### UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

## UNIDAD LAGUNA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



## EFECTO DEL BETACAROTENO INYECTABLE EN VAQUILLAS LECHERAS SOBRE LOS PRINCIPALES PARAMETROS REPRODUCTIVOS

POR:

#### RAYMUNDO VENZOR OCHOA

**TESIS** 

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

## UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

# UNIDAD LAGUNA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



## EFECTO DEL BETACAROTENO INYECTABLE EN VAQUILLAS LECHERAS SOBRE LOS PRINCIPALES PARAMETROS REPRODUCTIVOS

POR:

#### RAYMUNDO VENZOR OCHOA

**TESIS** 

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**ASESOR PRINCIPAL:** 

DR. CARLOS LEYVA ORASMA

### UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA **ANTONIO NARRO**

### **UNIDAD LAGUNA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



#### EFECTO DEL BETACAROTENO INYECTABLE EN VAQUILLAS LECHERAS SOBRE LOS PRINCIPALES PARAMETROS **REPRODUCTIVOS**

PRESIDENTE DEL JURADO:

DR. CARLOS LEYVA ORASMA

COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL

DE CIENCIA ANIMAL

M.VZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

Coordinación de la División Regional de Ciencia Animal

**JUNIO 2012** 

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

### UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

**UNIDAD LAGUNA** 

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**TESIS** 

APROBADA POR EL H. JURADO EXAMINADOR:

DR. CARLOS LEYVA ORASMA

PRESIDENTE

MVZ. CARLOS RAMIREZ FERNÁNDEZ

VOCAL

M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ

VOCAL

MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO

**VOCAL SUPLENTE** 

TORREÓN, COAHULA, MÉXICO

**JUNIO 2012** 

#### AGRADECIMIENTOS

#### A DIOS

Por permitirme terminar mis estudios profesionales y guiarme por el camino del bien. Gracias dios mio.

#### A MI ALMA MATER

Por brindarme la oportunidad de poderme forjar como una persona profesional en este camino que es muy difícil y hoy termino con gran éxito.

#### A MIS AMIGOS

Por brindarme su amistad y apoyo a lo largo de estos 5 años, nunca olvidare todo lo que pasamos juntos e hicimos y deshicimos. Nathanael Ponce, Daniel Moraga, Manuel Chávez y Jairo De la cruz, espero nuestra amistad perdure por mucho tiempo. Son muchos los amigos que forme a lo largo de este tiempo pero muchas gracias a todos los que estuvieron para apoyarme y pasar excelentes momentos, así como sus consejos.

#### AL DR. LEYVA

Por darme la oportunidad de trabajar con el, es una excelente persona y que al ultimo termino siendo un muy buen amigo por todo muchas gracias.

#### A MIS MAESTROS

Gracias por transmitirme sus conocimientos y apoyarme en mi desarrollo profesional.

#### DEDICATORIAS

#### A MIS PADRES, RAYMUNDO Y CRISTINA.

Gracias por darme esta gran oportunidad que sé que me va a servir de mucho, por preocuparse por mi y por todo el sacrificio que realizaron para poderme ofrecer una vida mejor. Los amo.

#### A MI HERMANA ANDREA

Por estar ahí cuando te necesito, y ser mi mejor amiga. Te amo hermanita.

#### A MI TIO MVZ JESUS MANUEL VENZOR

Por impulsarme a superarme como persona, así como a su apoyo durante mi estadía para poder formarme como un buen profesional. Por sus consejos gracias.

#### A TODA MI FAMILIA

Por su apoyo durante mi carrera profesional. Muchas gracias.

#### A ADRIANA PAREDES

Por darme la confianza durante todo este tiempo a tu lado y por tu granapoyo gracias.

#### ÍNDICE

#### Contenido

RESUMEN	1
I INTRODUCCION	2
1.1 OBJETIVO	3
II RECOPILACION BIBLIOGRAFICA	4
2.1 IMPORTANCIA DE LOS ANTIOXIDANTES EN HUMANOS	4
2.1.1 ORIGEN DE LOS RADICALES LIBRES	4
2.2 FUNCIONES FISIOLOGICAS DEL β- CAROTENO	5
2.3 EFECTO DEL ß-CAROTENO SOBRE LA REPRODUCCION ANIMAL	6
2.3.1. DEFICIT DEL ß-CAROTENO EN LA MORTALIDAD EMBRIONARIA	7
2.3.2 RELACION DE CARENCIA DEL ß-CAROTENO CON ABORTOS	7
2.3.3. RELACION DE CARENCIA DEL ß-CAROTENO CON RETENCION MEMBRANAS FETALES	
2.3.4. EFECTO DEL ß-CAROTENO SOBRE EL ANESTRO	9
2.4 COMPORTAMIENTO DE LOS PARAMETROS REPRODUCTIVOS	9
2.4.1. EDAD AL PRIMER PARTO	9
2.4.2. DIAS ABIERTOS	10
2.4.3. INTERVALO ENTRE PARTOS	10
2.4.4. SERVICIOS POR CONCEPCION	10
2.4.5. INTERVALO PARTO – PRIMER SERVICIO	11
2.4.6. TASA DE CONCEPCION A PRIMER SERVICIO	11
2.4.7. INFLUENCIA DEL $\beta$ -CAROTENO EN LAS TASAS DE CONCEPCION	11
III MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1 Descripción del área de estudio	12

3.2 Descripción de los animales	12
3.3 Diseño del experimento	13
3.4. VARIABLES EVALUADAS	14
3.5 ANALISIS ESTADISTICO	14
IV RESULTADOS	15
4.1. INTERVALO PARTO-GESTACION	15
4.2. TASA DE CONCEPCION A PRIMER SERVICIO	15
4.3. INTERVALO PARTO – PRIMER SERVICIO	16
4.4. SERVICIOS POR CONCEPCION	17
VDISCUSION	18
VI CONCLUSION	19
VII BIBLIOGRAFIA	20

#### **INDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

Figura 1 Principales Parámetros Reproductivos
Figura 2 Días de aplicación de Betacaroteno13
Figura 3 Resultados obtenidos para el parámetro parto-gestacion15
Figura 4 Resultados obtenidos en la Tasa de Concepción a primer servicio15
Figura 5 Resultados obtenidos para el parámetro parto-primer servicio16
Tabla 1 Distribución de los Grupos13
Tabla 2 Servicios por concepción17
Tabla 3 Hembras Repetidoras17

#### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue valorar el efecto del betacaroteno inyectable, sobre los principales parámetros reproductivos en vaquillas primíparas. Para la realización de esta investigación se utilizaron 112 vaquillas primíparas de la raza holstein friesian de un establo lechero de la comarca lagunera, las cuales se dividieron al azar en dos grupos tratadas (n=56) y testigos (n=56) a las cuales se les aplico 600 mg de betacaroteno por vía IM a lo 28 y 56 días posparto, durante los meses julio y agosto del año 2011. La inseminación artificial se realizo con técnicos de vasta experiencia y utilizando semen de fertilidad probada. El diagnostico de gestacion se realizo por palpación rectal 40 +- 3 días después del servicio. La detección de celo, en este establo se realiza por observación visual, crayoneo en la base de la cola y podómetro. El efecto de esta suplementación se analizó en la tasa de concepción a primer servicio (1), intervalo parto primer servicio (2), intervalo parto gestacion (3) y servicios por concepción (4). Los resultados para grupo tratado y testigo fueron los siguientes: tratado y testigo 1.- 19.64 vs 26.78; 2.-54.5 vs 56.41; 3.- 71.96 vs76.84; 4.- 2.69 vs 2.41. Para el análisis de los datos se utilizo el paquete computacional SYSTAT versión 10. El análisis estadístico, no arrojo diferencias estadísticas para ninguno de los parámetros analizados (p >0.05), por lo que se concluye, que el betacaroteno invectable no tuvo ningún efecto positivo sobre los parámetros analizados en vacas primíparas.

**Palabras clave:** β-caroteno, Provitamina A, Radicales libres, Parámetros Reproductivos

#### I.- INTRODUCCION

Durante los últimos años hay un creciente interés en el estudio de la formación de radicales libres, así como sobre aquellas sustancias que tienen funciones antioxidantes, debido a sus potenciales efectos benéficos sobre la salud. Tanto la vitamina A como su precursor, el β-caroteno, son sustancias con una marcada acción antioxidante que tienen notables implicaciones en muchas actividades biológicas, tanto en el hombre como en los animales (Quintela *et al*, 2008).

La vitamina A, es un alcohol polienico isoprenoide que se conoce también con otros nombres como: Retinol, axeroftol, biosterol, vitamina anxeroftálmica y vitamina antiinfecciosa. En el siglo XIX se descubrió que la vitamina A era esencial para la vista, pero a lo largo de la historia se ha visto que también es necesaria para el adecuado crecimiento de huesos y músculos, integridad de epitelios, para la adecuada funcionalidad del sistema inmune, para evitar alteraciones genéticas y también para una buena función reproductiva (Ergun y Erdogan, 2002; Graves – Hoagland et al, 1988; Hemken y Bremel, 1982). Su deficiencia se ha asociado con ceguera nocturna, diarreas, neonatos muertos, ciegos, débiles y enfermos, incremento de la incidencia de abortos, retenciones de placenta, y en deficiencias prolongadas pueden verse afectados los índices reproductivos (Graves- Hoagland et al, 1988; Hurley y Doane, 1989; Weiss, 1998).

Los carotenoides son pigmentos naturales sintetizados por las plantas y microrganismos, pero no por los animales. Estos son clasificados de la siguiente manera: 1) Carotenoides hidrocarburos son conocidos como carotenos y contienen grupos finales específicos. Los licopenos tienen 2 grupos finales aciclicos. El β- caroteno tiene 2 grupos finales ciclohexenos. 2) los carotenoides oxigenados son conocidos como xantofilas (Goodwin, 1980).

El  $\beta$ - caroteno es un pigmento natural, soluble en grasas, producido por plantas y organismos fotosintéticos. Los animales ingieren los alimentos que contienen el  $\beta$ -caroteno y lo transforman en vitamina A en el hígado (Bendich y Olson, 1989) y en la mucosa del intestino delgado (Ikeda*et al*, 2005). Los animales necesitan de ambas sustancias para su correcto funcionamiento fisiológico. Un mg de  $\beta$ -caroteno es equivalente a 400 UI de vitamina A (Hemkel y Bremen, 1982).

La principal función de estos en el organismo, es su acción antioxidante. Así, su papel más importante es proteger al organismo de los radicales libres producidos durante el metabolismo oxidativo normal del organismo (Quintela *et al*, 2008). Los radicales libres son compuestos altamente reactivos que se producen en los procesos metabólicos normales, son extremadamente tóxicos para las células del organismo pudiendo reaccionar con ácidos nucleicos causando mutaciones, con enzimas desactivándolas, con ácidos grasos causando desestabilidad de la membrana, etc. Cuando la velocidad de producción de los radicales libres supera la velocidad de inactivación se produce un stress oxidativo (Miller *et al* 1993).

Según Miller et al (1993), el stress oxidativo ha sido asociado con la etiología de ciertos desórdenes productivos y reproductivos, principalmente en vacas lecheras de alta producción, como por ejemplo: Retención de placenta, metritis postparto, mastitis; así como también afecta la fertilidad.

En los procesos reproductivos del animal se generan numerosos radicales libres que pueden dañas las células del aparato reproductor, incluidos los gametos y el embrión, provocando fallas en la maduración del ovocito y en el desarrollo temprano del embrión, que derivan en un fallo reproductivo. Sin embargo, el organismo mantiene, en condiciones normales, un equilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes que previenen la aparición de estos problemas. Cuando se rompe este equilibrio por consecuencia de bajos niveles de antioxidantes en la dieta, es cuando surgen problemas y puede ser necesaria la suplementación exógena con antioxidantes (Quintela et al, 2008).

El marcado descenso en la fertilidad es una de las principales preocupaciones de los veterinarios dedicados al control de la reproducción en vacuno lechero. En las últimas dos décadas, la tasa de gestación en primera inseminación ha descendido desde un 55-60% a un 30-35% (Quintela et al, 2008).

#### 1.1.- OBJETIVO

Analizar el efecto del β-caroteno sobre parámetros reproductivos en vaquillas Holstein primíparascon aplicaciones a 28 y 56 días postparto.

#### II.- RECOPILACION BIBLIOGRAFICA

#### 2.1.- IMPORTANCIA DE LOS ANTIOXIDANTES EN HUMANOS

El estilo de vida actual puede promover inadecuados hábitos alimenticios, consumiendo alimentos con baja calidad nutricional y capacidad antioxidante. Lamentablemente en nuestra dieta se incluye comida rápida con alto contenido en grasas, alimentos chatarra, enlatados que contienen conservadores y bebidas con alto contenido de azúcar como los refrescos, reduciendo el consumo de alimentos naturales. Esto ha causado graves problemas de salud en nuestra sociedad como la desnutrición y obesidad, así como el aumento de diversas enfermedades crónico degenerativas, como una consecuencia del estrés oxidativo.

