

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



**USO DE SEMEN SEXADO EN VAQUILLAS HOLSTEIN BAJO  
ENFRIAMIENTO ARTIFICIAL DURANTE EL VERANO.**

**TESIS**

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

**PRESENTA**

**RAQUEL KARINA FIERROS CASTRO**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Ph. D ABELARDO CORREA CALDERÓN**

**MEXICALI, B.C. MÉXICO**

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

**MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS  
DE PRODUCCIÓN ANIMAL**

**Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California.**

---

Ph. D. Abelardo Correa Calderón

Director de tesis

---

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes

Sinodal

---

Dr. Ulises Macías Cruz

Sinodal

## **AGRADECIMIENTOS**

## **DEDICATORIAS**

## INDICE

AGRADECIMIENTOS .....	III
DEDICATORIAS .....	IV
LISTA DE CUADROS .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
LISTA DE FIGURAS .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
I. INTRODUCCIÓN .....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	5
2.1 Cría de vaquillas de reemplazo y su importancia en la ganadería lechera .....	5
2.2 Selección y evaluación de reemplazos. ....	7
2.3 Biotecnologías aplicadas a la selección de reemplazos.....	8
2.4 Semen sexado.....	10
2.4.1 Citometría de flujo. ....	10
2.4.2 Principios básicos del sexado de semen .....	10
2.4.3 Comercialización del semen sexado.....	12
2.4.4 Importancia del semen sexado en la producción lechera. ....	13
2.4.5 Consideraciones generales sobre la utilización del semen sexado. ....	14
2.5 Estrés por calor.....	15
2.5.1 Zona termoneutral. ....	16
2.5.2 Sistema de termorregulación en el ganado lechero. ....	16
2.5.3 Mecanismos de ganancia de calor. ....	17
2.5.4 Mecanismos de pérdida de calor. ....	17
2.5.5.1 Radiación.....	18
2.5.5.2 Conducción.....	18
2.5.5.3 Convección.....	19
2.5.5.4 Evaporación.....	20
2.5.5 Estrés calórico y su efecto sobre hormonas reproductivas .....	22
2.6 Estrategias para reducir el estrés por calor en el ganado.....	24
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
3.1 Área de estudio.....	27
3.2 Animales experimentales y tratamientos.....	27
3.3 Alimentación y manejo de los animales.....	28

3.5 Condiciones climáticas.....	29
3.6 Variables de estudio. ....	29
3.6.1 Frecuencia respiratoria y temperatura rectal. ....	29
3.6.2 Temperatura vaginal.....	30
3.6.3 Tasa de concepción, concentración de progesterona y metabolitos. ....	30
3.7 Análisis estadístico.....	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	32
4.1 Condiciones climatológicas.....	32
4.1.1 Condiciones climatológicas y categorización de ITH. ....	32
4.1.2 Promedios generales de las condiciones climatológicas. ....	33
4.2 Variables de estudio. ....	35
4.2.1 Frecuencia respiratoria y temperatura rectal. ....	35
4.2.2 Temperatura vaginal.....	36
4.2.3 Tasa de concepción. ....	37
4.2.4 Concentración de progesterona .....	39
4.2.5 Concentración de metabolitos. ....	40
V. CONCLUSIONES. ....	42
VI. LITERATURA CITADA .....	51

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Ingredientes contenidos en la dieta y su composición química en base seca....	47
<b>Cuadro 2.</b> Condiciones climatológicas registradas durante el desarrollo del experimento y categorización de los niveles del Índice de temperatura – humedad.....	48
<b>Cuadro 3.</b> Promedios generales de condiciones climatológicas antes (PRE) y después (POST) de la IA durante el desarrollo del estudio.....	49
<b>Cuadro 4.</b> Respuestas fisiológicas de vaquillas bajo enfriamiento artificial durante el verano e inseminadas con semen sexado.....	50
<b>Cuadro 5.</b> Tasa de concepción (%) en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano .....	51
<b>Cuadro 6.</b> Concentración sérica de metabolitos en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano.....	52

## LISTA DE GRÁFICAS

- Gráfica 1.** Promedios de temperaturas vaginales durante el día y la noche en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en la época de verano..... 53
- Gráfica 2.** Niveles de progesterona a diferentes días post-IA en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano ..... 54

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el uso de semen sexado en vaquillas bajo enfriamiento artificial durante el verano sobre la tasa de concepción, respuesta fisiológica y niveles de metabolitos. Ochenta vaquillas Holstein entre 12 y 13 meses de edad con un peso vivo (PV) de alrededor de 350 kg fueron asignadas de forma aleatoria a dos tratamientos: 1) un grupo testigo (SS) cuyas vaquillas fueron alojadas en corrales únicamente con sombra y 2) un grupo de vaquillas bajo enfriamiento artificial (SE) en el área de sombra compuesto por abanicos con aspersores. Todas las vaquillas fueron inseminadas con semen sexado después de ser detectadas en celo natural. Se registró la frecuencia respiratoria (FR) y temperatura rectal (TR) dos veces por semana a las 14:00 y 16:00 h respectivamente. La temperatura vaginal (TV) se midió dos veces por semana cada 15 min durante 24 h. Los niveles de progesterona ( $P_4$ ) y metabolitos fueron determinados en suero sanguíneo del día 0 (IA) al día 21 post-inseminación artificial (IA). La FR, TR, TV,  $P_4$  y metabolitos fueron analizadas con el procedimiento PROC MIXED, mientras que la TC con el procedimiento PROC FREQ. Los promedios de las variables fisiológicas fueron mayores ( $P < 0.001$ ) en vaquillas del grupo SS en comparación al grupo bajo enfriamiento. Los niveles de  $P_4$  en los primeros 21 d post-IA fueron similares en ambos grupos ( $P > 0.05$ ). Las vaquillas del grupo SE presentaron mayor ( $P < 0.05$ ) concentración de colesterol entre el día 6 y 15 post-IA que las vaquillas en el grupo SS, sin embargo, en los días 3, 18 y 21, los niveles fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos. Los niveles de triglicéridos y glucosa no presentaron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos a través de los días de muestreo. La tasa de concepción resultó similar ( $P = 0.53$ ) entre tratamientos. Las vaquillas inseminadas con semen sexado en verano y bajo enfriamiento artificial, aun y cuando mostraron un mayor confort no mejoraron su porcentaje de concepción comparado al grupo beneficiado con únicamente sombra.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate conception rate (CP) of sexed semen in Holstein heifers under an artificial cooling system during the summer. Eighty Holstein heifers were randomly assigned into two treatments: 1) Control (SS), in which heifers were housed in pens with shade only, natural estrus detection and AI with sexed semen only during the morning. 2) Treated group (SE), heifers with estrus detection and AI using sexed semen following the same rule as a control group; this group was also provided with artificial cooling. The respiratory frequency (RF) was recorded twice weekly at 14:00 h on 15 heifers on each treatment, while RT was collected twice a week (16:00 h) in all heifers of both treatments. Vaginal temperature (VT) was measured every 15 min for 24 h in 3 heifers twice weekly. The levels of P<sub>4</sub> and metabolites were determined in serum on days 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 post-AI. The variables RF, RT, VT, P<sub>4</sub> and metabolites were analyzed with PROC MIXED with repeated measurements. The conception rate was analyzed using the chi-square distribution with PROC FREQ. Variables as FR, TR, and TV were higher ( $P < 0.01$ ) in the group SS. Progesterone levels showed no significant difference between treatments ( $P > 0.05$ ). Cholesterol values were higher ( $P < 0.05$ ) from day 6 to 15 after AI in the SE group, however, on day 3, 18 and 21 levels were similar ( $P > 0.05$ ) in both groups. Triglycerides and glucose showed no difference between treatments ( $P > 0.05$ ) as well as conception rate ( $P = 0.53$ ). Conception rate of Holstein heifers inseminated with sexed semen in summer and cooled with artificial cooling showed a better comfort, but no a higher conception rate compared to heifers with only shade.

## I. INTRODUCCIÓN

El sistema de producción de leche en México se basa en programas de selección de vaquillas de reemplazo. Consecuentemente, la cría de becerras para reemplazo es una actividad que determina la renovación del hato y permite hacer un mejoramiento genético (Engelken, 2008). Basado en esto, en los últimos años, el uso de semen sexado ha sido una tecnología reproductiva usada para incrementar la población de vaquillas en hatos lechero, ya que permite la parición de 85-90 % de crías hembras por vaca preñada; alrededor del 40% más del obtenido con semen convencional (Healy et al., 2013).

En el valle de Mexicali, la fertilidad de vaquillas Holstein con el uso de semen sexado es de alrededor del 50% durante los meses de invierno, mientras que para el semen no sexado es de aproximadamente 70% (Recría San Carlos, 2013) lo cual coincide con lo reportado por varios estudios realizados en otras regiones (Weigel, 2004). Sin embargo, el uso de semen sexado en hatos de vaquillas del valle de Mexicali, y en general en explotaciones localizadas en zonas áridas y con temperaturas extremas, es solo en la época de invierno y parte de primavera debido a la baja en la fertilidad registrada en verano como consecuencia del estrés calórico (Dalton, 2010). Lo anterior limita el potencial del semen sexado en incrementar el número de reemplazos disponibles a través del año.

La reducción del estrés calórico mediante el uso de sombras combinadas con ventilación y aspersión de agua antes y después de la inseminación artificial con semen convencional, ha logrado mejorar la tasa de concepción durante el verano en comparación con el uso de solo sombras (Correa-Calderón et al., 2009a; Correa-Calderón et al. 2009b). En este sentido, el uso de sistemas de enfriamiento podría ser una alternativa para mejorar la fertilidad en vaquillas inseminadas con semen sexado bajo condiciones de estrés calórico

de verano. De esta manera, se podría evitar que el uso del semen sexado, y consecuentemente la producción de vaquillas, sea estacional. El objetivo de esta investigación fue evaluar el uso de semen sexado en vaquillas bajo enfriamiento artificial durante el verano sobre la tasa de concepción, respuesta fisiológica y niveles de metabolitos

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Cría de vaquillas de reemplazo y su importancia en la ganadería lechera

La ganadería Mexicana que viene desarrollándose actualmente, ha tomado con gran interés la práctica de criar en sus propias vaquillas de reemplazo dentro de la explotación. Cabe mencionar que esta práctica puede resultar en una explotación más rentable económicamente y zoonosanitamente (Waterman et al., 2012). Por otro lado, la crianza eficiente de vaquillas de reemplazo, las cuales serán las futuras productoras de leche, es uno de los objetivos primordiales en la industria ganadera, ya que de esta manera es posible asegurar la producción y crecimiento de las explotaciones, considerando que las vaquillas de reemplazo representan la próxima generación de progreso genético para una explotación (Engelken, 2008). La cría de reemplazos se puede definir como aquellos animales, que por condiciones de selección en un momento dado, servirán para sustituir a otras vacas que por alguna u otra razón son dadas de baja en el hato, o bien, pueden ser utilizadas para ampliar la población del establo. El objetivo principal en la cría de reemplazos es proveer un suficiente número de animales para reemplazar las vacas de desecho (Radke et al., 2005).

La importancia de la cría del ganado de leche radica en la multiplicación de animales, cuyos descendientes posean las cualidades hereditarias necesarias para producir la máxima cantidad de leche, composición ideal de la misma y desarrollar la conformación deseada. Así, su potencial genético debe aprovecharse a lo máximo. La justificación económica del mejoramiento del ganado es que las buenas vacas proporcionan producción de leche y, consecuentemente, más ganancia económica. El número de reemplazos que se

necesitan en un hato lechero dependen principalmente de la tasa de desecho de vacas y vaquillas (Heinrichs, 1992).

La recría es un componente vital de las explotaciones lecheras más modernas, al proporcionar un abasto consistente y económico de reemplazos de alta calidad al hato adulto en producción. Un programa de recría eficiente permite ejercer mayor precisión sobre el desecho voluntario de vacas adultas, hace posible un progreso genético más acelerado, expande el tamaño del hato y produce ingresos económicos adicionales a partir de la venta de vaquillas al parto (Tozer and Heinrichs, 2001).

Por otra parte, el entendimiento de los costos involucrados en la cría de vaquillas debe ser una cuestión importante para los productores en la industria lechera. Se estima que los animales de reemplazo generan del 15 a 20 % del total de los costos de producción de leche (Stevenson and Ahmadzahed, 2011). Así, el reemplazo se califica como el segundo o tercer componente más importante en costos de producción después de la alimentación para la mayoría de los establos lecheros (Heinrichs, 1992).

Determinar los costos de crianza de vaquillas de reemplazo es una tarea difícil de precisar, debido a los diversos factores que intervienen y difieren según la zona geográfica. Algunos de estos factores son: sistemas de crianza, disponibilidad de alimentos, mano de obra, otros (Tozer and Heinrichs, 2001). En términos generales, los costos de alimentación representan alrededor del 70% de la inversión total en los sistemas intensivos de crianza de vaquillas de reemplazo (Bailey and Currin, 1999).

## 2.2 Selección y evaluación de reemplazos

Las vaquillas deberán considerarse para reemplazos en el hato, al seleccionarse en base de a su mérito genético y su contribución a un incremento en la producción de leche (Radke et al., 2005). El mejoramiento genético depende, en primer lugar, de la capacidad de reconocer cuáles animales son superiores desde el punto de vista genético y segundo, la efectividad de permitir que éstos animales superiores se reproduzcan (Patterson et al., 1992). La clasificación y selección es en su mayor parte dentro del mismo hato, en donde todos son considerados como una unidad, no dando cuidados especiales a uno sino a todos.

