

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Influencia del β -caroteno inyectable sobre la fertilidad y el índice de abortos en vacas lecheras.

Por:

PEDRO ANTONIO RENDÓN RAFAELA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Influencia del β -caroteno inyectable sobre la fertilidad y el índice de abortos en vacas lecheras.

Por:

PEDRO ANTONIO RENDÓN RAFAELA

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

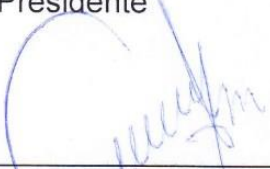
Aprobada por:



DR. CARLOS LEYVA ORASMA
Presidente



DR. OSCAR ANGEL GARCÍA
Vocal



DRA. MA DE LOS ANGELES
DE SANTIAGO MIRAMONTES
Vocal



DRA. LETICIA ROMANA
GAYTAN ALEMAN
Vocal Suplente



MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Influencia del β -caroteno inyectable sobre la fertilidad y el índice de abortos en vacas lecheras.

Por:

PEDRO ANTONIO RENDÓN RAFAELA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



DR. CARLOS LEYVA ORASMA
Asesor Principal



MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de **Ciencia Animal** de la División
Regional de **Ciencia Animal**



Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por permitirme terminar mis estudios profesionales y guiarme siempre por el camino del bien.

A MI ALMA TERRA MATER

Por brindarme la oportunidad de forjar mis estudios y formarme profesionalmente en esta difícil pero hermosa carrera que hoy culmino con gran orgullo.

A MIS AMIGOS

Por brindarme su amistad y apoyo, Eliel Peralta Castro, Ricardo Montelongo Cenicerros y David Eduardo Pineda Sánchez (†), compartimos muchos momentos gratos, espero pronto reunirnos ya sea en esta vida o en la otra.

AL DR CARLOS LEYVA

Por darme la oportunidad de trabajar con él, brindarme un poco de su tiempo y experiencia, excelente médico y formador, por todo muchas gracias.

A LA DRA MA DE LOS ANGELES DE SANTIAGO MIRAMONTES

Principalmente por su amistad, su exigencia y dedicación como maestra, sus regaños y consejos, y su apoyo incondicional, mil gracias.

AL DR OSCAR ÁNGEL GARCÍA

Principalmente por su amistad incondicional y su apoyo en la revisión literaria de la tesis, gracias a su ayuda no retrase más mi trabajo de investigación, muchas gracias doctor.

DEDICATORIAS

A MI ABUELO, EL SR ANTONIO RENDÓN SANTANA (†)

Por enseñarme los valores, tener sueños y metas. Siempre me apoyaste en mis decisiones y gracias a ti, tus ejemplos, consejos y enseñanzas llegue a culminar uno de mis objetivos, terminar la carrera de medicina veterinaria. Este triunfo es tuyo abuelo, ¡y los que faltan!, hasta donde estés abuelo, gracias.

A MIS PADRES MARCOS ANTONIO RENDÓN PEREZ Y MA DE LOURDES RAFAELA BIBIANO

Por todo el apoyo que me brindaron, tanto para mi formación ética como profesional, por todo el cariño y sacrificio que a veces pasaron para poder ofrecerme una vida y un futuro mejor. Los amo.

A MI ESPOSA MA DEL CARMEN GARCIA LEYVA

Por estar a mi lado en todo momento y por todo el apoyo y atención que me brinda y darme unos hermosos hijos: José Antonio, Génesis Samara y Hannah Belén, que igual que ella fueron un motor para terminar mis estudios. Los amo.

A mis hermanas Ma. de los Ángeles, Guadalupe y Ma. Isabel por apoyarme en este camino que he recorrido.

INFLUENCIA DEL β -CAROTENO INYECTABLE SOBRE LA FERTILIDAD Y EL INDICE DE ABORTOS EN VACAS LECHERAS.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la administración de β -caroteno vía intramuscular en vacas de raza Holstein altas productoras de leche sobre algunos parámetros reproductivos. El presente trabajo se llevó a cabo en un establo de la Comarca lagunera, el cual se encuentra a 1,111msnm y se localiza en las coordenadas 25° 44 36" N. Se utilizaron 217 animales, los cuales fueron divididos al azar en dos grupos. Un primer grupo ($G\beta$) se les aplicó 600 mg de β -carotenos por vía IM a los 28 y 56 días post-parto. Mientras que a un segundo grupo (GC) no se le aplicó ningún tratamiento. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa MYSTAT Versión 10. El porcentaje de preñez acumulado para $G\beta$ fue del 38% vs 40% del GC; ($P>0.05$). El porcentaje de vacas vacías para el $G\beta$ fue del 62% vs el 81% del GC; ($P<0.05$). Mientras que el porcentaje de abortos para $G\beta$ fue del 13% y 12% para el GC; ($P>0.05$). En conclusión, la aplicación de β -caroteno inyectable a los 28 y 56 días post-parto tuvo un efecto positivo al reducir el porcentaje de vacas vacías en los animales sometidos al tratamiento con β -carotenos.

