

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



**TASA DE CONCEPCIÓN EN VAQUILLAS HOLSTEIN  
INSEMINADAS CON SEMEN SEXADO EN DOS DIFERENTES  
ÉPOCAS DEL AÑO**

**TESIS**

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

**PRESENTA:**

**ING. JORGE FERNANDO BETANCOURTH**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Ph. D ABELARDO CORREA CALDERÓN**

**MEXICALI, B.C. MÉXICO**

**AGOSTO 2014**

**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.**

**Agosto de 2014.**

---

Ph. D. Abelardo Correa Calderón

Director de tesis

---

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes

Sinodal

---

Dr. Ulises Macías Cruz

Sinodal

## AGRADECIMIENTOS

## DEDICATORIAS

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	x
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1. Semen sexado.....	3
2.1.1. Sexado de semen por medio de citometría de flujo.....	3
2.1.2. Comercialización del semen sexado.....	5
2.1.3. Viabilidad del semen sexado.....	6
2.2. Fertilidad del semen sexado en vaquillas.....	7
2.3. Definición de estrés.....	8
2.3.1. Zona termoneutral.....	10
2.3.2. Estrés calórico.....	10
2.4. Mecanismos de intercambio de calor y termorregulación en el ganado.....	12
2.5. Variables fisiológicas como indicadores de estrés calórico.....	14
2.5.1. Temperatura rectal.....	14
2.5.2. Frecuencia respiratoria.....	15
2.6. Efecto del estrés calórico sobre la fertilidad.....	16
2.7. Efecto del estrés calórico sobre la fertilidad en vaquillas de reemplazo.....	17
2.8. Efecto del estrés calórico sobre la calidad espermática.....	18
2.9. Influencia del estrés calórico sobre hormonas de la reproducción.....	19
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1. Ubicación y duración del estudio.....	21
3.2. Animales experimentales y tratamientos.....	21
3.3. Instalaciones y manejo de los animales.....	22
3.4. Datos climatológicos.....	23
3.5. Variables de estudio.....	23

3.5.1. Frecuencia respiratoria y temperatura rectal.....	23
3.5.2. Temperatura vaginal.....	24
3.5.3. Concentración de progesterona y metabolitos.....	24
3.5.4. Tasa de concepción.....	25
3.6. Análisis estadísticos.....	25
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>26</b>
4.1. Datos climatológicos.....	26
4.2. Variables fisiológicas.....	28
4.3. Concentración de progesterona.....	32
4.4. Tasa de concepción.....	33
4.5. Concentración de metabolitos.....	36
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>50</b>

**LISTA DE CUADROS****Páginas**

**Cuadro 1.** Ingredientes y composición química de la dieta de verano. ----- 41

**Cuadro 2.** Ingredientes y composición química de la dieta de invierno. ----- 42

**Cuadro 3.** Condiciones climatológicas pre y post- IA durante el desarrollo del estudio. ----- 43

**Cuadro 4.** Comportamiento fisiológico de vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado en dos diferentes épocas del año. ----- 44

**Cuadro 5.** Concentración de P<sub>4</sub> (ng/ml) y tasa de concepción a primer servicio de vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado en dos diferentes épocas del año. ----- 45

**Cuadro 6.** Concentración sérica de glucosa y colesterol (mg/dl) en vaquillas Holstein en dos diferentes épocas del año. ----- 46

## LISTA DE FIGURAS

## Páginas

**Figura 1.** Representación esquemática del proceso de citometría de flujo.----- 47

**Figura 2.** Promedios de temperaturas vaginales durante las 24 horas del día en vaquillas Holstein en dos diferentes épocas del año. ----- 48

**Figura 3.** Promedios de concentraciones de triglicéridos a diferentes días post-IA en dos diferentes épocas del año en vaquillas Holstein. --- 49

## RESUMEN

Con el propósito de evaluar la tasa de concepción, variables fisiológicas, progesterona y metabolitos en sangre en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado en dos diferentes épocas del año, 80 vaquillas (en promedio de 370 kg de peso vivo, 13 meses de edad y condición corporal >2.5), 40 en verano y 40 en invierno, estuvieron en observación diaria para detección de signos de estro (2 veces/día) y posterior inseminación artificial con semen sexado por la mañana. Las vaquillas estuvieron bajo condiciones estabuladas en dos corrales provistos de sombra, con sus respectivos comederos y bebederos. La frecuencia respiratoria (FR), temperatura rectal (TR) y temperatura vaginal (TV) fueron registradas dos veces por semana entre las 1430 y 1600 h, tres semanas antes y tres semanas después de la IA. Muestras sanguíneas fueron tomadas al momento de la IA (día 0) y a los días 3, 6, 9, 12, 15, 18, y 21 post-inseminación para determinar los niveles de progesterona y metabolitos (glucosa, triglicéridos y colesterol) en suero sanguíneo. La tasa de concepción se determinó por palpación rectal a los 35, 60 y 90 días post-IA. La FR, TR y TV se analizaron utilizando los comandos REPEATED y RANDOM del PROC MIXED. Para la concentración de progesterona y metabolitos se utilizó un análisis de varianza y la tasa de concepción se analizó por medio de la prueba de Ji-Cuadrada. Todos los procedimientos utilizados se realizaron con el programa SAS 2004. Se encontró que los valores de FR, TR y TV fueron más bajos en la época de invierno ( $P < 0.0001$ ) en comparación a la época de verano. Asimismo, se encontró una mayor concentración de progesterona, glucosa y colesterol en el grupo de invierno ( $P < 0.0001$ ) en comparación al grupo verano, por otra parte las concentraciones de triglicéridos fueron mayor en el grupo de verano durante los primeros 18 días post-IA ( $P < 0.0001$ ). La tasa de concepción mostró una tendencia ( $P = 0.0557$ ) a incrementarse en invierno (30%). Las vaquillas del grupo verano mostraron valores elevados en las variables fisiológicas lo que indica que estuvieron sometidas a un estrés calórico por las altas temperaturas. En invierno se obtuvo una baja tasa de concepción, y probablemente esta baja fertilidad podría atribuirse a un posible efecto de toro.

## SUMMARY

In order to evaluate conception rate, physiological variables, blood progesterone and metabolites in Holstein heifers inseminated with sexed semen in two different seasons, 80 heifers (averaging 370 kg live weight, 13 months old and body condition > 2.5), 40 in summer and 40 in winter, were seen daily for signs of estrus detection (twice/day) and subsequent artificial insemination with sexed semen in the morning. Heifers were housed in two pens provided with shade, with feed bunks and water troughs. The respiratory rate (FR), rectal temperature (TR) and vaginal temperature (TV) were recorded twice a week between 1430 and 1600, starting three weeks prior to the AI and ending three weeks after AI. Blood samples were taken at the time of AI (day 0) and at days 3, 6, 9, 12, 15, 18, and 21 post-insemination to determine the levels of progesterone and metabolites (glucose, triglycerides and cholesterol) in blood serum. The conception rate was determined by rectal palpation at 35, 60 and 90 days post-AI. The FR, TR and TV were analyzed using the REPEATED and RANDOM commands of the PROC MIXED procedure. For the concentration of progesterone and metabolites an analysis of variance was used and the conception rate was analyzed by the Chi-square test. All procedures used were performed using the SAS program 2004. The values for FR, TR and TV resulted much lower in winter time ( $P < 0.0001$ ) compared to summer. Likewise, a higher concentration of progesterone, glucose and cholesterol was found in the winter group ( $P < 0.0001$ ) compared to summer group, moreover triglyceride concentrations were higher in the summer group on the first 18 days after AI ( $P < 0.0001$ ). Conception rate only showed a trend ( $P = 0.0557$ ) to increase in winter (30%) compared to summer (12.5%). Heifers in summer group had high physiological variables indicating that were subjected to heat stress by high temperature. In winter, low conception rate was obtained, and probably this low fertility could be attributed to a possible effect of bull.

## I. INTRODUCCIÓN

A través de los años, la biotecnología ha contribuido en el aumento de la productividad y desarrollo del sector agropecuario. Con respecto a la reproducción animal, la inseminación artificial (IA) ha sido quizás la biotecnología ganadera utilizada en mayor medida, particularmente en combinación con la criopreservación, lo cual ha permitido un mejoramiento genético significativo centrado en la productividad, así como la difusión mundial de germoplasma de alta calidad. Tecnologías complementarias como la sincronización del estro puede mejorar la eficacia de la IA (FAO, 2010) y en conjunto con el sexado de semen, aumentar el número de hembras de un hato lechero. Desde el inicio del uso de la IA en la industria lechera, se ha buscado como manipular el semen para obtener un porcentaje mayor de hembras. Esta tecnología está disponible en la actualidad y al alcance del productor. La IA utilizando semen sexado es una técnica muy precisa si se realiza de forma correcta y en condiciones ambientales adecuadas, con alrededor de 90% de confiabilidad (Garner y Seidel, 2003). El semen sexado se utiliza para incrementar el número de hembras en los hatos lecheros para obtener reemplazos y así aumentar la producción de leche al obtener más hembras que progresivamente van a llegar a ser productoras, ya que usando semen convencional se obtiene la proporción sexual normal de 50:50 (Garner y Seidel, 2008). En climas cálidos, la fertilidad de vacas (Badinga *et al.*, 1985; Monty y Racowski, 1987) y vaquillas lecheras (Mihm *et al.*, 1994) disminuye durante el verano. La causa principal de este problema es la reducción de la supervivencia embrionaria inducida por estrés calórico debido al efecto negativo del incremento

de la temperatura corporal sobre el desarrollo del embrión (Ealy *et al.*, 1993). La temperatura rectal óptima de la vaca es de 38.5°C, existiendo reportes que un incremento en 1°C en la temperatura rectal, puede disminuir la fertilidad de 61 a 45% (Ulberg y Burfening, 1967). Por otro lado, la temperatura óptima de los testículos del bovino es entre 33.0 y 34.5°C (Barth y Bowman, 1994), así que al entrar los espermatozoides en el tracto reproductivo de la hembra bovina sometida a altas temperaturas, pueden recibir un choque térmico (Valle *et al.*, 2005), lo cual puede reducir la calidad espermática, dándose una fragmentación de los espermatozoides y como consecuencia, una reducción en la fertilidad.

Actualmente solo se utiliza semen sexado en la época de invierno en el valle de Mexicali, lo que limita su potencial benéfico. Por lo tanto, es necesario evaluar la factibilidad de usar semen sexado en otras épocas como verano. Por otra parte, debido a las altas temperaturas que se dan en verano, se reduce la producción de leche en comparación con el invierno y disminuye casi en su totalidad la IA del ganado lechero, lo que lleva a buscar alternativas para poder preñar vacas en verano. Utilizar semen sexado y lograr preñar las vacas en verano puede ser una alternativa para mejorar la productividad del ganado lechero en zonas áridas. En base a lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de época del año (verano vs. invierno) sobre la tasa de concepción en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado en estro natural en una zona árida del noreste de México, y adicionalmente, se evaluaron variables fisiológicas, metabolitos en sangre y concentraciones de progesterona en sangre.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Semen sexado

#### 2.1.1. Sexado de semen por medio de citometría de flujo

Desde el inicio del uso de la IA en la industria lechera se ha buscado como manipular el semen para obtener un porcentaje mayor de hembras. Diversas técnicas para sexado de semen fueron probadas, y hasta 1980 se encontraron resultados convincentes (Seidel, 2007). El sexado de semen en forma exitosa se logró por los avances en la técnica de citometría de flujo (clasificación de células), en 1980 (Garner y Seidel, 2003). Los métodos iniciales separaban los espermatozoides X e Y en forma eficaz, pero incrementaban la mortalidad de los mismos, haciendo que la técnica fuera poco práctica. Sin embargo, el Dr. Lawrence Johnson refinó la técnica de citometría de flujo, logrando un menor daño a los espermatozoides (Johnson *et al.*, 1989). La actual técnica de sexado de semen fue iniciada por los investigadores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (Johnson *et al.*, 1987) y patentado por el gobierno de Estados Unidos (Seidel y Schenk, 2008), permitiendo una licencia a la Fundación de Investigación de la Universidad Estatal de Colorado y posteriormente a la empresa XY Inc., que apoyó con investigaciones adicionales y con el uso de nueva tecnología. Más tarde, la patente se vendió a la compañía Cogent del Reino Unido, siendo ésta la primera en comercializar el semen sexado (Seidel, 2009). Este proceso ha sido utilizado para producir hembras en las diferentes especies

de interés productivo (bovinos, ovinos, porcinos, equinos) permitiendo una confiabilidad cercana al 90% (Seidel *et al.*, 1999).

El proceso de citometría de flujo tiene como base fundamental las diferencias existentes entre los cromosomas X (hembra) e Y (macho). En el caso preciso de los bovinos, el espermatozoide portador del cromosoma X contiene aproximadamente 4% más ADN que el espermatozoide Y (Andersson *et al.*, 2004). Aunque esta diferencia es pequeña, es posible medir el contenido de ADN de los espermatozoides de forma individual con suficiente precisión para distinguir entre espermatozoides X e Y con alrededor del 90% de precisión para el 50% de los espermatozoides, por lo tanto, aproximadamente la mitad de los espermatozoides pueden descartarse como no sexables, y existe una tasa de error de 10% para aquellos espermatozoides con los procedimientos de rutina (Seidel y Garner, 2002). El proceso que conlleva al sexado de semen requiere de mucho tiempo para su procesamiento, desde el inicio en la colección del semen hasta el sexado del mismo (Seidel y Garner, 2002).

El proceso de sexado de semen por medio de citometría de flujo funciona a través de un circuito cerrado de alta velocidad, que permite ordenar y leer los espermatozoides en forma individual. Cada espermatozoide teñido produce una fluorescencia (Garner y Seidel, 2003), y esta fluorescencia es medida por un detector y analizada por computadora. Debido a que los espermatozoides X contienen 4% más ADN, se les une más tinte que a los espermatozoides Y, y por lo tanto, emiten 4% más de fluorescencia, que la computadora puede reconocer y separar (Seidel, 2007).