Al llevar a cabo el destete de las terneras alrededor de los 3 meses de edad en promedio, el proceso de selección comienza con la identificación y la primera selección de las futuras vaquillas de reemplazo (Engelken, 2008). De esta manera, se puede llevar a cabo la eliminación de aquellas terneras que se encuentren en un mal estado y que no sean aptas para la explotación. La presión de selección está determinada por la tasa de reposición es decir; por el número de vaquillas que se necesitarán como reemplazo y éste a su vez lo determina la cantidad de vacas que se descartan de la explotación por problemas reproductivos, sanitarios y de baja producción (tasa de desecho) (Mohd Nor et al., 2014). Además, una vez formado el lote de hembras jóvenes se debe asegurar un adecuado nivel nutricional y un correcto manejo sanitario, no sólo hasta el primer servicio, sino hasta el primer parto (Engelken, 2008). La estrategia de criar vaquillas es un factor determinante, debido a que la pubertad no se alcanza hasta que la vaquilla adquiere un cierto peso y edad reproductiva, esto dependiendo de la tasa de crecimiento (Hultgren et al., 2008). El ritmo de ganancia de peso por día, y consecuentemente, el peso mínimo que estas vaquillas deben alcanzar al comienzo de los servicios varía con la edad en que las vaquillas reciban el

primer servicio (Tozer and Heinrichs, 2001) En vaquillas de razas de carne como (Angus, Hereford, otros), el peso al primer servicio no debe ser inferior a 280 kg, mientras que en vaquillas de razas lecheras (Holstein) supera los 340 kg (Dingwell, et al., 2006). El manejo reproductivo en las vaquillas comienza cuando alcanzan entre 13 y 15 meses de edad y un peso vivo de 350 a 370 kg (Heinrichs, 1992). Es recomendable que las vaquillas de reemplazo entren al hato productivo lechero entre los 22 y 24 meses de edad aproximadamente, y con un peso óptimo de entre 544 y 590 kg después del primer parto (Keown and Everett, 1986).

El manejo de la cría de vaquillas de reemplazo, en cualquier caso se fundamenta principalmente en selección genética (Spire, 1997). Ya que la conservación del material genético es el capital biológico que posee el productor representado en sus animales que tiene en producción.. Para que el sistema de producción sea eficiente y sustentable es necesario desarrollar una banco genético, con líneas de animales altamente productivos y en constante mejora. Además una selección que permita la conservación de las mejores características genotípicas y fenotípicas de animales adaptados a las condiciones ambientales, de manejo y alimenticias que caracterizan a una región (Parquer, 1996).

### **2.3 Biotecnologías aplicadas a la selección de reemplazos**

La biotecnología en la producción animal puede definirse como la aplicación de los principios científicos y de ingeniería para la transformación o producción de animales o especies para proporcionar bienes y servicios para el bienestar de la población humana (Jutzi, 2003). Se trata de técnicas aplicadas a la reproducción animal que intentan acelerar en forma importante el progreso genético de diferentes genotipos dentro de una misma o

distintas especies. La biotecnología en la producción animal se utiliza no sólo para incrementar el número de especies de ganado para satisfacer la demanda mundial de productos de origen animal, sino también para aumentar la población de especies en peligro de extinción (Abdullah et al., 2011).

El uso de biotecnologías en la reproducción permite, mediante manipulación genética, obtener nuevos y mejores individuos en un tiempo menor. Ejemplos de biotecnología animal incluyen la generación de animales transgénicos, el uso de la tecnología génica para generar animales en los que un gen específico se ha inactivado. Además de la producción de animales casi idénticos por transferencia nuclear celular (Faber et al., 2003). Sin embargo, en la actualidad algunas de las alternativas para mejorar o aumentar el rendimiento de la producción animal es mediante la aplicación de técnicas de reproducción asistida como: multiovulación y transferencia de embriones (MOET), técnicas in vitro (fertilización y cultivo de embriones in vitro, capacitación espermática, recolección y maduración de ovocitos), manipulaciones genéticas (clonación, transgénicos, quimera), inseminación artificial y semen sexado (Cunningham, 1999).

Dentro de estas biotecnologías la técnica reproductiva de mayor aplicación es la inseminación artificial (IA) y con ella la congelación de semen seguido de la utilización del semen sexado. Cabe señalar que esta biotecnología ha permitido enormes avances en el mejoramiento genético animal, facilitando la disposición no sólo de individuos superiores en la producción, sino de razas (y/o especies) originarias de otros países que de otra manera por barreras sanitarias o económicas no se podría tener acceso a ellas (De Vries et al., 2007). El semen sexado ofrece la posibilidad de aumentar el número de animales de un sexo en una población cerrada, lo que aumenta la intensidad de la selección del sexo requerido dentro de la explotación (Nicholas, 1996).

## **2.4 Semen sexado**

### **2.4.1 Citometría de flujo**

La Citometría de flujo es una técnica que permite la separación de los espermatozoides X de Y basada en el contenido de ADN. Entre los factores más importantes que intervienen para que se lleve a cabo una buena separación de las dos poblaciones espermáticas están, la calidad de los espermatozoides y la concentración espermática de los eyaculados (Oses et al., 2009). En este sentido, la separación de espermatozoides X e Y se lleva a cabo normalmente en eyaculados con más de 50% de espermatozoides con motilidad progresiva y 75 % de espermatozoides normales (Larson et al., 2010) con aproximadamente el 90 % de precisión para el 50% de los espermatozoides. Por lo tanto, alrededor de la mitad de los espermatozoides se descartan, con un porcentaje de error del 10% para aquellos espermatozoides sexados (Seidel Jr and Garner, 2002).

### **2.4.2 Principios básicos del sexado de semen**

La técnica de sexado de semen se basa en la mayor cantidad de ADN que existe en los espermatozoides portadores de un cromosoma "X" respecto a los espermatozoides portadores de un cromosoma "Y" (Sharpe and Evans, 2009), En bovinos, los espermatozoides con cromosoma "X" tienen 3,8% más ADN que los que portan un cromosoma "Y". En cerdos, los espermatozoides con cromosoma "X" tienen 3,6 % más ADN que los espermatozoides con cromosoma "Y", mientras que en los humanos esa diferencia se reduce al 2,8 % (Johnson and Welch., 1999). El contenido de ADN del espermatozoide se determina usando una tinción fluorescente que penetra la membrana de la célula espermática y se une al ADN. De esta forma los espermatozoides X captan cerca

de 3.8% más tinción que los Y. Esta tinción emite fluorescencia únicamente cuando se expone a un haz de luz con una longitud de onda (1 mm) particular, proveniente de un láser (Hansen, 2006). La fluorescencia emitida es medida por un detector óptico y analizada por una computadora.

El citómetro de flujo o separador de celular consiste en una bomba que mueve el líquido contenido en los espermatozoides a través de un detector de fluorescencia. Un láser provee la luz con la longitud de onda apropiada para causar fluorescencia, sin dañar el ADN (Seidel Jr, 2007). El componente del sistema que separa las células funciona de la siguiente manera: cuando la corriente de fluido sale del citómetro de flujo, es fraccionada en pequeñas gotas por un vibrador, formando alrededor de 70,000 a 80,000 gotas por segundo (Seidel Jr, 2007). Aproximadamente, un tercio de las gotas contiene un espermatozoide, alrededor de dos tercios están vacías y algunas cuantas podrían contener dos gametos masculinos. Si la computadora detecta una gota que contiene un espermatozoide X, una carga eléctrica positiva se agrega a la gota. Si la gota contiene un espermatozoide Y, se agrega una carga negativa. Finalmente, cuando la gota no contiene espermatozoide, o contiene dos espermatozoides, un espermatozoide dañado o un espermatozoide que no lo puede sexar, no se agrega ninguna carga eléctrica a la gota (Sharpe and Evans, 2009). De esta forma, se producen tres corrientes o flujos de gotas, los cuales se recogen en tres recipientes que separan los espermatozoides X, Y, y aquellos que no podrán ser utilizados. En la práctica, cerca de un 20% de los espermatozoides terminan seleccionados en la fracción X, 20% en la fracción Y, y un 60% son espermatozoides dañados o que no pudieron ser sexados por alguna razón (Weigel, 2004; Hansen, 2006).

### 2.4.3 Comercialización del semen sexado

Los eyaculados aprobados para ser sexados deben tener niveles de concentración mayor a  $1 \times 10^9$  espermatozoide/ml y una motilidad progresiva mayor o igual al 60% (Lu and Seidel Jr, 2004). De esta manera, se ofrecen diferentes alternativas de producir dosis de semen congelado con una concentración de 2.1 millones de espermatozoides “X” ó “Y” en mini pajillas de 0.25 ml para ser usados en inseminación artificial (Garner and Seidel Jr., 2008) o con 10 millones de espermatozoides para emplearlos en transferencias embrionarias. La menor concentración en las pajillas de semen sexado se debe al procesamiento, en el cual se pierde aproximadamente 80% del eyaculado (Oses et al., 2009). Además, el costo del semen sexado por lo general tiene un precio mayor a la dosis de semen convencional. Así, con el propósito de mantener los costos de producción manejables, menos espermatozoides por pajilla se empaquetan por dosis de semen sexado (Seidel, 2011).

Una dosis de semen congelado convencional para ser empleado en inseminación artificial generalmente tiene unos 20 millones de espermatozoides (Den Daas et al., 1998) a pesar de que la mitad es suficiente para lograr una fertilidad satisfactoria; en condiciones normales la velocidad de separación de espermatozoides X e Y de un citómetro es relativamente lenta, con aproximadamente 300.000 a 400.000 células por minuto (Garner, 2006). De esta manera, para un proceso de eficacia más alta, la dosis de semen en la pajilla normalmente utilizada se ajusta para que contenga  $2,1 \times 10^6$  células en una paja 0.25 ml, ya que sería muy costoso mantener la concentración del semen convencional (De Jarnette et al., 2010).

El semen sexado tiene la desventaja de poseer un 20 o 30 % menos fertilidad (Weigel, 2004). La razón específica para la fertilidad más baja de semen sexado no se conoce, pero algunos de los recursos utilizados en el procesamiento son posibles responsables de la calidad inferior del semen, tal como la exposición al laser UV, los efectos reales de la dilución del semen, la presión y la carga eléctrica (Maxwell et al., 1998). A pesar de las limitantes que presenta el semen sexado se ha observado claramente que existe una buena aceptación por parte del productor (Seidel, 2009). El sexado de esperma como se practica actualmente es caro debido al alto costo del equipo y su mantenimiento, gastos de personal y la ineficacia del procedimiento se suma al alto costo de producir semen sexado, sin embargo, el procedimiento continúa mejorando. A pesar de todas estas complejidades, el semen sexado bovino va en aumento exponencialmente, con un estimado de 4 millones de dosis en el 2008 (Seidel, 2009).

#### **2.4.4 Importancia del semen sexado en la producción lechera**

La determinación del sexo de la cría es una interrogante que ha prevalecido con el paso de los años en las diferentes explotaciones de animales (Wheeler et al., 2006) y se ha convertido en una de las demandas más grandes en la producción bovina. En general, la producción bovina se ve favorecida con la obtención de terneras y solo en contadas ocasiones son económicamente rentables los terneros (machos). El uso del semen sexado se torna atractivo debido a que las becerras son mucho más valiosas que los becerros en un empresa lechera, lo que dependerá grandemente de la diferencia que exista entre el valor de las crías hembras o machos, de la tasa de preñez y de los costos extras del semen sexado (Seidel, 2003).

El semen sexado es una tecnología de reciente utilización e interés en los programas de Inseminación artificial (AI) del ganado bovino. Sus efectos sobre la tasa de parición de hembras benefician enormemente a los hatos donde la ausencia de hembras de reemplazo es evidente además es utilizado para producir vaquillas de reemplazo genéticamente superiores (Hohenboken, 1999).

Entre los beneficios que se podrían obtener en el ganado bovino lechero serian; vacas con mayor mérito genético se destinarían a la producción de crías hembras y el resto de las hembras a generar cría macho usando razas de carne. Además los productores pueden inseminar sus mejores vacas para reposición, que paran hembras, esto permitirá mejorar la facilidad de partos (Bennett and Gregory, 2001) ya que en general una hembra pesa menos al nacimiento que un ternero macho (Hohenboken, 1999; Seidel, 2011). El sexado de espermatozoides tiene un valor económico que ha causado gran interés en la cría de animales con idoneidad para la producción de carne o leche y en sistemas en los que la productividad se ve favorecida por la progenie de un sexo (Norman et al., 2010).

#### **2.4.5 Consideraciones generales sobre la utilización del semen sexado**

Las razones específicas que contribuyen a que haya una fertilidad más baja con semen sexado en comparación con el semen convencional se desconocen todavía. Sin embargo, dado el efecto potencialmente negativo de los procedimientos utilizados durante el sexado como diluciones, centrifugaciones, incubación así como la exposición del ADN al rayo láser resulta claro que el semen sexado se debe manejar con mucho más cuidado para optimizar su fertilidad (Boe-Hansen et al., 2005).

El uso de semen sexado implica perfecto manejo del semen y la IA para obtener buenos resultados. Condiciones y técnica de descongelado son determinantes en el

resultado del programa de inseminación. El uso de semen sexado se recomienda solo en vaquillas vírgenes, con celo natural evidente (Larson et al., 2010) y poco recomendable su uso en vacas. Otro factor a considerar en su uso en explotaciones lecheras es que se requieren vaquillas que alcancen más del 60% de su peso adulto a los 13 meses de edad y estén en buenas condiciones de salud.

El rango de fertilidad obtenida con semen sexado (y con semen convencional) es muy amplio y se debe generalmente a diversos factores, incluyendo errores en el almacenaje y manejo del semen. Se debe llevar a cabo un manejo del semen sexado con extremo cuidado, además considerar el evaluar en forma regular los procedimientos de manejo del semen, ya que cualquier programa de inseminación exitoso comienza por un buen manejo del semen (Dalton, 2010).

## **2.5 Estrés por calor**

Los animales homeotérmicos mantienen su temperatura corporal mediante un mecanismo conocido como termorregulación el cual contribuye a mantener las condiciones de normotermia en los animales. Este equilibrio se puede ver alterado ante una situación de amenaza, modificando su homeostasis (Ferin, 2006). Dicha alteración se le considera como una situación anormal e indeseable (Stott, 1981), la cual en el caso de deberse a altas temperaturas se denomina estrés calórico.

