

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS



**EFFECTO DEL ENFRIAMIENTO ARTIFICIAL EN VAQUILLAS
HOLSTEIN ESTRESADAS POR CALOR E INSEMINADAS CON
SEMEN SEXADO**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

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

PRESENTA

GUSTAVO FRANCISCO OROZ ROJO

DIRECTOR DE TESIS

Ph. D ABELARDO CORREA CALDERÓN

MEXICALI, B.C. MÉXICO

NOVIEMBRE 2015

La presente tesis titulada “**EFFECTO DEL ENFRIAMIENTO ARTIFICIAL EN VAQUILLAS HOLSTEIN ESTRESADAS POR CALOR E INSEMINADAS CON SEMEN SEXADO**”, realizada por el C. Gustavo Francisco Oroz Rojo, fue dirigida por el Dr. Abelardo Correa Calderón siendo aceptada, revisada y aprobada por el Consejo Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Consejo Particular

Ph. D. Abelardo Correa Calderón

Director de tesis

Dr. Fernando Rivera Acuña

Secretario

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes

Sinodal

Dr. Ulises Macías Cruz

Sinodal

AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIA

Contenido

LISTA DE CUADROS.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
RESUMEN	viii
SUMMARY	1
I.- Introducción.....	1
II. Revisión de literatura	3
2.1 Sexado del esperma	3
2.2 Ventajas y desventajas del semen sexado	4
2.3 Estacionalidad y el semen sexado	6
2.4 Factores que afectan la eficiencia reproductiva de vaquillas	6
2.4.1Clima.....	6
2.4.2 Nutrición.....	7
2.5 Estrategias de manejo para reducir el estrés calórico	8
2.6 Respuesta fisiológica al estrés calórico	9
2.7 Reconocimiento materno	11
III.- Materiales y métodos	12
3.1. Ubicación geográfica	12
3.2. Unidades experimentales y tratamientos.....	12
3.3. Sistema de enfriamiento	13
3.4. Instalaciones y manejo de las unidades experimentales	13
3.5. Datos climáticos	14
3.6. Variables de estudio.....	15
3.6.1. Frecuencia respiratoria y Temperatura rectal	15
3.6.2. Temperatura Vaginal.....	15
3.6.3. Progesterona y metabolitos	16
3.7 Análisis estadístico	16
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1 Condiciones climáticas	17
4.2 Variables Fisiológicas.....	18
4.2.1 Frecuencia respiratoria	18
4.2.2 Temperatura rectal	19

4.2.3 Temperatura Vaginal.....	20
4.3 Concentraciones de Progesterona	20
4.4 Taza de concepción	22
V.- Literatura citada.....	31

LISTA DE CUADROS

	Paginas
Cuadro1. Ingredientes y análisis bromatológico -----	25
Cuadro 2. Promedios generales de las variables climáticas registradas durante la época de verano-----	26
Cuadro 3. Respuesta fisiológica en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano (Media \pm EE).-----	26
Cuadro 4. Tasa de concepción a primer servicio en vaquillas Holstein inseminadas con semen sexado durante la época de verano.-----	28

Lista de Figuras

Figura 1 Promedio de temperatura vaginal durante el día y la noche de vaquillas holstein inseminadas con semen sexado en la época de verano (Media \pm EE) -----	27
Figura 2 Concentraciones de progesterona de vaquillas holstein gestantes y no gestantes inseminadas con semen sexado durante la época de verano-----	29
Figura 3 concentraciones de progesterona de vaquillas holstein bajo enfriamiento artificial y solo sombra inseminadas con semen sexado durante la época de verano -----	30

RESUMEN

SUMMARY

I.- Introducción

Desde el inicio del uso de la IA (inseminación artificial) en la industria lechera se ha buscado la manera de poder manipular el semen para la producción de progenie basada en un porcentaje mayor de hembras. Esta tecnología está disponible en la actualidad y al alcance del productor. Dentro de sus ventajas esta un aceleramiento del mejoramiento genético y como consecuencia la producción de leche, reducción de partos distócicos y una mejora en la bioseguridad de las granjas entre otras. La desventaja de usar semen sexado es que su tasa de concepción es de alrededor de un 30% menos que el semen convencional. A la reducción de 30% en la concepción se le puede adicionar un porcentaje más por efecto del estrés calórico cuando este semen sea utilizado en verano, por lo que actualmente solo es usado en la época de invierno en el valle de Mexicali, lo que limita su potencial beneficio. La manipulación ambiental basada en el uso de equipos de enfriamiento bajo el área de la sombra ha mostrado mejorar la fertilidad del ganado lechero en verano. Por lo tanto el combinar el uso de semen sexado con enfriamiento artificial en verano puede permitir mantener la tasa de concepción similar a la época de invierno.

Otra limitante del semen sexado es que su uso se recomienda solo en vaquillas y que estas muestren síntomas visibles de estro. No obstante lo anterior, la tasa de concepción con el uso el semen convencional en vaquillas vírgenes es de 55 a 65% mientras que con el semen sexado se reduce a 35 - 40% (Weigel, 2004a). La disminución de la fertilidad del semen sexado ha sido atribuida a diferentes factores, incluyendo la disminución de espermatozoides (2.1 vs 20 X

10⁶ espermatozoides) por dosis de inseminación ([Frijters et al., 2009](#)), daño del esperma durante el proceso de sorteo ([Seidel and Garner, 2002](#)) y una potencial reducción de la viabilidad del esperma sexado en el tracto genital de la hembra ([Schenk et al., 2009](#)). En base a lo anterior el objetivo del presente estudio fue comparar la tasa de concepción en vaquillas del semen sexado bajo el sistema tradicional del uso de solo sombras vs semen sexado y enfriamiento artificial durante la época de verano.

II. Revisión de literatura

2.1 Sexado del esperma

Durante las últimas décadas se realizaron investigaciones para desarrollar una técnica lo más precisa posible para la separación de esperma (x o y) de mamíferos. Hoy en día se utiliza la citometria de flujo la cual se basa en la separación de los espermatozoides con cromosoma X de los Y, esta técnica se basa en el hecho de que el cromosoma X es más grande y contiene aproximadamente 3.8 % más de ADN (ácido desoxirribonucleico) que el cromosoma Y ([Garner et al., 1983](#)). Existen diferencias en la cantidad de ADN entre especies como verracos, carneros y conejos incluso entre las mismas razas de ganado. Espermatozoides de toros de la raza jersey mostraron una mayor diferencia X-Y que el esperma de toros Holstein ([Garner et al.,1983](#)).

La técnica de citometria de flujo lleva como objetivo la separación de células por medio de cargas eléctricas. Los gametos sexuales, ya obtenidos de los sementales con las características deseadas, son tratados con un colorante fluorescente que atraviesa la membrana espermática y se adhiere al ADN el cual se encuentra en mayor cantidad en el cromosoma X, adquiriendo mayor fluorescencia al ser sometido a un rayo láser pasando posteriormente por medio de un separador de células llamado citometro de flujo, el cual hace la selección de espermatozoides con mayor luminosidad, finalmente un dispositivo les asigna una carga eléctrica positiva o negativa lo cual provoca que sean atraídos por unas placas con carga negativa que atrae a los espermatozoides con carga positiva y

viceversa. Al final del proceso hay tres tubos de ensayo donde es colectado el semen uno para el cromosoma X, otro para los de cromosoma Y y un tercer tubo donde se colecta los espermias que no pudieron ser diferenciados durante el proceso de sexado. Por último se realiza la criopreservación para su comercialización (Shenk et al., 1999). Dependiendo la velocidad de paso de los espermatozoides por el citometro de flujo va a ser su pureza de sexado la cual se encuentra en un 90% comercialmente (Garner y Seidel, 2008).