Los espermatozoides seleccionados son asignados con una carga eléctrica, y son desviados del flujo original en un campo magnético y recolectados posteriormente (Oses *et al.*, 2009), tal como se muestra en la Figura 1. Una vez colectados, los espermatozoides se separan mediante centrifugación y son congelados, de los cuales quedan vivos aproximadamente la mitad del total (Seidel, 2009).

Dos de los factores que más influyen para obtener una buena separación de los cromosomas son la calidad y concentración espermática de los eyaculados. Por lo tanto, la separación de cromosomas X (hembra) o Y (macho) se realiza generalmente en eyaculados con más del 50% de motilidad progresiva y 75% de espermatozoides normales (Oses *et al.*, 2009).

### **2.1.2. Comercialización del semen sexado**

La dosis comúnmente utilizada en inseminación artificial del ganado con semen convencional es de 20 millones o más espermatozoides criopreservados. En el caso de semen sexado se comercializa a una concentración de 2.1 millones de espermatozoides por pajilla de 0.25 ml. Inicialmente, esta baja concentración se debía a que el sexado de semen por medio de citometría de flujo tenía una seria limitación debido a que los instrumentos utilizados para la clasificación individual de espermatozoides por su contenido de ADN era demasiado lento como para producir un número adecuado para su uso en la IA. El sistema podía ordenar unos 400,000 espermatozoides/hora, por lo tanto, tomaría unas 25 horas para ordenar una dosis de inseminación de 10 millones de espermatozoides del

sexo deseado (Garner y Seidel, 2008). Posteriormente, se hicieron mejoras en el diseño de la boquilla (Rens *et al.*, 1998), además de adaptaciones a la celda de clasificación de alta velocidad (Johnson y Welch, 1999), con lo cual ha aumentado considerablemente la eficiencia del sexado de semen con la técnica de citometría de flujo. Por otra parte, Oses *et al.* (2009) mencionan que esta baja concentración de espermatozoides en el semen sexado se puede atribuir al procesamiento, ya que en éste se puede perder alrededor del 80% del eyaculado. De hecho, una de las principales desventajas de utilizar semen sexado es, que posee una fertilidad de alrededor del 20-30% menor en comparación al semen convencional, esto se debe en mayor medida a que los espermatozoides son sometidos a varios procesos inherentes a su clasificación, además del proceso de congelado (Espinosa y Córdova, 2013). A pesar que el semen sexado presenta algunas limitantes, entre los productores ha tenido una buena aceptación el mismo (Seidel, 2009). Se recomienda el uso de semen sexado solo en vaquillas debido a su mayor fertilidad comparado a vacas y por su costo (Garner y Seidel, 2008).

### **2.1.3. Viabilidad del semen sexado**

Para que el sexado de semen tenga éxito, se debe tomar en cuenta la susceptibilidad de los gametos a la tinción, exposición al láser, alta dilución, presión elevada y resistencia a los diversos cambios en el proceso de sexado de semen (Maxwell *et al.*, 1998), ya que estas condiciones pueden llevar a una reducción en la fertilidad del semen sexado en comparación con el semen convencional (Garner y Siedel, 2003; Frijters *et al.*, 2009; Oses *et al.*, 2009). Posterior al proceso de sexado, los espermatozoides son capacitados,

disminuyendo su vida útil, y por lo tanto, reduciendo la fertilidad (Bodmer *et al.*, 2005). Debido a estas limitantes, se espera que las pajillas tengan como mínimo un 35% de espermatozoides con motilidad progresiva (Oses *et al.*, 2009) y con rango de 85 a 90% de certeza del sexo deseado (Johnson y Welch, 1999), para cumplir con los estándares de aprobación. Además, se sabe que durante la clasificación de los espermatozoides por medio de la técnica de citometría de flujo, los espermatozoides muertos no son clasificados, y por lo tanto, no son agregados a las pajillas de inseminación para evitar que disminuya la fertilidad de las mismas (Seidel y Garner, 2002).

## **2.2. Fertilidad del semen sexado en vaquillas**

La fertilidad del semen sexado en vaquillas primaras es entre un 20 y 30% menor en comparación a la fertilidad del semen convencional (DeJarnette *et al.*, 2007). Los investigadores relacionan esta baja fertilidad a que las dosis de espermatozoides son más bajas por pajilla y asimismo a un posible efecto negativo del proceso de clasificación de las células (Garner y Seidel, 2003; DeJarnette *et al.*, 2007). Sin embargo, el uso de semen sexado se recomienda para vaquillas primaras, ya que naturalmente las vaquillas tienen una tasa de concepción mayor a las vacas adultas (De Vries, 2009). En un estudio realizado en vaquillas Holstein se reportó una tasa de concepción de 58% utilizando semen sexado (Weigel, 2004), por otra parte, Schenk *et al.* (2009) no encontraron diferencias al comparar dosis de 10 millones de espermatozoides sexados contra 10 millones de espermatozoides no sexados (43.9% vs. 55.6%). En otro estudio donde se analizaron los registros de IA con semen convencional y semen sexado

durante un período de 3 años en el Valle de Mexicali, se observó una mayor tasa de concepción al utilizar semen convencional (93.13%), que cuando se utilizó semen sexado (77.88%) (Callejas, 2013).

A la baja fertilidad del semen sexado causado por los factores ya mencionados, se le puede agregar un efecto negativo si se utiliza en época de verano por motivo del estrés calórico causado por las altas temperaturas ambientes. Sin embargo, las vaquillas poseen una menor susceptibilidad a las altas temperaturas en comparación a vacas adultas (Wilson *et al.*, 1998). Se observó que durante los meses de verano en un clima árido, las vaquillas presentaron una mayor preñez por IA (42.1%) en comparación a vacas adultas (17.1%) inseminadas con semen sexado (Mellado *et al.*, 2014).

### **2.3. Definición de Estrés**

Existen diferentes definiciones de estrés dependiendo de la escuela de pensamiento adoptada. Según, Selye (1976), el estrés es la respuesta no específica del cuerpo a cualquier demanda, o las fuerzas ambientales que inducen una respuesta no específica del organismo. Por otra parte, los involucrados en la cría de animales comúnmente utilizan el término “estrés” para indicar una condición ambiental que sea adversa al bienestar de un animal. El estrés se puede producir por los siguientes factores: 1) climático: sea intenso por frío o calor; 2) nutricional: por la privación de alimento o agua; 3) social: causado por rangos en la jerarquía social; 4) interno: debido a un desorden fisiológico, patógenos o toxinas. Desde este punto de vista, el animal “estresado” es considerado como anormal y a

la condición que lo estresa se le considera como indeseable (Stott, 1981). El medio ambiente puede verse como un conjunto de estresores que interactúan entre sí, incluyendo a las condiciones en las que viven los seres vivos (temperatura, luz, medio ambiente social y medio ambiente conductual), asimismo, tomando en cuenta factores internos como enfermedades y microorganismos (Siegel, 1995).

Se conocen dos conceptos básicos de los mecanismos de respuesta al estrés. Cannon (1932) expuso el síndrome de emergencia que involucra el sistema simpaticoadrenal donde enfatiza dos tipos de estímulos: 1) la condición de peligro, y 2) la exposición a condiciones ambientales extremas. Selye (1955) expuso el síndrome general de adaptación (SGA) que involucra el eje hipotálamico-hipofisario-adrenal y se caracteriza por tres estados consecutivos: 1) estado de alarma, generalmente conocido como “choque”, en el cual la adaptación aún no se ha adquirido, además, se produce un agrandamiento de las glándulas adrenales y una oleada inicial de glucocorticosteroides, seguida por un agotamiento de sus reservas; 2) el estado de resistencia, en el cual la adaptación es óptima y la corteza adrenal vuelve abastecerse de gránulos secretores de glucocorticosteroides; y 3) el estado de exhaustación, en el cual la adaptación adquirida se pierde nuevamente y los glucocorticosteroides se agotan (Friend, 1990).

### **2.3.1. Zona termoneutral**

La zona termoneutral, también conocida como zona de confort del animal, es el rango de temperatura ambiental donde la tasa metabólica del animal es mínima y la regulación de la temperatura se lleva a cabo por medio de procesos no evaporativos (Kadzere *et al.*, 2002). La temperatura corporal puede alterarse por varios factores tales como raza y especie, edad, alimentación, tipo y nivel de producción (West, 2003). Este rango de la zona termoneutral está delimitado por un límite crítico inferior (frío), que se puede definir como la temperatura ambiental baja en la cual un individuo homeotermo en reposo aumenta la producción de calor para mantener el balance térmico (Silanikove, 2000); y un límite crítico superior (calor), definido como el punto donde la pérdida de calor por medios evaporativos en forma de jadeo aumenta (Berman *et al.*, 1985; Igono *et al.*, 1992. Según Yousef (1985), el estrés por calor inicia cuando el límite crítico superior de la zona termoneutral es excedido por la temperatura del ambiente. La zona termoneutral para vaquillas entre 12 y 24 meses de edad es de 7 a 26°C, para terneros entre 10 y 21°C (Yousef, 1985), mientras que para vacas en lactación oscila entre 4 y 24°C (Silanikove, 2000).

### **2.3.2. Estrés calórico**

Se define como estrés calórico a cualquier combinación de condiciones ambientales que cause un aumento en la temperatura ambiental mayor al límite superior de la zona termo-neutral de los animales (Armstrong, 1994). Las condiciones ambientales que pueden influir en el grado de estrés calórico son:

humedad relativa, temperatura ambiental, radiación solar y velocidad del viento (Arias *et al.*, 2008). El ganado lechero produce una gran cantidad de calor metabólico derivado de sus funciones de mantenimiento y producción (Fuquay, 1981), y para poder disipar esta carga de calor corporal, el animal necesita hacer ajustes en su metabolismo, tales como reducir la secreción de hormonas tiroideas (Kadzere *et al.*, 2002), aumentar el consumo de agua, sudoración, incremento en el flujo de sangre hacia la periferia (Hungtington y Ramírez, 2002), asimismo se puede reducir el consumo de alimento (Marcillac-Emberson *et al.*, 2009). La reducción en el consumo de alimento ha sido el principal responsable en la reducción de la producción de leche en ganado lechero (West *et al.*, 2003). Además, se ha reportado una reducción en la eficiencia de conversión de unidades de energía de alimento en unidades de energía de producción en vaquillas de carne y en vacas lecheras en lactación (Arias *et al.*, 2008).

El grado de estrés calórico depende directamente de la temperatura ambiental y la humedad relativa prevaleciente, por lo tanto, se desarrolló un índice para estimar el grado de estrés calórico al cual un animal está sometido, incluyendo la temperatura y la humedad relativa del ambiente, denominado índice de temperatura-humedad o ITH (Wiersma, 1990). Existen diferentes fórmulas para poder calcular el ITH, entre ellas tenemos la establecida por Hahn (1999):

$$ITH = 0.81 Tam + HR (Tam - 14.4) + 46.4$$

Donde:

ITH = índice de temperatura – humedad.

Tam = temperatura ambiental, °C.

HR = humedad relativa (expresada en decimales).

Recientemente, se desarrolló un índice de carga de calor (HLI) que incorpora la radiación solar y la velocidad del viento y se ha utilizado como una alternativa del ITH (Gaughan *et al.*, 2004):

$$\text{HLI} = 33.2 + (0.2 \times \text{RH}) + (1.2 \times \text{BGT}) - (0.82 \times \text{WS})^{0.1} - \text{Log}(0.4 \times (0.0001 + \text{WS}^2))$$

Donde:

HLI = índice de carga de calor.

RH = humedad relativa (expresada en decimales).

BGT = temperatura del bulbo negro, °C.

WS = velocidad del viento (m/s).

El ITH se puede dividir en cuatro niveles según la intensidad de estrés a la cual el ganado lechero está expuesto: 1) zona de confort, se encuentre en valores de ITH < 72 unidades; 2) estrés calórico ligero, entre 72 y 79 unidades; 3) estrés moderado, de 80 a 89 unidades; 4) estrés severo, > 90 unidades (Armstrong, 1994).

#### **2.4. Mecanismos de intercambio de calor y termorregulación en el ganado**

La capacidad para regular la temperatura es una adaptación evolutiva que permite a los animales homeotermos funcionar a pesar de la variación en la temperatura del ambiente (Baker, 1989). Esta variación también permite que la temperatura sea utilizada como una señal que pueda controlar los procesos fisiológicos. La termorregulación se define como el medio por el cual un animal puede mantener su temperatura corporal estable, bajo condiciones de altas temperaturas, ya que los mecanismos de termorregulación van dirigidos a mantener un balance entre la ganancia y pérdida de calor (Fuquay, 1981). Los

animales pueden intercambiar calor utilizando cuatro medios: conducción, convección, radiación y medios evaporativos (Collier *et al.*, 2006).

La pérdida de calor por medio de conducción se basa en la transferencia de calor de un objeto caliente a uno frío. Para poder lograr esto, es necesario que el cuerpo este en contacto con el objeto frío (Yousef, 1985; Collier *et al.*, 2006) y la cantidad de calor transferido dependerá del gradiente térmico, de la conductividad de la superficie de contacto y de las diferencias en la temperatura de la superficie de contacto y el animal (Silanikove, 2000).

La pérdida de calor por medio de convección se lleva a cabo cuando la capa de aire en contacto con la piel es reemplazada por aire más frío (Silanikove, 2000). La pérdida de calor por este medio va a depender del área corporal del animal, la velocidad y temperatura del viento y la temperatura de la piel del animal (Cena y Monteith 1975b). Durante el proceso de respiración, se produce una transferencia de calor por medio de convección. El aire aspirado se ajusta a la temperatura del cuerpo a medida que alcanza la tráquea (Yousef, 1985).

La pérdida de calor por medio de radiación depende del área corporal del animal, la temperatura de la piel, la temperatura del aire alrededor del animal y de la habilidad de la piel del animal para absorber o emitir calor (Cena y Monteith, 1975a). La cantidad de calor absorbido por un animal va a depender también del color y textura de la piel. Un animal de piel negra irradia o absorbe más calor que un animal de piel blanca a una misma temperatura (Silanikove, 2000). Durante el

verano, el animal gana calor por radiación durante el día, por otro lado, durante la noche el animal pierde calor al irradiar el calor hacia el ambiente (Fuquay, 1981).

