada 3 días (0,3,6,9,12,15,18,21) hasta el d 21 post-IA. Las muestras colectadas fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos a 10 °C para separar el suero, el cual fue almacenado en viales de 2 ml, a -20 °C, hasta el análisis de progesterona por medio por la técnica de ELISA(Accu-bind Elisa microwells, monobind inc, lake forest Ca USA) en un lector star fax 303/plus mientras que los metabolitos sanguíneos (urea, glucosa y colesterol) con un lector de química sanguínea de fase líquida (kontrolab-easy vet).

3.6 Análisis estadístico

Todas las variables fueron analizadas con un diseño completamente al azar. Para FR y TR se utilizaron los comandos REPEATED y RANDOM del procedimiento PROC MIXED. Para TV se utilizó un modelo de mediciones repetidas en el tiempo incluyendo el modelo de efecto de tratamiento, hora y su interacción. De igual manera, para la concentración de P₄ y metabolitos se utilizó un modelo de mediciones repetidas en el tiempo donde se incluyó el efecto de tratamiento, día y su interacción (tratamiento x día) La tasa de concepción se analizó por medio de una prueba de Ji-Cuadrada. Todos los procedimientos se realizaron con el programa estadístico (SAS, 2004) y el nivel de significancia exigido fue de $P < 0.05$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Datos climatológicos

En el Cuadro 2 se muestran los promedios de las variables climatológicas para las dos épocas de estudio, observándose temperaturas ambientales promedio superiores a los 28 °C para la época de verano tanto en el día como en la noche, mientras que para la época de invierno se obtuvieron temperaturas promedio inferiores a 23 °C durante el día y noche, lo cual indica que solo en la época de verano los animales estuvieron expuestos a temperaturas por encima del punto crítico de la zona termoneutral para ganado lechero que es de 25 °C (Berman et al.,1985, Yaser et al.,1999). El promedio para humedad relativa en verano fue de 41.4 % durante el día, y para la noche de 60.7%, en tanto para la época de invierno fue de 38.6 y 54.9 % para día y noche respectivamente, obteniendo valores superiores a los promedios para la zona de estudio durante la época de verano (SMN, 2013), mientras que en el invierno se obtuvieron valores normales según el sistema meteorológico nacional con relación al promedio de la época. Las temperaturas ambientales y humedades relativas fueron usadas para estimar los valores de ITH, los cuales durante la época de verano fueron de 83.3 para el día y 76.8 durante la noche, superando las 72 unidades, que marcan como el valor donde inicia una situación de estrés calórico (Amstrong ,1994). Los animales durante el estudio se mantuvieron bajo un estrés de leve a moderado continuamente durante la época de verano.

4.2 Variables fisiológicas

En el Cuadro 3 se reportan los valores obtenidos para las variables fisiológicas donde se encontró una mayor TR y FR, durante la época de verano ($P < 0.05$).

4.2.1 Frecuencia respiratoria

En la época de verano se encontró que la FR fue mayor ($P < 0.05$) con relación a invierno, tanto previo a la IA como posterior a la misma. Estos resultados concuerdan con los reportados por Ominski et al. (2002) quienes encontraron una diferencia de 20 respiraciones por minuto (rpm) entre animales expuestos a 2 h continuas de ITH superior a 80 y los sometidos a un ambiente termoneutral. Por su parte Nonaka et al. (2008) reportaron en vaquillas Holstein mayor FR (50 rpm) cuando la temperatura fue de 33 °C comparado a 20°C. En general, nuestros resultados de FR y los encontrados en la literatura pueden deberse a que la carga de calor corporal fue excesiva en verano, y los medios no evaporativos fueron insuficientes para promover la pérdida total de calor. Bicego et al (2007) mencionan que se puede atribuir a que el animal activa las pérdidas de calor evaporativas con la finalidad de controlar la temperatura corporal. Por otra parte se ha observado un aumento de la salivación en respuesta al jadeo el cual causa que se presente una ventilación a nivel de cavidad oral con la finalidad de captar aire más fresco proveniente del ambiente además de la liberación de calor, esta reacción corporal es eficiente cuando la humedad relativa del ambiente no es muy alta (Marai y Haegeb., 2010).

4.2.2 Temperatura rectal

La temperatura rectal fue mayor ($P < 0.05$) en vaquillas durante la época de verano, tanto previo a la IA como posterior a la misma, con una diferencia promedio entre los grupos de 1 °C. Marcillac-Embertson et al. (2009) reportaron en vaquillas Holstein sometidas a enfriamiento artificial a base de gota gruesa (sprinklers), temperaturas rectales a las 17:00 h de 39.6 °C, lo cual fue muy similar a lo encontrado en nuestro estudio (39.8 °C) durante el verano. Cuando la temperatura ambiental supera la temperatura del animal, este tiende a activar sus mecanismos evaporativos de disipación de calor, sin embargo cuando la ganancia de calor es mayor que la pérdida, tiende a acumularse y su temperatura corporal aumenta (Farooq et al., 2010).

4.2.3 Temperatura vaginal

Los resultados sobre la TV se muestran en la Figura 1, observándose diferencia entre grupos siendo mayor para la época de verano ($P < 0.05$) durante todas las horas del día, a excepción de las 11:00 y 12:00 h. La temperatura corporal tiende a ser un buen indicador del grado de estrés calórico en que se encuentra el animal (Ortiz et al., 2010). Al-Haidari y Al-Hassan (2003) estudiaron el efecto de un sistema de enfriamiento evaporativo sobre la TV encontrando que durante las horas del día donde se registraron las temperaturas ambientales más altas también se obtuvo la más alta temperatura vaginal. Este mismo efecto fue observado en el presente estudio, ya que se encontró un incremento de temperatura vaginal de las 16:00 a 18:00 h, que coincidió con los valores de ITH más altos (85.4). Ortiz et al. (2010),

registraron la TV en vacas sometidas a diferentes tiempos de enfriamiento a base de un sistema evaporativo, determinando que el tiempo de enfriamiento provoca mayor confort en el animal y pueda reducir las temperaturas corporales. Además durante las horas de la noche puede liberarse calor por medio de la irradiación hacia ambiente (Arias et al.,2008), estabilizando así la temperatura corporal. En el presente experimento, la mayoría de las temperaturas vaginales en verano estuvieron dentro del rango normal para vaquillas, lo que indica que el animal posiblemente solo manifestó signos de estrés por calor en periodos cortos debido a que hizo ajustes fisiológicos durante el día por efecto de la utilización del sistema de enfriamiento y una eficiente capacidad de disipación de calor en la noche.

4.3 Progesterona

La Figura 2 muestra las concentraciones de P_4 por cada uno de los días de muestreo en vaquillas gestantes (A) y no gestantes (B) para las dos épocas del año. No se observó diferencia ($P>0.05$) entre épocas, a excepción del día 21 post-IA en donde la época de verano provoco que las vaquillas gestantes mostraron una mayor ($P<0.05$) concentración de P_4 , mientras que las vaquillas no gestantes presentaron mayor concentración de P_4 en la época de invierno. Los resultados de diferentes investigaciones han sido controversiales (De Rensis y Scaramuzzi, 2003), ya que algunos autores han encontrado que la P_4 tiende a incrementarse durante el verano (Trout et al., 1998) a disminuir (Younas et al., 1993), o bien a permanecer sin cambios (Roth et al., 2000). Con referencia a lo encontrado en este experimento, se observó que el estrés calórico de verano incremento la concentración de P_4 en vaquillas gestantes pero solo al día 21post-IA. Este resultado puede estar asociado a

un incremento en la actividad de la glándula adrenal, la cual por efecto de una condición de estrés libera cortisol y a su vez progesterona de origen suprarrenal (Trout et al., 1998). Adicionalmente, se ha demostrado que el cortisol tiene un efecto regulatorio sobre el interferón Tau dentro del reconocimiento materno de la gestación, el cual funciona como estimulador de la liberación de PGE₂, hormona que tiene función luteotrópica promoviendo la liberación de P₄ (Majewska et al., 2012). En las vaquillas no gestantes posiblemente se obtuvo una disminución de P₄ debido a la baja cantidad de células luteales, por efecto del estrés calórico, de igual manera se puede atribuir al bajo metabolismo de los lípidos precursores de esta hormona (Ronchi et al., 1999)

Ronchi et al. (2001) midieron la concentración de P₄ en vaquillas Holstein sometidas a valores de ITH de 84, en comparación con animales bajo condiciones termoneutrales, encontrando al final del ciclo estral una mayor concentración de P₄ para las vaquillas en condiciones termoneutrales, pero solamente en aquellas no gestantes, lo anterior lo atribuyeron a la irregularidad del ciclo estral, lo cual puede implicar a que se produzcan ciclos cortos y que los niveles de P₄ decrezcan días antes del siguiente celo con relación a los ciclos normales (Stott y Wiersma, 1973).