Palabras clave: β -caroteno, provitamina, radicales libres, vaca vacía, aborto.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
I. RESUMEN.....	iii
II. INTRODUCCION.....	1
1.1. OBJETIVO.....	2
1.2. HIPOTESIS.....	2
III. II. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1.- LOS β -CAROTENOS COMO ANTIOXIDANTES.....	3
2.2.- EFECTO DE LOS β -CAROTENOS EN LOS MAMIFEROS.....	5
2.2.1.- EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO.....	7
2.2.2.- EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO.....	9
2.2.3.-EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE LA TASA DE ABORTOS.....	10
2.2.4.-EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE LA RETENCION DE MENBRANAS FETALES.....	11
IV. III. MATERIALES Y METODOS.....	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 DURANTE EL EXPERIMENTO.....	14
V. IV. RESULTADOS.....	15
VI. V. DISCUSIÓN.....	16
VII. VI. CONCLUSION.....	18
VIII. VII. REFERENCIAS.....	19

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: distribución de los grupos.....	13
Tabla 2: Producto, dosis administrada durante el experimento y vía de administración.....	13
Tabla 3. Respuesta reproductiva de las vacas de la raza Holstein altas productoras de leche tratadas con β -caroteno (G β) y vacas control (GC) manejadas en condiciones intensivas de la Comarca Lagunera.....	15
Figura 1: días de aplicación del β -caroteno.....	13

I. INTRODUCCIÓN.

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 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). 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).

El β -caroteno es un pigmento natural, soluble en grasas, producido por plantas y organismos fotosintéticos. Los animales ingieren los alimentos que contienen el β -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 β -caroteno es equivalente a 400 UI de vitamina A (Hemken y Bremel, 1982).

Los carotenoides son los pigmentos que permiten la coloración de las plantas, aves, peces, insectos, etc. Esta sustancia es un componente importante de las plantas verdes tales como pastos y forrajes. Sin embargo, el contenido de éste en los forrajes es variable. Los factores más importantes que reducen la concentración de β -caroteno en las plantas son el método de preservación (secado o ensilado), la duración de la preservación, las condiciones de la preservación, la duración del almacenamiento y el tipo de procesamiento del material seco (Armando Enriquez, 2016).

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).

En los procesos reproductivos del animal se generan numerosos radicales libres que pueden dañar 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).

1.1 OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la administración de β -caroteno vía intramuscular en vacas de raza Holstein Friesian altas productoras de leche sobre algunos parámetros reproductivos.

1.2 HIPÓTESIS

La administración de β -carotenos inyectado vía intramuscular a los 28 y 56 días post parto, mejora el desempeño reproductivo de las vacas Holstein

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- LOS β -CAROTENOS COMO ANTIOXIDANTES.

Se conocen en la naturaleza cerca de 100 sustancias con efecto provitamina A, de los cuales el β -caroteno es el más extendido y eficaz (Santamaria, 2003). Los carotenoides son pigmentos naturales que son sintetizados por las plantas y son responsables de los colores brillantes de varias frutas y verduras. Hay varias docenas de carotenoides en los alimentos, y la mayoría de estos carotenoides tienen actividad antioxidante (Paiva *et al.*, 1999).

Al caroteno se le atribuye una variedad de acciones biológicas no directamente relacionadas con su función como precursor de retinol, sino como eliminador de radicales libres, especialmente los del oxígeno, y de esta forma, actúa como un potente antioxidante (Rodríguez *et al.*, 2002). El β -caroteno ha sido muy estudiado ya que, en la mayoría de los países es el carotenoide más común en las frutas y verduras. Sin embargo, en los Estados Unidos, el licopeno de tomate ahora se consume en aproximadamente la misma cantidad que el β -caroteno. Los antioxidantes (incluyendo los carotenoides) han sido estudiados por su capacidad para prevenir enfermedades crónicas. El β -caroteno y otros carotenoides tienen propiedades antioxidantes *in vitro* y en modelos animales. Las mezclas de carotenoides o asociaciones con otros antioxidantes (por ejemplo, la vitamina E) pueden aumentar su actividad contra los radicales libres. El uso de modelos animales para el estudio de carotenoides es limitado, ya que la mayoría de los animales no absorben o metabolizan carotenoides de manera similar a los seres humanos (Paiva *et al.*, 1999). La mayoría de los carotenoides contienen una estructura lineal de hidrocarburos C_{40} incluye entre 3 y 15 enlaces dobles conjugados (Armstrong *et al.*, 1996).