## **2.5. Variables fisiológicas como indicadores de estrés térmico**

### **2.5.1. Temperatura Rectal**

La temperatura rectal (TR) es un indicador del balance térmico y se puede utilizar para evaluar la adversidad del ambiente térmico que puede afectar el crecimiento, la lactancia y la reproducción de vacas lecheras (Hahn, 1999; Hansen y Arechiga, 1999; West, 1999). Un incremento entre 0.7 – 1.0°C en la temperatura rectal, es suficiente para reducir el desempeño en el ganado lechero (Shebaita y El-Banna, 1982), si se da un incremento en 1°C en la TR, la fertilidad puede declinar de 61 a 45% (Ulberg y Burfening, 1967). Cuando se realiza la medición de esta variable, se deben tomar en cuenta diversos factores que pueden intervenir en su variabilidad tales como la persona que hace la medición (variación hasta de 0.5°C), tipo de termómetro (variación hasta de 0.3°C), profundidad de penetración del termómetro en el recto (variación hasta de 0.4°C) y defecación del animal (Burfeind *et al.*, 2010), asimismo tratar de no agitar a los animales o no hacerlos caminar mucho ya que esto puede incrementar la TR (Mader *et al.*, 2007). La TR promedio del ganado lechero es 38.5°C, bajo condiciones de estrés calórico, puede ubicarse en un rango de 38.7 a 40.1°C (Gwazdauskas, 1985). Cabe señalar que se ha observado que la TR empieza a incrementar a una temperatura ambiental de 25 a 26°C en ganado lechero, independientemente de su nivel de producción (Berman *et al.*, 1985).

Vacas expuestas a una temperatura ambiental de 32.2°C con una temperatura rectal de 40°C durante 72 h después de la IA presentaron 0% en tasa de preñez mientras que vacas expuestas a una temperatura ambiental de 21.1°C con una temperatura rectal de 38.5°C presentaron 48% de tasa de preñez (Ulberg y Burfening, 1967).

### **2.5.2. Frecuencia Respiratoria**

Las altas temperaturas ambientales inducen ajustes fisiológicos en los animales, siendo, en conjunto con el jadeo, uno de los más importantes para ganado lechero el incremento en la frecuencia respiratoria (FR) (Coppock *et al.*, 1982). La FR tiene como función principal la eliminación de dióxido de carbono corporal, y suministrar oxígeno (Robertshaw, 1985), tanto en animales como en seres humanos. Sin embargo, en animales bajo condiciones de estrés calórico, se incrementa la FR como un mecanismo para disipar la carga de calor corporal excesiva (Arias *et al.*, 2008). Bajo escenarios de altas temperaturas ambientales, la pérdida de calor por medios no evaporativos se vuelve ineficiente, por lo tanto, los medios evaporativos se convierten en la ruta principal de pérdida de calor, lo que representa aproximadamente el 85% de la pérdida total de calor por medio de sudoración, mientras que el 15% restante se pierde por la FR (Maia *et al.* 2005). En bovinos de leche, bajo condiciones termoneutrales, la FR oscila entre 20 y 60 respiraciones por minuto (rpm), bajo condiciones de estrés calórico moderado puede oscilar de 80 a 120, y cuando se presentan valores mayores a 120 respiraciones por minuto, se estima que el animal posee una carga excesiva de calor (Hahn *et al.*, 1997). En un estudio realizado en ganado lechero de alta

producción en un ambiente subtropical, encontraron que la frecuencia respiratoria era mayor a 50-60 respiraciones por minuto cuando la temperatura ambiental era mayor a 25°C (Berman *et al.*, 1985).

La FR se toma muy en cuenta en el ganado de leche al momento de evaluar el nivel de estrés calórico, lo cual se debe a que es una respuesta fisiológica muy visible en animales expuestos a temperaturas por encima de la zona de confort (Gaughan *et al.*, 2000). Varios factores pueden influir directamente sobre la FR, entre ellos la temperatura ambiental, humedad relativa, velocidad del viento y radiación solar, siendo la temperatura ambiental la que influye en mayor medida (Hann, 1999).

## **2.6. Efecto del estrés calórico sobre la fertilidad**

Existen muchos factores que pueden afectar negativamente la fertilidad, no obstante, el estrés calórico parece ser el factor con mayor impacto (Sartori *et al.*, 2002). El estrés calórico reduce la longitud e intensidad del estro (Jordan, 2003), asimismo afecta negativamente la función uterina, el estado endócrino, el crecimiento folicular, los mecanismos luteolíticos y la supervivencia embrionaria (Ealy *et al.*, 1993), afectando principalmente a vacas altas productoras (Hansen, 2002).

Ganado lechero expuesto a temperaturas elevadas pueden verse afectado negativamente en procesos como: esteroidogénesis, viabilidad del óvulo (Zeron *et al.*, 2001; Al Katanani *et al.*, 2002), calidad del óvulo (Hansen, 2002), y por lo tanto, la tasa de fertilidad (Sartori *et al.*, 2002). Badinga *et al.* (1993) encontraron

que si el estrés calórico se presentaba el día de la ovulación, esto provocaba una reducción en el volumen y diámetro del folículo dominante en el día 8 del ciclo estral. En adición, Hansen (1997) reportó que otra causa de una baja fertilidad en verano en zonas áridas puede ser el deterioro en la fertilidad del toro causado por el estrés calórico. En estudios donde utilizaron IA, Stott *et al.* (1972) identificaron que los primeros 4 a 6 días post-IA son los más críticos. Sin embargo, Ingraham *et al.* (1974) mencionan que para tener una tasa de concepción óptima, el estrés calórico debe ser reducido 12 días antes de la inseminación o monta. Por lo tanto, diversos autores coinciden que la principal causa de una baja fertilidad bajo condiciones de altas temperaturas es la muerte embrionaria (Breuel *et al.*, 1990; Zavy, 1994).

En un estudio realizado en el noreste de España se reportó que la tasa de concepción fue 27.9% durante el periodo de verano (García-Ispuerto *et al.*, 2007), mientras que en otro estudio realizado en el Central Valley de California, se reportaron tasas de concepción de 28.8, 23.0 y 31.3% en tres diferentes niveles de estrés calórico (no estrés: temperaturas  $<29^{\circ}\text{C}$ , al menos un día con temperatura  $\geq 29^{\circ}\text{C}$  y promedio diario de temperatura máxima  $\geq 29^{\circ}\text{C}$ ), respectivamente, entre 50 y 20 días antes de la IA ganado lechero (Chebel *et al.*, 2004).

## **2.7. Efecto del estrés calórico sobre la fertilidad en vaquillas de reemplazo**

Producir vaquillas de reemplazo es uno de los principales objetivos de las ganaderías lecheras para asegurar una mayor producción leche y beneficiar en el crecimiento del hato (Zamora *et al.*, 2000). Sin embargo, al igual que a vacas

adultas, las vaquillas también son afectadas por el estrés calórico producido por altas temperaturas ambientales. En vaquillas, el estrés calórico aumenta la longitud del ciclo estral pero disminuye la expresión o manifestación del estro (Wilson *et al.*, 1998). Sin embargo, la susceptibilidad al estrés calórico es mayor en vacas lactantes que en vaquillas. Thatcher y Collier (1986) analizaron los resultados de 6,555 inseminaciones en un período de tres años en un hato lechero comercial y encontraron que las vaquillas tenían mayores tasas de concepción en comparación a las vacas adultas durante el verano. Asimismo, en Israel, se observó que la tasa de concepción en vaquillas no cambio en el verano, pero la fertilidad en vacas adultas si disminuyó (Francos y Mayer, 1983). Una posible explicación es que las vacas en lactancia producen una mayor cantidad de calor metabólico en comparación a las vaquillas lo que puede llevar a una hipertermia en el verano (Wilson *et al.*, 1998).

## **2.8. Efecto del estrés calórico sobre la calidad espermática**

En los mamíferos, la espermatogénesis se realiza eficientemente a temperaturas menores a las temperaturas corporales y existen mecanismos de termorregulación (torrente sanguíneo, glándulas sudoríparas, músculo cremáster) encargados de mantener los testículos entre 4°C y 5°C por debajo de la temperatura corporal. Estudios realizados demuestran que existe una relación entre características seminales y las temperaturas elevadas, las cuales disminuyen la concentración espermática y la motilidad, aumentando el número de anomalías de los espermatozoides (Valle *et al.*, 2005). La acción negativa de las altas temperaturas ambientales sobre la calidad espermática en toros se

manifiesta por una baja motilidad e incremento en el número de atipias (Hansen y Arechiga, 1999; Wolfenson, 2009). Esto último debido mayormente al deterioro de la membrana del espermatozoide, debido a que el estrés calórico afecta su afinidad, alterando su constante de disociación (Ax *et al.*, 1987).

## **2.9. Influencia del estrés calórico sobre hormonas de la reproducción**

Al producirse un estrés en el animal debido al incremento de la temperatura corporal, la consecuencia es un efecto negativo sobre la regulación de hormonas ligadas a la reproducción (Hansen y Aréchiga, 1999). Como respuesta al estrés calórico se produce un incremento en la concentración de glucocorticoides que van a suprimir la síntesis de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a nivel de hipotálamo, y por consecuencia, afecta la liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) por la hipófisis anterior (Roth *et al.*, 2000; Ronchi *et al.*, 2001). Los efectos del estrés calórico sobre las concentraciones de LH en sangre periférica son inconsistentes. Algunos estudios reportan concentraciones de LH sin cambios (Gwazdauskas *et al.*, 1981; Gauthier, 1986), otros investigadores afirman un aumento de las concentraciones (Roman-Ponce *et al.* 1981) mientras que otros informan de una disminución de las concentraciones (Lee, 1993) bajo condiciones de estrés calórico. La mayoría de los estudios indican que los niveles de LH son disminuidos por el estrés calórico, por lo tanto, en varios estudios se concluye que en verano, el folículo dominante se desarrolla en un entorno con concentraciones bajas de LH, y esto da como resultado una secreción reducida de estradiol por parte del folículo dominante llevando a una baja expresión del estro, y por lo tanto, una reducción en la

fertilidad. La información publicada sobre el efecto del estrés calórico sobre las concentraciones en sangre de FSH e Inhibina en el ganado, sugieren que la FSH incrementa en condiciones de estrés calórico y esto se puede deber a la disminución en la producción de Inhibina en plasma por los folículos. Sin embargo, si se incrementa la FSH, parece no ser suficiente para superar el efecto de las bajas concentraciones de LH, y por lo tanto, existe una menor disponibilidad de precursores de andrógenos para la síntesis de estradiol (Roth *et al.*, 2000).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación y duración del estudio**

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del rancho “San Carlos”, dedicado a la cría de vaquillas Holstein, ubicado en el kilómetro No.15 de la carretera federal Mexicali – San Felipe, en el municipio de Mexicali, Baja California. Su ubicación geográfica es 32° 43’ latitud norte, 115° 56’ longitud oeste. Geográficamente se encuentra al noroeste de la República Mexicana y en la parte septentrional de la península de Baja California, a una altura de 10 msnm. El clima predominante en esta región es cálido y seco con una temperatura promedio anual de 22°C. Durante el verano se presentan temperaturas máximas de 50°C, mientras que en invierno se registran temperaturas mínimas por debajo de 0°C. La precipitación pluvial promedio anual es de 76 mm<sup>3</sup> (SAGARPA, 2004). El estudio se realizó en dos épocas: los meses de junio a septiembre del 2012 se consideraron verano y los meses de enero a marzo de 2013 se consideraron invierno.

#### **3.2. Animales experimentales y tratamientos**

Se utilizaron cuarenta vaquillas Holstein primaras con edad y peso promedio de 13 meses y 370 kg, respectivamente, en cada época (verano e invierno). Se escogieron 40 vaquillas de forma aleatoria en cada época y fueron asignadas al grupo de dicha época. Antes de iniciar el período experimental en cada época, se colectaron 2 muestras sanguíneas de la vena coccígea con un intervalo de 10 días, en tubos Vacutainer de 6 ml. Las muestras fueron para

determinar ciclicidad en las vaquillas a través de medir los niveles de progesterona ( $P_4$ ). Las vaquillas con niveles de  $P_4 \leq 1$  ng/ml en los dos muestreos se consideraron como no ciclando. Adicionalmente, las vaquillas fueron palpadas por vía rectal para determinar su condición reproductiva, eliminando las que presentaban problemas de quistes ováricos, ovarios inactivos o cualquier otra situación que pudiera afectar su eficiencia reproductiva. Las vaquillas en condición corporal  $< 2.5$  (en una escala de 1 a 5) (Ferguson, 1996) o con síntomas de alguna enfermedad también fueron retiradas del estudio. Las vaquillas en ambas épocas fueron sometidas a detección visual del estro (2 veces/día). Cuando una vaquilla era detectada en estro se inseminaba con semen sexado al día siguiente por la mañana. Todas las vaquillas fueron inseminadas por la misma persona para evitar el efecto inseminador y se utilizó semen del mismo toro para evitar el efecto toro. En general, los tratamientos correspondieron a las épocas del año.

### **3.3. Instalaciones y manejo de los animales**

En cada época, las vaquillas se mantuvieron bajo condiciones estabuladas en un corral provisto de sombra, comederos y bebederos. La dimensión de los corrales fue de 29.9 x 33.5 m, con una área total de 1001.65 m<sup>2</sup>, lo cual correspondía a 25.04 m<sup>2</sup>/cabeza. En la parte norte del corral se encontraban los comederos lineales, los cuales 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 sombra se ubicó en la parte oeste del corral, construida de lámina galvanizada y estructuras de tubo de acero, con orientación norte a sur. El área de la sombra

fue de 18.14 x 5.82 m, con altura de 2.78 m y espacio de 2.65 m<sup>2</sup>/cabeza. Cada corral contaba con un bebedero de concreto en la parte sur del corral (2.5 x .95 m y .30 m de fondo). La alimentación consistió en una ración integral balanceada en base a los requerimientos nutricionales de las vaquillas (Cuadros 1 y 2), y se servía tres veces por día (0600, 0900 y 1600 h). El agua fue ofrecida *ad libitum*.