El estrés calórico conlleva a una activación de una serie de mecanismos fisiológicos para contrarrestar la elevación de la temperatura corporal como consecuencia de la temperatura ambiental externa (Armstrong, 1994; West, 2003). El estrés calórico desencadena una serie de reacciones que impactan directamente sobre su conducta, eficiencia reproductiva y rendimiento productivo. Ciertos comportamientos como

reducción en el consumo de alimento, disminución de actividad, búsqueda de sombra y ventilación natural, aumento de la frecuencia respiratoria y flujo sanguíneo periférico, además de la sudoración, estas respuestas tienen un efecto perjudicial tanto en la producción como en el estado fisiológico de la vaca (West, 2003).

### **2.5.1 Zona termoneutral**

La zona termoneutral (ZT) es el rango de temperatura ambiente dentro de la cual la tasa metabólica es mínima y la regulación de la temperatura corporal es alcanzada por medios no evaporativos (Bling and Johnson, 1973). La ZT puede variar de acuerdo a varios factores tales como raza y especie animal, tipo y nivel de producción, edad y alimentación (Johnson, 1980).

La ZT está limitada en su parte inferior por la temperatura crítica más baja, y se define como la temperatura ambiente por debajo de la cual la producción de calor metabólico de un animal en reposo se incrementa para mantener un balance térmico. La parte superior es conocida como temperatura crítica más alta y representa la temperatura ambiente por encima de la cual las pérdidas de calor por medios evaporativos de un animal es reposo son incrementadas. (Ingram, 1975; Young, 1981). Hahn (1976) reporta que para una vaquilla entre 12 y 24 meses de edad la ZT se localiza en un rango de -5 a 27 °C.

### **2.5.2 Sistema de termorregulación en el ganado lechero**

La temperatura corporal se mantiene gracias a un equilibrio existente entre la producción de calor y las pérdidas del mismo (Kadzere et al., 2002). Existen factores que modifican la temperatura corporal como la edad, el sexo, la hora del día, la temperatura ambiente y la humedad relativa, la época del año, el ejercicio físico, el ciclo estral, la

ingestión de alimentos y el proceso digestivo (Coppock et al., 1982) según la especie. El mantenimiento de una temperatura corporal es posible por la capacidad que tiene el cuerpo para activar una serie de mecanismos que favorecen el equilibrio, entre la producción y pérdida de calor.

### **2.5.3 Mecanismos de ganancia de calor**

Las principales fuentes de producción basal de calor son a través de la termogénesis tiroidea y la acción de la enzima ATPasa de la bomba de sodio de todas las membranas celulares (Crossley, 1988). La ingestión de alimentos incrementa el metabolismo oxidativo que se produce en condiciones basales.

Estos mecanismos actúan con independencia de la temperatura ambiente. El calor producido por la ingestión de alimentos también puede aumentar la producción de calor, de forma similar sucede con la radiación solar directa.

El sistema general de ganancia de calor comprende fenómenos químicos como los procesos metabólicos, la ingestión de alimentos y la contracción muscular, asimismo, fenómenos físicos como la exposición a la radiación solar directa y el contacto entre animales (Kadzere et al., 2002). Otros factores que influyen en la producción de calor en los mamíferos son: tamaño del cuerpo, el medio ambiente, las especies animales y razas y la disponibilidad de alimento y agua (Salem et al., 1982).

### **2.5.4 Mecanismos de pérdida de calor**

Las vías fundamentales de disipación de calor del cuerpo animal son la radiación, la convección, la conducción y la evaporación (West, 2003).

### **2.5.5.1 Radiación**

La pérdida de calor por radiación se da en forma de rayos infrarrojos (forma de energía calórica) que son ondas electromagnéticas. Existe un intercambio de energía electromagnética entre el cuerpo y el medio ambiente u objetos más fríos y situados a distancia (Silanikove, 2000). La cantidad de radiación emitida varía en relación al gradiente que se establece entre el cuerpo y el medio ambiente. Esta vía es la más importante, a través de la cual se puede disipar el calor corporal (Fuquay, 1981). La cantidad de calor absorbida por un objeto no sólo depende de la temperatura del objeto, sino también de su color y textura, superficies oscuras absorben más calor que superficies de color claro a la misma temperatura, por lo tanto, un animal de pelaje negro tiene una capacidad de absorción de calor mayor que un animal de pelaje blanco (Cena and Monteith, 1975).

### **2.5.5.2 Conducción**

El flujo de calor entre dos medios u objetos en contacto directo se describe como el intercambio de calor por conducción, consiste en la pérdida de pequeñas cantidades de calor corporal al entrar en contacto directo con la superficie del cuerpo animal, con otros objetos más fríos, como el suelo o las paredes. La conducción permite una pérdida de calor corporal de hasta un 30% (West, 2003). Para el ganado lechero, el intercambio de calor por conducción es entre el animal y su entorno de aire circundante, o cualquier otro medio sólido con que pueda estar en contacto directo. Esmay (1969) informó que existe una relación proporcional entre la densidad aparente de los materiales y su conductividad, por lo tanto, entre más denso sea el material, mayor es la conductividad o inversamente menor la resistencia al flujo de calor.

Para la vaca lechera de alta producción es importante saber que la magnitud de la transferencia de calor por conducción depende de la naturaleza del material en contacto con su piel, en particular su conductividad térmica. En el animal de pie, la pérdida de calor por conducción es mínima debido a la presencia de una capa de aire contra la piel, lo que significa que la mayor parte de la transferencia de calor desde el animal se lleva a cabo al aire, y el aire tiene una conductividad térmica pobre (Yousef, 1985). Por otra parte, en un animal de pie, la transferencia de calor sólo tiene lugar a través de sus pezuñas lo cual es una área muy pequeña de contacto. En cambio sí un animal se extiende sobre una superficie fría y húmeda tendrá una mayor transferencia de calor por conducción en función de la conductividad térmica del sustrato, así como el gradiente de temperatura y la magnitud de la zona de contacto con respecto al área total de la superficie, Sin embargo si la temperatura del aire o la temperatura del suelo sobre la que está acostado el animal es mayor que la temperatura de la piel, el animal llevara a cabo una ganancia de calor por conducción, más la adición de la carga de calor metabólico (Kadzere et al., 2002).

### **2.5.5.3 Convección**

Cuando el aire frío entra en contacto con un cuerpo caliente, una capa de aire que rodea la superficie del cuerpo se calienta y se eleva alejándose del cuerpo, llevándose con ella una carga de calor, y de esta manera enfriando el cuerpo del animal a través del proceso de convección (Kadzere et al., 2002). La convección radica en la transferencia de calor desde el cuerpo hasta las partículas de aire o agua que entran en contacto con él. Estas partículas se calientan al entrar en contacto con la superficie corporal y posteriormente, cuando la abandonan, su lugar es ocupado por otras más frías que a su vez son calentadas y así sucesivamente. (Silanikove, 2000)

Por el contrario, si la temperatura del aire es mayor que la temperatura de la piel, el movimiento del aire será promover la pérdida de calor en el animal hasta que la temperatura del aire es igual a la temperatura de la piel con lo que cesa la transferencia de calor. El transferir calor durante la respiración es una forma de pérdida de calor por convección. La temperatura del aire inspirado logra ser igual a la temperatura del cuerpo, en el momento en que llega a la tráquea (Yousef, 1985). La velocidad del movimiento del aire afecta la rapidez de la pérdida de calor por medio de convección. La pérdida de calor por convección es proporcional a la superficie expuesta y puede llegar a suponer una pérdida de hasta el 12% (Fuquay, 1981). El carácter forzado de la convección cuando se emplean ventiladores en las naves u otros medios de climatización incrementa la disipación de calor por este concepto (McDonald, 1983).

#### **2.5.5.4 Evaporación**

Es la pérdida de calor donde la energía térmica se transforma en vapor de agua, lo cual ocurre sobre la piel del animal produciéndose en forma de respiración, sudoración, difusión de agua subcutánea y salivación (Berman, 2010). El enfriamiento por evaporación es un medio eficaz de pérdida de calor en el ganado, pero se ve comprometida por la alta humedad relativa, que impide la evaporación, por lo que es difícil de enfriar al animal si la humedad es alta (West, 2003). Este método de disipación de calor es más eficiente en entornos en los que hay condiciones calientes y secas. La proporción de calor metabólico que se disipa desde el cuerpo de un animal por evaporación aumenta con el aumento de las temperaturas ambientales sobre todo cuando existe un gradiente de temperatura decreciente entre el animal y el aire. Johnson (1976) mostró que las diferencias en la relación de refrigeración por evaporación a la pérdida total de calor es variable entre especies y que la

proporción de evaporación de ganado empieza a aumentar considerablemente entre 16.6 y 18.3 °C. En condiciones de estrés térmico, el ganado aumenta la pérdida de calor por evaporación tanto por jadeo y sudoración, al inicio del estrés calórico el jadeo suele ser cuantitativamente superior a la sudoración, la magnitud de la pérdida de calor por evaporación es un indicador de la grado de incomodidad del animal contra el estrés térmico (Franco et al., 2014).

Los métodos evaporativos de pérdida de calor representan la última defensa del animal frente a grandes cargas de calor ambiental o metabólico (Richard et al., 2006). Si se acumulan grandes cantidades de calor y no pueden ser eliminados por las principales vías de eliminación, la evaporación se convierte en el único mecanismo disponible para restablecer el equilibrio entre la ganancia y pérdida de calor (Collier et al., 2006).

Entre estos mecanismos se encuentran la transpiración, secreción de líquido proveniente de las glándulas sudoríparas a través de la epidermis de la piel o sobre su superficie (Marai et al., 2007). La transpiración aumenta la velocidad de evaporación cutánea por un factor de 50 o superior al acumular agua en la superficie externa de la piel (Richard et al., 2006).

Otro mecanismo es el jadeo, este es el aumento de la frecuencia respiratoria en respuesta al estrés calórico (Marai et al., 2007). El jadeo incrementa la velocidad de enfriamiento porque es la evaporación del agua que proviene de las membranas húmedas y calientes ubicadas en el tracto respiratorio. Además otros métodos evaporativos de pérdida son: lactogénesis y secreción de la leche, en forma de metano, el calor en los gases respiratorios, en las heces, y en la orina (Yousef,1985).

### **2.5.5 Estrés calórico y su efecto sobre hormonas reproductivas**

Christopherson (1985) señala que otro aspecto fisiológico en respuesta a las altas temperaturas ambientales son alteraciones en algunos perfiles hormonales, ya que el mantenimiento de la temperatura corporal requiere de ajustes y retroalimentación entre los elementos controlados y controladores donde las glándulas endocrinas son un componente esencial de ambos elementos y de las señales de retroalimentación. Las respuestas hormonales al ambiente son reconocidas como mecanismos vitales para mantener la homeostasis y quizá la sobrevivencia del animal (Johnson, 1976). En condiciones de estrés asociado a factores ambientales y de comportamiento, el eje hipotálamo-hipófisis-adrenocortical (HPA) estimula a la hipófisis para secretar más hormona adrenocorticotrópica (ACTH), en comparación con las condiciones normales de termoneutralidad (Matteri et al., 2000).

El estrés calórico retrasa el desarrollo folicular y la ovulación, lo cual puede estar relacionado con el efecto inhibitorio directo de los glucocorticoides sobre la secreción de esteroides gonadales y la sensibilidad del tejido diana a estos esteroides sexuales. El estrés estimula el eje HHA, que a su vez modula el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HHG) y modifica la secreción de gonadotropinas. Esto significa que la activación del eje HHA durante estrés calórico acarrea un antagonismo entre las hormonas de los dos ejes (Lucy, 2003).

El pico preovulatorio de LH es especialmente sensible al efecto inhibitorio de la ACTH y a los glucocorticoides exógenos. La acción fisiológica de los glucocorticoides, que inhiben la secreción de LH por la hipófisis, podría ser efectuada por la modificación en la retroalimentación negativa de los esteroides gonadales, dado que los corticoides reducen el

efecto estimulador de estradiol sobre la secreción de LH. Además, se ha demostrado que los glucocorticoides pueden reducir la inflamación a través de la inhibición de la fosfolipasa A2 y la ciclooxigenasa-2 (COX-2), mecanismos moleculares implicados en la regulación de la biosíntesis de prostaglandinas (Goppelt, 1997). En el tejido endometrial, la COX-2, también conocida como prostaglandina G/H sintasa-2 (PGHS-2), es un tipo de enzima que cataliza la producción de prostaglandinas, entre ellas la prostaglandina F<sub>2</sub>α, principal reguladora de la luteólisis (Colitti et al., 2007).

La cadena de procesos que conducen a la luteólisis inicia a partir de la unión del estradiol con su receptor en el endometrio. Entre las principales acciones del estradiol están la regulación de los receptores uterinos de oxitocina y su liberación del cuerpo lúteo. La oxitocina, a su vez, estimula la liberación de una pequeña cantidad de PGF<sub>2</sub>α uterina, que inicia un circuito de retroalimentación positiva (Niswender et al., 2000). El retraso en la regresión lútea en respuesta a un exceso de estimulación adrenal, puede retardar el desarrollo del folículo dominante, y en consecuencia, disminuir la secreción de estradiol, que no podrá poner en marcha el mecanismo luteolítico (Dobson and Smith, 2000).

La cascada hormonal desencadenada por el estrés calórico es capaz de bloquear la actividad del estradiol e inhibir la presentación de la conducta sexual (Vélez y Uribe, 2010). El estrés calórico afecta la reproducción cuando ocurre días antes, durante y después de la ovulación (Cartmill et al., 2001). De igual forma, se ha observado un efecto negativo del estrés calórico sobre la viabilidad embrionaria en los primeros días de su desarrollo (Ealy et al., 1993).