La mayoría de los carotenoides pueden ser descritos con la fórmula general $C_{40}H_{56}O_n$, donde n son 0-6 Hidrocarburos ($n=0$) llamados carotenos y los carotenoides oxigenados llamados xantofilas (Greiwe *et al.*, 1997).

Desde 1956 se ha resaltado la importancia de la acumulación de radicales libres de oxígeno durante la respiración aeróbica, como causa de daño

acumulativo que ocasiona envejecimiento y muerte, siendo las tres principales clases de macromoléculas biológicas (lípidos, ácidos nucleicos y proteínas), susceptibles al ataque de los radicales libres, existiendo abundante evidencia de que todas sufren daño oxidativo *in vivo* (Beckman *et al.*, 1998).

El oxígeno diatómico es un tipo de radical y el oxidante más importante en los organismos aeróbicos. La reducción de uno o dos electrones del O₂ genera O₂⁻ y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) respectivamente, los cuales son generados por numerosas rutas *in vivo*. En presencia de metales libres de transición (en particular hierro y cobre), el O₂⁻ y H₂O₂ generan juntos radicales hidroxilos (OH) sumamente reactivos, los cuales se cree son las especies responsables de iniciar la destrucción oxidativa de las biomoléculas (Beckman *et al.*, 1998). Aproximadamente 1-2% del oxígeno metabolizado es convertido a una especie de oxígeno reactivo (Aréchiga *et al.*, 1998).

Las células están equipadas con un impresionante repertorio de enzimas antioxidantes, así como con pequeñas moléculas antioxidantes obtenidas principalmente de frutas y vegetales en la dieta. Estas incluyen: 1) enzimas inactivadoras como la superóxido dismutasa (SOD), la que acelera la dismutación de O₂⁻ a H₂O₂, y catalasas, además de la glutatión peroxidasa (GPX), que convierten el H₂O₂ a agua, 2) inactivadoras de radicales hidrofílicos como el ascorbato, el urato, y el glutatión (GSH), 3) inactivadores de radicales lipofílicos como son el tocoferol, los flavonoides, los carotenoides y el ubiquinol; 4) enzimas involucradas en la reducción de formas oxidadas de pequeñas moléculas antioxidantes (GSH reductasa, dehidroascorbato reductasa) responsable del mantenimiento de las proteínas tioles (thioredoxin reductasa) y 5) el mecanismo celular que mantiene la reducción del entorno por ejemplo; glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, la cual regenera al NADPH. (Beckman *et al.*, 1998).

El sistema antioxidante incluye moléculas como el β-caroteno, la vitamina E, el selenio, el glutatión y la taurina, los cuales actúan como antioxidantes de membrana, manteniendo la integridad de la membrana fosfolipídica contra los daños oxidativos y las peroxidaciones, asimismo como cofactor que actúa en el líquido intracelular y los compartimientos extracelulares para catalizar la

destrucción de peróxidos (Aréchiga *et al.*, 1998), (Ealy *et al.*, 1994). Los carotenoides son importantes como precursores de vitamina A y retinoides. Además, actúan como antioxidantes, como inmunoestimulantes, como inhibidores de la mutagénesis e inhibidores de lesiones premalignas, filtrando pigmentos en la fovea primitiva, y suprimiendo la fluorescencia no fotoquímica (Folman *et al.*, 1987).

Existe un número de factores que influyen en la biodisponibilidad de los carotenoides, los cuales se agrupan en: especies de carotenoides, unión molecular, cantidad de carotenoides consumidos en el alimento, matriz en la cual los carotenoides se incorporan, efectores de absorción y bioconversión, estado de nutrición del hospedero, factores genéticos, factores relacionados con el hospedero e interacciones matemáticas, definiendo biodisponibilidad como la fracción del nutriente ingerido que está disponible para su utilización en las funciones fisiológicas o para su almacenamiento (Greiwe *et al.*, 1997).