La Figura 3 muestra las concentraciones de P₄ por día en vaquillas gestantes (A) y no gestantes (B) para las dos épocas del año. En ambas épocas, la concentración de progesterona fue similar ($P > 0.05$) entre vaquillas gestantes y no preñadas del día 0 a 18 de los muestreos pero al 21 fue mayor ($P < 0.05$) en gestantes. La relación entre las concentraciones de P₄ con la tasa de concepción han sido muy documentada ya que se dice que a mayor concentración de P₄, más alta será la tasa de concepción

(Mann, 2009; Parr et al., 2012; Kenyon et al., 2013). En un experimento realizado por Green et al. (2005), en el cual relacionaron las concentraciones de P_4 con el desarrollo embrionario en los primeros 5 días de gestación en vacas Holstein, reportaron que la P_4 tiende a aumentar durante las primeras etapas de gestación en relación a las no gestantes, concluyendo que la P_4 está relacionada con el mantenimiento de la gestación provocando cambios en el ambiente uterino y no así con el desarrollo embrionario. Sin embargo, esto no concuerda con lo encontrado en este experimento, ya que no se observó diferencia entre animales gestantes y no gestantes durante la época de verano, mientras que en invierno se obtuvo una diferencia numérica entre gestantes y no gestantes hasta el día 18 post-IA. La sobrevivencia del embrión, puede ser afectada por varios factores principalmente bajo condiciones de estrés calórico ya que no permite un desarrollo adecuado de la división celular en las primeras etapas del desarrollo embrionario (Silva et al., 2013), provocando que no se tenga un adecuado reconocimiento materno de la gestación (Bazer et al., 1998) Las muertes embrionarias tempranas son alrededor del 40 % y ocurren entre los primeros 7 a 17 días post fertilización (Thatcher et al., 2003).

4.4 Tasa de concepción

El Cuadro 4 muestra la tasa de concepción a primer servicio con semen sexado en cada una de las épocas evaluadas, encontrándose un mayor porcentaje de concepción ($P < 0.05$) en la época de invierno comparado con la época de verano (65% vs 37.5 %). La tasa de concepción se ve directamente afectada por el estrés calórico ya que se pueden presentar celos irregulares o silenciosos por lo tanto no se insemina a un tiempo adecuado lo que puede producir que la inseminación ocurra

posterior a la ovulación o en caso de fertilización una muerte embrionaria temprana causada por una exposición continua a altas temperaturas post-inseminación (Hansen y Aréchiga, 1999).

García-Ispuerto et al. (2006) evaluaron el efecto del ITH con relación a las pérdidas embrionarias tempranas en vacas lecheras, señalando que animales expuestos a valores > 69 de ITH durante los primeros 7 días, presentaban un alto porcentaje de pérdidas embrionarias en comparación con el día 17 al 35 posteriores a la concepción, esto posiblemente se deba a que la hembra al tratar de disipar calor corporal manda un mayor volumen de sangre hacia la periferia, reduciendo así el fluido sanguíneo al útero limitando la llegada de nutrientes y hormonas que se requieren para la implantación (Al-Katanani et al., 2002), Se ha descrito que el estrés calórico decrece la tasa de desarrollo del embrión, incrementando el porcentaje de apoptosis de los blastómeros y disminuyendo la expresión de genes (Silva et al., 2013).

La utilización de semen sexado ha beneficiado el aumento de remplazos en la ganadería sin embargo, por su menor fertilidad es especialmente recomendado usarse en vaquillas (Mellado et al., 2010). También se recomienda usarse únicamente en climas templados porque se cree que en ambientes cálidos pudiera reducir aun más su fertilidad (Espinoza-Cervantes y Córdova-Izquierdo, 2013; Healy et al., 2013). Mellado et al. (2014), realizaron un análisis retrospectivo sobre inseminaciones con semen sexado y convencional en vacas y vaquillas, además de valorar el efecto del mes de servicio en climas cálidos, obteniendo un porcentaje de gestación mayor para vaquillas en comparación con vacas (42.1% vs 17.1%) para

los meses de verano al utilizar semen sexado, determinando que la inseminación en verano con semen sexado en vaquillas no compromete la eficiencia reproductiva de los hatos lecheros, sin embargo, estas investigaciones no incluyeron una evaluación de datos climatológicos, ni parámetros fisiológicos por lo tanto se desconoce el grado de estrés calórico al que estuvieron expuestos los animales. Los resultados anteriores poseen similitud con los obtenidos en el presente experimento, donde se evaluó parámetros fisiológicos y climatológicos lo que permitió registrar el grado de estrés calórico al que se sometieron los animales. Algunos autores indican que el uso de semen sexado puede ser igual de rentable que el convencional (Bodmer et al., 2005), a pesar de que sea utilizado en la época de verano (Mellado et al., 2014) ya que el semen sexado puede activar mecanismos termoprotectores por medio de la activación de genes, los cuales pueden inhibir la apoptosis de las células embrionarias (Morton et al., 2007). En nuestro experimento fue mayor la tasa de concepción ($P < 0.05$) en la época de invierno, debido tal vez a esa activación de agentes termoprotectores que pueden variar según el tiempo y tipo de estrés calórico (Morton et al., 2007) al que se somete el animal, sin embargo, a pesar de tener menor tasa de concepción en verano con semen sexado los valores obtenidos en este experimento pueden ser económicamente rentables ya que al obtener un mayor número de crías hembras ayuda a que no decrezca la cantidad de animales en ordeña así como la producción de leche durante los meses más calurosos (Mellado et al., 2014).

La tasa de concepción en invierno fue mayor a lo encontrado por otros autores que reportan entre 32 a 45 % (DeJarnette et al., 2010) e inclusive fue mayor que lo

encontrado en animales cebú que fue de 42 % de fertilidad (Dominguez et al., 2011). Algunos autores han señalado las diferentes tasas de concepción entre toros de la misma raza, tal es el caso de DeJarnette et al. (2011), quienes evaluaron la eficiencia del sexado de semen en 8 diferentes toros a distintas dosis, encontrando alta diferencia entre toros usando las mismas concentraciones, sin embargo al utilizar el mismo toro con distintas dosis no encontraron diferencia, determinando que el factor toro puede influir de manera significativa en la fertilidad del semen sexado.

4.5 Metabolitos

4.5.1 Glucosa

En la Figura 4 se señalan las concentraciones de glucosa en cada uno de los días muestreo posterior a la IA, las vaquillas gestantes (A) fueron diferentes ($P < 0.05$) entre épocas en el día 0 siendo mayor en verano, mientras que el día 15 y 18 después del servicio fue mayor en invierno, mientras que para las vaquillas no gestantes (B) se observó diferencia ($P < 0.05$) en el día cero y día 21 postinseminación, siendo mayor durante el verano, además del día 18 siendo mayor concentración el día 18 post-IA durante el invierno.

La glucosa es la principal fuente de energía usada por el ovario para llevar a cabo sus funciones de desarrollo folicular y ovulación, de igual manera se ha demostrado la gran importancia de este metabolito en la utilización del oxígeno a nivel de ovario (Rabiee et al., 1997;1999;2000). En el presente experimento los niveles bajos de glucosa se observaron el día cero, en ambas épocas, posiblemente debido a que se está utilizando la glucosa en el proceso de ovulación. Alves et al. (2014) evaluaron

en vacas girolando la calidad de ovocito en dos diferentes épocas del año además de correlacionar las concentraciones de metabolitos, encontrando una correlación positiva entre las concentraciones de glucosa y el número de folículos grandes (>9mm), concluyendo que la glucosa tiene un efecto directo en el desarrollo folicular, además de que se encontró un efecto directo del estrés por calor en las concentraciones de glucosa debido probablemente a la disminución del consumo de alimento, además del gasto energético debido al aumento de la tasa respiratoria (Shaffer et al.,1981). Sin embargo se ha descrito que las concentraciones de glucosa se ven incrementadas por efecto de los glucocorticoides (Marai y Haezeb, 2010). En el presente experimento se observaron al día 0 y 21 post-IA mayor concentración de glucosa durante el verano en vaquillas gestantes y no gestantes, mientras que durante el resto de los días no se encontró diferencia ($P>0.05$), posiblemente debido a que las vaquillas solo se expusieron a estrés calórico por poco tiempo activándose la liberación de cortisol logrando con esto aumentar los niveles de glucosa en sangre.

4.5.2 Colesterol

En la Figura 5 se muestran las concentraciones de colesterol en los diferentes días de muestreo post-IA durante las dos épocas evaluadas. El nivel de colesterol en vaquillas gestantes (A) fue mayor ($P<0.05$) en invierno, excepto en los días 6, 9 y 18 postservicio, en tanto que en las vaquillas no gestantes (B) solo se obtuvo una diferencia ($P<0.05$) en los días 0 y 3 después de la inseminación durante la época de invierno.