Uribe-Velásquez et al. (2001) han reportado en rebaños que las elevadas temperaturas, la humedad relativa del aire y la radiación solar son los principales elementos climáticos estresantes que causan disminución en la tasa de crecimiento, producción de

leche y fallas en la reproducción, incluyendo estros cortos, ciclos estrales anormales y aumento en la mortalidad embrionaria y fetal temprana, con disminución de la fertilidad. Los mecanismos mediante los cuales el estrés calórico afecta las concentraciones de las hormonas reproductivas son desconocidos. Se ha sugerido como causa, el incremento en la secreción de corticosteroides, porque éstos pueden inhibir la secreción de GnRH, y por lo tanto, de la LH (Vélez y Uribe, 2010). La secreción de gonadotropinas es inhibida en mayor grado en vaquillas con bajas concentraciones plasmáticas de estradiol, lo cual sugiere que las altas concentraciones de estradiol pueden neutralizar el efecto del estrés calórico. La activación del eje HHA influye en la actividad de neuronas GnRH hipotalámicas, además de alterar la respuesta de las células gonadotropas (hipófisis) a la acción del GnRH, además el estrés puede afectar la retroalimentación de los esteroides sexuales en el hipotálamo e hipófisis (Chrousos et al., 1998).

## **2.6 Estrategias para reducir el estrés por calor en el ganado**

Existen varios métodos para reducir el estrés por calor en el ganado lechero. Beede and Collier (1986) sugieren tres estrategias para reducir los efectos del estrés por calor en el ganado: 1) Desarrollo genético de razas más tolerantes al calor, 2) manejo nutricional apropiado, 3) modificaciones ambientales, entre las más comunes se encuentran el uso de sombras, combinadas con sistemas de enfriamiento (West, 2003).

El uso de sombras en el establo se considera como un método accesible y económico en cualquier región. En climas cálidos y templados, la sombra se considera esencial para mantener la eficiencia productiva del animal, incluso puede ser necesaria para la sobrevivencia de animales que se encuentran en zonas con problemas de altas temperaturas

(Correa-Calderón et al., 2004). La sombra disminuye el efecto de estrés por calor en los animales al protegerlos directa e indirectamente de la radiación solar (Armstrong, 1994; West, 2003). Se ha estimado que la radiación solar bajo sombra se reduce entre un 30 y 50%, lo cual favorece la disminución de la temperatura rectal y tasa respiratoria en el ganado (West, 2003). Sin embargo las sombras no protegen de la temperatura del aire, ni influyen en las condiciones de humedad relativa (Rhoads et al., 2009).

La protección contra la radiación por medio del uso de sombras es un método clave para reducir el estrés por calor, estas sombras pueden ser naturales mediante la utilización de solo árboles, los cuales bloquean los rayos del sol y la humedad de las hojas al evaporarse permite enfriar el aire que rodea al animal (Shearer et al., 1999), también se utilizan sombras artificiales como las de lámina galvanizada de acero o aluminio, que son más comunes debido al costo, duración y bajos requerimientos de mantenimiento. El diseño de las sombras para el ganado lechero varía en las diferentes áreas y climas, no obstante, lo recomendado para zonas cálidas es de 4.2 a 5.6 m<sup>2</sup> por vaca y una altura de 3.5 a 4.5 m, con una orientación este-oeste (Armstrong, 1994).

Por otra parte, la combinación de abanicos con aspersores, activa los sistemas de evaporación de los animales ya que el ambiente se satura de gotas que refrescan al ganado, ayudando a mantener la temperatura corporal dentro de los rangos normales (Armstrong, 1994; Smith et al., 2006). El sistema de enfriamiento básicamente consiste en el rocío de finas partículas de agua las cuales se mantienen suspendidas en el aire y se evaporan antes de caer a la tierra, enfriando de esta manera el aire así como al ganado debido al contacto de pequeñas gotas las cuales son capaces de llegar a la superficie de la piel de los animales y de esta manera enfriar la piel del animal (Armstrong, 1994).

El enfriamiento por medio de aspersores y abanicos ha dado buenos resultados para refrescar vacas, principalmente en zonas cálidas y de baja humedad (Armstrong, 1994). Correa-Calderón et al., (2004) reportaron una disminución en la frecuencia respiratoria de 104 a 89 respiraciones por minuto en vacas Holstein por efecto de la utilización de un sistema de enfriamiento compuesto por abanicos y aspersores. Además otra ventaja del uso de aspersores es la disminución de insectos en los corrales (Schütz et al., 2010). El enfriamiento evaporativo es el sistema más usado para mitigar el estrés calórico en vacas, sin embargo, este sistema se vuelve ineficiente en lugares donde existen altos niveles de humedad debido al déficit de concentración de agua-vapor (evaporación) entre la superficie de la piel y la humedad del ambiente (Gebremedhin and Wu, 2001).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Área de estudio**

El experimento se llevó a cabo en la recría de vaquillas " San Carlos" localizada sobre el kilómetro 15 de la carretera Mexicali-San Felipe, en el valle de Mexicali, Baja California, México. La ubicación geográfica de la zona es al noroeste del país y se encuentra a 32° 43" latitud norte, 30° 52" latitud sur, 114° 42" longitud este y 115° 56" longitud oeste. El clima en la región se clasifica como cálido seco, donde las temperaturas promedio máximas y mínimas oscilan entre los 48°C y 0°C, respectivamente, con un promedio de 38°C en época de verano. La precipitación media anual promedio es de 76 mm (SMN, 2010).

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

Se utilizaron 80 vaquillas Holstein vírgenes de entre 12 y 13 meses de edad, con un peso vivo promedio de 350 kg que se asignaron en forma aleatoria a uno de dos tratamientos de acuerdo a su edad, peso y ciclicidad. Esta última determinada antes de inicio del experimento mediante la realización de dos muestreos sanguíneos con un intervalo de 10 días entre ellos, considerando como vaquilla ciclando aquella que presentara valores mayores a 1.0 ng/ml de progesterona en al menos un muestreo.

Los tratamientos fueron los siguientes: 1) Tratamiento testigo (SS), 40 vaquillas Holstein vírgenes con detección de celo natural e inseminadas artificialmente (IA) solo por las mañanas con semen sexado. Estas vaquillas estuvieron sujetas al manejo medio ambiental tradicional en verano para la zona del valle de Mexicali, que es proporcionar únicamente sombra en la parte central del corral. El segundo tratamiento (SE) fue

compuesto por 40 vaquillas Holstein vírgenes con detección de celo e IA con semen sexado siguiendo la misma regla que el grupo testigo. El manejo medioambiental que se le proporciono a este grupo fue acceso a un sistema de enfriamiento instalado bajo la sombra, en la parte central del corral a una altura de 2 m sobre el nivel del piso. El enfriamiento artificial fue proporcionado por medio de 7 abanicos de 0.5 HP con un flujo de aire de 180 m<sup>3</sup>/min. Cada abanico conto con 8 boquillas que mantuvieron un flujo de agua permanente de 50 l/h. El sistema de enfriamiento opero de las 09:00 a 18:00 h diariamente. El enfriamiento fue proporcionado desde un mes antes de la IA (Pre-IA) hasta 21 d post-IA (Post-IA). Las vaquillas de ambos tratamientos fueron inseminadas con semen de un mismo toro (mismo lote de producción) que estuviera disponible en el mercado.

### **3.3 Alimentación y manejo de los animales**

La alimentación fue similar en ambos grupos proporcionando una ración integral tres veces al día a las 06:00, 09:00y 16:00 h. El Cuadro 1 muestra la composición y aporte nutricional de la ración utilizada. Los animales se mantuvieron bajo condiciones estabuladas en sus respectivos corrales equipados con sombra, comederos y bebederos. Las instalaciones utilizadas en el estudio consistieron en dos corrales de 30 m de ancho por 34 m de largo, con capacidad de 40 animales (20.5 m<sup>2</sup>/ animal). Ambos corrales contaron con sombras que presentaban las siguientes dimensiones: 18 m de largo, 5 m de ancho con una altura de 2.90 m, proporcionando de sombra alrededor de 2.5 m<sup>2</sup>/ vaquilla. Los comederos estaban orientados norte a sur con las siguientes dimensiones: 30 m de largo × 0.67 m de ancho, 0.9 m de altura con 0.64 m de profundidad. Además, cada corral contaba con un bebedero en la parte sur (2.5 × .95 m y .30 m de profundidad) y el agua tuvo temperatura promedio de 27.4°C. El consumo del agua fue a libre acceso durante todos los días.

### **3.5 Condiciones climáticas**

Las variables climáticas fueron obtenidas PRE Y POST-IA de una estación meteorológica instalada al lado norte de la explotación donde se llevó a cabo el experimento. La estación fue programada para registrar temperatura ambiente, humedad relativa, velocidad del viento y radiación solar cada 15 min durante todos los días que duro el experimento: Las variables climatológicas temperatura ambiental (TA; °C) y humedad relativa (HR; %) fueron utilizadas para la determinar el ITH, siguiendo la fórmula propuesta por Hahn (1999):

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

Una vez calculados los ITH se realizó una categorización de ITH basados en la propuesta de Brown-Brandl et al. (2005); Es decir normal: máximo ITH <74), alerta: (ITH ≥74, máximo ITH < 78), peligro: (ITH ≥ 78, máximo ITH < 84), emergencia: ( ITH ≥ 84).

### **3.6 Variables de estudio**

#### **3.6.1 Frecuencia respiratoria y temperatura rectal.**

La FR se registró dos veces por semana a las 14:00 h en 15 vaquillas de cada tratamiento, por medio de observación de los movimientos intercostales durante un minuto (respiraciones/minuto). La TR fue recabada también dos veces por semana (16:00 h) en 15 vaquillas de cada tratamiento por medio de un termómetro digital (FLUKE, 51 II Termómetro Fluke Co. Everest, WA, USA).

### **3.6.2 Temperatura vaginal**

La TV fue registrada en 3 vaquillas por tratamiento usando un sensor (HOBO U-12, Onset, MA, USA), el cual fue fijado en un dispositivo CIDR sin progesterona y posteriormente colocado en la vagina de la vaquilla durante 24 h. El sensor registró las temperaturas cada 15 minutos durante 24 h, dos veces por semana. Al final, promedios por hora fueron presentados para cada día de muestreo.

### **3.6.3 Tasa de concepción, concentración de progesterona y metabolitos**

El diagnóstico de gestación se realizó vía palpación rectal a los 35, 60 y 90 días post-IA por un técnico con experiencia en el área. Los niveles de progesterona y metabolitos fueron determinados en el suero sanguíneo en los días 0, 3, 9, 12, 15, 18, 21 post IA. Para esta determinación se tomaron muestras de sangre a las 06:00 am de la vena coccígea utilizando tubos vacutainer sin anticoagulante. Una vez tomadas, las muestras fueron llevadas al laboratorio de nutrición animal donde se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 min a 10° C. El suero fue puesto en alícuotas y guardado a una temperatura de -20 °C hasta que se realizó su análisis. Los niveles séricos de progesterona se cuantificaron mediante un kit de ensayo inmunoenzimático competitivo comercial (Monobind, Inc., Lake Forest, CA, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante y utilizando un lector de microplacas ELx800 (BioTek Instruments, Inc.). Por otra parte, la determinación de los niveles séricos de glucosa, colesterol total y triglicéridos se cuantificaron en un analizador

semiautomático Vitro DT6011 Ortho-Clinical Diagnostics, Inc ( Johnson & Johnson) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### **3.7 Análisis estadístico**

La temperatura rectal y frecuencia respiratoria fueron analizadas mediante un modelo que incluyó los efectos de tratamiento (2), día (3) y su interacción. El efecto día se usó como medición repetida en el tiempo. Para el caso de la TV se empleó un modelo que incluyo tratamiento (2), hora (24) y su interacción. El efecto de hora se usó como medición repetida en el tiempo. Los niveles de (P4) y metabolitos (colesterol, triglicéridos, glucosa) fueron analizados con un modelo lineal que incluyó los efectos fijos tratamiento, día y su interacción. El efecto día se usó como medición repetida en el tiempo. Las condiciones climatológicas temperatura ambiental, humedad relativa, velocidad del viento y radiación solar fueron sometidas a un análisis de varianza con un diseño completamente al azar. Todos estos análisis se realizaron con el PROC MIXED. La tasa de concepción se analizó mediante la prueba de independencia usando la distribución Ji-cuadrada con el procedimiento PROC FREQ. Se declararon diferencias significativas entre medias cuando  $P < 0.05$ . Todas las variables del estudio fueron sometidas al análisis mediante el programa estadísticos Statistical Analysis System (SAS, 2004).

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

### **4.1 Condiciones climatológicas**

#### **4.1.1 Información del clima y categorización de ITH**

Las condiciones del clima e ITH registrados durante el desarrollo del experimento se presentan en el Cuadro 2. De un total de 74 d de duración del estudio; ningún día fue categorizado como normal, sin embargo, 16 d estuvieron en la categoría de alerta, 37 d en peligro y 21 d en emergencia. Los ITH presentaron rangos de 76 (zona de alerta) hasta 83.5 en la zona de emergencia. Según López-Gatius (2012) señala que existen diferentes condiciones climatológicas que afectan la fertilidad en vaquillas, sin embargo, las altas temperaturas ambientales han sido más fuertemente ligadas a la baja fertilidad y más aún si se combinan con alta humedad en el ambiente.

La humedad relativa es un factor clave para determinar el ITH, ya que valores altos de ITH resultan cuando se combina una temperatura alta con una humedad relativa elevada (Vitali et al., 2009). Por su parte, Silanikove (2000) informó que la humedad relativa es considerada como un factor climático que afecta al ganado, ya que juega un papel importante para que se lleve a cabo una eficiente reducción y regulación de la temperatura corporal mediante la evaporación. La temperatura corporal puede verse afectada por: la temperatura ambiente, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento (Walsberg and Wolf, 1995); sin embargo, los intentos por cuantificar simultáneamente las cuatro variables no han tenido éxito, por lo que el ITH actual incorpora solo dos condiciones ambientales; temperatura ambiente y humedad relativa (Bohmanova et al., 2007).