Actualmente, diversas enfermedades crónico degenerativas como el cáncer, la diabetes mellitus y las enfermedades cardiovasculares, entre otras, son la principal causa de muerte entre la población. Esto tiene un gran impacto socioeconómico, por lo que es muy importante hacer conciencia de que un cambio en la dieta puede traer altos beneficios a la salud. Por lo que unadieta basada en alimentos como frutas, vegetales, granos y algunas carnes como pescado y aves, entre otros (Halliwell, 1996), suplirá a nuestro organismo de las cantidades adecuadas de antioxidantes, con lo que, podremos disminuir los efectos negativos del estrés oxidativo sobre el cuerpo humano y aumentar la esperanza y sobre todo la calidad de vida de la población (Agudo, *et al.*, 2007).

#### 2.1.1 ORIGEN DE LOS RADICALES LIBRES

Los radicales libres(RL) se producen normal y continuamente durante el metabolismo celular, se llevan a cabo principalmente en la mitocondria, por las diversas reacciones redox, realizadas por enzimas como la NADHp oxidasa, lipoxigenasas, cicloxigenasas y peroxidasas (Turrens, 2003) existen otras fuentes endógenas de RL como son las oxidaciones microsomales, los fagosómas, la autooxidación de sustratos y los neutrófilos (Delgado et al, 2010).

Los RL endógenos, son producidos normalmente en el organismo y juegan un importantepapel en su defensa del mismo contra infecciones por bacterias y virus. También participan en procesos como la maduración de los reticulocitosy degradación de proteínas (Mohseni*et al*, 2009). Si bien, la concentración de éstos puede ser controlada

por los sistemas antioxidantes endógenos, el problema radica cuando los RL provienen de fuentes exógenas, tales como el consumo de alimentos con alto contenido de grasa (hamburguesas y aderezos), alimentos procesados (embutidos), fritos o asados y conteniendoconservadores, también por el consumo excesivo de alcohol, la exposición a diversos químicos (pinturas y pegamentos) o contaminantes del medio ambiente (agentes oxidantes que se encuentran en el humo del tabaco, herbicidas, smog, agua clorada, presencia de metales pesados y la exposición de asbestos, entre otros), radiaciones ionizantes (utilizados en radioterapia, los rayos X y la luz UV) y la exposición prolongada a temperaturas elevadas (Nguyen y Donnalson, 2005).

#### 2.2.- FUNCIONES FISIOLOGICAS DEL β- CAROTENO

Los carotenoides están entre los pigmentos naturales más comunes y han sido caracterizados hasta ahora más de 600 compuestos diferentes. Los carotenoides son responsables por muchos de los colores rojos, amarillos y naranja de las hojas, frutas y flores de los vegetales, así como también por el color de algunos insectos, aves, peces y crustáceos. Solamente pueden ser sintetizados por plantas, hongos, bacterias y algas; sin embargo, muchos animales los incorporan a través de la dieta. Dos carotenoides dietarios importantes son el licopeno y el β-caroteno (Stahl y Sies, 2003);estos están involucrados en la eliminación (scavenging) de dos especies reactivas del oxígeno, el oxígeno singlete y radical peroxilo. Además, son efectivos desactivando moléculas excitadas electrónicamente las cuales están involucradas en la generación tanto de radicales como del propio oxígeno singlete (Van haaften et al, 2003). El quenching del singlete oxígeno por los carotenoides, ocurre a través de un quenching tanto físico como químico. La interacción de los carotenoides con el oxígeno singlete, depende principalmente del quenching físico, lo cual implica la transferencia directa de energía entre ambas moléculas. La energía del oxígeno singlete es transferida al carotenoide produciendo oxígeno molecular en su estado basal y caroteno triplete excitado. El carotenoide retorna a su estado basal, disipando esta energía a través de la interacción con el solvente a su alrededor. En contraste con el quenching físico, las reacciones químicas entre el oxígeno singlete y los carotenoides son de menor importancia, contribuyendo con menos del 0,05% de la tasa total de quenching. Puesto que los carotenoides permanecen intactos durante el quenching físico, del oxígeno singlete estos pueden ser reusados varias veces en estos ciclos de quenching. El β-caroteno y otros carotenoides, son los quenchers naturales más eficientes para el singlete oxígeno. Su actividad como quenchersestá relacionada con el número de dobles enlaces conjugados presentes en la molécula (Stahl y Sies, 2003). Los carotenoides, barren eficientemente los radicales peroxilo, especialmente cuando la tensión de oxígeno es baja. La desactivación de los radicales peroxilo probablemente dependa de la formación del radical formando un carbono central radical estabilizado por resonancia (Bando et al, 2004).

#### 2.3.- EFECTO DEL ß-CAROTENO SOBRE LA REPRODUCCION ANIMAL

En el ganado doméstico, los principales efectos dañinos del estrés calórico sobre la reproducción son: Disminución en la tasa de concepción, ampliación del ciclo estral, acortamiento del período del estro, retención placentaria, reducción y disminución temporal de la fertilidad (duPreez et al., 1990). Von Borell (1995) señala que el período durante los primeros días de preñez, especialmente hasta la implantación del feto es muy sensible al estrés, ya que el desarrollo y diferenciación del útero durante estos días depende en gran medida de la función de las hormonas hipofisiarias, las cuales son producidas en forma local sólo hasta los últimos estadios de la preñez, en los cuales los animales son en forma general, insensibles a los estresores. El suplementar con \(\mathcal{G}\)-caroteno aumenta la fertilidad en el ganado estresado por el calor (Arechiga et al., 1998a) y el alimentar con caroteno a las vacas lecheras altas productoras casi duplica su tasa de concepción en la segunda o tercera lactación en los nacimientos de septiembre a diciembre, pero no altera las tasas de concepción en las lactaciones posteriores o vacas jóvenes que paren durante el periodo de enero a abril (Folman et al., 1987).