2.2 Ventajas y desventajas del semen sexado

Un beneficio del uso de semen sexado es que mejora la bioseguridad, debido a que los reemplazos que normalmente se adquieren de otros establos lecheros, pueden introducir patógenos que pueden afectar el bienestar animal y la producción de los mismos. La utilización de semen sexado reduce esta problemática ya que los reemplazos se obtendrían dentro del mismo hato (Weigel, 2004b). La utilización de semen sexado tiene algunas ventajas como el uso de espermias portadores del cromosoma X en vaquillas disminuirá en gran medida problemas de partos distócicos ya que las crías hembras son de un tamaño menor al de los machos (Weigel, 2004b). El uso de semen sexado comparado con convencional disminuye entre un 20% y 30% la tasa de concepción a primer y segundo servicio (DeJarnette et al., 2008). Se ha sugerido que debido al proceso previo de citometria de flujo, la exposición al laser y después la congelación afectan la viabilidad del esperma disminuyendo la fertilidad (Seidel and Schenk,

2006; Mocé, et al ., 2006). Sin embargo, es importante señalar que el proceso de sexado produce una significativa disminución de la fertilidad en ciertos toros, pero en algunos otros no es así (Borchersen y Peacock, 2009). Otra razón de la baja fertilidad del semen sexado ha sido atribuida a la baja concentración de espermatozoides en el semen sexado comparado al semen convencional ($2 \times 10^6 \times 10^6$). Estudios conducidos por Seidel y Schenk (2008) reportaron que la tasa de preñez no fue mejorada cuando el número de espermatozoides por pajilla fue incrementado por arriba de 2×10^6 .

Aun y cuando las vaquillas son más fértiles que las vacas existe la posibilidad de que el intervalo nacimiento a primer parto se incremente al usar semen sexado, por lo que se ha sugerido que las vaquillas inseminadas con semen sexado, sean servidas a edades más tempranas. Un estudio realizado por Chebel et al.(2010) reportó que iniciar el programa de empadre más tempranamente (21d antes) no tenía un efecto significativo en la edad al parto de las vaquillas..

El método de sexado tiene una limitante importante: los espermatozoides son sexados uno a la vez, mas que sexarlos simultáneamente a todos. Otra desventaja es que el sexado es mas exacto cuando se usa semen fresco por lo que los toros deben estar cerca de las instalaciones. En cuanto si la anomalía de las crías se incrementa con el uso del semen sexado, Tubman et al.(2004) no encontraron evidencia de anomalías en las crías, ni observaron abortos. Estos autores concluyeron que los becerros producidos son fenotípicamente normales, y que el daño genético probablemente es bajo o no ocurre en todos los espermatozoides.

2.3 Estacionalidad y el semen sexado

Estudios realizados en Texas durante el verano con embriones hembras usados para transferencia de embriones, fueron producidos bastante baratos y con una tasa de concepción que mostro ser el doble comparado con la IA convencional ([Stewart et al., 2010](#)). Por lo tanto , la transferencia de embriones hembra sexados seria una buena manera de preñar vacas en verano. [Perez et al. \(2007\)](#) reportaron una fertilidad similar en vaquillas inseminadas con semen sexado durante el verano (56.5%) comparado con la época de invierno (58.5%).

De acuerdo a [Devries \(2010\)](#) el semen sexado puede ser utilizado en vaquillas en otoño, invierno y primavera pero no en el verano. El uso mayor seria de 77% de semen sexado y 23% de semen convencional de razas lecheras en invierno utilizando el semen sexado solo en la primera y segunda inseminacion. En vacas, el semen sexado se usaría en verano, pero solo en el 12% de todas las inseminaciones.

2.4 Factores que afectan la eficiencia reproductiva de vaquillas

2.4.1Clima

El verano es sin duda la época del año en que la reproducción se ve mas afectada, ya que el estrés calórico puede estar presente durante las 24 h del día.

Este fenómeno que se presenta, se puede definir como una respuesta biológica provocada cuando la TA sobre pasa el limite superior de la zona termoneutral (Moberg, 2000). Investigadores como Yousef (1985) define el estrés como la magnitud de las fuerzas externas al cuerpo que tienden a desplazar a sus sistemas de su estado de reposo. En zonas con climas cálidos en época de verano se encuentra comprometida de gran manera el desempeño reproductivo (Beede, 1987; Collier, 1982). La detección de celos es de suma importancia cuando se requiere identificar vaquillas para ser servidas por inseminación artificial (IA), lo anterior requiere de un trabajo cuidadoso e intenso de lo contrario una alta proporción de celos no serán detectados. Lo anterior se complica bajo condiciones de estrés por calor ya que este afecta la duración e intensidad del estro en el ganado lechero (Santos et al., 2004). En vaquillas el estrés calórico también afecta la duración del ciclo estral y disminuye la expresión del estro (Madan y Johnson, 1973; Younas et al., 1993).

2.4.2 Nutrición

El ganado lechero principalmente el de alta producción requiere de ciertos cambio en sus dietas de verano alimentación con la finalidad de poder cubrir sus requerimientos. Un ejemplo es el aumento de la proteína cruda (PC) dentro de la dieta, sin embargo, este incremento puede producir un aumento en la concentración de urea a nivel sanguíneo si esta proteína es altamente degradable en rumen modificando así el pH del organismo, provocando una baja viabilidad embrionaria (Butler, 1998).

Se ha mencionado que una deficiencia de energía en la etapa de desarrollo en provoca una reducida actividad reproductiva en hembras bovinas (Williams,1989) Este balance energético negativo, afecta el crecimiento y desarrollo folicular, resultando en una baja manifestación de estro, y como consecuencia una reducida actividad reproductiva (Montiel y Ahuja, 2005). Una mala nutrición requiere que el animal utilice sus reservas corporales de energía, trayendo como consecuencia que se pierda condición corporal, lo cual conlleva a que se alteren algunos mecanismos hormonales (Jolly et al.,1995).

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

Pryce et al. (2000) indicaron que una sola medición de CC al principio de la lactación pudiera ser usada como un criterio de selección indirecta para fertilidad

2.5 Estrategias de manejo para reducir el estrés calórico

El estudio de las afecciones causadas por el estrés por calor nos ha llevado a la búsqueda de estrategias para controlar o por lo menos disminuir la severidad del mismo. Collier et al (1982) ha sugerido tres estrategias de manejo para minimizar los efectos del estrés por calor: 1) modificación física del medio ambiente (sombras y enfriamiento), 2) el desarrollo genético de las razas tolerantes al calor, y 3) las prácticas nutricionales mejoradas. La utilización de

estas estrategias de una forma adecuada sería necesario para mejorar la productividad de ganado lechero en climas cálidos y húmedos.

Una estrategia rápida y económica que se puede aplicar rápidamente es la utilización de sombras que en climas cálidos es indispensable para la supervivencia del animal aparte que este beneficio se ve reflejado en la reproducción (Armstrong, 1994).

Durante muchos años se han realizado diversos estudios con el fin de mejorar el confort del animal bajo la sombra, no solo disminuyendo la radiación solar (Armstrong, 1994, Hahn, 1985, Smith, 2006). Aparte del uso de solo sombra se han implementado sistemas de enfriamiento el cual consiste en el enfriamiento del aire alrededor del animal y recomendado para zonas con baja humedad (Stott, 1972, Armstrong, 1986).