Kadzere et al. (2002) reportaron que el ganado lechero a partir de un ITH >70, se inicia un estado de estrés por altas temperaturas, ya que las funciones fisiológicas y reproductivas pueden verse afectadas negativamente. Estos mismos autores, indicaron que un ITH >78 causa un estrés severo, el cual provoca que vacas lecheras no puedan mantener sus mecanismo de termorregulación. Por su parte López-Gatius (2012) informa que un ITH de 80 en vacas lecheras causa un estrés calórico severo y puede comprometer la supervivencia del animal.

En este estudio se registraron valores de ITH de 83.5 unidades considerándose como un estado de emergencia y un mínimo de 76.1 unidades, valorado como estado de alerta. Así mismo, durante el estudio no se registró ningún valor que fuese considerado como normal (ITH <74), Sin embargo, no se presentó la muerte de ningún animal.

Varios estudios reportan correlaciones negativas entre valores altos de ITH y respuestas productivas y reproductivas en vacas lecheras (Bouraoui et al., 2002; García-Ispierto et al., 2007). Por lo tanto, el ITH se ha convertido en uno de los índices más utilizados para evaluar el impacto del estrés por calor en vacas lecheras en todo el mundo (Fuquay, 1981). Además, el ITH parece tener un claro efecto negativo sobre la tasa de concepción especialmente durante el período de 3 d antes y 1 d después de la IA (López-Gatius, 2012). Los promedios generales de las condiciones climatológicas se muestran en el Cuadro 3. La TA mínima y máxima durante el día y la noche estuvieron en rangos de 25.4 - 40.1 y 25.1 - 38.2 °C, respectivamente, observándose un promedio general de temperatura ambiente por encima de los 30°C, valor que sobrepasa la zona de confort (25°C), señalada por Armstrong (1994).

Por otra parte Chebel et al. (2007) indicaron que temperaturas ambientales por arriba de 29° C pueden ser indicadoras de estrés calórico en vaquillas, mientras que en

vacas lecheras el rango de temperatura ambiente donde se activan los mecanismos evaporativos para disipar el calor es entre 25 a 26° C (Berman et al., 1985). En el caso de la humedad relativa el promedio general fue de 39.5 % de día y 48.1% de noche, condiciones climatológicas consideradas normales en la zona desértica del norte del país (SMN, 2010).

Los ITH calculados durante el estudio muestran que el promedio general ITH de día fue de 82.4 y 79.1 de noche, siendo ambos superiores a un valor de 72, el cual es considerado como el punto crítico en el cual el estrés calórico afecta al animal.(Armstrong, 1994; West, 2003; Berman, 2010). Durante el presente estudio la combinación de alta TA y HR provoco que los animales se encontraran en estrés calórico durante el día y la noche ya que los registros de las condiciones climatológicas ambientales se encontraban por encima de los límites. La exposición a altas temperaturas afecta los requerimientos de mantenimiento por un mayor gasto de energía del animal debido al intento de perder el exceso de carga de calor (Fox and Tylutki, 1998).

La radiación solar y velocidad del viento, contribuyen a afectar la carga total de calor, y a su vez, el grado de estrés y bienestar animal (Brown-Brandl et al., 2005), Sin embargo, no fueron considerados para la determinación de los ITH en este estudio. Berman (2010) reporto que mediante la combinación de un bajo porcentaje de humedad relativa con velocidades de vientos mayores a 3 km/hr se puede reducir el efecto de estrés por calor. Por lo tanto el ITH debe ser capaz de incluir parámetros importantes como lo serían: Temperatura ambiente, Humedad relativa, Velocidad del viento y Radiación solar, además este indicador puede incluir parámetros tales como: el color del animal, peso, sexo, exposición previa al calor y estado de salud (Gaughan et al., 1999; Brown-Brandl et al., 2005).

## **4.2 Variables de estudio.**

### **4.2.1 Frecuencia respiratoria y temperatura rectal.**

En el Cuadro 4 se muestran los resultados de la frecuencia respiratoria, temperatura rectal y vaginal tomadas antes y después de la inseminación artificial. Se observó una frecuencia respiratoria mayor tanto antes (96.6 resp/min) como después (92.9 resp/min) de la IA en el tratamiento SS comparado con el tratamiento SE. La frecuencia respiratoria es un buen indicador de la carga de calor total y el nivel de estrés en un animal (Brown-Brandl et al., 2005). Thompson (1984) reporta que una vaca con 80 resp/min se considera en condiciones de estrés por calor. En base a los resultados obtenidos en este estudio se puede señalar que la efectividad del sistema de enfriamiento en la reducción de la tasa respiratoria, aún y cuando los resultados muestran que ambos grupos se encontraban en condiciones de estrés calórico, el promedio fue menor en el tratamiento de vaquillas enfriadas. Al igual que la FR la medición de la TR es generalmente utilizada como un indicador de la temperatura interna del cuerpo (Srikandakumar and Johnson, 2004). Vacas con una temperatura rectal de 37.5 a 38.5 °C se les considera animales bajo zona termoneutral (Igono et al., 1992).

Por su parte Silanikove (2000) informó que la mayoría de los rumiantes tanto bovinos como ovinos mueren cuando la temperatura corporal alcanza entre 42 a 45 °C, la cual es superior a la temperatura normal por 3 a 6 °C. En el presente estudio la TR más alta que se registro fue de 41 °C. El efecto del enfriamiento artificial sobre la temperatura rectal durante la fase experimental, fue positivo, dado que la TR disminuyó 0.7 °C antes y después de la IA. No obstante, aunque hubo una disminución en las respiraciones por minuto y en la TR en el grupo tratado, no fue suficientemente efectivo para lograr valores

similares a los que se registran en la zona de confort del ganado lechero lo que sugiere que probablemente el tiempo de enfriamiento no fue suficiente para disminuir el estrés por calor.

Bucklin et al. (1991) señalaron que la instalación de un sistema de enfriamiento en vacas lecheras puede lograr una disminución de 0.4 a 0.5 °C en la TR, mientras que la FR puede reducirse entre un 17.6 a 40.6%. Por su parte Hillman and Grebemedhin (1999) observaron una FR por minuto de 132 en ganado de carne expuesto a una temperatura de 36°C, con humedad de 38% e ITH de 83 unidades.

#### **4.2.2 Temperatura vaginal**

La temperatura vaginal fue mayor en el grupo SS comparado al grupo SE (39.5°C vs 39.0°C, respectivamente). La TV es importante ya que ayuda a llegar a un diagnóstico más acertado que no son posibles al considerar solamente información del ITH o de la temperatura rectal. La Figura 1 muestra que en el tratamiento SE las temperaturas vaginales se mantuvieron por debajo de los 39.1 °C con excepción de las 16:00 a 18:00 h, comparado con el tratamiento SS, cuyas vaquillas estuvieron por arriba de los 39 °C prácticamente durante las 24 h del día. Lo anterior evidencia que el sistema de enfriamiento ayudó a mitigar la carga de calor durante las horas del día, logrando que los animales sometidos al enfriamiento pudieran reducir su temperatura hasta en 0.6 °C en las horas más críticas y hasta 0.3 °C en las horas más frías de la mañana. La evaluación tanto de la TR como de la TV son importantes ya que mediante estas se puede determinar la carga de calor en los animales. Asimismo, la temperatura fluctúa con el ciclo estral, siendo más baja momentos antes del estro, alta en el día del estro, bajando al tiempo de la ovulación y alta durante la fase lútea (Redden et al., 1993).

Tucker et al. (2008) evaluaron la temperatura vaginal en ganado lechero con base en la carga de calor absorbida por el animal, el cual, estuvo beneficiado únicamente con sombra, encontrando un promedio de 39.5 °C a las 16:00 h, resultado similar al obtenido en este estudio en el tratamiento SS donde se registró una temperatura vaginal de 39.7°C.

Kendall et al. (2006) reportaron una disminución de 0.18°C en la temperatura vaginal en vacas lecheras sometidas a un sistema de sombra en comparación con vacas sin acceso a este beneficio. Por otro lado, Roman-Ponce et al. (1977) y Muller and Botha (1993) encontraron que la temperatura media vaginal fue menor en las vacas lactantes sombreadas que en vacas sin sombra, en estos estudios la diferencia fue de 0.3 - 0.68°C. Sandoval (2012) reporta temperaturas vaginales menores de hasta 0.4°C en vaquillas sometidas a enfriamiento artificial, comparadas con vaquillas con solo sombra, resultados que concuerdan con los obtenidos en este estudio ya que mediante el enfriamiento se redujo 0.5° C la TV en el tratamiento SE experimentando condiciones de mayor confort.

#### **4.2.3 Tasa de concepción.**

El Cuadro 5 presenta los resultados de tasa de concepción, la cual fue similar entre tratamientos ( $P=0.53$ ). La diferencia numérica entre tratamientos solo fue de 5% mayor en SE (17.5%) en comparación con el grupo SS (12.5%).

Las tasas de concepción obtenidas con semen sexado en comparación al semen convencional han sido muy variadas. DeJarnette et al. (2009) reportaron en vaquillas Holstein una tasa de preñez del 56 % para semen convencional en comparación con un 45% obtenido con semen sexado. Por otra parte Norman et al. (2010) reportaron un 56% de tasa de preñez para semen convencional, en comparación al 39% utilizando semen sexado en vaquillas Holstein.

La fertilidad del semen sexado en vaquillas vírgenes varía de un 70 a 80%, con promedio de 75% con respecto al semen convencional, por lo tanto la fertilidad del semen sexado en vaquillas es menor en un 20 a 30% que la del semen convencional (DeJarnette et al., 2007). El rango de fertilidad tan amplio se debe a diversos factores como el proceso de sexado, manejo durante el congelamiento y diferencia entre toros. Este último factor implica que la fertilidad entre toros varía dependiendo de la edad, nutrición, temperaturas ambientales extremas y enfermedades, ya que esto ocasiona una reducción en la calidad del semen, además la calidad de los espermatozoides de un toro puede variar con el tiempo (George and Patterson, 1992). Esto puede explicar los bajos porcentajes de preñez obtenidos durante el estudio, ya que el semen sexado de este mismo toro fue utilizado en época de invierno en vaquillas Holstein bajo condiciones termoneutrales, obteniendo una tasa de preñez del 30%, lo cual difiere con datos registrados de 2007 a 2010 en esta misma granja donde se reporta tasas de concepción de 77.88 % al utilizar semen sexado durante la época de invierno (Callejas, 2013). Así mismo, registros hasta el 2013 informan que la tasa de concepción fue de 50.5 % utilizando semen sexado (Recría San Carlos, 2013). Sin embargo, a pesar de los bajos porcentajes de tasas de concepción obtenidos, el 100% de las crías resultaron hembras.

Otro factor que afecta la calidad del semen sexado es realizar un buen descongelado del semen sexado. Un estudio realizado por Dalton (2010) mostro que el proporcionar una temperatura ambiente de 37°C al semen sexado permite obtener mejores motilidades progresivas de los espermatozoides, comparado con mantener el semen a una temperatura ambiente de 42°C donde los espermatozoides sufren un choque por calor y se reduce su motilidad progresiva, además menciona que una exposición al calor mayor a 5 minutos también reduce la viabilidad espermática.

#### 4.2.4 Concentración de progesterona

La Figura 2 muestra los niveles de progesterona sanguíneos que se obtuvieron del día 0 al 21 después de la inseminación artificial, no existiendo diferencia significativa entre tratamientos ( $P > 0.05$ ). Las investigaciones para determinar el efecto del estrés calórico sobre los niveles de progesterona han producido resultados muy variables (De Rensis and Scaramuzzi, 2003). Vaquillas expuestas a estrés calórico reducen la producción de progesterona por parte del cuerpo lúteo, debido a que el estrés calórico compromete el proceso de esteroidogénesis y aumenta la degeneración de células de la granulosa (Chebel et al., 2007). Por su parte Ronchi et al. (2001) indicaron que en vaquillas Holstein los niveles de progesterona son bajos cuando se exponen a una temperatura de 32°C (6 ng/ml día 11) en comparación con vaquillas a una temperatura de 18°C (9 ng/ml día 11). Howell et al. (1994) encontraron que las concentraciones de progesterona son más bajas en los días 6 al 18 post IA durante los meses de verano. Rosenberg et al. (1982) y Wolfenson et al. (1988) indicaron que las concentraciones de progesterona en plasma se pueden reducir en ganado bajo estrés calórico. Por su parte Wolfenson et al. (2000) concluyen que el estrés calórico crónico reduce las concentraciones de progesterona, sin embargo, estas concentraciones pueden elevarse después de un estrés calórico agudo. Por otro lado Wise et al. (1988) realizaron un estudio en Arizona con vacas expuestas a únicamente sombra (41.7 °C) comparado con vacas bajo enfriamiento artificial (26.0°C) no encontrando diferencia en los niveles de progesterona, observando solo un aumento en los niveles del día 0 al día 14 y un descenso del día 15 al 20. Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio, ya que los niveles de progesterona fueron similares entre tratamientos.