El ß-caroteno juega un papel muy importante en la reproducción y está involucrado en la formación de estradiol 17-b en los folículos terciarios así como en la formación de progesterona en el cuerpo lúteo, maduración e integridad funcional del oviducto, útero y placenta (KolbySeehawar, 1998). Se ha sugerido que es una parte integral de la membrana celular microsomal lútea, donde desarrolla un papel en la integración de la membrana y es asociado con lipoproteínas de baja densidad derivadas del plasma (Kumar et al, 2010). Para una óptima fertilización en las vacas los niveles mínimos de ß-caroteno en el plasma deben estar dentro de 150 a 300 mg/dL (Scheweigert, 2003). Las dietas deficientes en este micronutriente han demostrado afectar el desempeño reproductivo en animales debido a la disminución en la producción de P4,ovulación retrasada, baja en la

intensidad del estro, alta incidencia de la degeneración quística en el ovario, mortalidad embrionaria y abortos (Noakes et al, 2001).

La deficiencia de \(\mathcal{B}\)-caroteno ocurre a niveles muy debajo de esos que normalmente se encuentran en la práctica y la asociación entre la deficiencia de \(\mathcal{B}\)-caroteno y la fertilidad es una consecuencia de otra deficiencia inespecífica (Kumar et al, 2010).

#### 2.3.1. DEFICITDEL ß-CAROTENO EN LA MORTALIDAD EMBRIONARIA

La suplementación con β-caroteno mejora la supervivencia embrionaria en especies multiovulatorias: Ratón, rata, conejo y cerdo. Además de la estimulación de la producción de progesterona, se ha observado que el β-caroteno aumenta la secreción intrauterina de factores importantes para el desarrollo inicial del embrión (Quintela et al, 2008). Es bien sabido que, el ambiente uterino influye en el desarrollo inicial del embrión, de forma que, alteraciones en el mismo pueden causar su muerte y el retorno del celo de la vaca (Wathes et al, 2003).

El estrés oxidativo es una posible causa de mortalidad embrionaria. El metabolismo embrionario produce radicales libres que pueden retardar o bloquear el desarrollo del embrión, por lo que los β-carotenos pueden tener un efecto benéfico (Guerin et al, 2001).

La deficiencia de Vitamina A, aparte de su efecto en el ciclo ovárico, produce cambios degenerativos en la mucosa del útero con el resultado de que la nidación y muerte se evita, así como la reabsorción de embriones puede tener lugar en la vaca preñada (Kumar et al, 2010)

#### 2.3.2RELACION DE CARENCIA DEL ß-CAROTENO CON ABORTOS

La correlación positiva entre la progesterona y vitamina A o  $\beta$ -caroteno durante la gestacion indican que la vitamina y el  $\beta$ -caroteno junto con la progesterona puede tener un papel efectivo en el desarrollo de el cuerpo lúteo el cual provee la continuación de la preñez, y en el inicio de la síntesis de progesterona (Schweigert, 2003).

Yildiz et al (2006) concluyeron que la vitamina A, el ß-caroteno y el magnesio son necesarias para el mantenimiento de la preñez en vacas.

### 2.3.3. RELACION DE CARENCIA DEL ß-CAROTENO CON RETENCION DE MEMBRANAS FETALES

El potencial efectobenéfico de la vitamina A y del β-caroteno sobre la retención de la placenta ha sido objeto de varios estudios que han concluido con resultados contradictorios (Quintela et al, 2008).

Aunque los factores como el medio ambiente, composición genética, efectos fisiológicos y el estado hormonal se han asociado con un aumento en la incidencia de retención de placenta, la vitamina A y el β-caroteno parecen ser otros factores importantes (Chew et al, 1977).

Michal et al (1994) realizaron el estudio que consistió en suplementar las vacas conβ-caroteno antes del parto, con lo cual comprobaron que se producía una disminución en las retenciones de placenta, apuntaron el efecto benéfico del β-caroteno en el mecanismo de defensa, potenciando la proliferación de linfocitos y la función fagocítica, con lo que se favorece la expulsión de la placenta. La baja concentración de retinol plasmático en vacas sin suplementar durante el preparto pudo favorecer a una metaplasia epitelial y queratinización de los placentomas, aumentando con ello la incidencia en la retención de placentas.

En 2006,Akar y Gazioglu estudiaron los niveles de plasma en 20 vacas con retención de placenta y 20 vacas control. En vacas con retención de placenta, los niveles de vitamina A sérica fueron significativamente bajos en la segunda semana después del parto en comparación con las otras semanas. En el grupo control, los niveles fueron significativamente altos a la sexta semana que los de la segunda y cuarta semana. El nivel de la vitamina A sérica en el grupo con placenta retenida, fue significativamente más bajo que en el grupo control en la tercera, quinta y sexta semanas. Los niveles de β-caroteno plasmático se incrementaron gradualmente en ambos grupos después del parto.

Valyushkin and Kurzeka (1991) encontraron que la administración por vía IM de retinol disminuyó las retenciones de placenta en un 16.6% e incrementó la fertilidad en un 13.45% y el periodo de servicio mas corto por 13 días.

#### 2.3.4. EFECTO DEL \( \mathbb{G}\)-CAROTENO SOBRE EL ANESTRO

Existe una correlación entre la concentración de vitamina A existente en el fluido folicular, y los niveles de 17 β- estradiol, los niveles de esta vitamina en los folículos dominantes son notablemente mayores que en los encontrados en folículos con atresia (Schweigert y Zucker (1988).Schweigert et al (2003) describieron que los folículos dominantes tenían aumentada la ruta de transformación del β-carotenoen vitamina A.

Otro indicio de que el  $\beta$ -caroteno puede influir en la funcionalidad del folículo lo aporta el estudio de Kawashima et al (2008) en el que se demuestra que las vacas con retraso en el reinicio de la actividad ovárica postparto presentan niveles de  $\beta$ -caroteno inferiores en el preparto respecto a las que reinician la actividad ovárica postparto rápido.

El  $\beta$ -caroteno presente en el fluido folicular, influye en la producción de 17  $\beta$ -estradiol, mejorando, la calidad del folículo, aumentando los síntomas de celos, reduciendo el riesgo de alteraciones en la ovulación (ovulación retrasada, anestro) (Quintela et al, 2008).

#### 2.4.- COMPORTAMIENTO DE LOS PARAMETROS REPRODUCTIVOS

El comportamiento reproductivo del hato tiene diversas variables cada una de las cuales se mide en rangos que van de lo indeseable a lo ideal, siendo lo primero una situación problema y lo segundo, una situación de eficiencia óptima. En el cuadro 1 se desglosan estas variables con sus objetivos y metas a lograr.