Ealy (1994) reporto que al momento de ofrecer sombra con enfriamiento artificial basado en aire y aspersión de agua se puede obtener una reducción de entre 3.5 y 5 C° menos que si no se tuviera el enfriamiento.

2.6 Respuesta fisiológica al estrés calórico

La temperatura corporal se ha medido en distintas zonas del cuerpo del animal como: recto, timpáno, sub-cutánea, ruminal, vaginal y cavidad peritoneal. Siendo las más aceptadas la temperatura rectal y timpánica (Hahn, 1997).

Finch (1986) reportó que la temperatura rectal es una característica que puede ser transmitida a la progenie ya que su heredabilidad es de 0.25 hasta 0.65 bajo condiciones de estrés calórico, sin embargo la producción de leche está asociada indirectamente con la resistencia al estrés calórico y esta misma a la heredabilidad de la temperatura rectal, por lo tanto, no sería un buen indicio la temperatura rectal para la selección de animales si lo que se busca es una mejor producción de leche (Berman, 1985).

La frecuencia respiratoria se ha tomado como indicador de la carga acumulada de calor de los animales sometidos a altas temperaturas ambientales, (Hahn, 1999).

2.7 Progesterona como encargada del mantenimiento de la preñez

La progesterona es una hormona esteroide que es liberada por parte de células del cuerpo lúteo regulando cambios que ocurren en oviducto y útero para propiciar un ambiente uterino para que se pueda llevar a cabo el desarrollo del embrión, regulando las secreciones del útero, de las cuales el embrión recibirá nutrientes y sustancias que estimulan su crecimiento y diferenciación (Roberts, 1988).

Los niveles de progesterona son detectables hasta el día 2 registrando niveles mayores de hasta 1 ng/ml, pero a partir del día 5 del ciclo se pueden encontrar valores de 5 ng/ml, considerándose como un cuerpo lúteo funcional (Serrano, 1997). Un mal funcionamiento del cuerpo lúteo se ha asociado con la muerte embrionaria temprana observando que vacas con baja fertilidad tienen un mal funcionamiento del cuerpo durante los primeros 7 días posteriores a la

inseminación (Shelton, 1990). Se ha encontrado en vacas bajo estrés calórico alteraciones funcionales del cuerpo lúteo disminuyendo la secreción de progesterona al contrario de vacas que se encuentran en temperaturas de confort con una funcionalidad normal del cuerpo lúteo (Rosenberg, 1997).

2..7 Reconocimiento materno

Una etapa muy importante del proceso embrionario es la pre implantación ya que de un 25 % a 35% de las muertes embrionarias asociadas al día 16 pasado el estro día en que ocurre el reconocimiento materno de la preñez (Grajales, 2005). El embrión mediante señales moleculares como la secreción de interferón tau (INF-t) le hace notar su presencia en el útero para evitar la liberación de prostaglandinas y así evitando su acción leutinizante sobre el cuerpo lúteo y continuando con la producción de progesterona prolongando la preñez (Spencer 2004). El periodo entre la eclosión y la elongación del embrión se da la secreción del interferón tau (Gray, 2002) dicha proteína es secretada en rumiantes por células del trofoectodermo secretándose entre los días 10 y 21 del ciclo estral teniendo su máxima producción entre los días 14 y 16 pasado el estro (Spencer, 2004). El interferón tau actúa en receptores que se encuentran en el endometrio inhibiendo los receptores de estrógenos evitando la síntesis de oxitocina y así bloquear el estímulo para la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Demmers, 2001; Olivera, 2006).

III.- Materiales y métodos

3.1. Ubicación geográfica

El experimento fue realizado en las instalaciones de la recria San Carlos, dedicada a la crianza y desarrollo de vaquillas Holstein, localizada en el Km 15 de la carretera Mexicali-San Felipe, en el valle de Mexicali, B.C. con coordenadas 32° 43", latitud norte 30° 52" latitud sur 114° 42" longitud este y 115° 56" de longitud oeste (INEGI 2009). La región se caracteriza por presentar condiciones climáticas desérticas cálidas, con temperaturas máximas en verano de 50°C y mínimas durante invierno de 0°C (García, 1985).

3.2. Unidades experimentales y tratamientos

El presente estudio se realizó durante el verano del año 2013, y comprendió los meses de Junio, Julio, Agosto y Septiembre. El estudio se dividió en dos periodos uno previo a la inseminación y otro posterior a la inseminación del 12 de Julio al 12 de agosto y del 13 de agosto al 12 de septiembre respectivamente.

.Se utilizaron 80 vaquillas de la raza holstein de 14±1 meses de edad y con un peso promedio de 360±20 kg, las vaquillas fueron asignadas aleatoriamente a dos tratamientos: Tratamiento 1 (T1) o grupo testigo consistió de 40 vaquillas alojadas en un corral que contaba con únicamente sombra en el centro del corral. Tratamiento 2 (T2) (n=40) en donde las vaquillas fueron ubicadas en un corral similar al de T1, pero acondicionado con un sistema de enfriamiento bajo la

sombra el cual opero de las 10:00 hasta las 18:00 h desde el inicio del experimento hasta 30 días después de la inseminación. Ambos tratamientos fueron inseminados con semen sexado del mismo toro y lote con detección del celo visualmente y utilizando marcaje (marcador de ganado all weather® paintstik®) de la región sacro-coxígea por las mañanas. Si al momento de la revisión de cada mañana, se observaba que la marca esa se había borrado total o parcialmente, la vaquilla se sometía a palpación por vía rectal, la vaquilla era inseminada a criterio del inseminador, el cual fue el mismo para todas las vaquillas. El diagnostico de gestación se realizó por medio de palpación rectal a los 35 días post-inseminación y se reconfirmo a los 60 y 90 días posteriores a la inseminación.

3.3. Sistema de enfriamiento

El sistema de enfriamiento consistió en 7 abanicos de 90 cm de diámetro con un motor de ½ HP por abanico, con separación de 3 m entre cada uno y un movimiento de aire por abanico de 180 m³/ minuto. Cada abanico tenía dos válvulas para la aspersion de agua, con un gasto aproximado de 50 L/h por abanico. El sistema de enfriamiento operó de las 10:00 a las 18:00.

3.4. Instalaciones y manejo de las unidades experimentales

Todas las vaquillas recibieron un mismo manejo profiláctico antes de ser asignadas a los tratamientos que consistía en descorné e introducción de imán en el rumen, además de vacunación con bovi-shield gold® fp® 5 v15 HB (Pfizer),

aplicación de bacterina- toxoide ultrabac 7® (Pfizer), desparasitación a base de ivermectina Virbamec® (Virbac) y aplicación de vitamina ADE Vigantol ADE® (Bayer). Los corrales experimentales con dimensiones de 29.9 x 33.5 m, con una área total de 1001.55 m², que estaban previstos de una sombra elaborada de tubo y lámina galvanizada con medidas de 18.14 x 5.82 m, con altura de 2.78 m. el bebedero (2.5 x .95 m y .30 m de fondo) construido de concreto compartido entre dos corrales. El comedero de tipo lineal de concreto con trampas cabeceras individuales para todas las vaquillas. El alimento se ofreció para ambos tratamientos tres veces al día (6:00, 9:00 y 16:00 horas) y consistió en una ración integral balanceada en base a los requerimientos nutricionales en vaquillas (Cuadro 1).