#### 4.2.5 Concentración de metabolitos.

Los resultados sobre concentración sérica de metabolitos (glucosa, colesterol y triglicéridos) se presentan en el Cuadro 6. En cuanto a los valores de colesterol se presentó un mayor nivel ( $P < 0.05$ ) desde el día 6 al día 15 post-IA en el grupo que recibió SE comparado con los niveles del grupo SS. Sin embargo en los días 3, 18 y 21, los niveles fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre ambos grupos. Los niveles normales de colesterol para vacas presentan rangos desde 80 mg/dl hasta 120 mg/dl (Moyano y Rodríguez, 2014). Taylor et al. (1966) reportaron niveles de 42.9 mg/dl hasta 195 mg/dl en vacas lecheras expuestas a estrés calórico, niveles que concuerdan con los obtenidos en este estudio. Por su parte, Antoncic-Svetina et al. (2011) reportaron rangos de (1.1–4.2 mmol L) equivalentes 36 a 45 mg/dl en vaquillas, además señalan que la concentración sérica de colesterol es menor en vaquillas en comparación de vacas lactantes debido principalmente a bajos requerimientos por no estar en producción. En este estudio, el grupo de enfriamiento artificial obtuvo niveles mayores en los días 6 al 15 post-IA, probablemente debido a una mayor concentración sérica de  $P_4$  proveniente del cuerpo lúteo, ya que el colesterol representa un precursor indispensable para la síntesis de progesterona (Staples et al., 1998). Por otra parte, el enfriamiento ayudó a que los niveles de colesterol aumentaran, sin embargo, los niveles de progesterona fueron similares en ambos tratamientos. El factor más evidente que podría influir en la concentración de colesterol en plasma es el régimen dietético, en este estudio las vaquillas de ambos tratamientos consumieron la misma dieta, pero probablemente la ingesta de alimento fue menor en el tratamiento de solo sombra por efecto del estrés calórico al que estaban sometidas, pero no lo suficiente para producir niveles de progesterona más bajos a los obtenidos en el tratamiento de SE. Por otra parte,

las concentraciones de glucosa y triglicéridos no fueron afectados por el uso de enfriamiento en la época de verano. En un estudio realizado por Wheelock et al. (2010), encontraron concentraciones de glucosa similares en vacas lecheras bajo condiciones de estrés calórico comparado a vacas en zona termoneutral (67.7 y 66.9 mg/dL) respectivamente. De la misma manera Rhoads et al. (2009) reportaron concentraciones de glucosa iguales en vacas lecheras bajo condiciones termoneutrales (65.8 mg/dL) y para vacas lecheras expuestas a estrés por calor (62.6 mg/dL). Itoh et al. (1998) informaron que en vaquillas expuestas a estrés calórico los niveles de glucosa son bajos comparados con vaquillas expuestas a una condición termoneutral. Los niveles de glucosa en bovinos se encuentran en un rango de 40-70 mg/dL (Gurtler et al., 1976). Estos niveles de glucosa concuerdan con los resultados en este estudio donde se encontraron rangos de 50.8 hasta 61.3 mg/dL. Sin embargo, la concentración comúnmente reportada es <50 mg/dL (Marín et al., 2007) valores similares fueron encontrados en el presente estudio. Por su parte los niveles de triglicéridos también resultaron en niveles normales, tanto para el grupo de sombra, como para el grupo de enfriamiento artificial. Avendaño et al (2010) reportaron niveles de glucosa (43.1 mg/dL) y triglicéridos (22.0 mg/dL) en vacas lecheras expuestas a enfriamiento artificial durante el verano. Según O'Brien et al (2010) el estrés calórico en vacas induce una serie de adaptaciones metabólicas post-absorción que no se predicen en función del consumo de alimento. Basados en esta información, se puede explicar el resultado de los niveles de metabolitos (Glucosa y triglicéridos) obtenidos en este estudio,

## V. CONCLUSIONES.

No obstante que las variables fisiológicas FR, TR y TV fueron disminuidas por el enfriamiento artificial, no fue suficiente para mejorar la tasa de concepción.

A pesar de la efectividad del sistema de enfriamiento no se observaron diferencias importantes en los niveles séricos de progesterona.

Los niveles metabolitos en sangre fueron similares entre grupos, a excepción del colesterol el cual presento mayores cantidades en el grupo bajo enfriamiento del día 6 al 15 post-inseminación.

La tasa de concepción en vaquillas inseminadas con semen sexado durante la época de verano fue baja en ambos tratamientos aun y cuando el grupo bajo enfriamiento mostro un mejor confort indicado por las variables fisiológicas evaluadas, lo que sugiere que utilizar semen sexado en verano no es una opción viable, dadas las condiciones climáticas y de manejo observadas durante el estudio.

Cuadro 1. Ingredientes contenidos en la dieta y su composición química en base seca.

Ingredientes	Porcentaje
Ensilado 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	Porcentaje
Materia seca (MS)	89.98
Humedad	10.02
Proteína cruda	13.53
Extracto etéreo	2.00
Cenizas	11.40
Fibra Detergente Acida ( FDA)	42.43

Cuadro 2. Condiciones climatológicas registradas durante el desarrollo del experimento y categorización de los niveles del Índice de temperatura – humedad (Media  $\pm$  EE).

Parámetro	Categorías de estrés calórico		
	Alerta	Peligro	Emergencia
Número de días	16	37	21
N	1536	3552	2016
Temperatura ambiente, ° C	31.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	32.9 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	35.0 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>
Humedad relativa, %	32.4 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup>	47.45 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	46.0 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>
Velocidad del viento, m/s	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.7 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>
Radiación solar, W/m <sup>2</sup>	270.9 $\pm$ 16.1 <sup>a</sup>	251.4 $\pm$ 10.6 <sup>a</sup>	263.0 $\pm$ 14.1 <sup>a</sup>
Índice de Temperatura y humedad	76.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	81.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	83.5 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> Medias con distinta literal indican diferencia significativa (P<0.0001).

N, número de observaciones.

Categorías asignados al estrés por calor, basados en el índice de temperatura y humedad promedio diario (ITH): Normal: máximo ITH <74. Alerta: ITH  $\geq$ 74, máximo ITH < 78. Peligro: ITH  $\geq$  78 máximo ITH < 84. Emergencia: máximo ITH  $\geq$  84.

Normal: no se registraron valores dentro de este rango.

Cuadro 3. Promedios generales de variables climatológicas antes (PRE) y después (POST) de la IA durante el desarrollo del estudio.

	Periodos		Promedio General	Rangos
	PRE- IA	POST- IA		
<b>Temperatura Ambiente, °C</b>				
Día	35.2	35.3	35.25	25.4 - 40.1
Noche	30.3	32.0	31.15	25.1 - 38.2
<b>Velocidad de viento, m/s</b>				
Día	2.8	2.9	2.8	0.8 - 5.0
Noche	2.4	3.0	2.7	0.9 - 5.6
<b>Humedad relativa, %</b>				
Día	33.8	45.2	39.5	18.9 - 69.5
Noche	43.2	53.1	48.1	22.6 - 69.4
<b>Radiación solar, W/m<sup>2</sup></b>				
Día	539.4	470.1	504.7	60.9 - 816.3
Noche	17.1	9.6	13.3	0.0 - 168.5
<b>Unidades de ITH</b>				
Día	81.1	83.7	82.4	73.8 - 85.2
Noche	77.2	81.1	79.1	72.8 - 84.6

Día 06:00 --- 17:00  
 Noche 18:00 --- 05:00  
 IA: Inseminación artificial

Cuadro 4. Respuestas fisiológicas de vaquillas bajo enfriamiento artificial durante el verano e inseminadas con semen sexado (Media  $\pm$  EE).

Tratamientos	Frecuencia respiratoria		Temperatura rectal (°C)		Temperatura Vaginal (°C)	
	PRE - IA	POST- IA	PRE- IA	POST- IA	PRE-IA	POST- IA
SE	82.2 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	81.2 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	39.5 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	39.2 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	---	39.0 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
SS	96.6 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>	92.9 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	40.2 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	39.9 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	---	39.5 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Medias con distinta literal dentro de las columnas indican diferencia significativa (P<0.0001).

SE: Semen sexado con Enfriamiento artificial.

SS: Semen sexado con Sistema de sombra.

PRE-IA: Antes de la Inseminación artificial.

POST-IA: Después de la inseminación artificial.

(---): Datos no obtenidos.

Cuadro 5. Tasa de concepción (%) de vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano.

Tratamientos	30 días	60 días	90 días
SE	17.5 ( 7/40) <sup>a</sup>	17.5 ( 7/40) <sup>a</sup>	17.5 ( 7/40) <sup>a</sup>
SS	12.5 ( 5/40) <sup>a</sup>	12.5 ( 5/40) <sup>a</sup>	12.5 ( 5/40) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Valores con la misma literal dentro de las columnas indican no diferencia significativa (P=0.53).

SE Semen sexado con Enfriamiento artificial.

SS: Semen sexado con Sistema de sombra.

Cuadro 6. Concentración sérica de metabolitos en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano.

Días	Glucosa		Colesterol		Triglicéridos	
	SE	SS	SE	SS	SE	SS
0	51.78 ± 3.0 <sup>a</sup>	57.60 ± 2.9 <sup>a</sup>	131.86 ± 5.2 <sup>a</sup>	117.20 ± 5.0 <sup>b</sup>	37.85 ± 1.6 <sup>a</sup>	39.53 ± 1.5 <sup>a</sup>
3	55.12 ± 2.8 <sup>a</sup>	55.66 ± 2.9 <sup>a</sup>	125.94 ± 4.9 <sup>a</sup>	115.13 ± 5.0 <sup>a</sup>	37.62 ± 1.5 <sup>a</sup>	38.40 ± 1.5 <sup>a</sup>
6	56.46 ± 2.9 <sup>a</sup>	52.73 ± 2.9 <sup>a</sup>	130.20 ± 5.0 <sup>a</sup>	110.93 ± 5.0 <sup>b</sup>	35.53 ± 1.5 <sup>a</sup>	38.26 ± 1.5 <sup>a</sup>
9	55.46 ± 2.9 <sup>a</sup>	58.33 ± 2.9 <sup>a</sup>	130.87 ± 5.0 <sup>a</sup>	111.40 ± 5.0 <sup>b</sup>	36.60 ± 1.5 <sup>a</sup>	38.00 ± 1.5 <sup>a</sup>
12	55.46 ± 2.9 <sup>a</sup>	52.40 ± 2.9 <sup>a</sup>	130.93 ± 5.0 <sup>a</sup>	114.27 ± 5.0 <sup>b</sup>	37.60 ± 1.5 <sup>a</sup>	38.06 ± 1.5 <sup>a</sup>
15	50.86 ± 2.9 <sup>a</sup>	57.53 ± 2.9 <sup>a</sup>	131.67 ± 5.0 <sup>a</sup>	116.07 ± 5.0 <sup>b</sup>	37.93 ± 1.5 <sup>a</sup>	37.26 ± 1.5 <sup>a</sup>
18	55.10 ± 3.5 <sup>a</sup>	58.33 ± 4.6 <sup>a</sup>	134.30 ± 6.2 <sup>a</sup>	121.17 ± 8.0 <sup>a</sup>	37.10 ± 1.9 <sup>a</sup>	33.66 ± 2.4 <sup>a</sup>
21	52.28 ± 4.2 <sup>a</sup>	61.33 ± 6.5 <sup>a</sup>	122.31 ± 7.4 <sup>a</sup>	114.33 ± 11 <sup>a</sup>	38.14 ± 2.3 <sup>a</sup>	30.33 ± 3.5 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup>. Medias con distinta literal dentro de las columnas indican diferencia significativa (P<0.05).

SE: Enfriamiento artificial.

SS: Sistema de sombra.

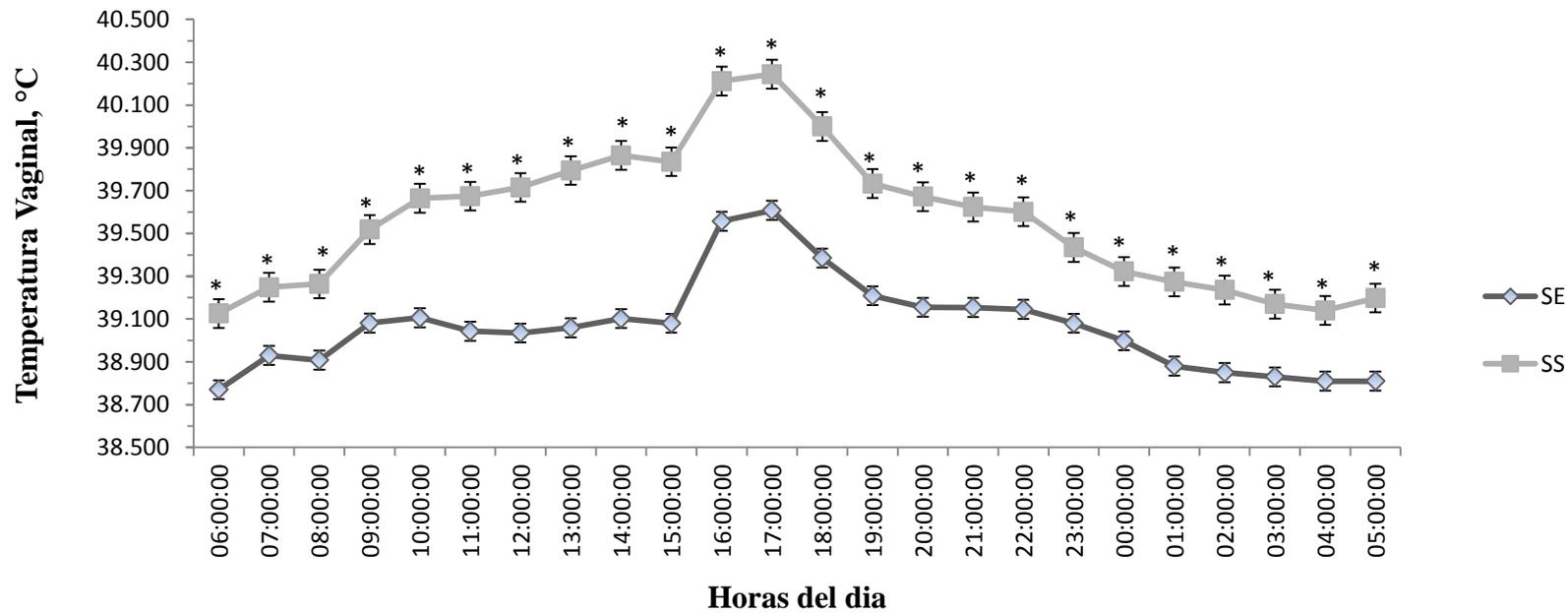


Figura 1. Promedios de temperaturas vaginales durante el día y la noche en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano.