Variable	Meta ideal	Meta regular	Problemas
Edad al primer parto	23 a 24 meses	24 meses	mas de 26 meses
Dias abiertos	75 a 90	90 a 120	mas de 140
Intervalo entre partos	12 meses	13 a 13.5 meses	mas de 14 meses
Servicios por concepcion	1	1.5 a 1.8	mas de 2
Primer servicio posparto	60 a 75 dias	90 a 100 dias	mas de 120 dias
Concepcion primer servicio	60%	55%	menos de 50%

Figura 1.- Principales parámetros reproductivos (Fuente: Gasque y Blanco, 2001)

#### 2.4.1. EDAD AL PRIMER PARTO

Está relacionada con la edad en que se produce el primer servicio de las novillas y depende principalmente del manejo y la alimentación que se le proporciona durante el período de crecimiento. A pesar de no constituir una medida de fertilidad, la EPP afecta significativamente la eficiencia productiva (Vergara et al, 2009).

#### 2.4.2. DIAS ABIERTOS

En ganado lechero especializado el periodo de días abiertos suele tener una duración de 75 a 90 días. Los días abiertos permiten evaluar un desempeño reproductivo más reciente y considera las vacas primerizas y las descartadas (Gallego, 1998). Para hatos que tienen pariciones todo el año, las cosas podrían ser así: 40 a 50% de las vacas deberán estar abiertas con menos de 100 días, 30 a 40% deberán estar entre 100 y 150 días abiertas y no más de 20% deberán rebasar los 150 días en esta situación (Gasque y Blanco, 2001).

#### 2.4.3. INTERVALO ENTRE PARTOS

Este es el parámetro reproductivo por excelencia; sin embargo, es tan general que no permite hacer un análisis de los problemas reproductivos, ni facilita la toma de decisiones.

Algunas vacas pueden parir con intervalos de 11 meses, sin embargo, estas solo son una minoría en un rebaño lechero. En general, en rebaños comerciales las vacas tienen un intervalo entre partos promedio de 13 meses, lo cual significa que tienen un periodo abierto de 120 días, a diferencia del intervalo entrepartos ideal en que el periodo abierto es de 90 días aproximadamente. El intervalo entre partos esta íntimamente asociado con los días abiertos, así, a un intervalo entre partos de 12 meses corresponderán como ya se dijo, 90 días abiertos; un intervalo de 13 meses tendrá un periodo abierto de 120 días, mientras que un intervalo de 14 meses acusaría un periodo abierto de 150 días, dándose intervalos intermedios entre los mencionados. El intervalo entre partos es uno de los parámetros termómetro que nos permite visualizar varios problemas colaterales, tales como los días abiertos, la detección de calores o los problemas asociados al posparto (Gasque y Blanco, 2001)

#### 2.4.4. SERVICIOS POR CONCEPCION

La medición de este parámetro nos dice que tan bien o mal se esta haciendo la detección de calores, la inseminación oportuna o la práctica de la inseminación en si. Lo ideal seria que al primer servicio quedara gestante cada vaca, pero en la práctica esto no es así; requiriéndose en promedio más de un servicio (Gasque y Blanco, 2001).

Este índice es fundamental para evaluar la capacidad de concepción en las vacas, la calidad del inseminador y del semen, la habilidad reproductiva de los toros y la influencia de factores como detección del celo y nutrición sobre la eficiencia del servicio (Gallego, 1998)

#### 2.4.5. INTERVALO PARTO – PRIMER SERVICIO

Debe ser de 60 a 75 días. Los promedios por encima de los 65 días indican una deficiencia en la detección de celo o un periodo de involución uterina retardado. Cualquier incremento en este intervalo prolonga los días abiertos (Gallego, 1998).

#### 2.4.6. TASA DE CONCEPCION A PRIMER SERVICIO

La tasa de concepción al primer servicio es el porcentaje de vacas de primer servicio que preñaron, con respecto al total de vacas inseminadas con un primer servicio. Un ejemplo, en un grupo de 24 vacas hubo 11 que recibieron su primera inseminación y resultaron 5 preñadas al diagnóstico, la tasa de concepción al primer servicio sería de 45.5% (= (5/11) x 100), que es una buena tasa, pero no nos dice nada de las vacas de más de un servicio. Además este índice tiene el mismo defecto del anterior ya que solo toma en cuenta a las vacas que preñaron, e ignora al resto. La tasa de concepción al primer servicio es un indicador del manejo del semen y de la técnica de inseminación (Olivera, 2010).

#### 2.4.7. INFLUENCIA DEL β-CAROTENO EN LAS TASAS DE CONCEPCION

Lotthammer (1978) concluyo que la suplementación con β-caroteno incrementaba las tasas de concepción en novillas. Por otro lado Folman et al (1983) observaron que suplementar con β-caroteno en animales con deficiencia mejoraba la fertilidad.

Existen evidencias de que el estrés calórico influye en la reproducción como consecuencia de la formación de radicales libres (Loven, 1988), Arechiga et al (1995) encontraron que también por una reducción en la actividad de los antioxidantes del organismo por lo que la estrategia que plantearon fue de suplementar a los animales con antioxidantes.

El periodo de suplementación con β-caroteno puede influir en la respuesta al estrés por calor, Arechiga et al (1998b) observaron que al suplementar por un periodo largo se evitaban los efectos negativos del estrés calórico. Sin embargo, Ealy et al (1994)

encontraron que al hacerlo por un periodo más corto no se encontraron con efectos positivos.

#### **III.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### 3.1.- Descripción del área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en un establo lechero localizado en el km 6.5 de la carretera Torreón–Mieleras del municipio de Torreón, Coahuila; situado en la latitud 26° norte, longitud 103° oeste y a una altitud de 1,140 msnm., la temperatura promedio es de 23.4° C y la precipitación pluvial promedio anual es de 230 mm3 (C.N.A. 2012).

#### 3.2.- Descripción de los animales

Se utilizaron 112 vaquillas Holstein de primer parto, con peso corporal entre500 a 600 kg. recién paridas, con buen estado de salud general. Las vaquillas fueron alimentadas a libre acceso con una dieta que incluía una proporción de forraje/concentrado de 48.5 /51.5, respectivamente, el alimento se ofreció por la mañana, tarde y noche coincidiendo con el horario de las ordeñas.

#### 3.3.- Diseño del experimento

Se dividieron las vaquillas en 2 grupos (tratado y testigo), al grupo tratado se les administró 600 mg de β-caroteno por vía IM a los 28 y 56 días postparto (Cuadro 2); al grupo testigo no se les administróβ-caroteno.