Abeni et al. (2007) evaluaron la concentración de metabolitos durante dos veranos consecutivos en vacas productoras de leche, además de clasificar el tipo de estrés calórico al que fueron sometidas, observando que las concentraciones de colesterol disminuyeron bajo condiciones de estrés calórico leve en forma continua, lo que provocó una reducción mínima en comparación con los meses más frescos, estos resultados concuerdan con lo encontrado en el presente experimento donde se observó una disminución ($P>0.05$) de colesterol en verano. Estos resultados pudieron ser debido a que los animales manifestaron estar estresados por el calor por poco tiempo, ocurriendo así una reducción en la actividad hepática que conduce a disminuir los niveles de colesterol (Ronchi et al., 2001) Asimismo, se ha señalado una disminución de colesterol por efecto de los glucocorticoides, los cuales provocan una degradación del colesterol para utilizarlo como reserva de energía (Marai y Haebe, 2010).

El colesterol representa un precursor importante en la síntesis de progesterona (Staples et al., 1998), posiblemente por ello las concentraciones de colesterol disminuyeron conforme avanzaban los días posteriores al servicio, ya que el cuerpo lúteo se va desarrollando y la síntesis de progesterona aumentando, tal y como se observó en el presente experimento.

4.5.4 Urea

La Figura 6 muestra las concentraciones de urea en vaquillas Holstein gestantes (A) donde hubo mayor concentración de urea ($P<0.05$) en verano en los días 3, 6,9,18 y

21 post-IA, mientras que para las no gestantes (B) también fue mayor ($P < 0.05$) verano en todos los días del muestreo a excepción del día 0.

El estrés calórico tiende a aumentar las concentraciones de urea en sangre, debido a que posiblemente exige una mayor utilización de aminoácidos como fuente de energía (Abeni et al., 2007), de igual manera se ha mencionado que un aumento en las concentraciones de urea en sangre provoca una disminución en la fertilidad ya que origina cambios en el ambiente uterino alterando la viabilidad del embrión (McEvoy et al., 1997). Este aumento de urea en sangre puede ser uno de los factores que disminuyeron la tasa de concepción en el presente experimento, tal y como lo menciona De Wit et al. (2001) quienes evaluaron la tasa de fertilización invitro, en ovocitos de bovinos, concluyendo que exponiendo el ovocito a concentraciones de 6 mM de urea se disminuye la tasa de fertilización y de división celular, lo cual puede traer como consecuencia que en dietas altas en proteína degradable en rumen y animales sometidos a estrés calórico se pueda disminuir la tasa de concepción por no favorecer un desarrollo embrionario normal.

Cuadro 1. Ingredientes y análisis bromatológico de la dieta ofrecida durante la época de verano e invierno.

Verano

Ingredientes	%	Análisis bromatológico	%
Ensilaje	55	Materia seca	90.66
Paja de sorgo (molida)	10	Humedad	9.34
Alfalfa 1era. calidad	11	Proteína cruda	11.33
Alfalfa media calidad	14	Extracto etéreo	2.08
Trigo rolado	8	Cenizas	14.14
Premezcla	2	Fibra cruda	37.28
		Extracto libre de nitrógeno	25.83

Invierno

Ingredientes	%	Análisis bromatológico	%
Ensilaje	30	Materia seca	94.05
Paja sorgo (molida)	10	Humedad	5.95
Alfalfa 1era. calidad	11	Proteína cruda	11.11
Alfalfa media calidad	17	Extracto etéreo	1.98
Maíz rolado	5	Cenizas	11.79
Esparrago	25	Fibra detergente neutro	48.63
Premezcla	2		

Cuadro 2. Promedios generales de las variables climáticas registradas durante la época de verano e invierno.

Variable	Verano		Invierno	
	Promedio	Rango	Promedio	Rango
Temperatura Ambiente (°C)				
Día	34.8	28.1- 47.7	22.1	14-30.2
Noche	29.4	26.3 -34.8	14.6	2.1-18.6
Humedad Relativa (%)				
Día	41.4	7.0- 67.5	38.6	9.5-58.3
Noche	60.7	42.2-94.2	54.9	42.0-95.0
ITH (unidades)				
Día	83.3	78.3-87.7	66.3	57.6-76.21
Noche	76.8	67.9-83.2	57.6	42.0-62.3

Día: 6:00 am-6:00 pm

Noche: 7:00 pm-5:00 am

Cuadro 3. Respuesta fisiológica en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno (Media \pm EE).

Grupo	Temperatura rectal (°C)		Frecuencia Respiratoria (rpm)	
	*PRE-IA	*POST-IA	PRE-IA	POST-IA
Verano	39.8 \pm 0.02 ^a	40.1 \pm 0.04 ^a	71.9 \pm 1.16 ^a	84.30 \pm 1.26 ^a
Invierno	38.8 \pm 0.03 ^b	39.0 \pm 0.03 ^b	44.4 \pm 1.32 ^b	52.30 \pm 1.28 ^b

^{a,b} Valores en la misma columna con distinta literal difieren (P<0.05)

* PRE-IA: Previo a inseminación artificial, *POST-IA: Posterior a inseminación artificial

Cuadro 4. Tasa de concepción a primer servicio en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno.

Grupos	35 d	Confirmación de gestación		% Hembras nacidas
		60 d	90 d	
Verano	37.5 (15/40) ^a	35.0 (14/40) ^a	35.0 (14/40) ^a	80.0
Invierno	65.0 (26/40) ^b	65.0 (26/40) ^b	65.0 (26/40) ^b	76.0

^{a,b} Valores en la misma columna con distinta literal difieren entre si (P<0.05)

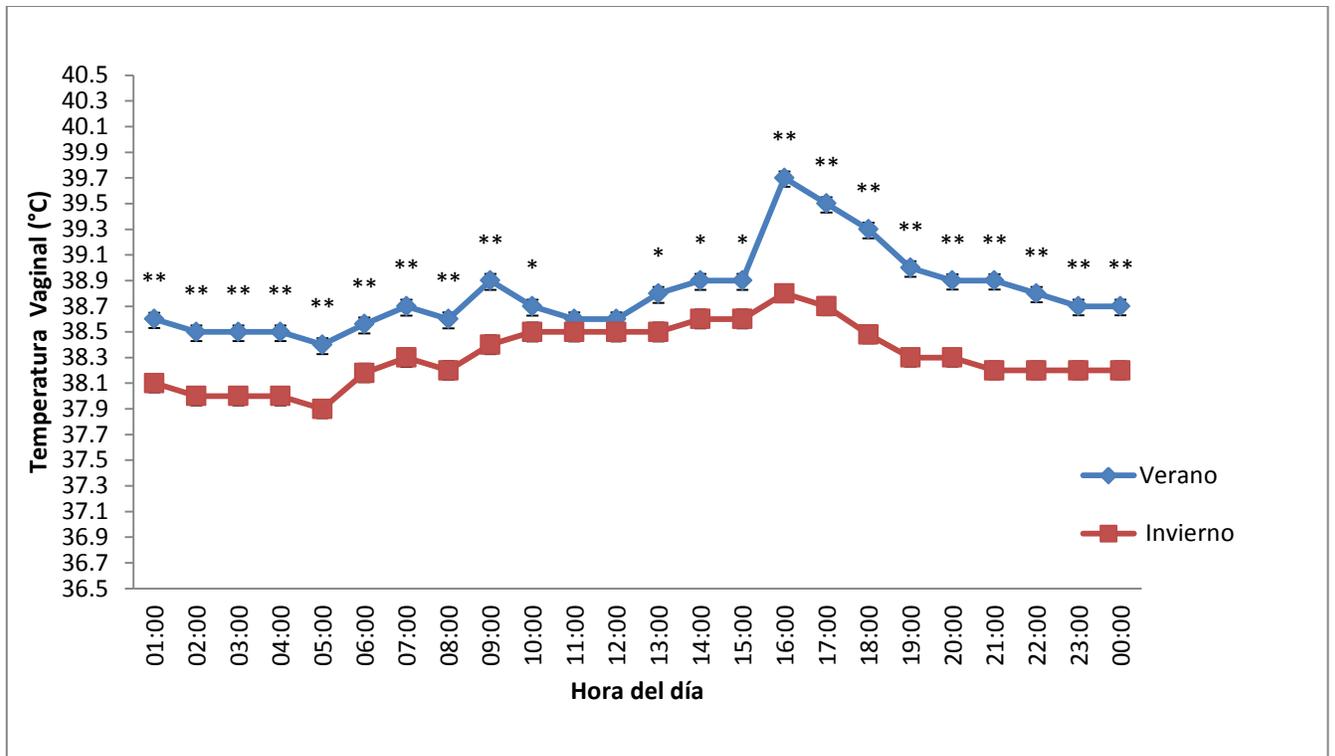


Figura 1. Temperatura vaginal durante el día y noche en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno (Media \pm EE); Horario de enfriamiento: 10:00 a 18:00 h;**($P < 0.0001$):* ($P < 0.05$).