Los carotenoides plasmáticos representan aproximadamente el 1% del contenido corporal total de carotenoides, mientras que la mayor concentración de ellos se encuentra en el hígado (Greiwe *et al.*, 1997).

2.2.- EFECTO DE LOS β -CAROTENOS EN LOS MAMÍFEROS (SU DEFICIENCIA)

El fotoperíodo, temperatura, y la nutrición son tres señales que influyen en la reproducción en los mamíferos. Desde un punto de vista práctico, la nutrición tiene la mayor atención debido a que los productores de ganado pueden alterar la nutrición ampliamente en el ganado doméstico, mientras que la alteración de fotoperíodo o la temperatura sólo se puede lograr en situaciones de manejo intensivo (Dunn *et al.*, 1992).

El uso de forrajes henificados o ensilados disminuyen cuantiosamente los niveles de carotenoides en su composición, ya que son muy sensibles a la oxidación, luz, temperatura, pH, humedad y micro minerales y su biodisponibilidad se reduce aún más por su degradación ruminal (Gaspar Loayza, 2015). El aporte adecuado de β -caroteno al ganado lechero es muy

importante. Aparte de ser el precursor natural de la vitamina A, el β -caroteno influye de manera significativa, y posiblemente de forma independiente, en la capacidad reproductiva (Irmgard *et al.*, 2007).

La deficiencia de β -caroteno en los bovinos provoca ciertos desordenes de tipo reproductivo como son estros silenciosos, ovulación retrasada, bajo índice de concepción, mayor número de servicios, baja síntesis de progesterona, mayor índice de quistes ováricos, abortos, alto índice de enfermedad de becerros, mayor retención de placenta, metritis, etc. (Armando Enriquez, 2016).

Dunn *et al.*, (1992) reportaron efectos positivos asociados a la suplementación de β -caroteno en la alimentación, tales como un aumento la tasa de preñez, disminución de los intervalos entre el parto y la concepción (días abiertos), y una disminución del número de servicios por concepción.

Cuando un animal no tiene un nivel suficiente de antioxidantes se produce un efecto negativo sobre la reproducción. Al revisar diferentes estudios se ha llegado a la conclusión de que los niveles normales de vitamina A en el plasma de las vacas se encuentran entre 25 y 80 $\mu\text{g}/\text{dl}$, mientras que los de β -carotenos están entre 300 y 1200 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Valores por debajo de 7 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de vitamina A o de 100 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de β -caroteno suponen una deficiencia severa y valores intermedios una deficiencia leve (Quintela *et al.*, 2008).

Breve y Chew (1985) examinaron los efectos en la alimentación de la vitamina A o la inyección de la vitamina A y β -caroteno en el rendimiento reproductivo de las cerdas jóvenes con deficiencias de vitamina A. Las inyecciones de β -caroteno o β -caroteno en combinación con la vitamina A dieron como resultado una elevación significativa de vitamina A y β -caroteno en plasma y grandes mejoras en las características reproductivas, incluyendo la disminución de la mortalidad embrionaria y el aumento del número de lechones nacidos (Coffey *et al.*, 1993).

2.2.1.- EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO.

El crecimiento y desarrollo folicular, la ovulación y el mantenimiento de la gestación requieren grandes cantidades de vitamina A. Aun cuando los aportes de vitamina A sean altos, tiene dificultad en pasar la barrera sanguínea hacia el folículo. Sin embargo el β -caroteno es capaz de penetrar al fluido folicular. La deficiencia en β -caroteno puede provocar retrasos en la ovulación, aumentando así la incidencia de quistes foliculares (Santamaria, 2003).

Los radicales libres pueden dañar varios de los procesos asociados con la fertilidad reproductiva, incluyendo la síntesis de esteroides y prostaglandinas, la motilidad espermática y el desarrollo embrionario (Aréchiga *et al.*, 1994). Ya que el aumento en su formación puede agobiar los mecanismos de defensa de los antioxidantes y comprometer la función celular. La producción de radicales libres puede representar una fuente de infertilidad debido a que el tejido ovárico, la esteroidogénesis, los espermatozoides y la pre implantación del embrión, son sensibles a los daños producidos por ellos (Aréchiga *et al.*, 1998).

La administración de vitamina E y selenio incrementan la fertilidad en vacas que recibieron dos o más servicios. Una simple inyección preparto de vitamina E y Selenio también incrementó la fertilidad (Aréchiga *et al.*, 1998).