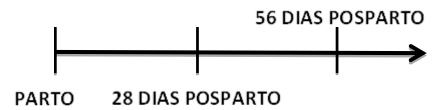


Figura 2: Días de aplicación del β-caroteno

Las vaquillas fueron distribuidas de manera aleatoria. No se incluyó en el estudio ningún animal con aborto. Se utilizo un periodo de espera voluntario de 45 días. Los grupos quedaron establecidos de la siguiente manera:

Tabl<u>a 1.- Distribución de los gru</u>pos

Grupo	Numero
Tratado	56
Testigo	56

Para la aplicación del tratamiento se utilizaron jeringas de 20 ml y agujas desechables.

Todos los animales del experimento fueron inseminados con toros probados por técnicos inseminadores. El celo fue identificado por medio de actividad electrónica (podómetro) crayones en la base de la cola, observación y palpación rectal, para verificar si estaba presente el estro.

#### 3.4. VARIABLES EVALUADAS

En el experimento se evaluaron los siguientes parámetros reproductivos:

- Intervalo parto-primer servicio: El tiempo transcurrido entre el parto a la primera inseminación.
- Intervalo parto-gestación: El tiempo que transcurrió entre el parto al día en que la vaquilla quedó gestante nuevamente.
- Tasa de concepción a primer servicio: El porcentaje de vaquillas preñadas con el primer servicio.
- Servicios por concepción: El numero de servicios necesarios para la concepción.

#### 3.5 ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico de los datos se realizo con el programa SYSTAT versión 10.

#### IV.- RESULTADOS

#### **4.1. INTERVALO PARTO-GESTACION**

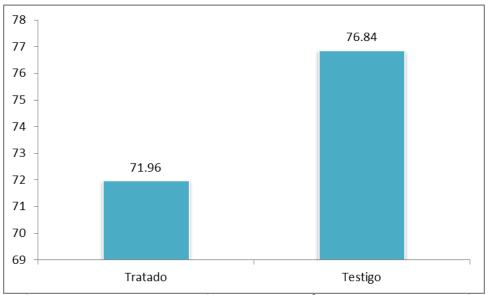


Fig. 3.- Resultados obtenidos en el parámetro parto- gestacion.

El intervalo parto- gestacion obtuvo un promedio de 71.96 para el grupo tratado y un 76.84 para el grupo testigo (Fig. 3) los cuales no difieren estadísticamente (p>0.05).

#### 4.2. TASA DE CONCEPCION A PRIMER SERVICIO

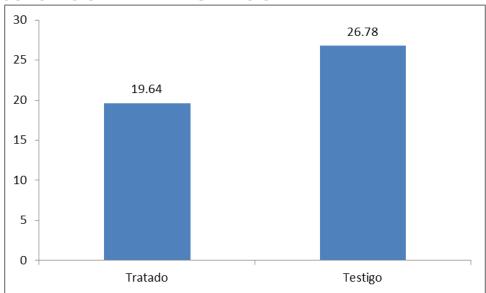


Fig. 4.- Resultados obtenidos en la tasa de concepción a primer servicio

La tasa de concepción a primer servicio obtenida es de 19.64 para el grupo tratado y 26.78 para el grupo testigo (Fig 4) estos no difieren estadísticamente (p >0.05). Muy por debajo de la meta regular que es de 55%.

#### 4.3. INTERVALO PARTO - PRIMER SERVICIO

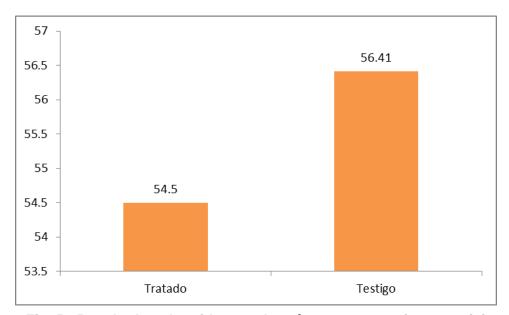


Fig. 5.- Resultados obtenidos en el parámetro parto-primer servicio.

En la figura 5 se observa que el grupo tratado obtuvo un promedio de 54.5 y el grupo testigo 56.41 estos no difieren estadísticamente (p >0.05). Mucho mejor del rango ideal que es de 65-70 días.

#### 4.4. SERVICIOS POR CONCEPCION

Tabla 2.- Servicios por concepción

Grupo	Servicios por concepción
Tratado	2.69
Testigo	2.41

Tabla 3.- Hembras repetidoras.

Grupo	% preñadas con menos	% preñadas con mas de 3 servicios	No preñadas
Tratadas	48.21	1.78	50
Testigo	60.71	3.57	35.71

Los servicios por concepción de los grupos se muestran en la Tabla 3 donde se observa que el grupo testigo obtuvo un mejor nivel que el grupo tratado, no difieren estadísticamente (p >0.05) aun así no esta dentro del rango normal ya que el promedio ideal se encuentra en 1.5 servicios por concepción.

En la tabla 3 se observan los porcentajes de vaquillas primíparas que se preñaron con menos de 3 servicios donde se concluye por los porcentajes que hubo más vacas preñadas con menos de 3 servicios del grupo testigo, se presentaron menos vacas no preñadas en el grupo testigo que en el grupo tratado.

#### V.-DISCUSION

Los resultados obtenidos coinciden con los obtenidos por Arechiga et al (1998c) donde concluye que el betacaroteno no tiene ningún efecto sobre los parámetros reproductivos.

Akordor et al (1986) encontraron que la suplementación con β-caroteno no tiene ningún efecto en los servicios por concepción y días abiertos lo cual coincide con estos resultados, así como también Wang et al (1988) concluyeron que la correlaciónentre la concentración de caroteno en suero sanguíneo no tiene ninguna relación significativa con los parámetros reproductivos.

Los resultados encontrados, se contradicen con los obtenidos por los investigadores Alemanes que encontraron que el  $\beta$ -caroteno mejora la tasa de concepción (Lotthammer, 1978). Otros,al igual que en este estudio,no han encontrado respuestas positivas reproductivas a la suplementación con  $\beta$ -carotenoen ganado lechero Bindas et al(1984); Marcek et al(1985) y Wang et al, (1988). Greenburg et al (1986) concluyeron que el  $\beta$ -caroteno no mejora la reproducción en ganado de carne.