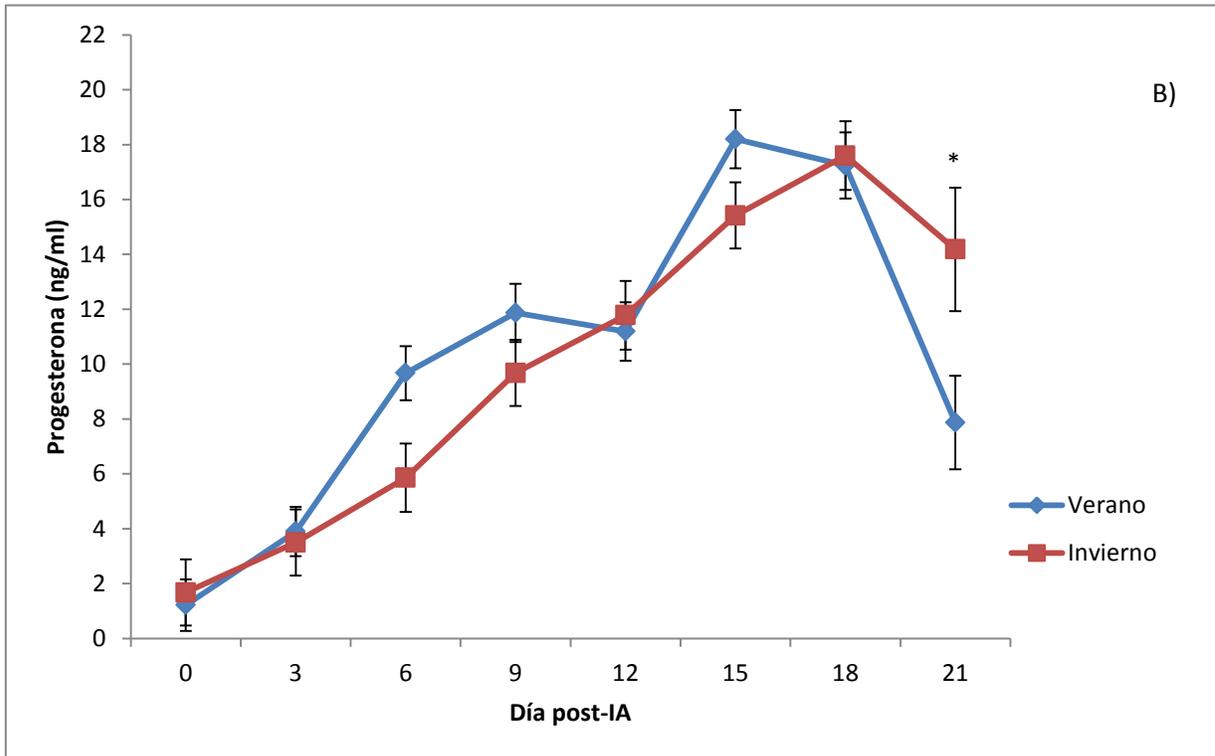
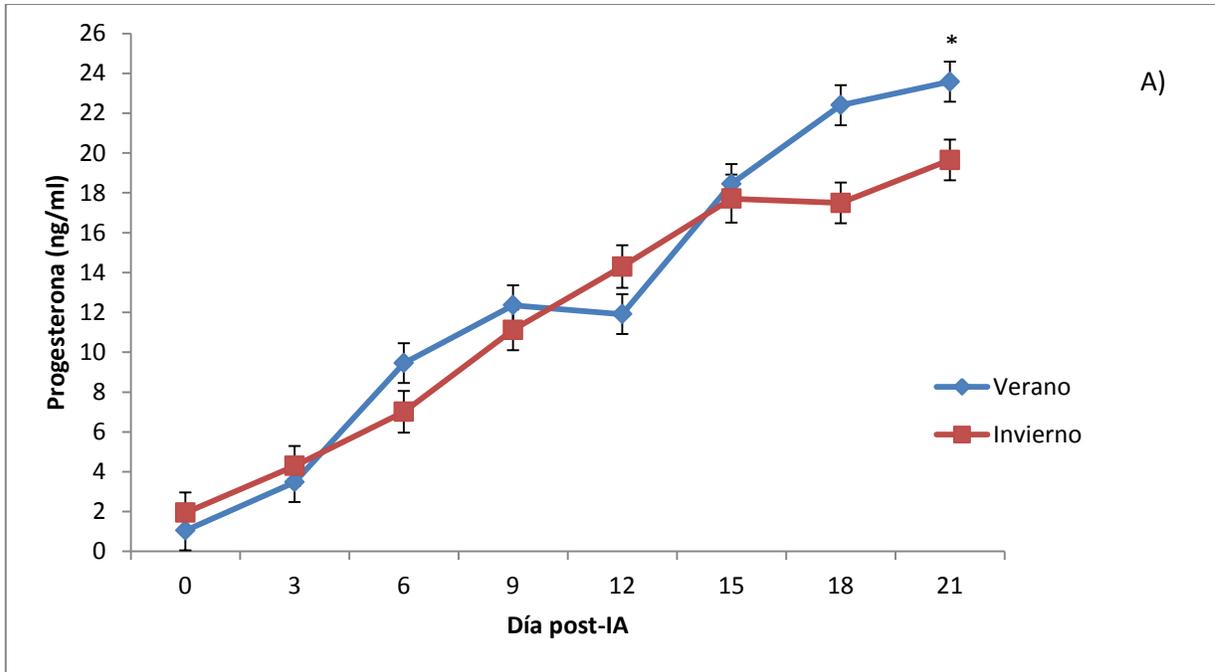


Figura 2. Concentración de progesterona en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno (Media \pm EE); * ($P < 0.05$).

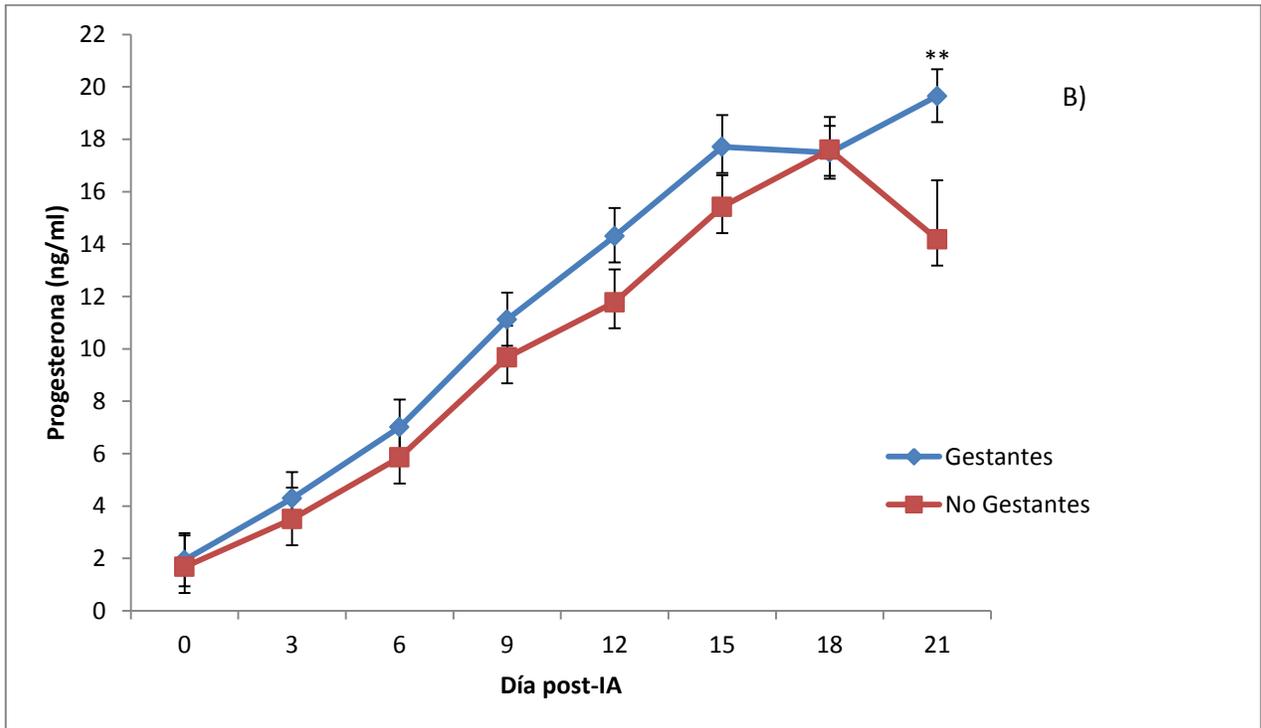
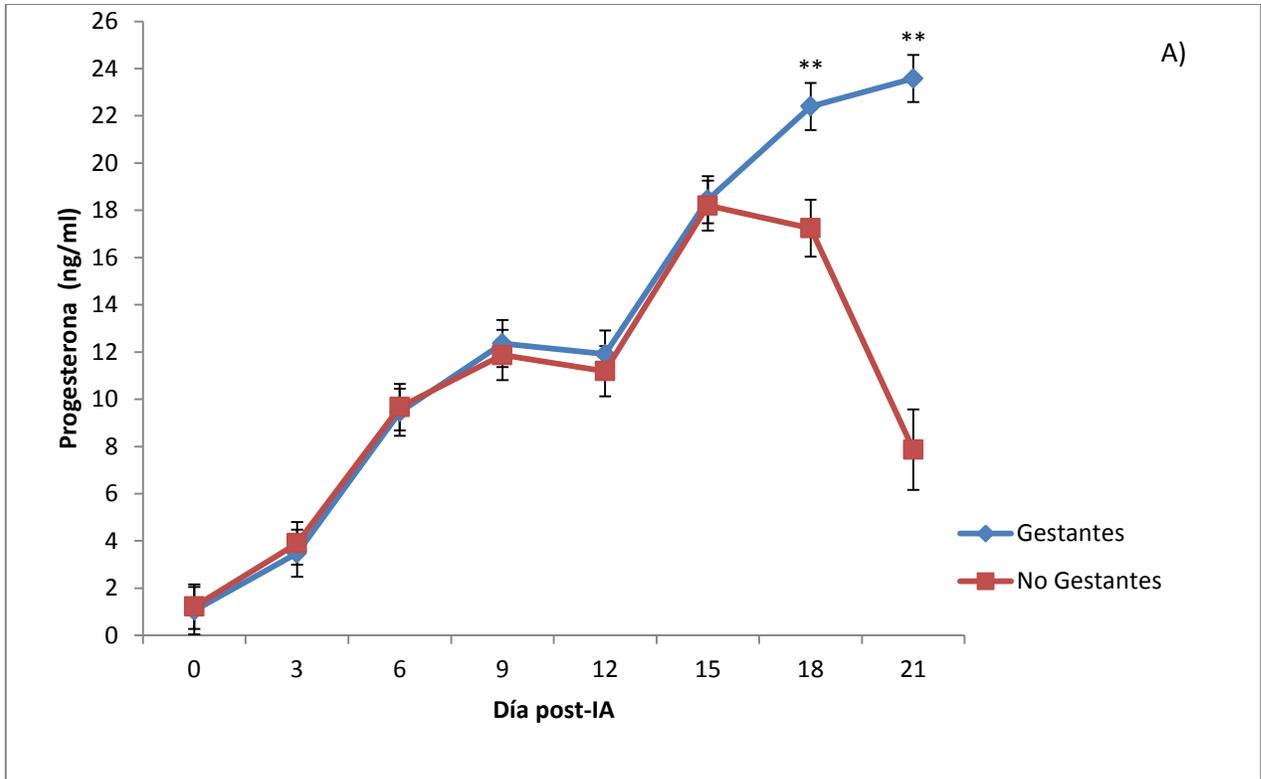