El efecto de la suplementación con β -caroteno sobre la fertilidad ha sido un tema controversial. Se han reportado efectos benéficos en vacas lecheras pero también una falta de respuesta. Por otra parte también se han reportado efectos adversos sobre la fertilidad (Aréchiga *et al.*, 1998a).

El β -caroteno está presente en concentraciones sumamente altas en el cuerpo lúteo de los bovinos, dando su característico color amarillo, actuando así como precursor de la vitamina A, de ahí la evidencia de que incrementar el β -caroteno puede ser necesario para la óptima producción de esteroides, posiblemente actuando como un antioxidante (Arikan *et al.*, 2000). La dieta con β -caroteno no influyó significativamente en las concentraciones de 17 β -estradiol plasmáticos. Por lo general, las concentraciones plasmáticas de 17 β -estradiol fueron mayores durante el periodo ovulatorio (Weng *et al.*, 2000). Sin

embargo, el folículo desarrolla un cuerpo lúteo después de la ovulación, y secreta P4 que es requerida para el sostén de la preñez de los mamíferos (Kawate *et al.*, 2000).

El β -caroteno puede servir para proteger el cuerpo lúteo desde los daños estructurales y funcionales de las especies de oxígeno reactivo y para tener una actividad esteroideogénica óptima, por lo que el β -caroteno en la dieta aumenta la concentración de progesterona en plasma y acelera el tiempo de ovulación (Weng *et al.*, 2000).

El β -caroteno en los bovinos es transportado normalmente a los ovarios, incorporado en componentes lípidos: las lipoproteínas de alta densidad (HDL), y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) para que las células lúteas muestren tener receptores sobre su membrana celular. Tanto las HDL como las LDL abastecen al cuerpo lúteo de otras sustancias solubles en grasas como son el colesterol, la vitamina A y la vitamina E (Arikan *et al.*, 2000).

Se ha reportado que alimentar vaquillas con β -caroteno incrementa el tiempo desde el tratamiento con PgF 2α al estro, y el pico de concentración de hormona luteinizante a la ovulación, pero disminuye el intervalo del estro a la ovulación. Así mismo los β -carotenos fueron encontrados en fracciones estructurales del cuerpo lúteo y las vaquillas alimentadas con β -caroteno incrementaron los niveles plasmáticos de progesterona seguida de un cambio en la gonadotropina coriónica en vaquillas preñadas pero no en vaquillas ciclando (Folman *et al.*, 1987).

Existen varias formas en que el β -caroteno afecta al proceso reproductivo en las vacas lecheras: disminuyendo el intervalo entre el que ocurre el pico de la LH y la ovulación, encontrándose un retraso de 72 a 49 hrs en vacas deficientes respecto a las suplementadas; favoreciendo el desarrollo folicular, observándose que las vacas suplementadas ovulan un día después de iniciado el estro y las deficientes de β -caroteno hasta dos días después; evitando la presencia de quistes ováricos, ya que las vacas suplementadas tienen una menor incidencia que las no suplementadas; además favorece a la esteroideogénesis al beneficiar el abastecimiento de colesterol, precursor de la progesterona (Arikan *et al.*, 2000).

2.2.2.- EFECTO DE LOS β -CAROTENO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO.

Los radicales libres pueden dañar varios de los procesos asociados con la fertilidad reproductiva, incluyendo la síntesis de esteroides y prostaglandinas, la motilidad espermática y el desarrollo embrionario (Aréchiga *et al.*, 1994).

Uno de los factores que se describe como responsable de gran parte de los casos de mortalidad embrionaria en la vaca, es la baja concentración de progesterona en las primeras etapas del desarrollo embrionario. Como consecuencia, el crecimiento del embrión es más lento de lo normal, de tal forma que en el momento del reconocimiento materno de la gestación no es capaz, todavía, de producir suficientes cantidades de interferón- τ , por lo que no se bloquea la lisis del cuerpo lúteo, el animal vuelve a ciclar y el embrión muere (Quintela *et al.*, 2008).

Existe una correlación probada entre los niveles de β -caroteno y la producción de progesterona por parte del cuerpo lúteo. Además, se ha observado que el β -caroteno aumenta la secreción intrauterina de factores importantes para el desarrollo inicial del embrión (Quintela *et al.*, 2008).

El crecimiento y desarrollo folicular, la ovulación y el mantenimiento de la gestación requieren grandes cantidades de vitamina A, aun cuando los aportes de esta vitamina sean altos, tiene dificultad en pasar la barrera sanguínea hacia el folículo. Sin embargo el β -caroteno es capaz de penetrar al fluido folicular (Santamaría, 2003).