3.5. Datos climáticos

La información climática se obtuvo de una estación meteorológica (Vantage Pro 2, Estandart) ubicada en el lugar donde se llevó a cabo el experimento en un espacio despejado. Los datos que se obtuvieron de la estación fueron temperatura ambiente (TA) y humedad relativa (HR) en intervalos de 15 minutos. Estos datos fueron utilizados para calcular el índice de temperatura y humedad utilizando la fórmula propuesta por Hanh(1999).

$$ITH = 0.81T_{am} + HR (T_{am} - 14.4) + 46.4$$

T_{am}= Temperatura ambiente

HR= Humedad relativa

Durante los muestreos se tomaron temperaturas con una pistola infrarroja (Infrared Thermometer, Fluke 62 Co. Everett, WA, USA) de los techos de ambas sombras, temperatura del suelo bajo la sombra, temperatura del suelo bajo radiación solar y bebederos.

3.6. Variables de estudio

3.6.1. Frecuencia respiratoria y Temperatura rectal

La frecuencia respiratoria se registró a las 15:00 h en 15 animales por tratamiento, observando los movimientos de la región costal de cada animal durante un minuto. A las 16:00 h se les proporcionaba alimento y una vez en el área de comederos las vaquillas eran inmovilizadas en las trampas para medir la temperatura rectal de todos los animales, utilizando para ello un termómetro digital (FLUKE, 51 II Termómetro, Fluke Co. Everett, WA, USA). Este procedimiento se realizó dos veces por semana (martes y jueves).

3.6.2. Temperatura Vaginal

Tres vaquillas de cada tratamiento fueron seleccionadas para recabar información de la temperatura vaginal por medio de un sensor (HOBO U-12; Onset, MA, USA) colocado en la vagina y programado para medir la temperatura vaginal cada 15 min durante 24 horas dos veces por semana.

3.6.3. Progesterona

Muestras de sangre fueron obtenidas por medio de la punción de la vena coxígea y recolectadas en tubos vacutainer de 10 ml para después centrifugarse a 3500 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 10°C para obtener el suero sanguíneo. Los muestreos se realizaron al momento de la IA considerándose como el día 0 y posteriormente cada tres días (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21) hasta el día 21 después de la IA. El análisis de progesterona fue por medio de la técnica de ELISA (Accu-bind Elisa microwells, monobind inc, lake forest Ca USA) en un lector star fax 303/plus.

3.7 Análisis estadístico

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

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Condiciones climáticas

En el cuadro 2 se muestran las condiciones climáticas que se presentaron durante el estudio en la época de verano que corresponde del 11 de julio al 10 de septiembre siendo los meses más cálidos donde las temperaturas alcanzaron los 47.7 °C, pero el comportamiento promedio fue de 34.8 °C durante el día y teniendo una temperatura promedio menor durante la noche de 29.4 °C permaneciendo por encima de la zona termoneutral durante todo el día (Fuquay, 1981) (West, 2003). La humedad relativa osciló entre el 7.0 y 67.5 % en el día mientras que en la noche se registró un rango de HR de entre 42.2 y 94.2 % promediando 41.4 y 60.7 respectivamente siendo uno de los principales efectos negativos la reducción de la efectividad en la disipación de calor por medios evaporativos sudoración y respiración (Blackshaw y Blackshaw 1994, Renaudeau 2005) y en combinación con las temperaturas se alcanzaron ITH de 83.3 durante el día y 76.8 en la noche sobrepasando por más de cuatro unidades el límite crítico de 72 unidades de ITH comprometiendo de manera importante los procesos metabólicos y fisiológicos del animal (Amstrong ,1994). Así mismo disminuyendo el consumo de alimento y aumentando el consumo de agua para lograr confrontar por medio de mecanismos evaporativos (Richards 1973). las temperaturas adversas combinada con altos porcentajes de humedad relativa que se presentan en el verano. Slanikove (2000)

menciona que al presentarse $ITH < 70$ se podrían considerar confortables de 75 a 78 ya se consideran estresantes y valores superiores a los 78 se consideran extremos siendo incapaces de mantener los mecanismos de termorregulación y por consiguiente la temperatura normal del cuerpo.

4.2 Variables Fisiológicas

En el cuadro 3 se muestran la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal promedio de ambos tratamientos tomándose estas variables como principales indicadores del estrés por calor

4.2.1 Frecuencia respiratoria

Con respecto a la frecuencia respiratoria se encontró una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el TSE con un promedio de 71.9 respiraciones por minuto (Res/min) previo a la IA y 84.30 Res/min posterior a la IA con respecto al TSS que presentaron una respiración más acelerada con 99.4 Res/min previo a la IA y 97.3 Res/min posterior a la IA lo cual que lo cual está ampliamente documentado que cuando la temperatura ambiente aumenta tiende de igual forma aumentar la frecuencia respiratoria (Brown-Brandl et al., 2003; Eigenberg et al., 2000; Hahn et al., 1997; Mader et al., 1999)

Se ha reportado que valores que oscilan entre 20 y 60 Res/min son consideradas normales, pero cuando la temperatura ambiental sobrepasa el límite superior de la zona termo neutral de los 25°C aumenta al igual la frecuencia respiratoria teniendo

valores de hasta 150 Res/min bajo temperaturas ambientales mayores a los 40 °C considerándose condiciones extremo de calor (Davis 2001, McGovern y Bruce 2000)

4.2.2 Temperatura rectal

Cole y Hansen (1993) reporto que vacas lactantes expuestas por la tarde a una temperatura de 35 ° C la temperatura rectal presentaba un promedio de 40,6 °C algo similar a lo registrado en los animales que no contaban con sistema de enfriamiento mientras que los animales que se encontraban bajo enfriamiento presentaban una temperatura menor mas no lo suficientemente baja impidiéndole recuperarse durante la noche. Lemerle y Goddard (1986) informaron que aunque la temperatura rectal aumento únicamente cuando el ITH fue mayor >80, mientras tanto la frecuencia respiratoria aumento con un ITH de 73 unidades y probablemente más abruptamente por encima de las 80 unidades de ITH, sugiriendo que los mecanismos homeostáticos incluyendo el aumento de la FR pueden evitar el aumento de la temperatura rectal hasta que el ITH alcanza las 80 unidades (Slanikove 2000).

Se ha encontrado que la tasa de concepción se reduce desde 61 hasta 45% cuando a las 12 horas posteriores a la inseminación artificial la temperatura rectal aumenta 1 °C (Ulberg y Burfening, 1967) y además se ha demostrado que cuando el ganado presenta temperaturas rectales de 40 °C como resultado de la exposición a 32.2 °C temperatura ambiente durante 72h después de la inseminación tenían una tazas de concepción de 0% en comparación con una tasa

de concepción de 48% cuando la temperatura rectal fue de 38.5 °C para las vacas en temperatura ambiente de 21.1 °C (Ulberg y Burfening, 1967).

4.2.3 Temperatura Vaginal

Los promedios de la temperatura vaginal (TV) se muestran en la figura 2 donde se puede observar que en el periodo de las 9h a las 18h hay diferencias significativas entre tratamientos más sin embargo a las 16h no hay diferencia esto se debe a que a esa hora se realizaba la toma de temperatura rectal aunado a que en momento se presentaban las temperaturas más elevadas en el día.