Figura 3. Concentración de progesterona en vaquillas Holstein gestantes y no gestantes durante la época de verano (A) e invierno (B) inseminadas con semen sexado (Media \pm EE). ** (P<0.0001)

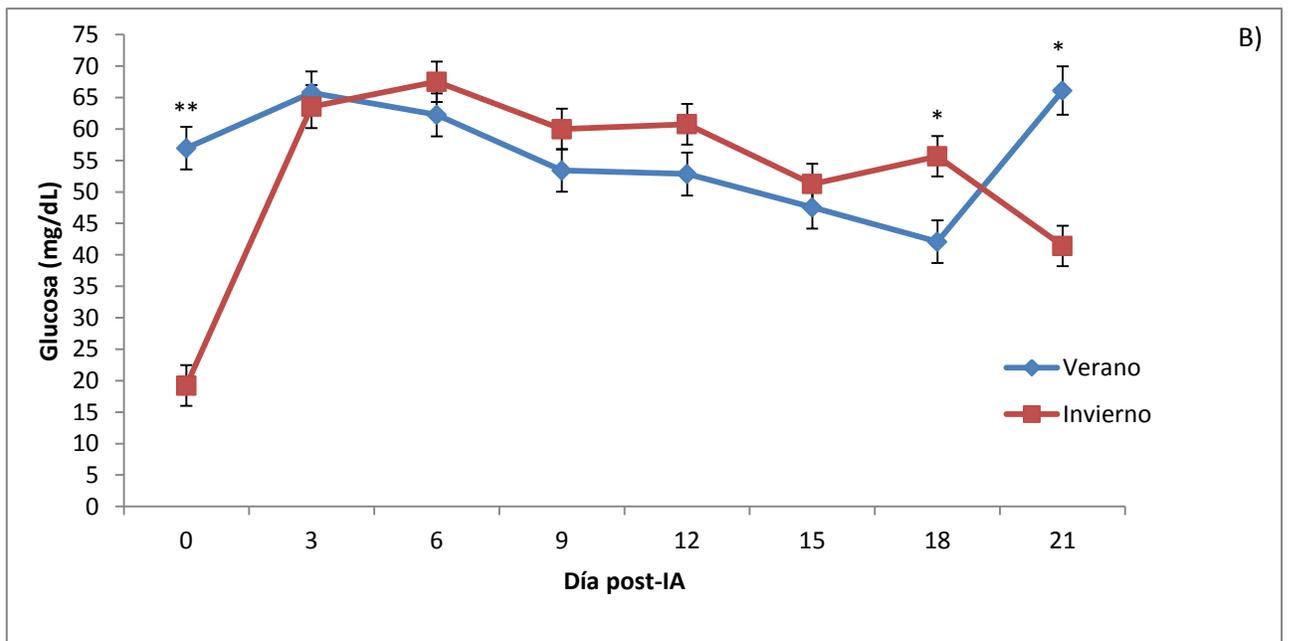
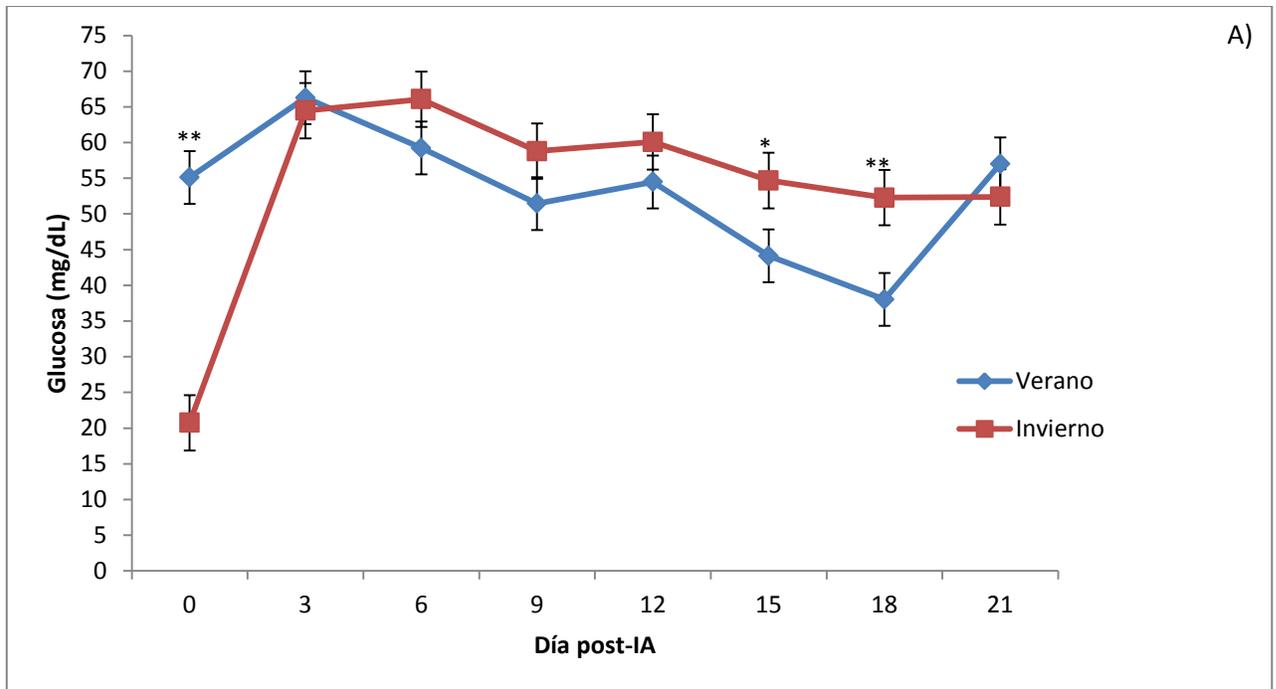


Figura 4. Concentración de glucosa en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno (Media \pm EE);** (P<0.0001);* (P<0.05).