SE: Enfriamiento artificial

SS: Sistema de sombra

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

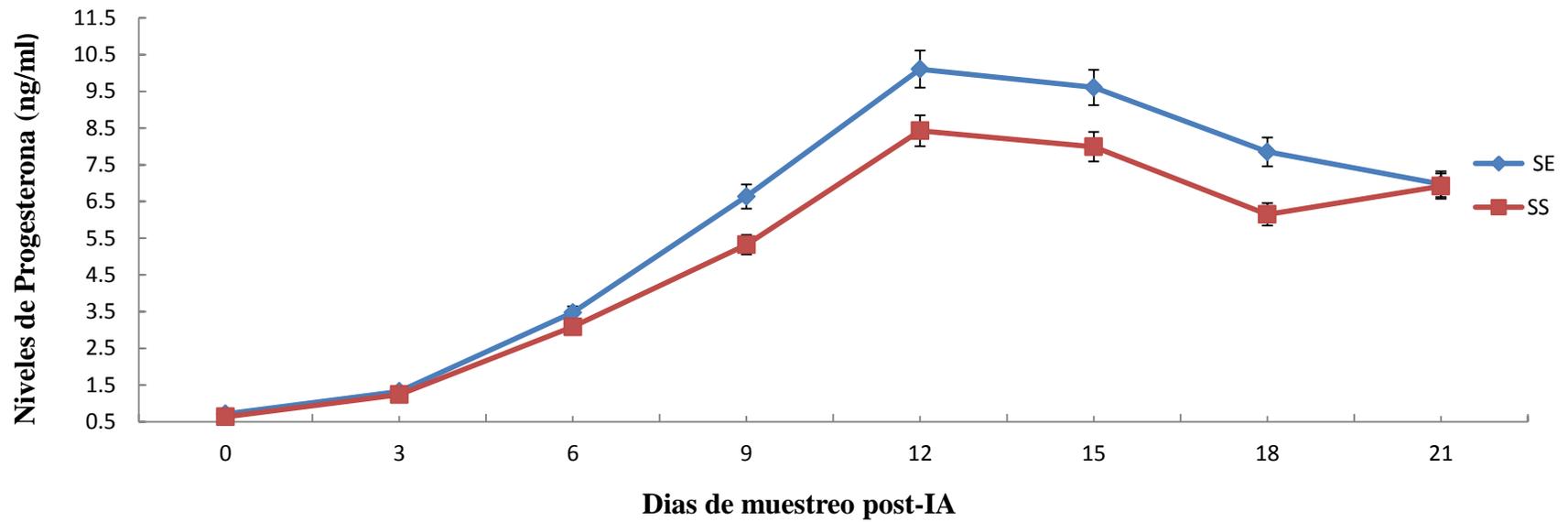


Figura 2. Niveles de progesterona a diferentes días post-IA en vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado en época de verano.

SE: Enfriamiento artificial

SS: Sistema de sombra

No diferencia entre tratamientos ( $P > 0.05$ )

## VI. LITERATURA CITADA

- Abdullah, R.B., Embong, W.K.W, Soh, H.H. 2011. Biotechnology in Animal Production in Developing Countries. In: 2nd International Conference on Agricultural and Animal Science IPCBEE vol. 22, IACSIT Press, Singapore.
- Antoncic-Svetina, M.A., R.B, Turk., A.B, Svetina., D.C, Geres., B.D, Rekić., D, Juretic. 2011. Lipid status, paraoxonase-1 activity and metabolic parameters in serum of heifers and lactating cows related to oxidative stress. *Res. Vet. Sci.* 90: 298–300.
- Armstrong, D.V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. Symposium: Nutrition and heat stress. *J. Dairy Sci.* 77:2240-2250.
- Avendaño-Reyes, L., Alvarez-Valenzuela, F.D., Correa-Calderon, A., Algandar-Sandoval, A., Rodriguez-Gonzales, E., Peres-Velazquez, R., Macias-Cruz, U., Diaz-Molina, R., Robinson, P.H., Fadel, J.G. 2010. Comparison of three cooling management systems to reduce heat stress in lactating Holstein cows during hot and dry ambient conditions. *Livestock Sci.* 132: 48–52.
- Bailey, T. and J. Currin, 1999. Heifer inventory and the economics of replacement rearing, Virginia cooperative extension. Virginia Tech and Virginia State University, USA, Virginia. Publication No. 404-287.
- Beede, D.K and R.J, Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci.* 62: 543–554.
- Bennet, G.L, and K.E, Gregory. 2001. Genetic (co)variances for calving difficulty score in composite and parental populations of beef cattle: I. Calving difficulty score, birth weight, weaning weight, and post weaning gain. *J. Anim. Sci.* 79:45-51.

- Berman, A. 2010. Forced heat loss from body surface reduces heat flow to body surface. *J. Dairy Sci.* 93:242-248.
- Berman, A., Y, Folman, M. Kaim., M, Mamen., Z, Herz., D, Wolfenson., A, Arieli., A, Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68: 1488-1495.
- Boe-Hansen, G.B., I.D, Morris., T.G, Ersboll., P, Christensen. 2005. DNA integrity in sexed bull sperm assessed by neutral comet assay and sperm chromatin structure assay. *Theriogenology*, 63:1789–1802.
- Bohmanova, J., I. Misztal., J.B, Cole. 2007. Temperature-Humidity Indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947–1956
- Bond, J., and R, McDowell. 1972. Reproductive performance and physiological responses of beef females as affected by a prolonged high environmental temperature. *J. Anim. Sci.* 35:820-829.
- Bouraoui, R., M. Lahmar, A. Majdoub., M. Djemali., and R. Belyea. 2002. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim. Res.* 51:479–491.
- Bling, J., and K.G, Johnson. 1973. Glossary of terms for thermal physiology. *J. Appl. Physiol.* 35: 941-945.
- Braden, A., and G. Moule. 1964. Effects of stress on ovarian morphology and estrus cycles in ewes. *J. Agr. Res.* 15(6) 937 - 949
- Brown-Brandl, T.M., J.A, Nienaber., R.A, Eigenberg., G.L, Hahn. 2005. Relative heat tolerance among cattle of different genetics. Proceedings 16th Biometeorology and Aerobiology. Conference, Vancouver, British Columbia, Canada.

- Bucklin, R. A., L. W. Turner, D. K. Beede, D. R. Bray, and R. W. Hemken. 1991. Methods to relieve heat stress for dairy cows in hot, humid climates. *Appl. Eng. Agric.* 7(2) 241–247.
- Callejas, A.J. 2013. Evaluacion del uso de semen sexado en vaquillas Holstein de reemplazo. Tesis de Maestria. Universidad Autonoma de Baja California.
- Cartmill, J.A., S.Z, El-Zarkouny., B.A, Hensley., T.G, Rozell., J.F, Smith., J.S, Stevenson. 2001. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. *J. Dairy Sci.* 84:799-806.
- Cena, K., and K, Monteith. 1975. Transfer processes in animal coats. Radiative transfer. *Rev. Soc. Lond.* 188: 377-393
- Chebel, C.R., A, Braga., J.C, Dalton. 2007. Factors affecting reproductive performance of Holstein heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 101: 208–224
- Christopherson, J.R. 1985. Management and housing of animals in cold environments. in: M.K. Yousef (Ed.) *Stress Physiology in Livestock. Ungulates. II.* Pp. 175–194. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Chrousos, G.P., D.J, Torpy., P.W, Gold. 1998. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann. Intern. Med.* 129:229-240.
- Colitti M., S, Sgorlon., G, Stradaioli., M, Farinacci., G, Gabai., B, Stefano. 2007. Grape polyphenols affect mRNA expression of PGHS-2, TiS11b and FOxO3 in endometrium of heifers under ACTH-induced stress. *Theriogenology* 68(7):1022-1030.
- Collier, R.J., G.E, Dahl., M.J, VanBaale. 2006. Major Advances Associated with Environmental Effects on Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244–1253.

- Coppock, C.E., P.A, Grant., S.J, Portzer., D.A, Charles., A, Escobosa. 1982. Lactating dairy cow responses to dietary sodium, chloride, and bicarbonate during hot weather. *J. Dairy Sci.* 65: 566–576.
- Correa-Calderon, A., D, Armstrong., D, Ray., S, De Nise., M, Enns. C, Howinson. 2004. Thermoregulatory responses of Holstein and Brown Swiss heat stressed dairy cows to two different cooling systems. *Int. J. Biometeorol.* 48 (3):142-148.
- Correa-Calderón, A., G. Des Santos, L. Avendaño, F. Rivera, D. Alvarez, F. Ardon, R, Díaz y R. Collier. 2009a. Enfriamiento artificial y tasa de concepción de vaquillas Holstein con estrés térmico. *Arch. Zootec.* 58: 231-239.
- Correa-Calderón, A. C. Leyva, L. Avendaño, F. Rivera, R. Díaz, F.D. Álvarez, F. Ardon, F. Rodríguez. 2009b. Effect of artificial cooling and its combination with timed artificial insemination on fertility of Holstein heifers during the summer. *J. Appl. Anim. Res.* 35: 109-112.
- Crossley, J. Termorregulación en especies domésticas, importancia productiva y clínica. *Monografías de Medicina Veterinaria*, [S.l.], v. 10, n. 2, ene. 1988. ISSN 0716-226X. Disponible en: <http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/4916/4800>>. Fecha de acceso: 05 nov. 2014.
- Cunningham, E.P. 1999. The application of biotechnologies to enhance animal production in different farming systems. *Livest. Prod. Sci.* 58:12-24
- Dalton, J. 2010. Maneje el semen sexado con cuidado. ABS Global, inc. DeForest, WI USA.

- De Vries, M., M, Overton., J, Fetrow., K, Leslie., S, Eicker., G, Rogers. 2007. Exploring the impact of semen on the structure of the dairy industry. *J. Dairy Sci.* 91:847–856.
- Den Daas, J.H., G, DeJong., L.A, Lansbergen., M, Van Wagendonk. 1998. The relationship between the number of sperm inseminated and the reproductive efficiency of individual dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 81:17–23.
- DeJarnette, J. M., C. R, Mc Cleary., M. A, Leach., J. F, Moreno., R. L, Nebel., C.E, Marshall. 2010. Effects of 2.1 and 3.5×10<sup>6</sup> sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. *J. Dairy Sci.* 93(9): 4079–4085.
- DeJarnette, J. M., R.L, Nebel., C.E, Marshall. 2009. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology* 71:49–58
- DeJarnette, J. M., R. L. Nebel, B. Meek, J. Wells, and C. E. Marshall.2007. Commercial application of sex-sorted semen in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 90:228.
- De Rensis, F., and R.J, Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. *Theriogenology* 60:1139–1151.
- Dingwell, R.T., M.M, Wallace., C.J, McLaren., C.F., Leslie., K.E, Leslie. 2006. An evaluation of two indirect methods of estimating body weight in holstein calves and heifers. *J. Dairy Sci.* 89:3992–3998.
- Dobson, H., and R.F, Smith. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:743-752.
- Doney, J.M., R.G, Gunn., J.G, Griffiths. 1973. The effect of pre mating stress on the onset of estrus and on ovulation rate in Scottish Blackface ewes. *J. Reprod. Fertil.* 35:381-384.
- Ealy, A.D., M, Drost., P.J, Hansen. 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J. Dairy Sci.* 76:899-907.

- Ehnert, K., and G.P, Moberg. 1991. Disruption of estrous behavior in ewes by dexamethasone or management related stress. *J. Anim Sci.* 69:88-94.
- Engelken, T.J. 2008. Developing replacement beef heifers. *Theriogenology* 70: 569–572.
- Esmay, M.L., 1969. *Principles of Animal Environment*. Avi Publishing Co Inc. Westport, CT.
- Faber, D.C., J.A, Molina., C.L, Ohlrichs., D.F, Vander., L.B, Ferre. 2003. Commercialization of animal biotechnology. *Theriogenology* 59: 125-138.
- Ferin, M. 2006. Stress and the reproductive cycle. *J. Clin. End. & Metab.* 84:1768-1774.
- Fox, D.G and T.P, Tylutki. 1998. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81: 3085–3095.
- Franco, A.M., E, Titto., P, Infante., G, Cristeane., A.M, Geraldo., A, Alves., T.M, Leme., F, Baccari., J.A, Almeida. 2014. Evaporative heat loss in *Bos taurus*: do different cattle breed scope with heat stress in the same way? *J. Therm. Biol.* 45:87–95.
- Fuquay, J.W. 1981. Heat stress as it affects animal reproduction. *J. Anim. Sci.* 52:164-174.
- García-Ispuerto, I., F. López-Gatius, G. Bech-Sabat, P. Santolaria, J. L. Yániz, C. Nogareda, F. De Rensis, and M. López-Béjar. 2007. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology*; 67:1379–1385.
- Garner, D.L. 2006. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology* 65(5):943-957.
- Garner, D.L., and G.E, Seidel Jr. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69: 886–895.
- Gaughan, J.B., T.L, Mader., S.M, Holt., M.J, Josey., K.J, Rowan. 1999. Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. *J. Anim. Sci.* 77: 2398–2405

- Gebremedhin, K.G. and B, Wu. 2001. A model of evaporative cooling off with skin surface and fur layer. *J. Thermal Biol.* 26: 537-545.
- George, P., and P. Patterson. 1992. Determination of reproductive fertility sires. *J. Anim. Sci.* 71: 52-59.
- Goppelt, S.M. 1997. Molecular mechanisms involved in the regulation of prostaglandin biosynthesis by glucocorticoids. *Biochem Pharmacol.* 53:89-95.
- Gurtler, H., H.A. Ketz, E. Kolb, L. Schroder, H. Seidel. 1976. *Fisiologia veterinaria*. 2da. Edición, Editorial Acribia. Pp: 440.
- Hahn, G.L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 77:10-20.
- Hahn, G.L. 1976. Shelter engineering for cattle and other domestic's animals, progress in *Animal. Meteorology*, Vol. 1. Pp.496.
- Hansen, G. R. 2006. Select the sex of your next calf prior to mating: Using sexed semen. IFAS Extension. AN163. Cooperative Extension Service. EE.UU. University of Florida.
- Healy, A.A., J.K, House., P.C, Thompson. 2013. Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 96 :1905–1914.
- Heinrichs, A.J. 1992. Raising Dairy Replacement to meet the needs of the 21<sup>st</sup> century. *J. Dairy Sci.* 76:3179-3187.
- Hillman, P. E. and K.G. Gebremedhin. 1999. A portable calorimeter to measure heat transfer in livestock. *Am. Soc. Agric. Engineers*. Paper No. 994212.
- Hohenboken, W.D. 1999. Applications of sexed semen in cattle production *Theriogenology* 52:1421-1433.