4.3 Concentraciones de Progesterona

En la figura 2 se muestran los promedios de la concentración de Progesterona en los días de muestreo en vaquillas gestantes y vaquillas no gestantes de ambos tratamientos encontrándose una concentración de P₄ similar, más sin embargo en los días 15 y 21 en vaquillas gestantes y los días 9, 12 y 18 en vaquillas no gestantes difieren observándose una diferencia (P>0.05) entre los días, mas no por tratamiento posiblemente ocasionado por las condiciones ambientales presentadas durante el verano.

En diversos artículos difieren en sus conclusiones de la afecciones del estrés calórico sobre las concentraciones de progesterona en sangre y se ha propuesto que la exposición de vacas (Trout et al., 1998) o de vaquillas (Wilson et al., 1998)

a estrés por calor durante la segunda mitad del ciclo estral dan lugar a un aumento de la concentración de P_4 plasmáticas asociadas con un retraso del proceso de luteolisis. Younas et al. (1993) encontró que vacas expuestas a sistemas de enfriamiento durante el verano aumentaba la secreción de progesterona por parte del cuerpo luteo lo cual concuerda con lo encontrado los días 6,9,15,18 y 21 que es mayor la concentración de P_4 en animales que se mantuvieron bajo enfriamiento artificial al contrario de los que estuvieron solo bajo sombra que fue menor y la tendencia nos marca que los animales enfriados se mantendrían en una concentración de P_4 mayor y constante, sin embargo Howell et al. (1994) reporto que hay una disminución de la concentración de progesterona en sangre en la época de verano lo cual se lo atribuyen a exposiciones constantes a altas temperaturas observándose de igual manera en los días 6,9,15,18 y 21 de los animales que solo contaban con sombra por otro lado Wilard et al (2005) reporto que vaquillas expuestas a algún tipo de estrés agudo las concentraciones de P_4 tienden a aumentar atribuyéndoselo a la liberación de P_4 de la glándula adrenal y la necesidad de P_4 para mantener la gestación está bien establecida y el aumento de P_4 promueve un mayor desarrollo embrionario y aumenta la producción de IFN-Tau (Clemente et. al 2009) al mismo tiempo que el aumento de tamaño del embrión (Mann et al, 2006) en el proceso de elongación entre el día 14 y 18 (Robinson et al., 1999).

Mann et al, (2006) sugiere que la fuerza de la subida de la P_4 posovulatoria es fundamental para el desarrollo del embrión en lugar de la concentración final de P_4 lograda más tarde en la fase lútea, demostrándose que la suplementación al

día 5 pos ovulación ha demostrado mayor éxito que suplementarlo en la fase lútea.

4.4 Taza de concepción

En el cuadro 4 se muestra la tasa de concepción a primer servicio obtenida de vaquillas inseminadas con semen sexado en la época de verano en donde no se encontró diferencia ($P>0.05$) entre tratamiento obteniéndose un 37.5 % (15/40) para los animales bajo enfriamiento artificial y de 34.2 % (13/38) para las vaquillas con solo sombra. El impacto del estrés calórico sobre la eficiencia reproductiva está ampliamente documentado (Thatcher, 1974; Fuquay, 1981) al igual que sus afecciones sobre la tasa de concepción (Ingraham et al., 1976) esto pudiéndose deber a la baja o nula expresión del celo por baja liberación de estradiol de un folículo dominante desarrollado en un ambiente bajo de hormona leutinizante (De Rensis and Scaramuzzi 2003).sin embargo en el presente estudio no solo el estrés calórico puede afectar la tasa de concepción en vaquillas el uso de semen sexado durante el verano es otro factor que puede llegar a disminuir la tasa de concepción. Seidel y Schenk (2008) realizaron un estudio que consistió en probar diferentes concentraciones de semen sexado en distintas razas de ganado donde las tasas de preñes variaron desde 38.5 hasta 56.6% incluyendo todos los tratamientos donde se utilizó semen sexado estos resultaos se pueden considerar similares a los del presente estudio ya que se obtuvo el 37.5% en la época de verano con el uso de enfriamiento y el cual no tuvo diferencia ($p>0.05$) con lo obtenido en el tratamiento solo sombra.

La baja tasa de concepción con el uso de semen sexado puede deberse a la capacidad funcional del esperma por el procedimiento de sexado (De Graaf et al. 2006), la alteración de las proteínas de membrana (De Graaf et al. 2008), la baja concentración de espermatozoides (DeJarnette et al. 2010).

Cuadro1. Ingredientes y análisis bromatológico de la dieta ofrecida durante la época de verano a ambos tratamientos¹.

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

¹La dieta se ofrecía tres veces al día 6:00, 10:00 y 16:00 horas

Cuadro 2. Promedios generales de las variables climáticas registradas durante el periodo experimental.

Variable	Promedio	Rango
Temperatura Ambiente (°C)		
Día	34.8	28.1- 47.7
Noche	29.4	26.3 -34.8
Humedad Relativa (%)		
Día	41.4	7.0- 67.5
Noche	60.7	42.2-94.2
ITH(unidades)		
Día	83.3	78.3-87.7
Noche	76.8	67.9-83.2

¹Día: 6:00 am-6:00 pm; Noche: 7:00 pm-5:00 am

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

Grupo	Temperatura rectal (°C)		Frecuencia Respiratoria (RPM)	
	PRE-IA	POST-IA	PRE-IA	POST-IA
T1	40.2 \pm 0.03 ^b	40.3 \pm .06 ^b	99.4 \pm 1.34 ^b	97.3 \pm 1.66 ^b
T2	39.8 \pm 0.03 ^a	40.1 \pm 0.06 ^a	71.9 \pm 1.34 ^a	84.30 \pm 1.66 ^a

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

T1: Solo sombra

T2: Sombra + enfriamiento artificial

PRE-IA: Previo a la Inseminación artificial.