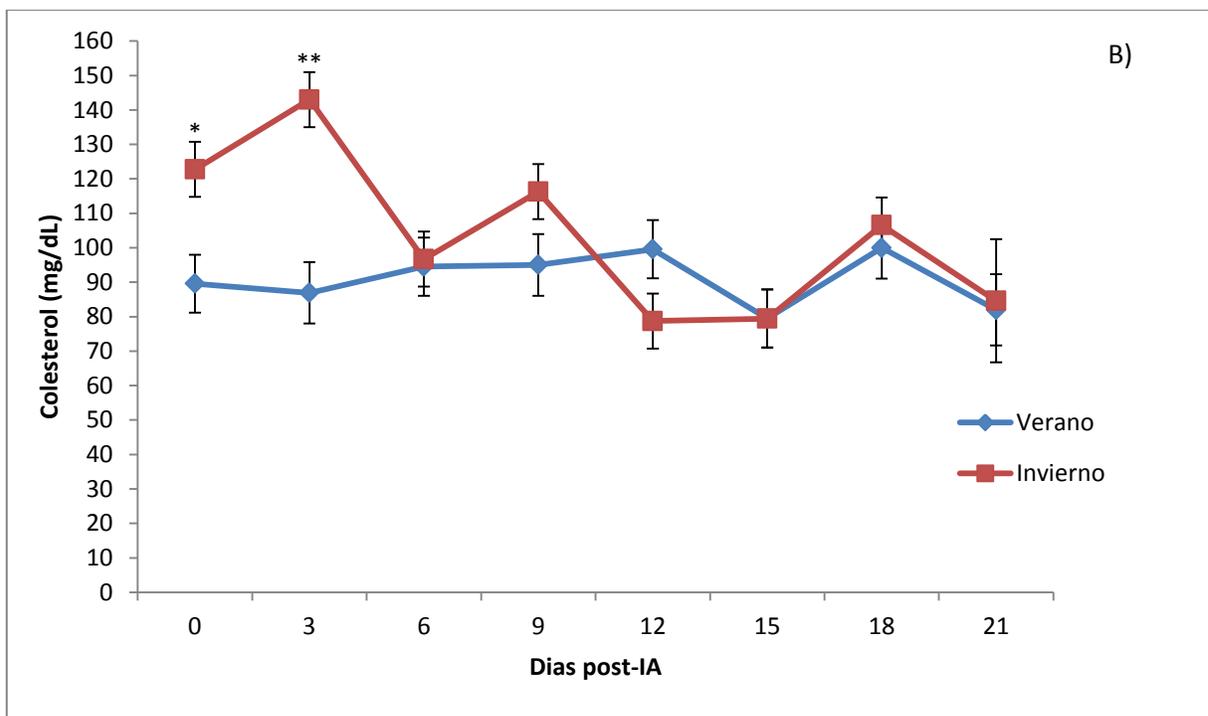
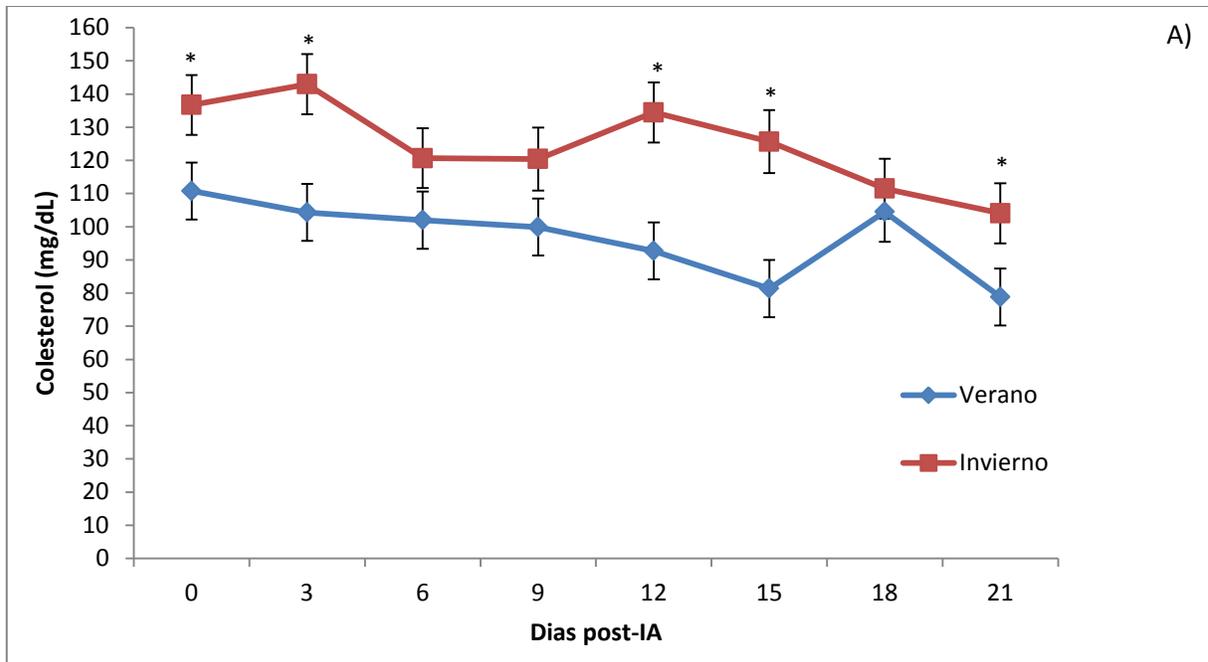


Figura 5. Concentración de colesterol en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno (Media \pm EE). **($P < 0.0001$), * ($P < 0.05$).

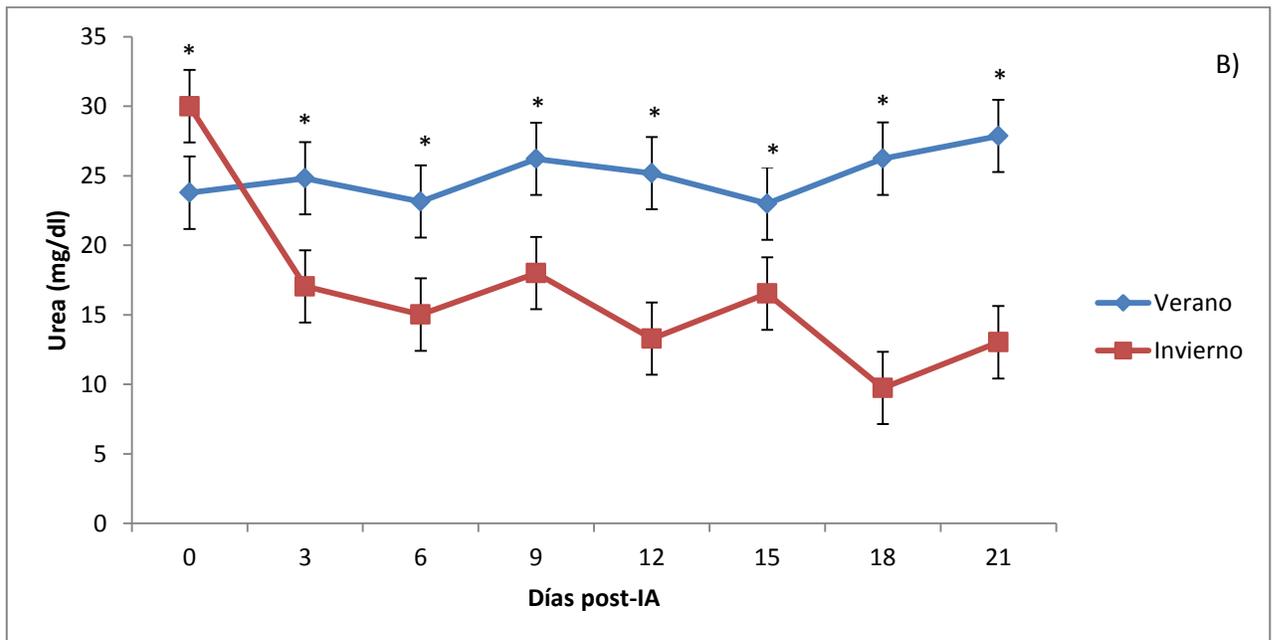
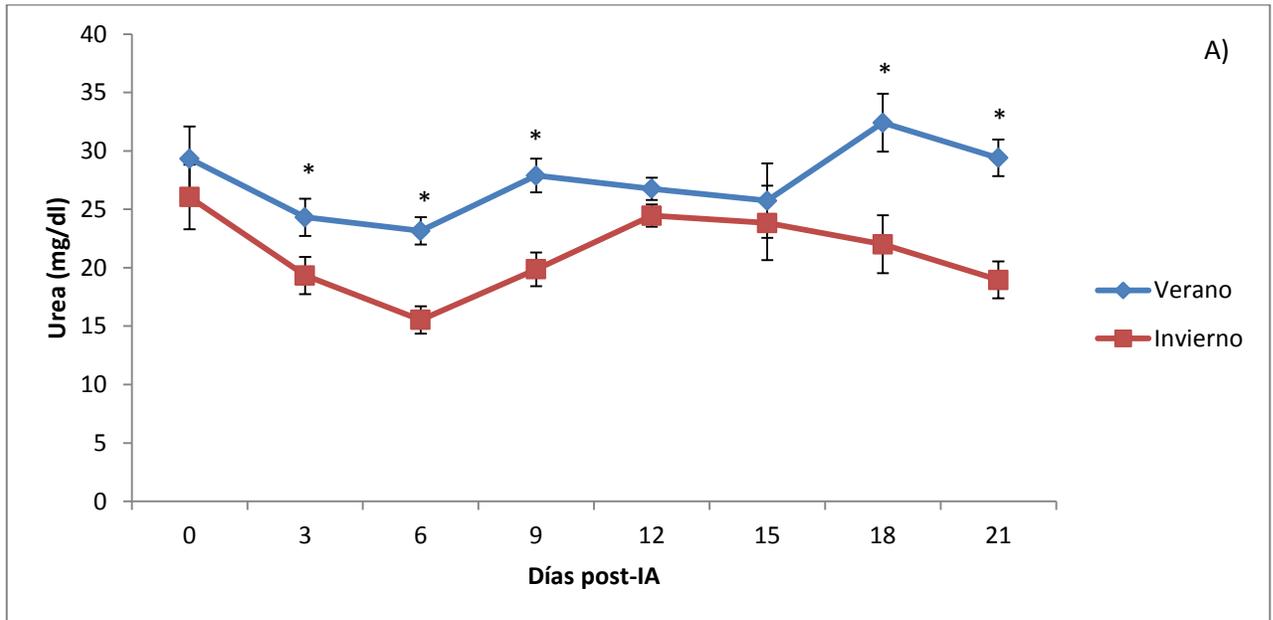