### 3.4. Datos climatológicos

Los datos climatológicos fueron colectados de una estación meteorológica (Vantage Pro 2, Estándar) instalada en la recría “San Carlos”, a una altura de 2.5 m sobre el nivel del suelo. Se registró información de radiación solar, velocidad de viento, temperatura ambiente y humedad relativa; con estas dos últimas variables se estimó el ITH mediante la fórmula propuesta por Hahn (1999):

$$\text{ITH} = 0.81 \text{ Tam} + \text{HR} (\text{Tam} - 14.4) + 46.4$$

Donde:

ITH = índice de temperatura – humedad

Tam = temperatura ambiental, °C

HR = humedad relativa (expresada en decimales).

### 3.5. Variables de estudio

#### 3.5.1. Frecuencia respiratoria y temperatura rectal

Se seleccionaron 15 vaquillas de forma aleatoria por tratamiento para medir la FR, contando el número de movimientos intercostales durante un minuto (respiraciones/minuto). La TR se registró utilizando un termómetro electrónico

digital (FLUKE, 51 II Termómetro, Fluke Co. Everet, WA, USA). La FR y la TR se registraron dos veces por semana (martes y jueves), entre las 1430 y 1600 h.

### **3.5.2. Temperatura vaginal**

Se seleccionaron 3 vaquillas de forma aleatoria por tratamiento y a cada vaquilla se le colocó un sensor de temperatura (HOBO U-12; Onset, MA, USA), el cual se colocó con cinta en un CIDR® completamente libre de P<sub>4</sub>, vía intravaginal, y programado para registrar la temperatura vaginal cada hora durante las 24 horas del día, dos veces por semana.

### **3.5.3. Concentración de progesterona y metabolitos**

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por medio de punción de la vena coccígea (sangre venosa) usando tubos BD vacutainer (Becton Dickinson, Franklin Lakes). Las muestras se tomaron al momento de la IA (día 0) y posteriormente cada tres días (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21). Las muestras sanguíneas se transportaron en una hielera al Laboratorio de Fisiología Animal del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, donde se centrifugaron a 1500 rpm x 15 minutos, a temperatura de 10°C. El suero se colocó en viales de 2 ml para su almacenamiento a -20 °C. El análisis de P<sub>4</sub> se realizó por medio de la técnica de ELISA usando un Kit comercial (Monobid Inc. Lake Forest, CA, USA, con precisión intra ensayo de 8.4% e interensayo de 7.6%, y sensibilidad de 0.105 ng/ml). El análisis de metabolitos (glucosa, triglicéridos, colesterol) se realizó utilizando un analizador de química (KontroLab®, Easy Vet).

#### **3.5.4. Tasa de concepción**

La preñez se determinó por medio de palpación rectal 35 d después de la IA con confirmación los días 60 y 90 post-inseminación. La tasa de concepción se calculó en base a las vaquillas que fueron concebidas a la primera inseminación.

#### **3.6. Análisis estadístico**

La FR y TR se analizaron utilizando los comandos REPEATED Y RANDOM del procedimiento PROC MIXED. El modelo incluyó los efectos de tratamiento, día y su interacción entre factores principales. En el caso de TV, se utilizó un modelo que incluyó efectos fijos de tratamiento, hora y la interacción tratamiento x hora. El efecto de hora se usó como medición repetida en el tiempo. La concentración de P<sub>4</sub> y metabolitos se sometieron a un análisis de varianza con un modelo que incluyó efectos fijos de día, tratamiento y la interacción tratamiento x día, y el efecto día se usó como una medición repetida en el tiempo. Las comparaciones de medias se realizaron por medio de la prueba de t-student. La tasa de concepción se analizó por medio de una prueba de Ji-Cuadrada. Todos los procedimientos utilizados se realizaron con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS, 2004) y el nivel de significancia exigido fue de  $P \leq 0.05$ . Valores con  $0.05 \leq P \leq 0.10$  se tomaron como tendencias, y valores con  $P > 0.10$  se tomaron como diferencias numéricas.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Datos climatológicos

En el Cuadro 3 se presentan los promedios generales de las condiciones climatológicas de ambas épocas (verano e invierno) antes y después de la IA. Se observó que el promedio de la temperatura ambiental excedió los 30°C en verano tanto en el día como en la noche, mientras que en invierno el promedio de temperatura ambiente fue de 18.1 y 13.1 °C en día y noche, respectivamente. La humedad relativa en verano fue de 39.5 y 48.1% en el día y la noche, mientras que en invierno fue de 44.2 y 53.0% para el día y noche, respectivamente. El promedio general de ITH en verano fue de 82.4 y 79.1 unidades de ITH en el día y la noche respectivamente, mientras que en invierno fue de 62.6 y 56.3 unidades de ITH. La radiación solar promedio fue de 504.7 W/m<sup>2</sup> en verano y 368.2 W/m<sup>2</sup> en invierno, mientras que la velocidad del viento en verano fue de 2.8 m/s en el día y 2.7 m/s en la noche, mientras que en invierno fue de 6.4 y 3.4 m/s para día y noche.

Los datos obtenidos de la temperatura ambiental nos indican que las vaquillas en el grupo de verano estuvieron sometidas a temperaturas por arriba del límite crítico superior de la zona termoneutral que es de 26°C para vaquillas entre 12 y 24 meses de edad (Yousef, 1985). Cuando la temperatura ambiente excede la zona de confort se incrementa la pérdida de calor por medios evaporativos (Silanikove, 2000); inicialmente en forma de jadeo (Berman *et al.*, 1985; Igono *et al.*, 1992). A temperaturas superiores a 30° C, la HR comienza a asumir un papel

importante en los procesos de pérdida de calor evaporativos (Maia *et al.*, 2005). En estas condiciones, el gradiente de presión de vapor no es suficiente para asegurar una adecuada evaporación. Por lo tanto, altas HR reducen el potencial de disipación de calor tanto de la piel como del aparato respiratorio (Da Silva, 2006), afectando a los animales especialmente en ambientes en los que la disipación del calor por vías evaporativas es crucial para mantener la condición homeotérmica (NRC, 1981).

Por otra parte, según los valores calculados de ITH, las vaquillas en la época de verano estuvieron sometidas a un estrés calórico moderado durante el día (ITH entre 80 y 89 unidades) y un estrés calórico ligero durante la noche (ITH entre 72 y 79 unidades). Por otra parte, en la época de invierno las vaquillas estuvieron permanentemente dentro de la zona de confort (ITH <72 unidades) (Armstrong, 1994).

En el presente estudio se tuvo una mayor radiación solar en verano. La radiación solar (directa e indirecta) es considerada como uno de los factores más importantes que afectan el balance térmico en el ganado (Silanikove, 2000). También se ha demostrado que la radiación solar tiene un impacto directo en la TR y la tasa de respiración (Brosh *et al.*, 1998; Sevi *et al.*, 2001; Collier *et al.*, 2006). Algunos estudios reportan que la pérdida de calor por vía cutánea se convierte en la principal fuente de disipación de calor cuando la radiación solar alcanza los  $350 \text{ W/m}^2$  (Maia *et al.*, 2005), sin embargo, esto es mayor a lo reportado por Hillman *et al.* (2001) donde la pérdida de calor por vía cutánea se

manifestó a  $240 \text{ W/m}^2$  en ganado Holstein con sombra bajo condiciones de estrés calórico.

La velocidad de viento que se reportó en verano es algo favorable, ya que se reportó que una velocidad del viento  $>2 \text{ m/s}$  mejora la disipación de calor por medio de convección (Mader *et al.*, 2006) y también mejora la disipación de calor por medios evaporativos (Mader *et al.*, 1997; Mader *et al.*, 1999), señalando que esto depende del estado en que se encuentre la piel del animal, es decir, seca o húmeda, ya que la transferencia de calor es más eficiente cuando la piel está húmeda que cuando está seca (Arkin *et al.*, 1991). Por otra parte, en invierno el viento tiene un efecto negativo porque aumenta la pérdida de calor (Arias *et al.*, 2008). Se señaló que los requerimientos de mantenimiento en el ganado se ven afectados negativamente en invierno a causa del viento (Fox y Tylutki, 1998) cuando se da una combinación entre temperaturas ambientales muy bajas y altas velocidades del viento.

#### **4.2. Variables fisiológicas**

Los resultados de las variables fisiológicas se presentan en el Cuadro 4 y en la Figura 2. Tanto antes como después de la IA, la FR y TR fueron mayores ( $P < 0.0001$ ) en verano que en invierno. La TV también fue mayor ( $P < 0.0001$ ) en verano durante las 24 horas del día en comparación a invierno.

Nuestros resultados son similares con los encontrados por Sandoval (2012) donde reportó un promedio de 87 respiraciones/minuto en vaquillas Holstein con solo sombra bajo las mismas condiciones climáticas que nuestro

experimento, mientras que Wilson *et al.* (1998) reportaron una FR de 85 repeticiones/minuto en vaquillas Holstein que fueron inducidas a estrés calórico en cámaras ambientales a una temperatura ambiente de 33.5°C. En otros estudios realizados se ha reportado que la FR comienza a sobrepasar las 60 rpm cuando se alcanzan temperaturas ambiente arriba de 25°C (Berman *et al.*, 1985), lo que coincide con el presente estudio donde las temperaturas ambientales promedio durante el verano fueron por encima de los 30°C. La FR aumentaría cuando se tienen valores de ITH mayor a las 73 unidades, y de forma más marcada por arriba de 80 unidades (Silanikove, 2000), lo que coincide con nuestro estudio donde en el verano se reportaron valores de ITH entre 79 y 82 unidades. Las vaquillas en el grupo de verano presentaron una FR en el rango de 90 y 120 respiraciones por minuto lo que se considera como un estrés calórico moderado, mientras que las vaquillas en el grupo de invierno presentaron una FR promedio entre 20 y 60 respiraciones/minuto, que se considera normal e indica que los animales estuvieron bajo condiciones termoneutrales (Mader *et al.*, 2002; Mader *et al.*, 2006).

La TR obtenida en el grupo de verano es un poco mayor a lo reportado por Marcillac-Emberson *et al.* (2009), que bajo condiciones similares a las nuestras, en el Central Valley de California, la TR promedio en vaquillas Holstein fue de 39.5°C utilizando solamente sombra. La temperatura rectal se incrementaría de forma más pronunciada cuando los valores de ITH sobrepasan 80 unidades (Silanikove, 2000), lo que concuerda con nuestro estudio donde se reportaron valores promedios de ITH entre 79 y 82 unidades durante el verano. Por otra

parte, Berman *et al.* (1985) observaron que la TR empieza a incrementarse a partir de una temperatura ambiente de 25 y 26°C, algo que coincide con nuestro estudio donde en verano las temperaturas promedio estuvieron entre 31 y 35°C. Un aumento entre 0.7 y 1°C en la temperatura rectal es suficiente para reducir el rendimiento en ganado lechero (Shebaita y El-Banna, 1982). En otros estudios se encontró que la producción de leche disminuye cuando la TR sobrepasa los 39°C (Igono y Johnson, 1990), enfatizando que las vacas en estado de lactancia son más sensibles al estrés calórico en comparación a vaquillas. En ambos grupos la TR sobrepasó la temperatura rectal normal del ganado lechero en condiciones termoneutrales que es de 38.5°C (West, 2003), sin embargo en el grupo invierno la TR no sobrepasó la TR crítica e hipertermia en el ganado que es de 39.5°C (Bourke, 2003). En invierno se presentó un promedio de TR ligeramente alto (39.1°C), lo que puede atribuirse a que los animales al estar expuestos a bajas temperaturas, intentaron conservar el calor, ya sea posiblemente a través de un incremento en el aislamiento del medioambiente (mayor cobertura de grasa, pelaje más largo y grueso), produciendo más calor al aumentar el consumo de alimento o bien una combinación de ambos (Arias *et al.*, 2008).

Las altas temperaturas ambientales traen como consecuencia un incremento en la temperatura corporal del animal (Stott, 1981), por lo que evaluar variables como la TR y TV ayudan a tener una idea de la carga de calor o nivel de estrés en el que un animal se encuentra. En este estudio, el grupo de verano reportó los picos de TV más altas a las 1600 y 1700 h del día que fueron 40.2°C

en ambas horas, lo que concuerda con la hora del pico de TV de las 1600 h pero está por encima de los 39.5°C de TV reportados por Tucker *et al.* (2008), donde utilizaron diferentes superficies de sombra (sin sombra, 25, 50 y 99% de sombra) en ganado bajo sistemas de pastoreo. Muller *et al.* (1994) también encontraron resultados similares a los del presente estudio, ya que observaron que las máximas TV ocurrieron constantemente entre 1720 y 1740 horas del día en dos grupos, uno con y sin sombra. Otros investigadores realizaron un estudio donde proporcionaron sombra artificial a un grupo de vacas Holstein en lactancia contra un grupo de vacas sin sombra en el verano para observar su efecto sobre la TV, encontrando que esta empezaba a incrementarse entre las 1000 y 1500 h (Kendall *et al.*, 2006). Por otra parte, en invierno los picos altos de TV se dieron a las 1700 y 1800 horas pero no sobrepasaron 38.9°C. En este estudio también se observó que en el verano la TV empezó a disminuir a partir de las 1800 h, presentando el valor más bajo (39.1°C) a las 0600 horas. Lo anterior indica que los animales fueron beneficiados por el ambiente nocturno, lo que ayudó a la disminución de la temperatura corporal durante la noche y de esta manera tuvo la capacidad de disipar el exceso de calor acumulado durante las horas del día (Spain *et al.*, 2001; Spiers *et al.*, 2001; Mader y Kreikemeier, 2006). Además, un hallazgo interesante que se observó que durante el verano el promedio de TV fue menor ( $39.5 \pm 0.013^\circ\text{C}$ ) en comparación al promedio de TR ( $39.9 \pm 0.02^\circ\text{C}$ ) lo que es diferente a lo reportado por Burfeind *et al.* (2012). Estos autores encontraron que la TV fue mayor ( $39.6 \pm 0.4^\circ\text{C}$ ) a la TR ( $39.4 \pm 0.6^\circ\text{C}$ ). Estos resultados se han encontrado anteriormente en estudios realizados por Burfeind *et al.* (2011) y podría ser debido

a que el sensor de temperatura es insertado más profundo intravaginalmente en comparación a un termómetro colocado vía rectal (Burfeind *et al.*, 2012).