POST-IA: Posterior a la inseminación artificial

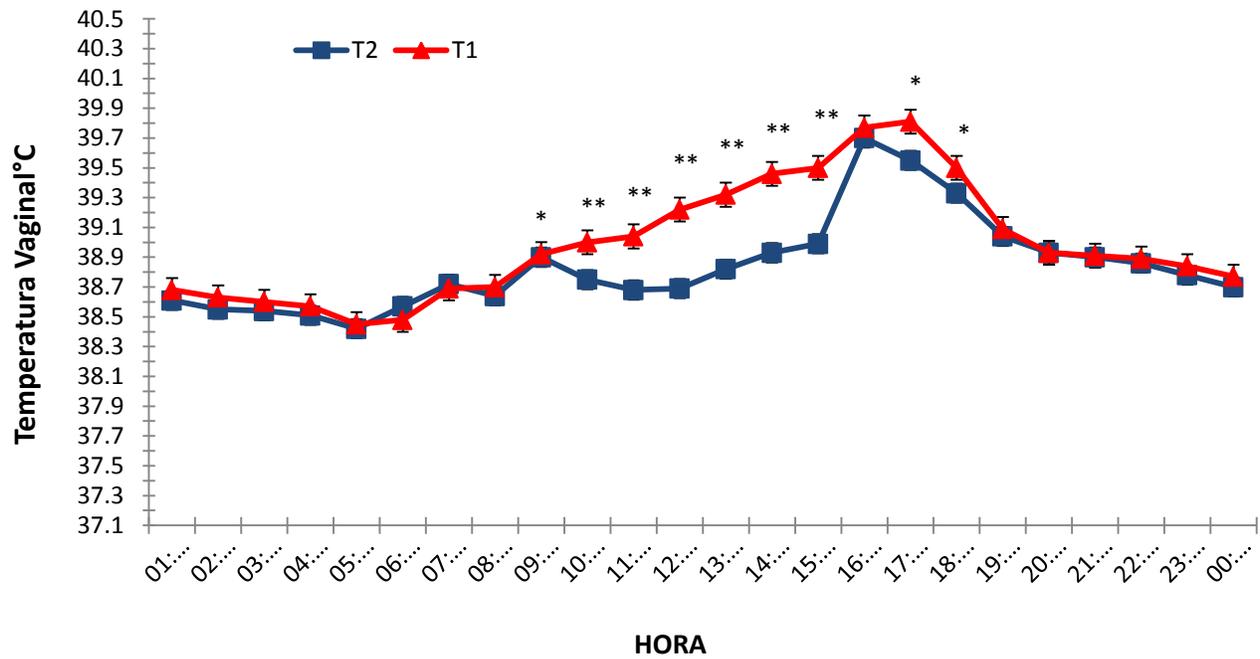


Figura 1 Temperatura vaginal durante el día y la noche de vaquillas holstein bajo enfriamiento artificial (10:00 a 16:00 h) e inseminadas con semen sexado.

** (P<0.0001); * (P<0.05);

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

Grupos	35 d	Confirmación de gestación		% Hembras nacidas
		60 d	90 d	
T1	34.2 (13/38) ^a	34.2 (13/38) ^a	34.2 (13/38) ^a	75
T2	37.5 (15/40) ^a	35.0 (14/40) ^a	35.0 (14/40) ^a	80

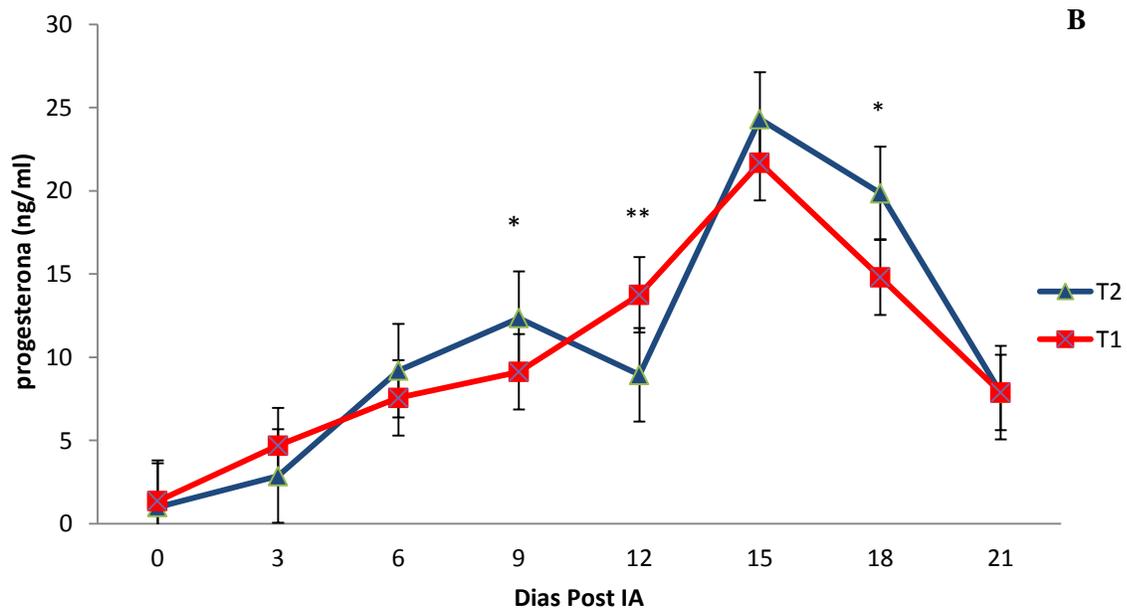
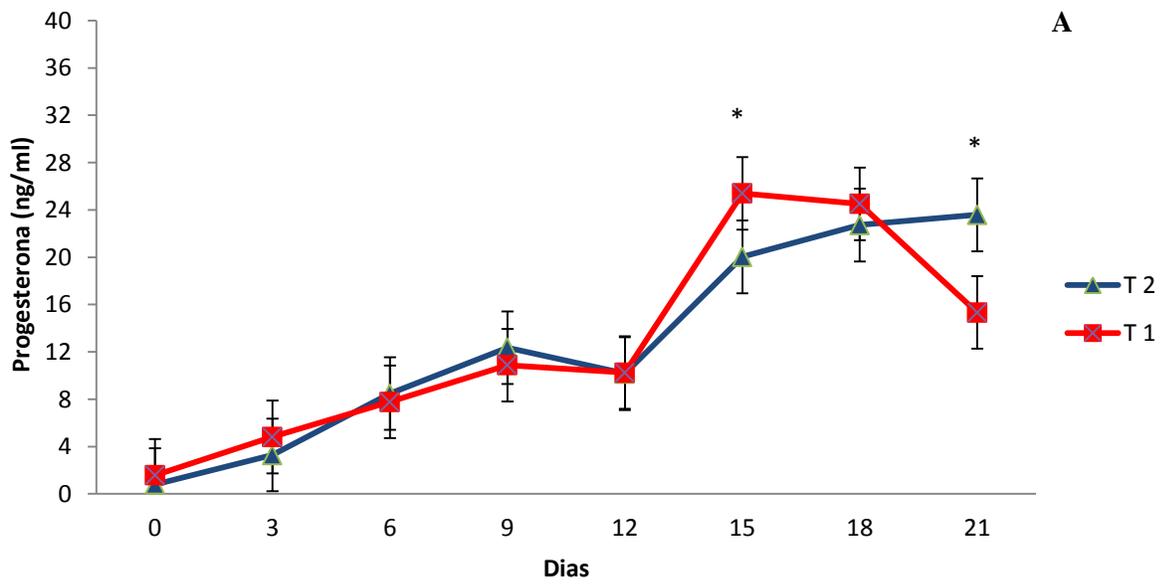


Figura 2 Concentraciones de progesterona de vaquillas Holstein gestantes (A) y no gestantes (B) e inseminadas con semen sexado durante la época de verano.