La producción de radicales libres puede representar una fuente de infertilidad debido a que el tejido ovárico, la esteroidogénesis, los espermatozoides y la pre implantación del embrión, son sensibles a los daños producidos por ellos (Aréchiga *et al.*, 1998).

A pesar de que los embriones jóvenes pueden ser insensibles a la protección térmica de los antioxidantes, se ha observado que la exposición de embriones de ratón a un choque calórico, disminuye la concentración intracelular del antioxidante glutatión, aumentando la sensibilidad al choque calórico. Así mismo se observó que los metabolitos y la vitamina A incrementan la

supervivencia en embriones de cerdo y el desarrollo de embriones de bovinos en el estado de blastocitos (Aréchiga *et al.*, 1998b).

Lotthammer *et al.*, (1978), También informaron sobre un experimento que se inició en las dietas bajas de β -caroteno, 7 semanas antes del parto. En el cual se registró un aumento de la mortalidad embrionaria y abortos tempranos para las vacas alimentadas con raciones de bajo caroteno (Hemken y Bremel, 1982).

2.2.3.-EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE LA TASA DE ABORTOS.

La correlación positiva entre la progesterona y vitamina A o β -caroteno durante la gestación indican que la vitamina A y el β -caroteno junto con la progesterona puede tener un papel efectivo en el desarrollo del 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 β -caroteno y el magnesio son necesarias para el mantenimiento de la preñez en vacas.

El principal producto de la secreción del cuerpo lúteo en la mayoría de los mamíferos es la hormona esteroidal progesterona, la cual es la hormona de la preñez en los mamíferos y a la que se considera como esencial para mantener la gestación al inducir el medio ambiente uterino adecuado para el desarrollo del embrión (McCracken *et al.*, 1999).

2.2.4.-EFECTO DE LOS β -CAROTENOS SOBRE LA RETENCION DE MEMBRANAS FETALES.

La retención de membranas fetales (RMF) es una importante enfermedad posparto en vacas lecheras con un rango de frecuencias entre 2% y 69%. Se han identificado diversas causas de retención de membranas fetales, por ejemplo; atonía del útero, abortos, parto prematuro, distocia, parto gemelar, deficiencia de vitaminas A y E, β -caroteno y selenio, etc. La RMF causa una disminución en la producción de leche; crea gastos adicionales para los propietarios de animales y también reduce la fertilidad al aumentar la probabilidad de metritis (Yasar *et al.*, 2005).

El potencial efecto benéfico de la vitamina A y del β -caroteno sobre la retención de membranas fetales ha sido objeto de varios estudios que han concluido con resultados contradictorios. En un estudio se suplementó a vacas preñadas con β -carotenos antes del parto, y se comprobó que se producía una disminución en la incidencia de retención de membranas fetales y endometritis, respecto a animales no suplementados o a los que se les administro únicamente vitamina A. Este estudio apuntó el efecto benéfico del β -caroteno sobre el mecanismo de defensa y potenciación de la proliferación de linfocitos y de la función fagocítica, lo que favorece una mejor expulsión de las membranas fetales (Michal *et al.*, 1994). Este hallazgo puede presentar interesantes aplicaciones en el tratamiento de vacas con riesgo de sufrir esta patología (Muller *et al.*, 1974) (Akar *et al.*, 2006).

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 membranas fetales, la deficiencia de vitamina A y de β -caroteno parecen ser otros factores importantes (Chew *et al.*, 1977).

En un estudio que consistió en suplementar las vacas con β -caroteno antes del parto, comprobaron que se producía una disminución en las retenciones de membranas fetales, estos resultados apuntaron el efecto benéfico del β -caroteno en el mecanismo de defensa, potenciando la proliferación de linfocitos

y la función fagocítica, favoreciendo la expulsión de las membranas fetales. La baja concentración de retinol plasmático en vacas sin suplementar durante el parto pudo favorecer a una metaplasia epitelial y queratinización de los placentomas, aumentando con ello la incidencia en la retención de membranas fetales (Michal *et al.*, 1994).

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1.- Descripción del área de estudio

El presente trabajo se realizó en un establo lechero “Ampuero” ubicado en la Comarca Lagunera localizado en el km 6.5 de la carretera Torreón–Mieleras del municipio de Torreón, Coahuila; situado en la Latitud 26° N, Longitud 103° O y a una Altitud de 1,140 msnm., la temperatura en verano puede llegar hasta los 40°C y en invierno puede llegar a 0°C y la precipitación pluvial promedio anual es de 230 mm cúbicos.