Figura 6. Concentración de urea en vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) inseminadas con semen sexado durante la época de verano e invierno (Media \pm EE);* (P<0.05).

V. CONCLUSIONES

- La tasa de concepción del semen sexado fue mayor durante el invierno en comparación a verano en vaquillas bajo un sistema de enfriamiento artificial, sin embargo de acuerdo a lo manifestado por el productor el porcentaje de concepción obtenido en verano no compromete económicamente la utilización de semen sexado durante la época de verano en el valle de Mexicali.
- La concentración de P_4 para vaquillas gestantes fue similar entre épocas todos los días del muestreo a excepción del día 21 post-IA el cual fue significativamente mayor durante el verano, mientras que en las vaquillas no gestantes de igual manera fue similar todos los días del muestreo entre épocas a excepción del día 21 post-IA siendo mayor durante la época de invierno.
- Las vaquillas bajo sistema de enfriamiento durante el verano, solo manifestaron signos de estrés calórico durante tres horas al día, lo cual dio lugar a que el animal no gano calor durante las horas del enfriamiento y pudo disipar el calor eficientemente durante la noche.

VI. LITERATURA CITADA

- Abeni, F., C. Luigi, and L. Stefanini. 2007. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *Int. J. Biometeorol.* 52:87-96.
- Al-Katanani, Y.M., F.F. Paula-Lopes, and P.J. Hansen. 2002. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85:390-396.
- Al-Haidari A and Al-Hassan M. 2003. Effect of rationalization of water consumption for evaporative cooling on productivity of dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 73(6): 695-698.
- Alves, B.G., K.A. Alves, A.C. Lúcio, M.C. Martins, T.H. Silva, B.G. Alves, L.S. Braga, T.V. Silva, M.A.O. Viu, M.E. Beletti, J.O. Jacomini, R.M. Santos, and M.L. Gambarini. 2014. Ovarian activity and oocyte quality associated with the biochemical profile of serum and follicular fluid from Girolando dairy cows postpartum. *Anim. Reprod. Sci.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014>
- Arias, R.A., T.L. Mader, and P.C. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.* 40:7-22.
- Armstrong, D.V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044-2050.

- Bazer, F.W., L. T. Ott, and T.E. Spencer. 1998. Maternal recognition of pregnancy: comparative aspects. *Trophoblast Research*. 12:375-386.
- Berman, A., and T. Horovitz. 2012. Radiant heat loss, an unexploited path for heat stress reduction in shaded cattle. *J. Dairy Sci.* 95:3021-3031.
- Berman, A. 2011. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates?. *J. Dairy Sci.* 94:2147-2158.
- Berman, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli, and Y. Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68:1488-1495.
- Bicego, K.C., R.C.H. Barros, and L.G.S. Branco. 2007. Physiology of temperature regulation: Comparative aspects. *Comp. Biochem. Physiol.* 147:616-639.
- Bodmer, M., F. Janett, M. Hässing, N. den Dass, P. Reichert, and R. Thun. 2005. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology* 64:1647-1655.
- Bohmanova, J., I. Misztal, and J.B. Cole. 2007. Temperature-Humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947-1958.
- Butler, W.R. 1998. Symposium: Optimizing protein nutrition for reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.

- Chebel, R.C., F.S. Guagnini, J.E.P. Santos, J.P. Fetrow, and J.R. Lima. 2010. Sex-sorted semen for dairy heifers: Effects on reproductive and lactational performance. *J. Dairy Sci.* 93:2496-2507.
- Collier, R.J., G.E. Dahl, and M. J. Van Baale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244-1253.
- Correa-Calderón, A., L. Avendaño-Reyes, A. Rubio-Villanueva, D.V. Armstrong, J.F. Smith, y S.K. DeNise. 2002. Efecto de un sistema de enfriamiento en la productividad de vacas lecheras bajo estrés calórico. *Agrociencia* 36:531-539.
- De Graaf, S.P., K.H. Beilby, S.L. Underwood, G. Evans, and W.M.C. Maxwell. 2009. Sperm sexing in sheep and cattle: The exception and the rule. *Theriogenology* 71:89-97.
- De Jarnette, J.M., M.A. Leach, R.L. Nebel, C.E. Marshall, C.R. McCleary, and J.F. Moreno. 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible?. *J. Dairy Sci.* 94:3477-3483.
- De Rensis, F., and R.J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology* 60:1139-1151.
- De Vries, A., M. Overton, J. Fetrow, K. Leslie, S. Eicker, and G. Rogers. 2008. Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *J. Dairy Sci.* 91:847-858.

- De Wit, A.A.C., M.L.F. Cesar, and T.A.M. Kruij. 2001. Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. *J. Dairy. Sci.* 84:1800-1804..
- Dominguez, J.H., D.S. Costa, and V.J. Centurion. 2011. Pregnancy rate of Nelore females inseminated with male-sexed semen. *Anim. Reprod. Sci.* 129:127-131.
- Edmonson, A.J., I.J. Lean, L.D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:68-78
- Espinoza-Cervantes, R. and A. Córdova-Izquierdo. 2013. Sexing sperm of domestic animals. *Trop. Anim. Health Prod.* 45:1–8.
- Farooq, U., H.A. Samad, F. Shehzad, and A. Qayyum. 2010. Physiological responses of cattle to heat stress. *World. Appl. Sci. J.* 8:38-43.
- Ferreira, R.M., H. Ayres, M.R. Chiaratti, M.L. Ferraz, A.B. Araújo, C.A. Rodrigues, Y.F. Watanabe, A.A. Vireque, D.C. Joaquim, L.C. Smith, F.V. Meirelles, and P.S. Baruselli. 2011. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *J. Dairy Sci.* 94:2383-2392.
- Findlay, P., L. A. Salamonsen, and R. A. Cherney. 1990. Endometrial function: studies using isolated cells in vitro. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 12:181–223.
- García-Ispuerto, I., F. López-Gatius, P. Santolaria, J.L. Yániz, C. Nogareda, M. López-Béjar, and F. De Rensis. 2006. Relationship between heat stress during the

- peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 65:799-807.
- Garner, D.L., and G.E. Seidel. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69:886-895.
- Garner, D.L. 2006. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology* 65:934-957.
- Green M. P., Hunter M. G., Mann G. E., 2005. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 88:179-189.
- Hansen, P.J., and C.F. Aréchiga. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77:36-50.
- Hahn, G.L. 1997. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 77:10-20.
- Hayakawa, H. 2012. Sperm sexing in the cattle industry. *J. Mamm. Ova Res.* 290:119-123.
- Healy, A.A., J.K. House, and P.C. Thomson. 2013. Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 96:1905-1914.
- INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los estados unidos Mexicanos Mexicali Baja California. clave geostadistica 02002 disponible en <http://mapserver.inegi.org.mx/mgn2k/>; consultado 18 de abril 2014.

- Jolly, P.D., McDougall, S., Fitzpatrick, L.A., Macmillan, K.L., Entwistle, K.W. 1995. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fert.* 49 (Suppl.): 477–492.
- Jordan, E.R. 2003. Effects of heat stress on reproduction. *J. Dairy Sci.* 86:E104-E114.
- Kenyon, A.G., L.G.D. Mendonca, G. Lopes, J.R. Lima, J.E.P. Santos, and R.C. Chebel. 2013. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 136:223-230.
- Kadzere, C.T., M.R. Murphy, N. Silanikove, and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Liv. Prod. Sci.* 77:59-71.
- López-Gatiús, F., J. Yániz, and D. Madriles-Helm. 2003. Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a meta-analysis. *Theriogenology* 59:801-812.
- Lemus-Flores, C., C.M. Becerril-Pérez, C.A. Ortiz-Solorio, y J. Espinoza-Velázquez. 2002. Efecto del porcentaje de color blanco del pelaje en la producción de leche y reproducción de vacas Holstein de primer parto en algunos climas de México. *Agrociencia* 36:23-30.
- Legates, J.E., B.R. Farthing, R.B. Casady, and M.S. Barrada. 1991. Body temperature and respiratory rate of lactating dairy cattle under field and chamber conditions. *J. Dairy Sci.* 74:2491-2500.