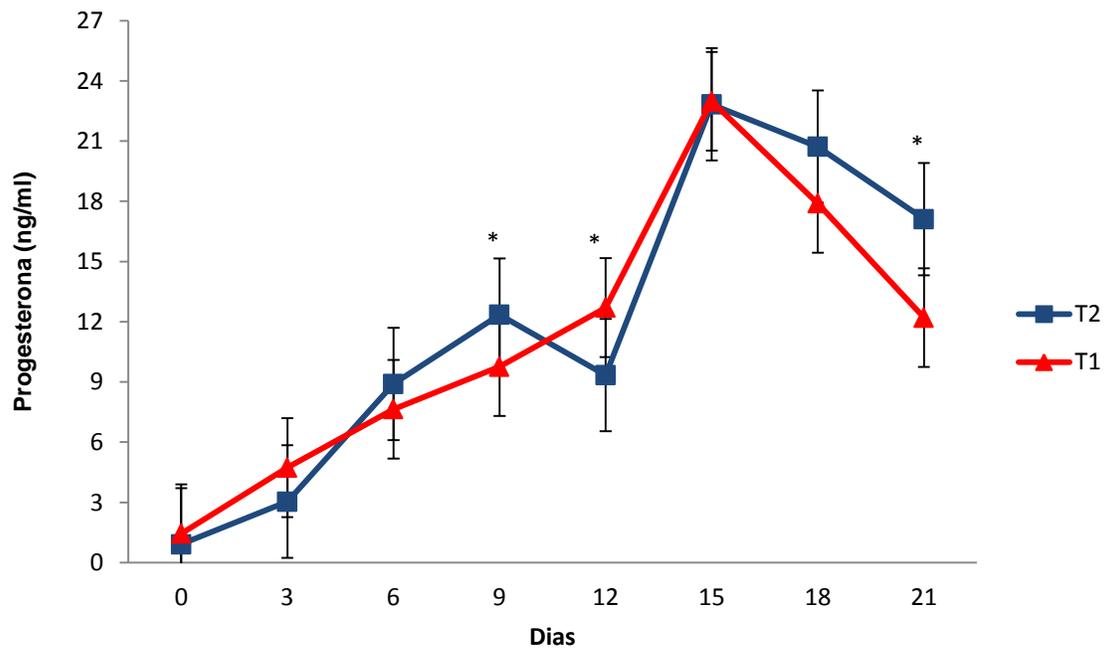


Figura 3 Concentraciones de progesterona de vaquillas Holstein bajo enfriamiento artificial e inseminadas con semen sexado durante la época de verano.

V.- Literatura citada

- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy. Sci.* 77: 2044 – 2050.
- Armstrong, D. V., and F. Wiersma. 1986. An update on cooling methods in the West. Paper No. 86-4034. Am. Soc. Agric. Eng., St. Joseph, MI
- Baucus KL, Ralston SL, Nokels CF, McKinnon AO, Squires EL. Effects of transportation on early embryonic death in mares. *J Anim Sci* 1990;68:345–51.
- Beede. D. K., D. R. Bray, R. A. Bucklin. F. Elinger. and J. K. Shearer. 1987. Integration of cooling methods for environmental management systems in hot humid environments. Page 68 in Roc. 24th Annu. Florida Dairy Prod. Conf., Gainesville.
- Berman, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli, and Y. Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy. Sci.* 68: 1488 – 1495.
- Borchersen, S, and M. Peacock. 2009. Danish A.I field data with sexed semen. *Theriogenology* 71:59-63
- Brown-Brandl, T.M., Nienaber, J.A., Eigenberg, R.A., Hahn, G.L., Freetly, H.C., 2003. Thermoregulatory responses of feeder cattle. *J. Therm. Biol.* 28, 149 – 157.
- Buffington, D. E., R. J. Collier, and G. H. Canton. 1983. Shade management systems to reduce heat stress for dairy cows. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 26(6):1798.

Butler, W.R. 1998. Symposium: Optimizing protein nutrition for reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.

Cavestany D, El-Whishy AB, Foot RH. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *J Dairy Sci* 1985;68:1471–8.

Chebel, R.C, F.S. Guagnini, J.P.E. Santos, J.P.E. Fetrow, and J.R. Lima. 2010. Sex-sorted semen for dairy heifers: Effects on reproductive and lactational performances. *J. Dairy Sci.* 93:2496-2507.

Clemente, M. J. de la Fuente, T. Fair, A. Al Naib, A. Gutierrez-Adan, J.F. Roche, *et al.* Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction*, 138 (2009), pp. 507–517

Cole, J. A., and Hansen. P. J. 1993. Effects of administration of recombinant bovine somatotropin on the responses of lactating and nonlactating cows to heat stress. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:113.

Collier, R. J., D. K. Beede, W. W. Thatcher, L. A. Israel, and C. J. Wilcox. 1982. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *J. Dairy Sci.* 65:2213.

Davis MS. 2001. Management strategies to reduce heat stress in feedlot cattle. *Ph.D. Diss.* University of Nebraska, Lincoln, USA.

De Graaf, S.P., Evans, G., Maxwell, W.M.C., O'Brien, J.K., 2006. In vitro function of fresh and frozen-thawed ram spermatozoa after sexsorting and re-freezing. *Reproduction Fertility and Development*, 18, 867–874.

- De Graaf, S.P., Leahy, T., Marti J.I., Evans G., Maxwell W.M.C., 2008. Application of seminal plasma in sex-sorting and sperm cryopreservation. *Theriogenology*, 70, 1360–1363.
- De Rensis F, Scaramuzzi RJ (2003) Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. *Theriogenology* 60:1139–1151
- De Vries, A. 2010. Economic aspects of the use of sexed semen in dairy heifers and cows considering herd constraints. *J Dairy Sci.* 93 (E-suppl.1):783
- 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 3.5×10⁶ 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, J. F. Moreno, C. R. McCleary, and R. W. Lenz. 2008. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science* 91:1778-1785.
- DeJarnette, J. M., R. L. Nebel, C. E. Marshall, J. F. Moreno, C. R. McCleary, and R. W. Lenz. 2008. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 91:1778-1785.
- Demmers K. J., May J. V., Keel B. A.. 2001. Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction.* 121: 41-9.
- Ealy, A. D., C. F. Aréchiga, D. R. Bray, C. A. Risco, and P. J. Hansen. 1994. Effectiveness of short-term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 3601 - 3607.

- Eigenberg, R.A., Hahn, G.L., Nienaber, J.A., Brown-Brandl, T.M., Spiers, D., 2000. Development of a new respiration rate monitor for cattle. *Trans. ASAE* 43, 723 – 728.
- Finch, V. A. 1986. Body temperature in beef cattle: Its control and relevance to production in the tropics. *J. Anim. Sci.* 62: 531 - 542.
- Frijters ACJ, Mullaart E, Roelofs RMG, Van Hoorne RP, Moreno JF, Moreno O, Merton JS. 2009. What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process?. *Theriogenology* 71:64 –7
- Fuquay, J. W. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52: 164 - 174.
- García, E. 1985. Modificaciones al sistema de clasificación climático de Koeppen (adaptado a las condiciones de la república mexicana). 2da ed. México, DF: Instituto de Geografía, UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Garner, D. L., and G. E. Seidel Jr. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69:886-895.
- Garner, D.L., L.A Johnson, S. Lake, N.Chaney, D. Stephenson, D. Pinkel, and B.L Gledhill. 1983. Quantification of the – and Y- chromosome- bearing sperm of domestic animals by flow cytometry. *Biol. Reprod.* 28:312-321.
- Garner, D.L., L.A. Johnson, S. Lake, N. Chaney. D. Stephenson, D. Pinkel, and B.L. Gledhill. 1983. Quantification of the X- and Y –chromosome – bearing sperm of domestic animals by flow cytometry. *Biol. Reprod.* 28:312-21.

- Grajales L. H. OHM. 2005. Aspectos relacionados con la problemática “hembras repetidoras de celo”. Congreso internacional de reproducción bovina INTERVET. Bogota. 64-66.
- Gray C. A., Burghardt R. C., Johnson G. A., Bazer F. W., Spencer T. E.. 2002. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromise conceptus survival and elongation. *Reproduction* 124: 289-300
- Hahn, G. L. 1985. Management and housing of farm animals in hot environments. Page 151 in *Stress Physiology in Livestock*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 77: 10 – 20.
- Hahn, G.L., Parkhurst, A.M., Gaughan, J.B., 1997. Cattle respiration rate as a function of ambient temperature. Paper No. MC97- 121. ASAE, St. Joseph, Mich.
- Howell, J.L., Fuquay, J.W., Smith, A.E., 1994. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J. Dairy Sci.* 77, 735–739.
- INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los estados unidos Mexicanos Mexicali Baja California. Clave geostadística 02002 disponible en <http://mapserver.inegi.org.mx/mgn2k/> .
- Ingraham, R. H., R. W. Stanley, and W. C. Wagner. 1976. Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in Hawaii. *J. Dairy Sci.* 59:2086–2090.