3.2.- Descripción de los animales

El experimento se realizó con 217 animales de raza Holstein Friesian elegidos al azar manejados bajo un sistema de producción intensivo, teniendo un peso de entre 500-600 kg, con un buen estado de salud en general. Los animales fueron alimentados con una dieta totalmente mezclada con base a su etapa fisiológica que incluía una porción de forraje/concentrado de 48.5/51.5, respectivamente el alimento se ofreció por la mañana, tarde y noche, después de la ordeña.

3.3.- diseño del experimento

Se dividió el total de los animales en 2 grupos (112 animales Grupo β -caroteno y 105 animales Grupo Control), al G β se les administraron 15 ml (600 mg) de β -caroteno (DALMAVITAL®, MÉXICO, DF.) por vía IM a los 28 y 56 días postparto, y GC no se le administro β -caroteno.



Figura 1: días de aplicación del β -caroteno

Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria:

Tabla 1: distribución de los grupos.

GRUPO	NÚMERO DE ANIMALES
β -caroteno	112
Control	105

Tabla 2: Producto, dosis administrada durante el experimento y vía de administración:

PRODUCTO	DOSIS	VIA DE ADMINISTRACION
β -CAROTENO (DALMAVITAL)	600 mg (15 ml)	INTRAMUSCULAR

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

Antes de iniciar el tratamiento de β -caroteno no se realizó ningún tratamiento al GC, solo se observaron y al presentar celo se inseminaron. Todos los animales del experimento fueron inseminados con semen de toros probados por técnicos

inseminadores. El celo fue identificado por medio de actividad electrónica (podómetro), crayones en base de la cola, observación y palpación rectal, para verificar si la hembra presentaba estro.

Antes de iniciar el tratamiento se realizó un examen a todos los animales para verificar que no estuvieran afectados con alguna anomalía anatómica o alguna patología en el tracto reproductivo. Posteriormente se procedió a la aplicación del β -caroteno 15 ml (600 mg) vía intramuscular a los 28 y 56 días postparto.

3.4.- Variables evaluadas

Se determinó el porcentaje de preñez para vacas con menos de 3 servicios y mayor a 4 servicios al igual que el porcentaje de vacas vacías respectivamente, además el porcentaje de preñez acumulada se consideró el número de vacas que se preñaron durante todo el periodo de lactación (310d), al igual que porcentaje de abortos, el cual se definió como pérdida del producto de la concepción a partir del periodo fetal hasta antes de los 260 días. y porcentaje de vacas vacías, el cual fue definido como el total de vacas que no se diagnosticaron gestantes.

Análisis estadístico

El porcentaje de preñez acumulada, el porcentaje de abortos y porcentaje de vacas vacías se analizaron por medio de una prueba de Chi-Cuadrada. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa MYSTAT Versión 10.

IV. RESULTADOS

Los resultados del presente trabajo que se muestran la Tabla 3. Mas del 9% de las vacas tanto del G β y del GC quedaron preñadas con menos de 3 servicios por preñez, no encontrándose diferencia significativa ($P>0.05$), al igual que las vacas con ≥ 4 servicios el porcentaje fue mayor al 5% ($P>0.05$), en cuanto al porcentaje de preñez acumulado y de abortos no se encontró diferencias estadística. Por otra parte, el porcentaje de preñez acumulado fue $> 38\%$ para ambos grupos, Sin embargo, el porcentaje acumulado de vacas vacías fue mayor en el GC (81% vs 62%; $P<0.05$).

Tabla 3. Respuesta reproductiva de las vacas de la raza Holstein altas productoras de leche tratadas con β -caroteno (G β) y vacas control (GC) manejadas en condiciones intensivas de la Comarca Lagunera.

Variables	Grupos		Valor de P
	G β (n=112)	GC (n=105)	
Preñez con ≤ 3 (%)	7(8/112)	11(12/105)	0.275
Vacas vacías ≤ 3 (%)	15(17/112)	19(20/105)	0.449
Preñez con ≥ 4 (%)	31(35/112)	28(30/105)	0.449
Vacas vacías ≥ 4 (%)	4(5/112)	6(6/105)	0.675
Preñez acumulada* (%)	38 (43/112)	40 (42/105)	0.808
Vacas vacías (%)	62 (70/112)	81 (85/105)	0.003
Abortos (%)	13 (15/112)	12 (13/105)	0.824

*Preñez acumulada considerando toda la lactancia de los animales experimentales

V. DISCUSIÓN.

Las técnicas de alimentación han provocado cambios en la composición de las dietas, conservación de forrajes (henificado o ensilado), raciones más integrales, ingredientes nuevos, etc. Todo esto provoca que la suplementación de vitaminas sea una necesidad y el β -caroteno no es la excepción. Con el correr de los años, los animales se han vuelto más eficientes en producción de carne y leche, y esto demanda una mejor alimentación y nutrición de estos animales, así como mayor demanda de vitaminas liposolubles (Armando Enriquez, 2016).