Jukola et al (1996) mencionan que no existe ninguna relación entre la fertilidad del ganado lechero con la concentración plasmática, también mencionan que la suplementación con betacaroteno no tiene efecto significativo sobre la fertilidad del ganado. Otros autores (Ishak et al, 1983) encontraron que la suplementación con vitamina A no tuvo ningún efecto en la incidencia de casos de retención de membranas fetales y no mejorólos parámetros reproductivos al igual que en este caso. Además señalan que los servicios por concepción y el intervalo parto concepción no obtuvieron una mejora con la suplementación del betacaroteno. En un experimento realizado por Ascarelli et al (1983) el cual se constituyó por dos partes, obtuvieron una mejora en la tasa de preñez con la suplementación del betacaroteno en vacas jóvenes (Paridas en Septiembre a Diciembre), mientras que en una segunda parte de este experimento en (vacas paridas en Enero a Abril) no hubo diferencias significativas entre los dos grupos.

#### VI.- CONCLUSION

Después de una exhaustiva revisión de datos se concluyo que el betacaroteno inyectable (Dalmavital) en nuestro caso no tiene ningún efecto positivo sobre los principales parámetros reproductivos en vaquillas primíparas.

#### VII.- BIBLIOGRAFIA

- 1. ADAM-VIZI, V. 2005. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: Contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources, Antioxidants and Redox Signaling. 7(8),1140-1149,
- Agudo, A. Cabrera, I. Amiano, P. Ardanaz, E. Barricarte, A. Berenguer, T. Chirlaque, M.D. Dorronsoro, M. Jakszyn, P. Larrañaga, N. Martínez, C. Navarro, C. Quirós, J.R. Sánchez, M.J. Tormo, M.J. González, C.A., 2007. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: findings from the Spanish cohort of the European prospective investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain), American Journal Clinical Nutrition. 85(6), 1634-42.
- 3. Akar Y and Gazioglu A., 2006. RELATIONSHIP BETWEEN VITAMIN A AND  $\beta$ -CAROTENE LEVELS DURING THE POSTPARTUM PERIOD AND FERTILITY PARAMETERS IN COWS WITH AND WITHOUT RETAINED PLACENTA. Bull vet. Inst. Pulawy 50: 93-96
- 4. Akordor F.Y. Stone J.B. Walton J.S. Leslie K.E. and Buchanan-Smith J.G., 1986. Reproductive performance of lactating Holstein cows fed supplemental β- carotene. J. Dairy Sci. Vol. 69, 8, 1986.
- 5. Arechiga C.D. Ealy A.D., Hansen P.J., 1995. Evidence that glutathione is involved in thermotolerance of preimplantation murine embryos. Biol. Reprod. 52: 1296-1301.
- 6. Arechiga, C. F., C. R. Staples, L. R. McDowell y P. J. Hansen. 1998a. Effects of timed insemination and supplemental beta-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. J Dairy Sci 81: 390-402.
- 7. Arechiga C.F. Vazquez-Flores S, Ortiz O, Hernandez- Ceron J., Porras A., Mcdowell L.R. Hansen P.J., 1998b. Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating cows. Theriogenology 50: 65-76.
- 8. Arechiga C.F. Staples C.F., Mcdowell L.R. and Hansen P.J.. 1998c. Effects of timed insemination and supplemental β-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. J. Dairy Sci. 81: 390.
- 9. Ascarelli I., Edelman Z., Rosenberg M. and Folman Y. 1985. Effect of dietary carotene on fertility of high-yielding dairy cows. Animal Production, 40, pp 195-207
- 10. Bando B., Hayashi H., Wakamatsu S., Inakuma T. Miyoshi M., Nagao A., Yamauchi R. and Terao T. 2004: Participation of singlet oxygen in ultraviolet-A-induced lipid peroxidation in mouse skin and its inhibition by dietary  $\beta$ -carotene: an ex vivo study. Free Radical Biology & Medicine. 37: 1854–1863
- 11. Bendich A., Olson J.A., 1989. Biological actions of carotenoids. FASEB J. 3:1927-1932.

- 12. Bindas, E.M. Gwazdauskas, F.C., Aiello R.J. Herbein J.H., McGilliard M.I. and Polan C.E. 1984. Reproductive and metabolic characteristics of dairy cattle supplemented with  $\beta$ -carotene. J. Dairy Sci. 67:1249-1255.
- 13. Cantrell A., McGarvey D.J., Truscot, T. G., Rancan, F. and Bohmb, F. 2003: Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment Archives of Biochemistry and Biophysics 412: 47–54
- 14. Chew, B. P., H. F. Keller, R. E. Erb, and P. V. Malven. 1977. Periparturient concentrations of prolactin, progesterone and the estrogens in blood plasma of cows retaining and not retaining fetal membranes. J. Anim. Sci. 44:1055.
- 15. CONAGUA. COMISION NACIONAL DEL AGUA. http/www.cna.org.mx consultado el dia 23 de mayo del 2012
- 16. Delgado O.L., Betanzos C.G., Sumaya, M. M. 2010. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. Investigación y Ciencia 50: 10-15.
- 17. duPreez, J.H., P.N. Hattingh, W.H. Giesecke y B.E. Eisenberg. 1990. Heat stress in dairy cattle and other livestock under southern african conditions. Iii monthly temperature- humidity inex mean values and their significance in the performance of dairy cattle. Onderstepoort J. Vet 57: 243-248.
- 18. Ealy A.D. Arechiga C.F. Bray D.R., Risco C.A. Hansen P.J. 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.
- 19. Ergun Y, Erdogan Z, 2002. The effect of feeding on fertility in dairy cows II: vitamin, mineral and fertility relationship. Bultendif. 18: 13-17
- 20. Folman, Y., I. Ascarelli, D. Kraus y H. Barash. 1987. Adverse effect of beta-carotene in diet on fertility of dairy cows. J DairySci 70: 357-366.
- 21. Folman Y, Rosenberg M., Ascarelli I, Kaim M, Herz Z., 1983. The effect of dietary and climatic factors for fertility, and on plasma progesterone and oestradiol-17 beta levels in dairy cow. J. SteroidBiochem. 19:863-868.
- 22. Gallego M. 1998. Reproduccion animal: Metodos de estudio en sistemas. RISPAL: 111-127
- 23. GasqueR. y Blanco M.A.2001: Zootecnia en bovinos productores de leche. UNAM: 205-215
- 24. Goodwin T.W. 1980: "The Biochemistry of the Carotenoids." Vol. 1: "Plants." New York: Chapman and Hall: 203.
- 25. Graves- Hoagland R, Hoagland T. A., Woody C. O., 1988. Effect of beta-carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. J. Dairy Sci. 72: 1854-1858.