- Jolly, P.D., McDougall, S., Fitzpatrick, L.A., Macmillan, K.L., Entwistle, K.W. 1995. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fert.* 49 (Suppl.): 477–492.
- Lemerle, C., Goddard, M.E., 1986. Assessment of heat stress in dairy cattle in Papua New Guinea. *Anim. Health Prod.* 18: 232-242.
- Madam, M.L. and H.D. Johnson.1973.Environmental heat effects on bovine luteinizing hormone. *J. Dairy Sci.* 56:1420-1423.
- Mader, T.L., Dahlquist, J.M., Hahn, G.L., Gaughan, J.B., 1999. Shade and wind barrier effects on summertime feedlot cattle performance. *J. Anim. Sci.* 77, 2065 – 2072.
- Mann, G.E., M.D. Fray, G.E. Lamming Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow *Vet J*, 171 (2006), pp. 500–503
- Moberg GP. Biological response to stress: Implication for animal welfare. In: Moberg GP, Mench JA, editors. *The Biology of Animal Stress*. CABI Publishing; Wallingford, UK, 2000, pp. 1–21.
- Mocé, E., J.K. Graham, and J. Schenk. 2006. Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction. *Theriogenology*. 66:929-936.
- Montiel F and Ahuja C.2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Anim. Repro. Sci.* 85 (2005) 1–

- Olivera M. Ruiz T. Tarazona A. Giraldo C.. 2006. El espermatozoide desde la eyaculación hasta la fertilización. *Rev. Col. Cienc. Pec.* Vol. 19: 4
- Perez, E.J.L, Canizal, E, Romero, AT. 2007. Comparacion de la frecuencia de nacimientos de hembras con el método de Inseminacion artificial con semen sexado y no sexado en vaquillas Holstein Friesian. *Memorias del XXXI Congreso Nacional de Buiatria.* Acapulco, Gro. 9-11 agosto.
- Pryce, J.E., M.P. Coffey, and S. Brotherstone. 2000. The genetic relationship between calving interval, condition score and linear type and management traits in pedigree registered Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 83:2664-2671.
- Richards, S. A. 1973. *Temperature regulation.* Wykeham Publications, London, Great Britain, Pp 212.
- Roberts, R.M., Hazer, F.W..1988. The functions of uterine secretions. *J. Reprod. Fertil.* 82: 875-892.
- Robinson, R.S., Mann, G.E., Lamming, G.E., Wathes, D.C., 1999. Embryonic–endometrial interactions during early pregnancy in the cow. In: *Proceedings of British Society of Animal Science meeting on Fertility in the High-Producing Dairy Cow.* British Society for Animal Science Occasional Publication Number 26, pp. 36–37.
- Rosenberg, M., Herz, Z., Davidson, M., Folman, Y.: 1997. Seasonal variations in post-partum plasma progesterone levels and conception in primiparous and multiparous dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 51: 363-367.

- Ruegg, P.L., and R.L. Milton. 1995. Body condition scores of Holstein cows on prince Edward Island, Canada: Relationships with yield, reproductive performance, and disease. *J. Dairy Sci.* 78:552-564.
- Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, R.C. Chebel, R.L.A. Cerri, K.N. Galvão. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:513-535.
- SAS. 2004. *SAS/STAT Users Guide*, version 9.1.3, Cary, NC: SAS Institutud Inc.USA.
- Schenk, J.L, Cran, D.G, Everett, R.W, Seidel, G.E Jr. 2009. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology* 71:717–28.
- Seidel, G.E. 2007. Overview of sexing. *Theriogenology* 68:443-446
- Seidel, G.E. Jr, Garner, D.L. 2002. Current status of sexing mammalian spermatozoa. *Reproduction.* 124:711– 4
- Seidel, G.E. Jr. J.L. Schenck, S.P. Herickhoff, S.P Doley, Z. Brick, R.D. Green, and D.G. Cran. 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology.* 52: 1407-1429.
- Seidel, G.E., Jr., and J.L schenk. 2006. Sex-selected semen. In: *Proc. Applied Repro. Strategies in beef Cattle*, Rapid City, SD, pp. 261-267.
- Seidel, G.E., Jr., and J.L Schenk. 2006. Sex-selected semen. In: *Proc. Applied Repro. Strategies in beef Cattle*, Rapid City, SD, pp. 261-267.

- Seidel, G.E., Jr., and J.L. Schenk. 2008. Pregnancy rate in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Anim Reprod Sci.* 105:129-138.
- Serrano C. 1997. caracterización de la función luteal durante el primer ciclo post parto inducido por medio de un progestageno en vacas cebu brahman en amamantamiento. *Revista colombiana de ciencias pecuarias.* 10 : 29-37.
- Shelton, K., Gayerie, De Abreu, M.F., Hunter, M.G., Parkinson, T.J., Lamming, G.E.: 1990. Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *J. Reprod. Fertil.* 90: 1-10.
- Smith, T. R., A. Chapa, S. Willard, C. Jr. Herndon, R. J. Williams, J. Crouch, T. Riley, and D. Pogue. 2006. Evaporative tunnel cooling of dairy cows in the Southeast. 1: effect on body temperature and respiration rate. *J. Dairy Sci.* 89:3904 - 3919.
- Spencer T. E., Bazer F. W., 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol:* 2: 49
- Stewart, BM, J Block, P. Morelli, E. Navarrete, M. Amstalden, L. Bonilla, P.J. Hansen and R. Bilby. 2010. Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced in vitro with sex-sorted semen. *J Dairy Sci.* 94: 3437-3445.
- Stott, G. H., F. Wiersma, and O. Lough. 1972. Consider cooling possibilities: the practical aspects of cooling dairy cattle. *Arizona Ext. Serv. Rep. P-25, Univ. Ariz., Tucson.*

- Thatcher, W. W. 1974. Effects of season, climate, and temperature on reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.* 57:360–368.
- Trout, J.P., McDowell, L.R., Hansen, P.J., 1998. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.* 81, 1244–1250.
- Tubman, LM, Brink Z, Suh TK, Seidel Jr GE.2004. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometric /cell sorting. *J Anim. Sci.*52 :1029-1036.
- Weigel, K.A. 2004a. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. J. Dejarnette, J.M., R.L. Nebel, C.E. Marshall, J.F. Moreno, C.R. McCleary, and R.W. Lenz. 2008. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holsteins in heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 91:1778-1785. *Dairy Sci.* 87: 120-130.
- Weigel, K.A. 2004b. Exploring the role of sexed semen in dairy production system. *J. Dairy Sci.* 87:E120-130.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 2131 – 2144.
- Williams, G.L., 1989. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J. Anim. Sci.* 67; 785–793.
- Wilson, S.J., Kirby, C.J., Koenigsfeld, A.T., Keisler, D.H., Lucy, M.C., 1998. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle: 2. Heifers. *J. Dairy Sci.* 81, 2132–2138.

Younas, M., Fuquay, J.W., Smith, A.E., Moore, A.B., 1993. Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J. Dairy Sci.* 76, 430–436.

Yousef, M. K. 1985. Stress physiology in livestock. *Basic Principles*. (Ed). Vol.1.CRC. Press, Boca Raton, FL, Pp 4 - 67.