#### **4.3. Concentración de progesterona**

En el Cuadro 5 se muestran los promedios de las concentraciones de progesterona obtenidos en el estudio. Las concentraciones de P<sub>4</sub> fueron mayores (P<0.0001) en invierno que en verano. Los resultados del presente estudio concuerdan con otros estudios donde se observó que las concentraciones de P<sub>4</sub> disminuyen bajo condiciones de estrés calórico de verano en ganado lechero (Younas *et al.*, 1993; Howell *et al.*, 1994; Jonsson *et al.*, 1997; Ronchi *et al.*, 2001). Sin embargo, otros estudios no reportaron cambios en las concentraciones de P<sub>4</sub> bajo condiciones de estrés calórico (Roth *et al.*, 2000; Guzeloglu *et al.*, 2001). Más aún, contrario a los resultados del presente trabajo, un estudio previo reportó que las concentraciones de P<sub>4</sub> en sangre pueden aumentar o disminuir dependiendo del tipo de estrés calórico, agudo o crónico (De Rensis y Scaramuzzi, 2003). Se considera estrés calórico agudo cuando el animal es expuesto a altas temperaturas durante corto tiempo (segundos o minutos) y estrés calórico crónico cuando la exposición a altas temperaturas es de mayor duración (horas o días) (Bauman y Currie, 1980; Chilliard *et al.*, 2000). En base a esto se reportó que las concentraciones de P<sub>4</sub> disminuyen bajo condiciones de estrés calórico crónico y por otra parte pueden aumentar luego de ser sometidas a un estrés calórico agudo (Wolfenson *et al.*, 2000). Tomando en cuenta estos parámetros y en base a las temperaturas corporales obtenidas en nuestro estudio, se puede asociar que las vaquillas en el grupo de verano estuvieron

sometidas a estrés calórico crónico, ya que en este grupo la concentración de  $P_4$  fue menor y la exposición a altas temperaturas fue constante desde el inicio hasta el final del experimento.

Una disminución en las concentraciones de  $P_4$  por efecto del estrés calórico puede reflejarse en una baja fertilidad (De Rensis y Scaramuzzi, 2003). Bajas concentraciones de  $P_4$  durante la fase lútea pueden afectar el desarrollo folicular, teniendo como consecuencia una maduración anormal del ovocito y una muerte embrionaria temprana (Ahmad *et al.*, 1995). Por otra parte, durante el período de concepción, estas bajas concentraciones de  $P_4$  pueden llevar a fallas en la implantación (Mann *et al.*, 1999; Lamming y Royal, 2001). Algunos investigadores consideran que las bajas concentraciones de  $P_4$  en plasma son consecuencia de una reducción en el número de células luteales bajo condiciones de estrés calórico (Wolfenson *et al.*, 1993); esta hipótesis es apoyada por otros investigadores quienes reportaron bajas concentraciones de  $P_4$  en suero en vacas estresadas por calor durante la fase lútea (Younas *et al.*, 1993). Otra posible explicación sobre los resultados de concentraciones de  $P_4$  en vacas bajo condiciones de climas cálidos, puede ser la baja disponibilidad de colesterol en plasma y la baja eficiencia del metabolismo de lípidos que sucede bajo estas condiciones (Ronchi *et al.*, 1999).

#### **4.4. Tasa de concepción**

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de la TC obtenidas al primer servicio en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado. Se observó que la

TC entre los grupos mostró una tendencia ( $P= 0.0557$ ) a incrementarse en invierno en comparación al verano a los 30, 60 y 90 días post- IA.

La tendencia en la tasa de concepción a disminuir en verano en comparación a invierno puede ser explicada debido a las altas temperaturas a las cuales las vaquillas estuvieron expuestas, ya que se incrementó la temperatura corporal del animal, pudiendo provocar una reducción en la supervivencia embrionaria (Jordan, 2003), y en conjunto con las bajas concentraciones de progesterona por efecto de las altas temperaturas (De Rensis y Scaramuzzi, 2003) que también causan una reducción en la fertilidad.

Por otra parte, en cuanto a las tasas de concepción utilizando semen sexado, los resultados de nuestro estudio son diferentes a los encontrados por Mellado *et al.* (2014), quienes analizaron 64,666 servicios en un periodo de 8 años para evaluar el efecto del mes de servicio sobre el desempeño reproductivo de vaquillas y vacas Holstein inseminadas con semen sexado y semen convencional en un clima árido; los autores reportaron una mayor preñez por inseminación artificial (P/IA) en vaquillas en comparación a vacas (42.1 vs. 17.1%) inseminadas con semen sexado en los meses de verano. Esta diferencia es atribuible a que naturalmente las vaquillas tienen una mayor tasa de concepción en comparación a vacas adultas (Pryce *et al.*, 2002). Estos mismos autores reportaron una P/IA durante los meses de invierno de 21% con semen sexado en vacas adultas; por otra parte, en verano debido al estrés provocado por las altas temperaturas, la P/IA fue de 16% con semen sexado (Mellado *et al.*, 2014). Estos resultados son similares a los de nuestro estudio en cuanto a que la

tasa de concepción para ambas épocas del año fue baja, lo que puede ser atribuible a diversos factores entre los cuales se manifiesta la baja concentración ( $2.1 \times 10^6$ ) de espermatozoides en las pajillas de semen sexado comercial en comparación al semen convencional (Garner y Seidel, 2008), lo que puede llegar a bajar la fertilidad del semen sexado alrededor del 20-30% (Espinosa y Córdova, 2013). Otros autores atribuyen la baja fertilidad del semen sexado a daños mecánicos causados durante el proceso de sexado, y en menor grado, a la tinción y exposición al láser (Garner y Siedel, 2003; Frijters *et al.*, 2009; Oses *et al.*, 2009). Se han reportado tasas de preñez utilizando semen convencional en vaquillas Holstein de 74 y 69% con diagnóstico de preñez a los 30-33 y 64-67 días post-IA, respectivamente, mientras que al utilizar semen sexado las tasas de preñez se redujeron a 55 y 48% con diagnóstico de preñez en los mismos días post-IA (Weigel, 2004). Algunos estudios mencionan que la baja fertilidad al utilizar semen sexado con baja concentración de espermatozoides puede ser contrarrestada al depositar el semen cerca del sitio de fertilización (Hunter y Greve, 1998; Dalton *et al.*, 1999). Sin embargo, Kurykin *et al.* (2006) reportaron que la tasa de preñez de vaquillas Holstein no fue influenciada por el sitio de deposición del semen. Según Seidel y Schenk (2008), la tasa de preñez no mejoró al aumentar las concentraciones de espermatozoides arriba de  $2.1 \times 10^6$  en las dosis de semen sexado, y asimismo, las tasas de preñez utilizando semen sexado con concentraciones de  $2.1 \times 10^6$  espermas no fueron notablemente menores a las tasas de preñez utilizando semen convencional con concentración de  $20 \times 10^6$  espermas.

Existen diversos factores que pueden llevar a una baja fertilidad del semen, no solo las bajas concentraciones de espermias utilizados. Se ha demostrado que existe una relación entre características seminales y el ambiente. Las temperaturas elevadas disminuyen la concentración espermática, reducen la motilidad y aumenta el número de anormalidades de los espermatozoides (Valle *et al.*, 2005), lo que lleva a una baja fertilidad. Uno de los grupos de este experimento fue la inseminación de vaquillas durante la época de invierno utilizando semen sexado, observándose una tasa de concepción de 30% lo que es menor comparado a lo que se ha obtenido en la misma granja y en la misma época del año, que fue alrededor del 78% según registros de inseminaciones con semen sexado de 2007 a 2010 (Callejas, 2013). Las bajas tasas de preñez utilizando semen sexado en este experimento pudieron estar relacionadas, probablemente a una posible baja calidad del semen del toro utilizado.

#### **4.5. Concentración de metabolitos**

En el Cuadro 6 se presentan los promedios de las concentraciones de glucosa y colesterol obtenidos en el estudio. Las concentraciones de glucosa (GLU) y colesterol (COL) entre las épocas verano e invierno fueron diferentes ( $P < 0.0001$ ), mostrando mayores concentraciones durante el invierno. En la Figura 3 se muestran las concentraciones de triglicéridos (TRIG) a diferentes días post-IA entre las épocas verano e invierno. La concentración de TRIG fue diferente ( $P < 0.0001$ ) entre las épocas durante los días 0, 3, 6, 9, 12, 15 y 18 post-IA, presentando las mayores concentraciones durante la época de verano. Se observó diferencia numérica entre las épocas en el día 21 post-IA ( $P = 0.1088$ ).

Las concentraciones de glucosa en sangre disminuyen en los meses de verano comparado con los meses de invierno (Whitaker *et al.*, 1993; Jolly *et al.*, 1995; Jonsson *et al.*, 1997; De Rensis *et al.*, 2002), probablemente por el bajo consumo de materia seca y por un incremento en el balance energético negativo (De Rensis y Scaramuzzi, 2003). Nuestros resultados obtenidos de GLU son diferentes a lo encontrado por otros investigadores, donde reportaron que las concentraciones de GLU incrementaron en vacas lactantes de la raza Holstein y Cebú Lechero Australiano durante los meses de verano en comparación a los meses de invierno, sin embargo, disminuyeron para vacas de la raza Jersey; atribuyéndose estos resultados a un incremento en las demandas energéticas lo cual está relacionado a un incremento en la frecuencia respiratoria para disipar el calor, y en conjunto con una posible disminución en el consumo de alimento, pueden causar una movilización de las reservas de grasa del cuerpo para incrementar los niveles de GLU en sangre (Srikandakumar y Johnson, 2004). Asimismo se menciona que bajo condiciones de estrés calórico, el cortisol tiene una acción hiperglucémica necesaria para aumentar las concentraciones de glucosa (Silanikove, 2000). Sin embargo estas, diferencias en comparación a nuestro experimento pueden ser atribuibles a la etapa fisiológica de los animales, ya que los animales en nuestro estudio eran vaquillas y estas tienen un menor requerimiento nutricional en comparación a vacas en lactancia. Las bajas concentraciones de glucosa obtenidas durante los meses de verano en nuestro estudio pudieron afectar la fertilidad de las vaquillas, considerando que la GLU está directamente involucrada en modular la secreción de LH (Bucholtz *et al.*, 1996), y una hipoglicemia severa inhibe la secreción pulsátil de LH y previene la

ovulación (Jolly *et al.*, 1995) afectando directamente la fertilidad de vaquillas lecheras.

En nuestro estudio, las concentraciones de COL en plasma se vieron significativamente reducidas en el verano en comparación al invierno. Estos resultados coinciden con otro estudio donde midieron los parámetros de sangre en los periodos más calientes de dos veranos consecutivos en vacas Holstein Italiano lactantes, encontrando que las concentraciones de COL en plasma también se veían reducidas en estos períodos calientes donde el estrés por calor fue más pronunciado en comparación al resto del verano (Abeni *et al.*, 2007). Estas bajas concentraciones de COL en plasma pueden atribuirse a una reducción en la actividad hepática bajo condiciones de estrés calórico (Ronchi *et al.*, 1997; 1999). Asimismo, otros investigadores mencionan que esta reducción de COL en sangre puede ser por un incremento en la utilización de los lípidos por el tejido periférico (Abeni *et al.* 2007). Por otra parte, las bajas concentraciones de COL obtenidas bajo condiciones de estrés calórico pueden ayudar a explicar las reducidas concentraciones de  $P_4$  en estas mismas condiciones (Ronchi *et al.*, 1999), ya que el COL es un precursor indispensable de la novo síntesis de  $P_4$  (Staples *et al.*, 1998), y tendría como consecuencia un efecto negativo sobre la fertilidad del ganado lechero.

Las concentraciones de TRIG en plasma en nuestro estudio mostraron un incremento durante la época de verano en comparación a la época de invierno. Estos resultados coinciden con un estudio realizado por Scharf *et al.* (2010), donde evaluaron algunos parámetros en suero sanguíneo entre novillos de dos

razas (Romosinuano y Angus) bajo condiciones termoneutrales y bajo estrés calórico, encontrando que las concentraciones de TRIG en sangre incrementaron bajo condiciones de estrés calórico en ambas razas, pero no observaron diferencias entre las razas, sin embargo, no presentaron una explicación a esta respuesta. Por otra parte, en otro estudio realizado en ovejas Iranís de cola grasosa bajo condiciones de estrés por frío, zona termoneutral y estrés por calor (4°C, 21°C y 40°C respectivamente), se reportó que las concentraciones de TRIG en sangre disminuyen bajo condiciones de estrés por frío y estrés por calor en comparación a zona termoneutral, sin embargo, estas concentraciones de TRIG fueron similares bajo condiciones de estrés por frío y calor (Nazifi *et al.*, 2003) y enfatizaron que esto podría deberse a que bajo condiciones de estrés calórico las concentraciones de TRIG están correlacionadas negativamente con los niveles de tiroxina, ya que entre los efectos de las hormonas tiroideas esta la estimulación de síntesis y degradación de triglicéridos. En otro estudio también encontraron una reducción en las concentraciones de TRIG en los periodos más calientes del verano (Abeni *et al.*, 2007), y puede ser debido a que se produce un incremento en la utilización de lípidos por el tejido periférico bajo estas condiciones.

## V. CONCLUSIONES

- Las vaquillas del grupo verano estuvieron sometidas a un estrés por calor moderado en comparación a las vaquillas del grupo invierno debido a las altas temperaturas de la época, reflejado en un incremento en la frecuencia respiratoria, en temperatura rectal y en temperatura vaginal.
- Las concentraciones de progesterona fueron menores en las vaquillas del grupo verano en comparación a las del grupo invierno como consecuencia de las altas temperaturas a las que estuvieron expuestas y, posiblemente, por la baja disponibilidad de colesterol en plasma.
- El estrés calórico al cual estuvieron expuestas las vaquillas del grupo verano también se vio reflejado en las bajas concentraciones de glucosa y colesterol en sangre en comparación a las del grupo invierno.
- La tasa de concepción utilizando semen sexado mostró una tendencia a ser mayor en la época de invierno, ya que las condiciones severas de estrés calórico en verano produjeron bajas tasas de concepción en las vaquillas, sin embargo, en invierno se consideran bajas en relación a otros estudios y años previos en la misma explotación.
- Las bajas tasas de preñez en ambas épocas utilizando semen sexado pudieron estar relacionadas principalmente a una posible baja calidad del semen del toro utilizado.