- Howell, J.L., J.W, Fuquay., A.E, Smith. 1994. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J. Dairy Sci.* 77:735-739.
- Hultgren, J., C, Svensson., D, Maizon, P, Oltenacu. 2008. Rearing conditions, morbidity and breeding performance in dairy heifers in southwest Sweden. *Prev. Vet. Med.* 87:244-260.
- Igono, M.O., G. Bjotvedt., H.T, Sanford-Crane. 1992. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. *Int J. Biometeorol.* 36: 77-87.
- Ingram, D.L. 1975. The efficiency of operant thermoregulatory behavior in pigs as determined from the rate oxygen consumption. *Pflugers. Arch.* 353(2):139-149
- Itoh, F., Y. Obara, M.T. Rose, H. Fuse, H. Hashimoto. 1998. Insulin and glucagon secretion in lactating cows during heat exposure. *J. Anim. Sci.* 76:2182-2189.
- Johnson, H.D. 1976. World climate and milk production. *Int. J. Biometeorol.* 20 (1): 171–180.
- Johnson, H.D. 1980. Environmental management of cattle to minimize the stress of climatic changes. *Int. J. Biometeorol.* 24: 65-73
- Johnson, L.A., G.R, Welch. 1999. Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology* 52:23–41.
- Jutzi, S. 2003. Applications of gene-based technologies for improving animal production and health in developing countries. *FAO/IAEA International Symposium, Vienna, Austria.*
- Kadzere, C.T., M.R, Murphy., N, Silanikove., E, Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77: 91-95.

- Keown, J.F., and R.W, Everett. 1986. Effects of days carried calf, days dry, and weight of first calf heifers on yield. *J. Dairy Sci.* 69:1891-1899.
- Kendall, P.E., P.P, Nielsen., J.R, Webster., G.A, Verkerk., R.P, Littlejohn., L.R, Matthews. 2006. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. *Livest. Prod. Sci.* 103:148–157.
- Larson, J.E., G.C, Lamb., B.J, Funnell., S, Bird., A, Martins., J.C, Rodgers. 2010. Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexed-sorted or conventional, frozen-thawed semen. *Theriogenology* 73:698–703.
- Lopez-Gatius, F. 2012. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows. A review. *Theriogenology* 77: 1029–1041.
- Lucy, M.C. 2003. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *J. Reprod.* 61:15-27.
- Lu, K.H., and G.E, Seidel Jr. 2004. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage and blastocyst development rates of bovine oocytes inseminated with flow Cytometrically–sorted sperm. *Theriogenology.* 62: 819–830.
- Marai, I.F.M., EI-Darawany,A.A., Fadiel, A .,Abdel-Hafez, M.A.M. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Ruminant Res.* 71: 1–1.
- Marín, A., J.C. Tinoco, J. Herrera, L. Sánchez, V. Sánchez, J.L. Solorio, A. Garcia. 2007. Reinicio de la actividad ovárica y nivel de metabolitos de lípidos en vacas lecheras suplementadas con aceite vegetal durante el postparto temprano. *Interciencia.* 32(2):180-184.
- Matteri, R.L., J.A, Carroll., C.J, Dyer. 2000.. *The Biology of animal stress.* Ed. CAB International. NY, USA. Pp: 43-45.

- Maxwell, W.M.C., C.R, Long., L.A, Johnson., J.R, Dobrinsky., G.R, Welch. 1998. The relationship between membrane status and fertility of boar spermatozoa after flow cytometric sorting in the presence or absence of seminal plasma. *J. Reprod. Fertil. Dev.* 10: 33–40.
- McDonald, L.E. 1983. *Reproducción y Endocrinología Veterinarias*. Ed. Interamericana, México. Pp:201-221, 236-259 y 338-340.
- Mohd Nor, N., Steeneveld, W., Mourits, M.C.M., Hogeveen, H. 2014. The optimal number of heifer calves to be reared as dairy replacements. *J. Dairy Sci.* Publication stage: In Press Corrected Proof.
- Moyano, B.M.A y Rodriguez, C.E. 2014. Suplementacion energética y sus efecto en el nivel de colesterol y el perfil hormonal preovulatorio en vacas. *Rev. Salud Anim.* 36 (2): 90-96
- Muller, C.J., and J.A, Botha. 1993. Effect of summer climatic conditions on different heat tolerance indicators in primiparous Friesian and Jersey cows. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 23: 98–103.
- Nicholas, F.W. 1996. Genetic improvement through reproductive technology. *Anim. Reprod. Sci.* 42:205-214.
- Niswender, G.D., J.L, Juengel., P.J, Silva., M.K, Rollyson., E.W, Macintosh. 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.* 80:1-29.
- Norman, H.D., J.L, Hutchison., R.H, Miller. 2010. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holstein in the United States. *J. Dairy Sci.* 93 (8): 3880-3890.

- O'Brien, M.D., R.P., Rhoads., S.R., Sande., G.C, Duff., L.H, Baumgard. 2010. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. *Domest Anim Endocrin.* 38: 86–94
- Oses, M.V., M.T, Teruel., J.A, Cabodevilla. 2009. Utilización de semen bovino sexado en inseminación artificial, transferencia embrionaria y fertilización in vitro. *Rev. Vet.* 20(2): 138–145.
- Patterson, D.J., R.C, Perry., G.H, Kiracofe., R.A, Bellows., R B, Staigmiller., L.R. Corah. 1992. Management considerations in heifer development and puberty. *J. Anim. Sci.* 70:4018-4035.
- Parquer, R. 1996. Desarrollo de vaquillas de reemplazo con excelente nutrición y manejo. *Rev. Mexico-Holstein*, volume 27(4):5-8.
- Ravagnolo, O., I. Misztal, and G. Hoogenboom. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J. Dairy Sci.* 83(9) :2120–2125.
- Radke, B. R., J.W, Lloyd., J.R, Black., S, Harsh. 2005. The value of genetic information in selecting dairy replacements. *Prev. Vet. Med.* 71(1-2) :71–81.
- Redden, KD., A.D, Kennedy., J.R, Ingalls., T.L, Gilson. 1993. Detection of estrus by radio telemetric monitoring of vaginal and ear skin temperature and pedometer measurements of activity. *J. Dairy Sci.* 76:713-721.
- Rhoads, M.L, R.P, Rhoads., M.J, Van Baal., R.J, Collier., S.R, Sanders., W.J, Weber., B.A, Crooker., L.H, Baumgard. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. production, metabolism and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.* 92:86–97.
- Richard, W., Hill, G., Wise, A. 2006. *Fisiología animal*. Ed. Médica panamericana. Pp: 261-263.

- Roman-Ponce, H., W. W. Thatcher, D. E. Buffington, C. J. Wilcox, and H. H. VanHorn. 1977. Physiological and production responses of dairy cattle to a shade structure in a subtropical environment. *J. Dairy Sci.* 60:424–430.
- Ronchi, B., G. Strada, I. Lib, A. Verini, Supplizic, U. Bernabuccia, N. Lacetera, P.A. Accorsi, A. Nardone, E. Seren. 2001. Influence of heat stress 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., Y. Folman, Z. Herz, I. Flamenbaum, A. Berman, and M. Kaim. 1982. Effect of climatic conditions on peripheral concentrations of LH, progesterone and oestradiol-17 $\beta$  in high milk yield cows. *J. Reprod. Fertil.* 66 (1):139-146.
- Salem, M.H., Yousef, M.K., El-Sherbiny, A.A., Khalili, M.H., 1982. Physiology of sheep and goats in the tropics. In: Yousef, M.K. (Ed.), *Animal Production in the Tropics*. Praeger, New York, pp. 148–157.
- 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. Universidad Autónoma de Baja California.
- SAS. 2004. *SAS/STAT Users Guide*, version 9.1.3, Cary, NC: SAS Institud Inc.USA
- Schutz, K.E., A.R, Roger., Y.A, Pouloni., N.R, Cox., C.B, Tucker. 2010. The amount of shade influences on the behavior and physiology of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93: 125-133.
- Seidel Jr, G.E. 2007. Overview of sexing sperm. *Theriogenology* 68:443–446.
- Seidel, G.E. 2011. Profitable uses of sex-sorted semen. *Animal Reproduction and Biotechnology. Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*. Aug 31 – Sep1. Conf. pp. 350-352. Joplin, MO.

- 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. 2003. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. *Theriogenology* 59:585-598.
- Seidel Jr, G.E., Garner, D.L. 2002. Current status of sexing mammalian spermatozoa. *J. Reprod. Sci.* 124:33–43.
- Sharpe, J.C, and K.M, Evans. 2009. Advances in flow cytometry for sperm sexing. *Theriogenology* 71: 4–10.
- Shearer, J. K., D.K, Beede., D.R, Bray., R.A, Bucklin. 1999. Managing during heat stress. *Tri-Sri-State Dairy Nutrition Conference*. Pp. 98-110.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 67:1–18.
- Smith, T.R, A. Chapa., S, Willard., C, Herndon., R.J, Williams., J, Crouch., T, Riley., D, Pogue. 2006. Evaporative tunnel cooling of dairy cows in the southeast. I: effect on body temperature and respiration rate. *J. Dairy Sci.* 89(10): 3904-3914
- SMN, 2010. Sistema Meteorológico Nacional. Disponible en: [http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=42&Itemid=28](http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=28). Consultado el día 22 de noviembre del 2013.
- Spire, M.F. Managing replacement heifers from weaning to breeding. *Vet Med* 1997;92:182–92.
- Srikandakumar, A. and E.H. Johnson. 2004. Effects of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian milking zebu cows. *Trop. Anim. Health Prod.* 36:685-692.

- Stevenson, J.S., and A, Ahmadzahed. 2011. Replacement management in cattle breeding standars and pregnancy management. *Encyclopedia of Dairy Sci.* (Second Edition) 410–416.
- Stott, G.H. 1981. What is animal stress and how is it measured? *J. Anim. Sci.* 52:150-153.
- Staples, C.R., J.M, Burke, W.W, Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:856–871.
- Taylor, R.L., O.F. Pahnish, C.B. Roubicek, W.H. Hale. 1966. Plasma cholesterol concentration in supplemented range cattle. *J. Anim. Sci.* 25:1035-1039.
- Thompson, G.E. 1984. Lactating and the thermal environment. *Stress Physiology in Livestock conference* Pp.122. Boca Raton, FL.
- Tozer, P.R., and A.J, Heinrichs. 2001. What Affects the Costs of Raising Replacement Dairy Heifers: A Multiple-Component Analysis. *J. Dairy Sci.* 84:1836–1844.
- Tucker, C.B., R.R, Andrea., K.E, Schutz. 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
- Uribe-Velásquez, L.F, E, Oba., L.A, Brasil., F.N, Souza, F.S, Wechsler. 2001. Efeitos do estresse termico nas concentracoes plasmaticas de progesterona (P4) e estradiol 17-b (E2) e temperatura retal em cabras da raça Pardo Alpina. *Rev. Bras. Zoot.* 30(2):388-393.
- Vélez, M.M., V.L, Uribe. 2010. ¿Cómo afecta el estrés calórico a la Reproduccion? *Biosalud* 9(2); 83-95.
- Vitali, A., M. Segnalín, L. Bertocchi, U. Bernabucci, A. Nardone, N. Lacetera. 2009. Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature-humidity index in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 3781–3790.

- De Vries, A., M, Overton., J. Fetrow., K, Leslie., S, Eicker., G, Rogers. 2007. Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *J. Dairy Sci.* 91:847–856.
- Walsberg, G.E., and B.O, Wolf. 1995. Effects of solar radiation and wind speed on metabolic heat production by two mammals with contrasting coat colours. *J. Exp. Biol.* 198:1499 –1507.
- Waterman, R.C., T.W, Geary., J.A, Paterson., R.J, Lipsey. 2012. Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production system: II. Development of replacement heifers weaned at 80 or 215 of age. *Livest. Prod. Sci.* 148: 36–45.
- Weigel, K.A. 2004. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. *J. Dairy Sci.* 87:120–130.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 86:2131-2144.
- Wheeler, M.B., J.J, Rutledge., A.F, Brown., T, VanEtten., S, Malusky., D.J, Beebe. 2006. Application of sexed semen technology to in vitro embryo production in cattle. *Theriogenology* 65:219–227.
- Wheelock, B., R.P. Rhoads, M.J. VanBaale, S.R. Sanders, L.H. Baugard. 2010. Effects of heat-stress on energetic metabolism in lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93:644-655.
- Wise, M.E., V, Armstrong, J.T, Huber, R. Hunter, F, Wiersma. 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J. Dairy Sci.* 71:2480-2485.
- Wolfenson, D., I. Flamenbaum, and A. Berman. 1988. Hyperthermia and body energy store effects on estrous behavior, conception rate, and corpus luteum function in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:3497–3504.

- Wolfenson, D., Z, Roth., R, Meidan. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 81:390-402.
- Yousef, M.K., 1985. In: *Basic Principles. Stress Physiology in Livestock*, Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Young, B.A. 1981. Cold stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52:154.