- Majewska, M., H.Y. Lee, Y. Tasaki, T.J. Acosta, A.Z. Szostek, M. Siemieniuch, K. Okuda, and D.J. Skarzynski. 2012. Is cortisol a modulator of interferon tau action in the endometrium during early pregnancy in cattle?. *J. Repr. Imm.* 93:82-93.
- Mallory, D.A., S.L. Lock, D.C. Woods, S.E. Poock, and D.J. Patterson. 2013. Hot topic: Comparison of sex-sorted and conventional semen within a fixed-time artificial insemination protocol designed for dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 96:854-856.
- Mann, G.E. 2009. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 115:296-299.
- Marai, I.F.M., and A.A.M. Haebe. 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress- A review. *Liv. Sci.* 127:89-109.
- Marcillac-Embertson, N.M., P.H. Robinson, J.G. Fadel, and F.M. Mitloehner. 2009. Effects of shade and sprinklers on performance, behavior, physiology, and the environment of heifers. *J. Dairy. Sci.* 92:506-517.
- McEvoy, T.G., J.J. Robinson, R.P. Aitken, P.A. Findlay, and I.S. Robertson. 1997. Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Anim. Reprod. Sci.* 47:71-90.
- Mellado, M., F. Coronel, and A. Estrada. 2010. Fertility in Holstein x Gyr cows in a subtropical environment after insemination with Gyr sex-sorted semen. *Trop. Anim. Health. Prod.* 42:1493-1496.

- Mellado, M., E. Sepulveda, U. Macías-Cruz, L. Avendaño, J.E. García, F.G. Veliz, and A. Rodríguez. 2014. Effects of month of breeding on reproductive efficiency of Holstein cows and heifers inseminated with sex-sorted or conventional semen in a hot environment. *Trop. Anim. Health. Prod.* 46:265-269.
- Montiel F and Ahuja C.2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Anim. Repro. Sci.* 85 (2005) 1–26
- Morton, K.M., D. Herrmann, B. Sieg, C. Struckmann, W.M.C. Maxwell, D. Rath, G. Evans, A. Lucas-Hahn, H. Niemann, and C. Wrenzycki. 2007 . Altered mRNA expression patterns in bovine blastocysts after fertilization in vitro using flow-cytometrically sex-sorted sperm. *Mol. Reprod. Dev.* 74:931–940.
- Nonaka, I., N. Takusari, K. Tajima, T. Suzuki, K. Higuchi, M. Kurihara. 2008. Effects of high environmental temperatures on physiological and nutritional status of prepubertal Holstein heifers. *Liv. Sci.* 113:14-23.
- Norman, H.D., J.L Hutchison, and R.H. Miller. 2010. Use of sexed semen and its effects on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *J. Dairy Sci.* 93:3880-3890.
- NRC .1981. Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals. National Academic, Washington, DC, pp75–84

- Olynk, N.J., and C.A. Wolf. 2007. Expected net present value of pure and mixed sexed semen artificial insemination strategies in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 90:2569-2576.
- Ominski K. H, Kennedy A. D, Wittenberg K. M, Moshtaghi Nia S. A.2002. Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy Cows exposed to short-Term, moderate heat stress. *J. Dairy Sci.* 85:730–737.
- Ortiz, X.A., J.F. Smith, B.J. Bradford, J.P. Hamer, and A. Oddy. 2010. Effects of running time of a cattle-cooling system on core body temperature of cows on dairy farms in an arid environment. *J. Dairy Sci.* 93:4949-4954.
- Parr, M.H., M.P. Mullen, M.A. Crowe, J.F. Roche, P. Lonergan, A.C.O. Evans, and M.G. Diskin. 2012. Relationship between pregnancy per artificial insemination and early luteal concentrations of progesterone and establishment of repeatability estimates for these traits in Holstein-Friesian heifers. *J. Dairy. Sci.* 95:2390-2396.
- Rabiee, A.R., and I.J. Lean. 2000. Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. *Anim. Reprod. Sci.* 64:199-209.
- Rabiee, A.R., I.J. Lean, J.M. Gooden, and B.G. Miller. 1999. Relationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82: 39-44.

- Rabiee, A.R., I.J. Lean, J.M. Gooden, B.G. Miller, and R.J. Scaramuzzi. 1997. An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 48:9-25.
- Ronchi, B., Bernabucci, U., Lacetera, N., Verini Supplizi, A., Nardone, A., 1999. Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status in Holstein heifers. *Zoot. Nutr. Anim.* 25, 71–80.
- Ronchi, B., G. Stradaoli, A. Verini-Supplizi, U. Bernabucci, N. Lacetera, P.A. Accorsi, A. Nardone, and E. Seren. 2001. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Liv. Prod. Sci.* 68:231-241.
- Roth, Z., R. Meidan, R. Braw-Tal, and D. Wolfenson. 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J. Repro. Fert.* 120:83-90.
- Ruegg, P.L., and R.L. Milton. 1995. Body condition scores of Holstein cows on prince Edward Island, Canada: Relationships with yield, reproductive performance, and disease. *J. Dairy Sci.* 78:552-564.
- Samarütel, J., A. Waldmann, K. Ling, H. Jaakson, T. Kaart, A. Leesmäe, and O. Kärt. 2008. Relationships between luteal activity, fertility, blood metabolites and body condition score in multiparous Estonian Holstein dairy cows under different management. *J. Dairy Res.* 75:485-490.
- SAS. 2004. SAS/STAT Users Guide, version 9.1.3, Cary, NC: SAS Institut Inc.USA.

- Seidel-Jr, G.E. 2003. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. *Theriogenology* 59:585-598.
- Senger PL. 2003. Pathways to pregnancy and parturition. Washington USA .2nd revised edition. Current conception INC. 373p.
- Schütz, K.E., A.R. Rogers, Y.A. Poulouin, N.R. Cox, and C.B. Tucker. 2010. The amount of shade influences the behavior and physiology of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93:125-133.
- Shaffer, L., J.D. Roussel, and K.L. Koonce. 1981. Effects of age, temperature-season, and breed on blood characteristics of dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 64:62-70.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Liv. Prod. Sci.* 67:1-18.
- Silva, C.F., E.S. Sartorelli, A.C.S. Catilho, R.A. Satrapa, R.Z. Puelker, E.M. Razza, J.S. Ticianelli, H.P. Eduardo, B. Loureiro, and C.M. Barros. 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. 2013. Sistema Meteorológico Nacional. Disponible en: http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=208&Itemid=118, consultado 17 de mayo 2014
- Staples, C.R., J.M. Burke, and W.W. Thatcher. 1998. Symposium: Optimizing energy nutrition for reproducing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:856-871

- Stott G.H. and Wiersma F.1973. Climatic Thermal Stress, a Cause of Hormonal Depression and Low Fertility in Bovine. *Int. J. Biometeor.* 1973, vol. 17, number 2, pp. 115-122.
- St-Pierre, N.R., B. Cobanov, and G. Schnitkey. 2003. Economic losses from heat stress by US Livestock industries. *J. Dairy Sci.* 86:E52-E77.
- Takahashi M. 2007. Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. *Reprod. Med. Biol.* 11:37–47.
- Thatcher, W.W., A. Guzeloglu, A. Meikle, S. Kamimura, T. Bilby, A.A. Kowalaki, L. Badinga, R. Pershing, J. Bartolome, and J.E.P. Santos. 2003. Regulation of embryo survival in cattle. *Reprod. Suppl.* 61:253-266.
- Trout, J.P., L.R. McDowell, and P.J. Hansen. 1998. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.* 81:1244-1250.
- Weigel, K.A. 2004. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. *J. Dairy Sci.* 87:E120-E130.
- West, J.W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, and T. N. Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 486:495.

- Williams, G.L., 1989. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J. Anim. Sci.* 67; 785–793.
- Wilson, S.J., R.S. Marion, J.N. Spain, D.E. Spiers, D.H. Keisler, and M.C Lucy. 1998. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:2124-2131.
- Yaser M. Al-katanani, D., Webb P., Hansen J. 1999. Factors affecting seasonal variation in 90-Day nonreturn rate to first service in lactating Holstein cows in a hot climate *J. Dairy Sci.* 82:2611–2616.
- Younas, M., J.W. Fuquay, A.E. Smith, and A.B. Moore. 1993. Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J. Dairy Sci.* 76:430-436.