**Cuadro 1.** Ingredientes y composición química de la dieta de verano.

Ingredientes	(%)
Ensilaje de sorgo	52
Paja de trigo molido	10
Revuelto de alfalfa	10
Alfalfa limpia	13
Trigo rolado	10
Grano de destilería	3
Minerales (premix recría)	2
Composición química	(%)
Materia seca (MS)	89.9
Humedad	10.0
Proteína cruda	13.5
Extracto etéreo	2.0
Cenizas	11.4
Fibra detergente ácida (FDA)	42.4

**Cuadro 2.** Ingredientes y composición química de la dieta de invierno.

Ingredientes	(%)
Ensilaje de sorgo	30
Forraje molido (trigo y sorgo)	10
Alfalfa limpia	11
Revuelto de alfalfa	17
Maíz rolado	5
Esparrago	25
Minerales (premix recría)	2
Composición química	(%)
Materia seca (MS)	94.0
Humedad	5.9
Proteína cruda	11.1
Extracto etéreo	1.9
Cenizas	11.7
Fibra detergente ácida (FDA)	48.6

**Cuadro 3.** Condiciones climatológicas pre y post- IA durante el desarrollo del estudio.

	<b>Grupos</b>					
	<b>Verano</b>			<b>Invierno</b>		
	<b>Pre IA</b>	<b>Post-IA</b>	<b>Promedio</b>	<b>Pre IA</b>	<b>Post-IA</b>	<b>Promedio</b>
<b>Temperatura ambiente, °C</b>						
Día	35.2	35.3	35.2	17.8	18.4	18.1
Noche	30.3	32.0	31.1	13.2	13.0	13.1
<b>Humedad relativa, %</b>						
Día	33.8	45.2	39.5	50.4	38.1	44.2
Noche	43.2	53.1	48.1	58.6	47.4	53.0
<b>Velocidad de viento, m/s</b>						
Día	2.8	2.9	2.8	5.1	7.7	6.4
Noche	2.4	3.0	2.7	3.1	3.8	3.4
<b>Radiación solar, W/m<sup>2</sup></b>						
Día	539.4	470.1	504.7	306.6	429.7	368.2
Noche	17.1	9.6	13.3	0	1.3	0.7
<b>ITH, unidades</b>						
Día	81.1	83.7	82.4	62.5	62.8	62.6
Noche	77.2	81.1	79.1	56.4	56.2	56.3

IA: inseminación artificial.

Día: 06:00 – 17:00.

Noche: 18:00 – 05:00.

**Cuadro 4.** Comportamiento fisiológico de vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado en dos diferentes épocas del año.

Grupos	Frecuencia Respiratoria		Temperatura Rectal (°C)		Temperatura Vaginal (°C)	
	Pre-IA	Post-IA	Pre-IA	Post-IA	Pre-IA	Post-IA
Verano	95.9 ± 1.1 <sup>a</sup>	93.5 ± 0.7 <sup>a</sup>	40.3 ± 0.04 <sup>a</sup>	39.9 ± 0.02 <sup>a</sup>	---	39.5 ± 0.013 <sup>a</sup>
Invierno	44.9 ± 0.9 <sup>b</sup>	39.6 ± 0.7 <sup>b</sup>	39.1 ± 0.04 <sup>b</sup>	39.2 ± 0.03 <sup>b</sup>	---	38.6 ± 0.013 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Valores dentro de la misma columna con distinta literal difieren (P<0.0001).  
 (---): Datos no obtenidos.

**Cuadro 5.** Concentración de P<sub>4</sub> (ng/ml) y tasa de concepción a primer servicio de vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado en dos diferentes épocas del año.

Grupos	Tasa de concepción a diferentes días Post- IA			% Hembras	P <sub>4</sub>
	35	60	90		
Verano	12.5 (5/40) <sup>a</sup>	12.5 (5/40) <sup>a</sup>	12.5 (5/40) <sup>a</sup>	100 (5/5) <sup>a</sup>	4.9 ± 0.88 <sup>c</sup>
Invierno	30 (12/40) <sup>b</sup>	30 (12/40) <sup>b</sup>	30 (12/40) <sup>b</sup>	91.6 (11/12) <sup>a</sup>	9.5 ± 0.68 <sup>d</sup>

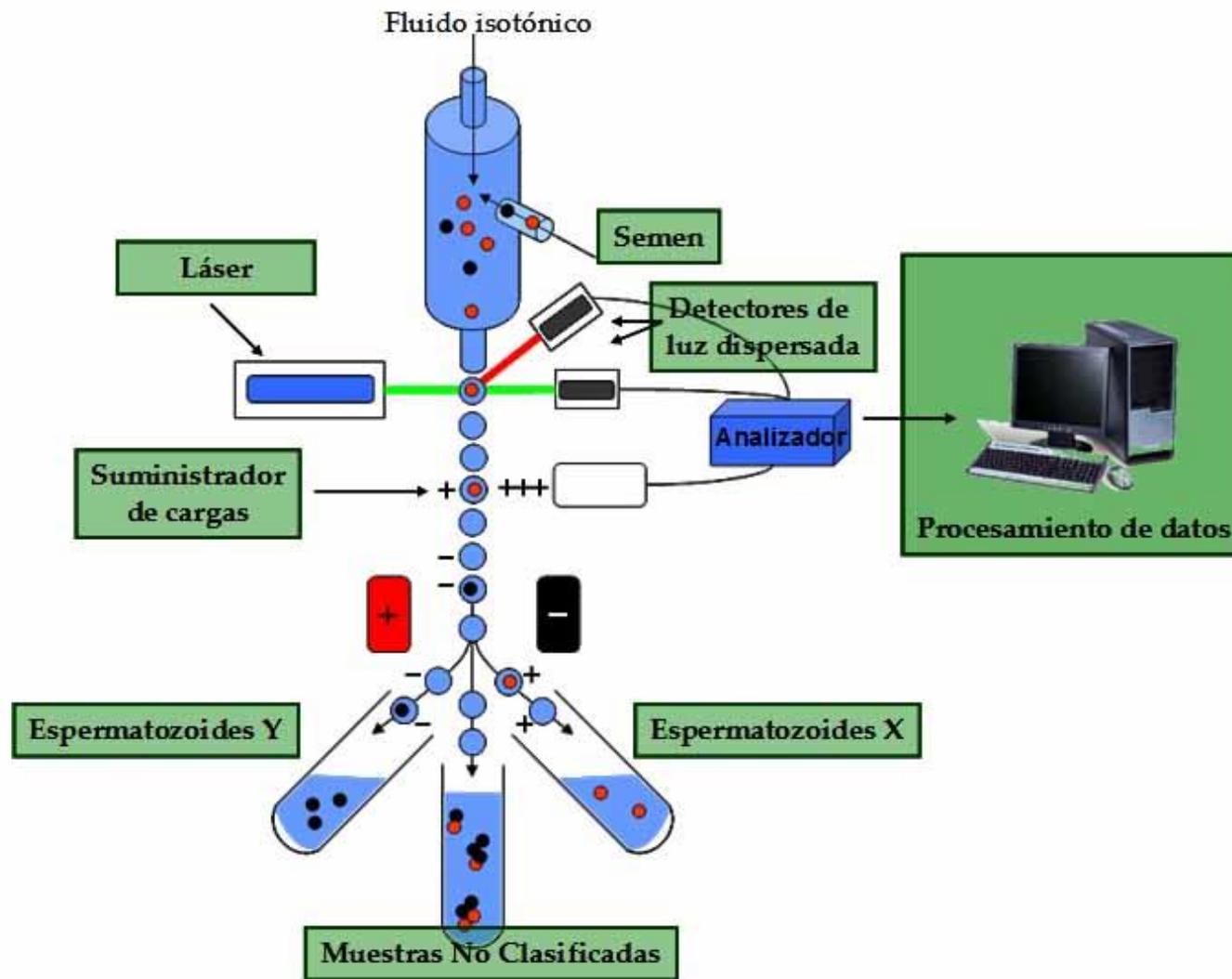
<sup>a,b</sup> Valores en la misma columna con distinta literal mostraron una tendencia a ser diferentes (P= 0.0557).

<sup>c,d</sup> Valores en la misma columna con distinta literal difieren (P<0.0001).

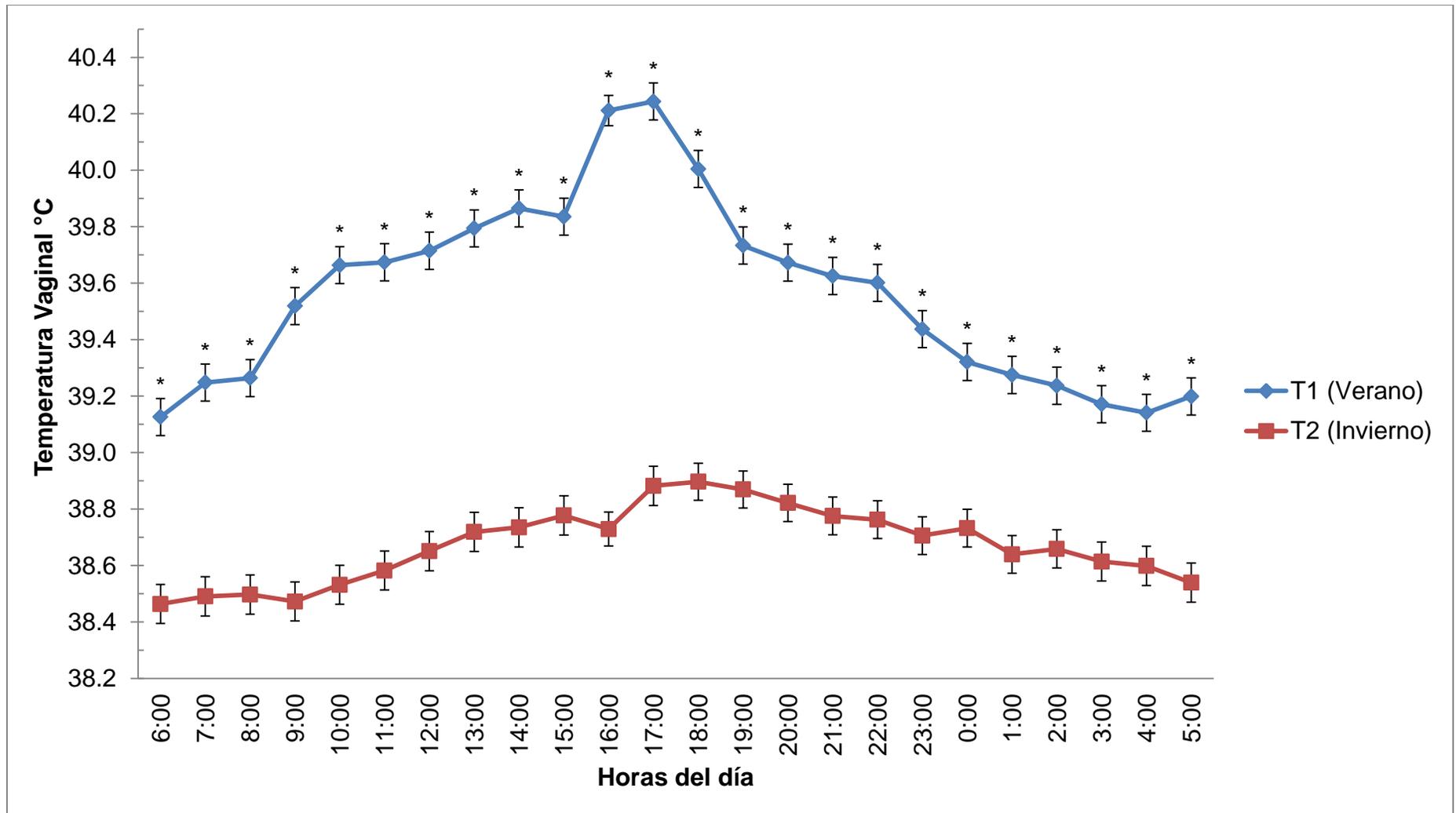
**Cuadro 6.** Concentración sérica de glucosa y colesterol (mg/dl) en vaquillas Holstein en dos diferentes épocas del año (Media  $\pm$  EE).

Grupos	Glucosa	Colesterol
Verano	56.7 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	115.0 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>
Invierno	88.8 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>	131.4 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Valores en la misma columna con distinta literal difieren (P<0.0001).  
EE: Error estándar.