- 26. Greenburg, L.G., Bristol F., Murphy B.D., and Laarveld B. 1986.  $\beta$ -carotene does not influence fertility in beef heifers. Theriogenology 26:491-508.
- 27. Guerin P., Mouatassinm S., Menezo Y., 2001. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre implantation embryo and its surroundings. Hum. Reprod. Update 7: 175-189.
- 28. Halliwell, B., 1996. Antioxidants in humans health and disease, Annual Reviews. 16, 33-50
- 29. Hemken R.W., Bremel D.H., 1982. Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle.

  J. Dairy Sci. 65: 1069-1073
- 30. Hurley W.L., Doane R.M, 1989. Recent developments in the roles of vitamins and minerals reproduction. J. Dairy Sci. 72: 784-804
- 31. Ikeda S., Kitawa M., Imai H., Yamada M., 2005. The roles of Vitamin A for cytoplasmic maturation of bovine oocytes. J. Reprod Dev. 51: 23-35.
- 32. Ishak M.A., Larson L.L., Owen F.G., Lowry S.R., Erickson E.D. 1983: Effects of selenium, vitamins, and ration fiber on placental retention and performance of dairy cattle. J Dairy Sci, 66, 1832-1840.
- 33. Jukola E., Hakkarainen J., Saloniemi H., Sankari S. 1996: Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and  $\beta$ -carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility. J Dairy Sci, 79, 838-845.
- 34. Kawashima C, Kida K, Schweigert F.J. Miyamoto A. 2008. Relationship between plasma β-carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave post-partum in dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 10: 1016
- 35. Kolb, E. and Seehawar, J. 1998: TierarztlicheUmschau. 53(3):150-151, 153-156.
- 36. Krinsky N.I. 1998: Overview of lycopene, carotenoids, and disease prevention. ProcSocExpBiol Med 218: 95–97
- 37. Kumar, S., Pandey, A.K., MuthaRao M. and Razzaque W.A.A., 2010. Role of Betacarotene / Vitamin A in animal Reproduction (Review). Veterinary World Vol 3. (5): 236-237
- 38. Lotthammer K.H., 1978. Importance and role of beta-carotene for bovine fertility. Roche Symposium: 5-44
- 39. Loven D.P., 1988. A role for reduce oxygen species in heat-induce cell killing and the induction thermotolerance. Med. Hypotheses. 26: 39-50.
- 40. Marcek, J.M., Appell L.H., Hoffman C.C., Moredick P.T., and Swanson L.V. 1985. Effect of supplemental β-carotene on incidence and responsiveness of ovarian cysts to hormone treatment. J. Dairy Sci. 68:71-77

- 41. Michal J.J., Heirman L.R., Wong T.S., Chew B.P., Frigg M., Volker L., 1994 Modulatory Effects of Dietary Carotene on Blood and Mammary Leukocyte Function in Periparturient Dairy Cows. J. Dairy Sci. 77:1408-1421.
- 42. Miller J. K. and BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E. 1993. Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function, J. Dairy Sci. 76: 2812-2823
- 43. MOHSENI SALEHI MONFARED, S.S. VAHIDI, H. ABDOLGHAFFARI, A.H. NIKFAR, S. y ABDOLLAHI, M., 2009. Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: a systematic review, World Journal of Gastroenterology. 15(36), 4481-90
- 44. NGUYEN, A.T. y DONNALSON, R.P., 2005. Metal-Cattalyzed oxidation induces carbolynation of peroxisomal proteins and loss of enzymatic activities, Archives of Biochemistry and biophysics. 439: 25-31
- 45. Noakes D. E., Parkinson T.J. and England G.C.W. 2001: Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. WB Saunders Co., Philadelphia, P.A.p.p.457-458
- 46. Olivera S. S., 2010. Midiendo y monitoreando la reproducción en vacas lecheras. Peru láctea Ganadera.
- 47. Quintela L.A., Becerra J.J., Díaz C., Alonso G., Herrad y Herradon P.G. 2008. La importancia del β-caroteno y la vitamina A en la fertilidad. Albéitar núm. 116: 26-29
- 48. Schweigert F.J., Steinhagen B, Raila J, Siemann A, Peet D, Buscher U., 2003. Concentrations of carotenoids, retinol and alfa-tocopherolun plasma and follicular fluid of women undergoing IVF. Human Reproduction. 18: 1259-1264.
- 49. Schweigert, F.J. 2003:ResearchNote:Changes in the Concentration of beta-carotene, alphatocopherol and retinol in the bovine corpus lutium during the ovarian cycle. Arch. Tieremahr, 57:307-310
- 50. Schweigert F.J., Zucker H, 1988. Concentrations of vitamin A, beta carotene and vitamin E in individual follicles of different quality. J. Reprod. Fertil. 82:575-579
- 51. Stahl, W. And Sies, H 2003: Antioxidant activity of carotenoids Molecular Aspects of Medicine 24: 345–351,
- 52. TURRENS, F.J 2003. Mitocondrial formation of reactive oxygen species, Journal Phisiology. 552(2), 335-344
- 53. Valyushkin, K.D. and Kurzeka A.P. 1991: SeriyaSelSkagaspadarchykhNavuk. Vet. Bull. 63:3379.
- 54. vanHaaften R., Haenen G. Evelo C. and Bast A 2003: Effect of Vitamin E on Glutathione-Dependent Enzymes. Drug Metabolism reviews 35: 215–253

- 55. Vergara O, Boterp L., Martinez C., 2009. Factores ambientales que afectan la edad al primer parto y primer invervalo de partos en vacas de sistema doble proposito.Revista MVZ Córdoba, Vol. 14, Núm. 1, enero-abril, pp. 1594-1601
- 56. vonBorell, E. 1995: Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of farm animals. Appl. Anim. Behav. Sci. 44: 219-227.
- 57. Wang J.Y., Owen F.G. and Larson L.L. 1988. Effect of Beta-carotene Supplementation on Reproductive Performance of Lactating Holstein Cows. J. Dairy SciVol 71, No. 1.
- 58. Wathes, D. C.; Taylor, V. J.; Cheng, Z. and Mann, G. E. 2003: Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. Reproduction Supplement, 61 pp.219–237.
- 59. Weiss W.P., 1998. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cow: a review. J. DairySci. 81: 2493-2501