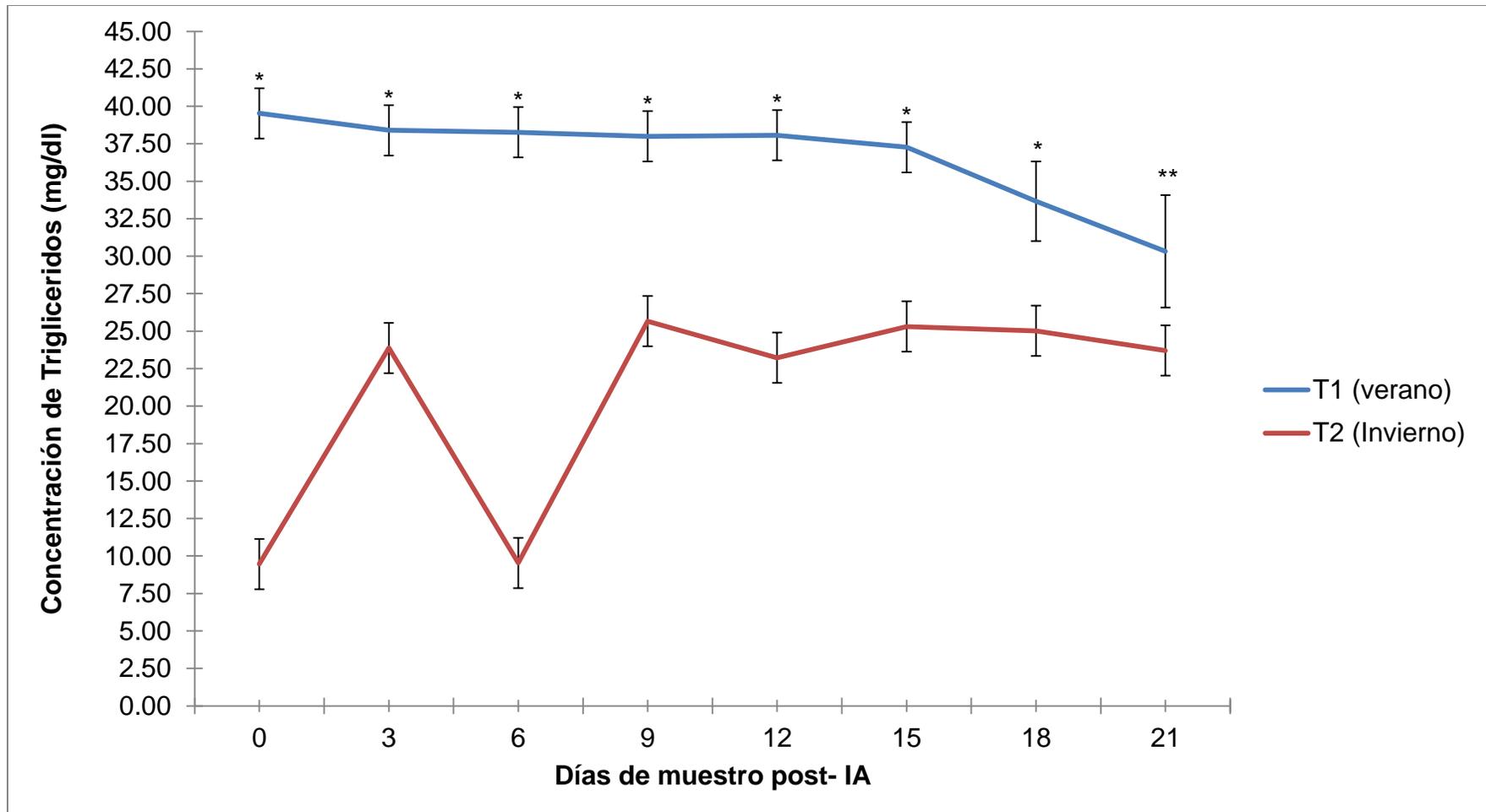


**Figura 1.** Representación esquemática del proceso de citometría de flujo.



**Figura 2.** Promedios de temperaturas vaginales durante las 24 horas del día en vaquillas Holstein en dos diferentes épocas del año (Media  $\pm$  EE).

\* Diferencia significativa ( $P < 0.0001$ ).



**Figura 3.** Promedios de concentraciones de triglicéridos a diferentes días post-IA en dos diferentes épocas del año en vaquillas Holstein.

\* Diferencia significativa ( $P < 0.0001$ ).

\*\* Diferencia numérica ( $P = 0.1088$ ).

## VI. LITERATURA CITADA

- Abeni, F., Calamari, L., Stefanini, L. 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.
- Ahmad, N., Schrick, F. N., Butcher, R. L., Inskeep, E. K. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 52:1129-1135.
- Al-Katanami, Y. M., Paula-Lopes, F. F., Hansen, P. J. 2002. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte quality of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 85: 390-396.
- Andersson, M., Taponen, J., Koskinen, E., Dahlbom, M. 2004. Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. *Theriogenology.* 61: 1582-1588.
- Araki, C.T., Nakamura, R.M., Kam, L.W.G., Clarke, N. 1984. Effect of lactation on diurnal temperature patterns of dairy cattle in hot environments. *J. Dairy Sci.* 67: 1752-1760.
- Arias, R. A., Mader, T. L., Escobar, P. C. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. Revisión Bibliográfica. *Arch. Med. Vet.* 40: 7-22.
- Arkin H., Kimmel, E., Berman, A., Broday, D. 1991. Heat transfer properties of dry and wet furs of dairy cows. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 34: 2550-2558.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interactions with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77: 2044-2050.
- Ax, R.L., Gilbert, G. R., Shook, G. E. 1987. Sperm in poor quality semen from bulls during heat stress have a lower affinity for binding hydrogen-3 heparin. *J. Dairy Sci.* 70:195-200.
- Badinga, L., Collier, R. J., Thatcher, W. W., Wilcox, C. J., 1985. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environments. *J. Dairy Sci.* 68: 78-85.
- Badinga, L., Thatcher, W. W., Diaz, T., Drost, M., Wolfenson, D. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology.* 39: 797-810.

- Baker, M. A. 1989. Effect of dehydration and rehydration on thermoregulatory sweating in goats. *J. Physiol. Lond.* 417: 421-435.
- Barth, A. D., Bowman, P. A. 1994. The sequential appearance of sperm abnormalities after scrotal insulation or dexamethasone treatment in bulls. *Can. Vet. J.* 34: 93-102.
- Bauman, D. E., Currie, W. B. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63: 1514-1529.
- Berman, A., Folman, Y., Kaim, M., Mamen, M., Herz, Z., Wolfenson, D., Arieli, A., Graber, Y. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68: 1488-1495.
- Bodmer, M., Janett, F., Hässing, M., Den Daas, N., Reichert, P., Thun, R. 2005. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology.* 64:1647-1655.
- Bourke, C. A. 2003. Evidence that enforced sunlight exposure can cause hyperthermia in cattle ingesting low levels of ergot of rye (*Claviceps purpurea*), when air temperature and humidity conditions are only moderate. *J. Aust. Vet.* 81: 553-558.
- Breuel, K. F., Spitzer, J. C., Thompson, C. E., Breuel, J. F. 1990. First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology.* 34: 139-145.
- Brosh, A., Aharoni, Y., Degen, A. A., Wright, D., Young, B. A. 1998. Effects of solar radiation, dietary energy, and time of feeding on thermoregulatory responses and energy balance in cattle. *J. Anim. Sci.* 76: 2671-2677.
- Bucholtz, D. C., Vidwans, N. M., Herbosa, C. G., Schillo, K. K., Foster, D. L. 1996. Metabolic interfaces between growth and reproduction: pulsatile luteinizing hormone secretion is dependent on glucose availability. *Endocrinology.* 137: 601-607.
- Burfeind, O., Suthar, V. S., Heuwieser, W. 2012. Effect of heat stress on body temperature in healthy early postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 78: 2031-2038.
- Burfeind, O., Suthar, V. S., Voigtsberger, R., Bonk, S., Heuwieser, W. 2011. Validity of prepartum changes in vaginal and rectal temperature to predict calving in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 5053-5061.

- Burfeind, O., Von Keyserlingk, M. A. G., Weary, D. M., Veira, D. M., Heuwieser, W. 2010. Short Communication: Repeatability of measures of rectal temperature in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93: 624-627.
- Cannon, W. B. 1932. *Wisdom of the body*. W. W. Norton and Co., New York.
- Callejas, J. A. 2013. Evaluación del uso de semen sexado en vaquillas Holstein de reemplazo. Tesis de Maestría en Ciencias en Sistemas de Producción Animal. Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California.
- Cena, K., Monteith, J. L. 1975a. Transfer processes in animal coats. I. Radiative transfer. *C. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biol. Sci.* 188: 377-393.
- Cena, K., Monteith, J. L. 1975b. Transfer processes in animal coats. II. Conduction and convection. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biol. Sci.* 188: 395-411.
- Chebel, R. C., Santos, J. E., Reynolds, J. P., Cerri, R. L., Juchem, S. O., Overton, M. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science.* 84: 239 - 255.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Faulconnier, Y., Bonnet, M., Rouel, J., Bocquier, F. 2000. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society.* 59: 127-134.
- Collier, R. J., Dahl, G. E., Van Baale, M. J. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 89: 1244-1253.
- Coppock, C. E., Grant, P. A., Portzer, S. J., Chalers, D. A., Escobosa, A. 1982. Lactating dairy cows responses to dietary sodium, chloride, and bicarbonate in hot weather. *J. Dairy Sci.* 65: 566-576.
- Dalton, J. C., Nadir, S., Bame, J. H., Saacke, R. G. 1999. Effect of a deep uterine insemination on spermatozoal accessibility to the ovum in cattle: a competitive insemination study. *Theriogenology.* 5: 883-890.
- Da Silva, R. G. 2006. Weather and climate and animal production. In: Update of the guide to agricultural meteorological practices. WMO-No.134 published in 1982.
- DeJernette, J. M., Nebel, R. M., Meek, B., Wells, J., Marshall, C. E. 2007. Commercial application of sex sorted semen in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 90: 228 – 239.
- De Rensis, F., Marconi, P., Capelli, T., Gatti, F., Facciolongo, F., Franzini, S., Scaramuzzi, R. J. 2002. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrous synchronization and fixed time A.I. after the induction of an LH

surge with Gonadotropin releasing hormone (GnRH) or human chorionic gonadotropin (hCG). *Theriogenology*. 58: 1675–1687.

De Rensis, F., Scaramuzzi, R. J. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review. *Theriogenology*. 60: 1139-1151.

De Vries, A. 2009. The economics of sexed semen in dairy heifers and cows. The Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS) Extension, University of Florida, AN 214. Gainesville, FL. 25.

Ealy, A. D., Drost, M., Hansen, P. J. 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J. Dairy Sci.* 76: 2899-2905.

Espinosa, C. R., Córdova, A. I. 2013. Sexing sperm of domestic animals. *Trop. Anim. Health Prod.* 45: 1-8.

FAO. 2010. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). Conferencia Técnica Internacional de la FAO; Biotecnologías Agrícolas en los Países en Desarrollo: Opciones y oportunidades en los sectores agrícola, forestal, ganadero, pesquero y agroindustrial para hacer frente a los desafíos de la inseguridad alimentaria el cambio climático. Guadalajara, México 1-4 de Marzo de 2010. Consultado en Noviembre de 2010. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/meeting/019/al264s.pdf>.

Ferguson, J. D. 1996. Implementation of a body condition scoring program in dairy herds. Center for Animal Health and Productivity.

Fox, D. G., Tylutki, T. P. 1998. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81: 3085-3095.

Francos, G., Mayer, E., 1983. Observations on some environmental factors connected with fertility in heat-stressed cows. *Theriogenology*. 19: 625-634.

Friend, T. H. 1990. Symposium: Response of animals to stress. Behavioral aspects of stress. *J. Dairy Sci.* 74: 292-303.

Frijters, A. C. J., Mullaart, E., Roelofs, R. M. G., Van Hoorne, R. P., Moreno, J. F., Moreno, O., Merton, J. S. 2009. What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology*. 71: 64-67.

Fuquay, J. W. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52: 164-174.

- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Bech-Sabat, G., Santolaria, P., Yániz, J. L., Nogareda, C., López-Béjar, M. 2007. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology* 67 (8): 1379-1385.
- Garner, D. L., Seidel Jr., G. E. 2003. Past, present and future perspectives on sexing sperm. *Can J. Anim. Sci.* 83: 375-384.
- Garner, D. L., Seidel Jr., G. E. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*. 69: 886-895.
- Gaughan, J. B., S. M. Holt, G. L. Hahn, T. L. Mader, and R. Eigenberg, 2000. Respiration rate – Is It a good measure of heat stress in cattle? *J. Anim. Sci.* 13: 329-332.
- Gaughan, J. B., Tait, L. A., Eigenberg, R., Bryden, W. L. 2004. Effect of shade on respiration rate and rectal temperature of Angus heifers. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 25: 69 – 72.
- Gauthier, D. 1986. The influence of season and shade on estrous behavior, timing of preovulatory LH surge and the pattern of progesterone secretion in FFPN and Creole heifers in a tropical climate. *Reprod. Nutr. Dev.* 26: 767–775.
- Guzeloglu, A., Ambrose, J. D., Kassa, T., Diaz, T., Thatcher, M. J., Thatcher, W. W. 2001. Long term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. *Anim. Reprod. Sci.* 66: 15–34.
- Gwazdauskas, F. C. 1985. Effects of climate on reproduction in cattle. *J. Dairy Sci.* 68: 1568–1578.
- Gwazdauskas, F. C., Thatcher, W. W., Kiddy, C. A., Paape, M. J., Wilcox, C. J. 1981. Hormonal patterns during heat stress following PGF<sub>2</sub>-tham salt induced luteal regression in heifers. *Theriogenology* 16: 271-285.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 77: 10-20.
- Hahn, G. L., Parkhurst, A. M., Gaughan, J. B. 1997. Cattle respiration rate as a function of ambient temperature. Presented at ASAE Mid-Central Mtg. April 11 – 12.
- Hansen, P. J. 1997. Effects of environment of bovine reproduction. In: Youngquist RS, editor. *Current therapy in large animal*. Theriogenology. Philadelphia: WB Saunders; p. 403–415.

- Hansen, P. J. 2002. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *J. Anim. Sci.* 80 (E. Suppl. 2): E33- E44.
- Hansen, P. J., Arechiga, C. F. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77 (Suppl. 2): 36-50.
- Hillman, P. E., Lee, C. N., Parkhurst, A. 2001. Impact of hair color on thermoregulation of dairy cows to direct sunlight. In: *The Annual International Meeting of the ASAE, Sacramento*. Paper no. 014301.
- Howell, J. L., Fuquay, J. W., Smith, A. E. 1994. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J. Dairy Sci.* 77: 735–739.
- Hunter, R. H. F., Greve, T. 1998. Deep uterine insemination in cattle: a fruitful way forward with small numbers of spermatozoa. *Acta. Vet. Scand.* 39:149–163.
- Huntington, G. B., Ramírez E. B. 2002. Flujo de sangre y respuestas endocrinológicas al estrés calórico. *Memorias de XII Reunión internacional sobre producción de carne y leche en climas cálidos*. Mexicali, Baja California. 3 y 4 de octubre. Pp. 9 - 11.
- Igono, M. O., Bjotvet, G., Sanford-Crane, H. T. 1992. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. *Int. J. Biometeorol.* 36: 77-87.
- Igono, M.O., Johnson, H.D. 1990. Physiological stress index of lactating dairy cows based on diurnal pattern of rectal temperature. *J. Interdiscip. Cycle Res.* 21: 303–320.
- Ingraham, R. H., Gillette, D. D., Wagner, W. D. 1974. Relationship of temperature and humidity to conception of Holstein cows in tropical climate. *J. Dairy Sci.* 54: 476-481.
- Johnson, L. A., Flook, J. P., Hawk, H. W. 1989. Sex preselection in rabbits: live births from X- and Y sperm separated by DNA and cell sorting. *Biol. Reprod.* 41: 199-203.
- Johnson, L. A., Flook, J. P., Look, M. V., 1987. Flow cytometry of X and Y chromosome-bearing sperm for DNA using an improved preparation method and staining with Hoechst 33342. *Gamete Res.* 17: 203–212.
- Johnson, L. A., Welch, G. R. 1999. Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology.* 52: 1323–1341.

- Jolly, P. D., McDougall, S., Fitzpatrick, L. A., Macmillan, K. L., Entwistle, K. 1995. Physiological effects of under nutrition on postpartum anoestrous in cows. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 49: 477–492.
- Jonsson, N. N., McGowan, M. R., McGuigan, K., Davison, T. M., Hussain, A. M., Kafi, M., Matschoss, A. 1997. Relationship among calving season, heat load, energy balance and postpartum ovulation of dairy cows in a subtropical environment. *Anim. Reprod. Sci.* 47: 315–326.
- Jordan, E. R. 2003. Effects of heat stress on reproduction. *J. Dairy Sci.* 86: (E. Suppl.): E104- E114.
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., Matz, E. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Lives. Prod. Sci.* 77: 59 - 91.
- Kendall, P. E., Nielsen, P. P., Webster, J. R., Verkerk, G. A., Littlejohn, R. P., Matthews, L. R. 2006. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperature climate. *Livest. Sci.* 103: 148 - 157.
- Kurykin, J., Jaakma, Ü., Jalakas, M., Aidnik, M., Waldmann, A., Majas, L. 2006. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology.* 67: 754-759.
- Lamming, G. E., Royal, M. D. 2001. Ovarian hormone patterns and subfertility in dairy cows. In: Diskin MG, editor. *Fertility in the high-producing dairy cow*, vol. 26. BSAS Edinburgh: Occasional Publication. p. 105–118.
- Lee, C. N. 1993. Environmental stress effect on bovine reproduction. *Vet. Clin. North Am.* 9: 263–273.
- Mader, T. L., Dahlquist, J. M., Hahn, G. L., Gaughan, J. B. 1999. Shade and wind barrier effects on summer-time feedlot cattle performance. *J. Anim. Sci.* 77: 2065-2072.
- Mader, T. L., Davis, M. S., Brown-Brandl, T. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 84: 712-719.
- Mader, T. L., Fell, L. R., McPhee, M. J. 1997. Behavior response of non-Brahman cattle to shade in commercial feedlots. In: *Proc 5th Int Livest Envir Symp, ASAE, St. Joseph, MI, USA*, Pp. 795-802.
- Mader, T. L., Griffin, G., Hahn, L. 2007. Managing feedlot heat stress. Nebguide G1409 University of Nebraska.
- Mader, T. L., Holt, S. M., Hahn, G. L., Davis, M. S., Spiers, D. E. 2002. Feeding strategies for managing heat load in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 80: 2373-2382.

- Mader, T. L., Kreikemeier, W. M. 2006. Growth promoting agents and season effects on blood metabolite and body temperature. Nebraska Beef Report MP88-A, Pp. 79-82.
- Maia, A. S. C., da Silva, R. G., Battiston, C. M. L. 2005. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. *Int. J. Biometeorol.* 50: 17 - 22.
- Mann, G. E., Lamming, G. E., Robinson, R. S., Wathes, D. C. 1999. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 54: 317–328.
- Marcillac-Embertson, N. M., Robinson, P. H., Fadel, J. G., Mitloehner, F. M. 2009. Effects of shade and sprinklers on performance, behavior, physiology and the environment of heifers. *J. Dairy Sci.* 92: 506 - 517.
- Maxwell, W. M. C., Long, C. R., Johnson, L. A., Dobrinsky, J. R., Welch, G. R. 1998. The relationship between membrane status and fertility of boar spermatozoa after flow cytometric sorting in the presence or absence of seminal plasma. *Reprod. Fertil. Dev.* 10: 433–440.
- Mellado, M., Sepulveda, E., Macias-Cruz, U., Avendaño, L., Garcia, J. E., Veliz, F. G., Rodríguez, A. 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.
- Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M. P., Roche, J. F., 1994. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 102: 123–130.
- Monty, D. E., Racowski, C. 1987. *In vitro* evaluation of early embryo viability and development in summer heat stressed superovulated dairy cows. *Theriogenology.* 28: 451-465.
- Muller, C.J.C., Botha, J.A., Coetzer, W.A., Smith, W.A. 1994. Effect of shade on various parameters of Friesian cows in a Mediterranean climate in South Africa: 2. Physiological responses. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 24: 56– 60.
- Nazifi, S., Saeb, M., Rowghani, E., Kaveh, K. 2003. The influence of thermal stress on serum biochemical parameters of Iranian fat-tailed sheep and their correlation with triiodothyronine (T<sub>3</sub>), thyroxine (T<sub>4</sub>) and cortisol concentrations. *Com. Clin. Path.* 12: 135-139.

- NRC, National Research Council. 1981. Effect of environment on nutrient requirement of domestic animals. National Academy Press. Washington DC, USA.
- Oses, M. V., Teruel, M. T., Cabodevila, J. A. 2009. Utilización de semen bovino sexado en inseminación artificial, transferencia embrionaria y fertilización *in vitro*. Red. Vet. 20: 138-145.
- Pryce, J.E., Simm G., Robinson, J., 2002. Effects of selection for production and maternal diet on maiden heifer fertility. J. Anim. Sci. 74: 415-421.
- Rens, W., Welch, G. R., Johnson, L. A. 1998. A novel nozzle for more efficient sperm orientation to improve sorting efficiency of X and Y-chromosome-bearing sperm. Cytometry. 33: 476-481.
- Robertshaw, D. 1985. Heat loss of cattle. In: Vol. I: Stress Physiology in livestock Basic Principles, Boca Raton, Florida: CR. Press. Pp. 55 - 66.
- Roman-Ponce, H., Thatcher, W.W., Wilcox, C.J. 1981. Hormonal interrelationships and physiological responses of lactating dairy cows to shade management system in a tropical environment. Theriogenology. 16: 139-154.
- Ronchi, B., Bernabucci, U., Lacetera, N., Nardone, A. 1997. Effetti dello stress termico sullo stato metabolico-nutrizionale di vacche Frisone in lattazione. Zoot. Nutr. Anim. 23: 3-15.
- Ronchi, B., Bernabucci, U., Lacetera, N., Verini Supplizi, A., Nardone, A. 1999. Distinct and common effects of heat stress and restrictic feeding on metabolic status in Holstein heifers. Zoot. Nutr. Anim. 25: 71- 80.
- Ronchi, B., Stradaioli, G., Verini, A. S., Bernabucci, U., Lacetera, N., Accorsi, P. A., Nardone, A., Seren, E. 2001. Influence of heat or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 $\beta$ , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. Livest. Prod. Sci. 68: 231 - 241.
- Rosenberg, M., Herz, Z., Davidson, M., Folman, J. 1977. Seasonal variations in post-partum plasma progesterone levels and conceptions in primiparous and multiparous dairy cows. J. Reprod. Fertil. 51: 363-367.
- Roth, Z., Meidan, R., Braw-Tal, R., Wolfenson, D. 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. J. Reprod. Fert. 120: 83 - 90.
- SAGARPA, 2004. Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentación. Evaluación de la producción agrícola. Delegación de Baja California.

- Sandoval, M. A. 2012. Efecto de suplementar progesterona y enfriamiento artificial después de la inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillas Holstein durante el verano. Tesis de Maestría en Ciencias en Sistemas de Producción Animal. Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Baja California.
- Sartori, R., Sartor-Bergfelt, R., Mertens, S. A., Guenther, J. N., Parrish, J. J., Wiltbank, M. C. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85: 2803-2812.
- SAS. 2004. SAS/STAT User's Guide. Version 9.1.3, Cary, NC: SAS Institute Inc. USA.
- Scharf, B., Carroll, J. A., Riley, D. G., Chase, C. C., Coleman Jr., S. W., Keisler, D. H., Weaber, R. L., Spiers, D. E. 2010. Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant (Romosinuano) and heat-susceptible (Angus) *Bos taurus* cattle during controlled heat challenge. *J. Anim. Sci.* 88: 2321-2336.
- Schenk, J. L., Cran, D. G., Everett, R. W., Seidel Jr, G. E. 2009. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology.* 71(5): 717 - 728.
- Seidel Jr., G. E. 2007. Overview of sexing sperm. *Theriogenology.* 68: 443-446.
- Seidel Jr., G. E. 2009. Sperm sexing technology. The transition to commercial application. An introduction to the symposium "Update on sexing mammalian sperm". *Theriogenology.* 71: 1-3.
- Seidel Jr., G. E., Garner, D. L. 2002. Current status of sexing mammalian sperm. *Reproduction.* 24: 733- 743.
- Seidel Jr., G. E., Schenk, J. L. 2008. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Anim. Reprod. Sci.* 105: 129-138.
- Seidel Jr., G. E., Schenk, J. L., Herickhoff, L. A., Doyle, S. P., Brink, Z., Green, R. D., Cran, D. G., 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology.* 52: 1407–1420.
- Selye, H. 1955. The stress concept. Part I. Fifth annual report on stress. 1955-1956. M. D. Pub., Inc., New York.
- Selye, H. 1976. *The Stress of life.* (Rev. Ed.). McGraw Hill Book Co., New York.
- Sevi, A., Annicchiarico, G., Albenzio, M., Taibi, L., Muscio, A., Dell' Aquila, S. 2001. Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune response and

- production of lactating ewes under high ambient temperature. *J. Dairy Sci.* 84: 629-640.
- Shebaita, M. K., El-Banna, I. M. 1982. Heat loss and heat dissipation in sheep and goats under environmental heat stress. In: Proc. 6<sup>th</sup> Int. Conf. on Animal and Poultry Production, held at University of Zagazig, Zagazig, Egypt, 21-23 September 1982. Vol. 2. Egyptian Society of Animal Production, pp. 450-469.
- Siegel, H. S. 1995. Stress, strains and resistance. *Brit. Poultry Sci.* 36: 3-9.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Liv. Prod. Sci.* 67: 1-18.
- Spain, J. N., Spiers, D. E., Sampson, D. 2001. A study to compare nighttime cooling strategies on commercial dairy. In: Proc 6th Int. Livest. Envir. Symp., Louisville, Kentucky, USA, Pp. 41-44.
- Spiers, D. E., Spain, J. N., Leonard, M. J., Lucy, M. C. 2001. Effect of cooling strategy and night temperature on dairy cow performance during heat stress. Proc. 6th Int. Livest. Envir. Symp., Louisville, Kentucky, USA, Pp. 44-55.
- Srikandakumar, A., Johnson, E. H. 2004. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu Cows. *Trop. Anim. Health and Prod.* 36: 685-692.
- Staples, C. R., Burke, J. M., Thatcher, W. W., 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 856- 871.
- Stott, G. H. 1981. What is animal stress and how is it measured? *J. Anim. Sci.* 52: 150-153.
- Stott, G. H., Wiersma, F., Woods, J. M. 1972. Reproductive health program for cattle subjected to environmental temperatures. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 16: 1339-1344.
- Thatcher, W. W., Collier, R. J. 1986. Effects of climate on bovine reproduction. Pages 301–309 in Current Therapy. In *Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Small and Large Animals*. 2nd ed. D. A. Morrow, ed. W. B. Saunders, Philadelphia, PA.
- Tucker, C. B., Rogers, A. R., Schutz, E. K. 2008. Effect of solar radiation on dairy cattle behavior, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109: 141 - 154.

- Ulberg, L. D., Burfening, P. J. 1967. Embryo death resulting from adverse environment on spermatozoa or ova. *J. Anim. Sci.* 26: 571-577.
- Valle, A., Fuentes, A., Puerta, M. 2005. Influencia de factores climáticos sobre las características seminales de toros Holstein y Pardo Suizo nacidos en el trópico. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 22: 52-61.
- Weigel, K. A. 2004. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. *J. Dairy Sci.* 87:(E. Suppl.):E120–E130.
- West, J. W. 1999. Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77 (Suppl. 2): 21-35.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 2131 – 2144.
- West, J. W., Mullinix, G. G., Bernard, J. K. 2003. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating cows. *J Dairy Sci.* 86: 232 - 242.
- Whitaker, D. A., Smith, E. J., da Rosa, G. O., Kelly, J. M. 1993. Some effects on nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Vet. Rec.* 133: 61–64.
- Wiersma, F. 1990. THI for dairy cows. Department of Agricultural Engineer. The University of Arizona. Tucson, AZ.
- Wilson, S. J., Kirby, C. J., Koenigsfeld, A. T., Keisler, D. H., Lucy, M. C. 1998. Effects of controlled heat stressed on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *J. Dairy Sci.* 81: 2132 - 2138.
- Wolfenson, D. 2009. Impact of Heat Stress on Production and Fertility of Dairy Cattle. Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference, pp. 55-59, Fort Wayne, Indiana, USA, April 21 - 22, 2009.
- Wolfenson, D., Luft, O., Berman, A., Meidan, R. 1993. Effect of season, incubation temperature and cell age on progesterone and prostaglandin F<sub>2</sub>α production in bovine luteal cells. *Anim. Reprod. Sci.* 32: 27- 40.
- Wolfenson, D., Roth, Z., Merdan, R. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61:535–547.
- Younas, M., Fuquay, J. W., Smith, A. E., Moore, A. B. 1993. Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J. Dairy Sci.* 76: 430–436.

- Yousef, M. K. 1985. Stress physiology in livestock. Basic principles. (Ed). Vol.1.CRC. Press, Boca Raton, FL, Pp 4 - 67.
- Zavy, M. T. 1994. Embryonic mortality in cattle. In: Zavy M. T., Geisert R. D. (Eds.), Embryonic Mortality in Domestic Species. CRC press, Boca Raton, pp. 99-140.
- Zeron, Y., Ocheretny, A., Kedar, O., Borochoy, A., Sklan, D., Arav, A. 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reprod.* 121: 447–454.