Jukola *et al.*, (1996) mencionan que no existe ninguna relación entre la fertilidad del ganado lechero con la concentración plasmática de β -caroteno, también mencionan que la suplementación con β -caroteno no tiene efecto significativo sobre la fertilidad del ganado.

Otros autores como 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 el índice de aborto, y no mejoró los parámetros reproductivos al igual que en este caso, se sabe que las causas de aborto en ganado lechero es multifactorial, debido a esto la suplementación con vitaminas no es suficiente para provocar una disminución de esta variable, al parecer este tipo de vitaminas no influyen directamente en el mantenimiento de la gestación, teniendo más relevancia la cuestión hormonal y la sanitaria

El tema de la fertilidad se ha vuelto muy controversial, pues hay autores que han encontrado efectos positivos (Schweigert *et al.*, 1988). Otros han encontrado un efecto en relación a la producción de progesterona de cinco veces mayores a los niveles normales y relación en la producción de 17 beta-estradiol teniendo mejores resultados en la fertilidad del hato (Ahlsvede *et al.*, 1978; Chew *et al.*, 1984; Pethes *et al.*, 1985; Ganguly *et al.*, 1980; Arikan *et al.*, 2001; Weng *et al.*, 2000; Schweigert *et al.*, 1988).

Quintela *et al.*, (2008) sostienen que la administración de β -caroteno y/o vitamina A en animales que presentan deficiencias (niveles inferiores a 300 $\mu\text{g}/\text{dl}$ y a 25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de β -caroteno y vitamina A, respectivamente), tienen un

efecto benéfico sobre la reproducción en el ganado vacuno. Este efecto es debido, en gran medida, a su efecto antioxidante, lo que incrementa la eficiencia reproductiva, como consecuencia una reducción de la mortalidad embrionaria, consecuencia de un incremento de la producción de progesterona, una mejora del ambiente uterino y un efecto benéfico sobre el desarrollo embrionario.

Esto sugiere que probablemente el β -caroteno efectivamente tiene influencias benéficas en los parámetros reproductivos en animales con deficiencia de este y que tal vez los animales que se utilizaron en este estudio no necesitaban la suplementación de β -caroteno, ya que no se le hizo un estudio previo de sus niveles de β -carotenos en sangre, lo cuál sería recomendable para próximas investigaciones.

La suplementación con β -caroteno puede compensar los niveles requeridos en la ración y reducir así los problemas de fertilidad derivados de un aporte insuficiente (Irmgard *et al*, 2007).

Gaspar Loayza (2006) reporto un promedio de 1.3 inseminaciones artificiales por concepción en vacas suplementadas con β -caroteno.

En resultados encontrados por diversos investigadores donde se menciona que el β -caroteno no influye en ningún parámetro reproductivo, se encontró que los niveles de β -caroteno no aumentan sus concentraciones en plasma sino solo en leche y tejido luteal, concluyendo que la relación entre la concentración de β -caroteno en suero no tiene ninguna relación significativa en los índices reproductivos (Aréchiga *et al*, 1998, Wang *et al*, 1998).

Ruiz (2012) concluye que la suplementación con β -caroteno, no mejora el desempeño reproductivo, midiendo: intervalo parto-primer servicio, intervalo parto-gestación, tasa de concepción al primer servicio y servicios por concepción.

Asimismo, Venzor (2012), realizó un experimento similar, evaluando las mismas variables pero en vaquillas y concluyó que el beta-caroteno no tiene ningún efecto positivo sobre los principales parámetros reproductivos.

VI. CONCLUSION.

Después de un análisis de los resultados, se concluye que, la administración de 600mg de β -caroteno inyectable a los 28 y 56 días postparto no tuvo efecto sobre el porcentaje de preñez en las vacas que recibieron menos de 3 servicios y más de 4 servicios. No encontrándose diferencia estadística para el porcentaje de preñez acumulado y aborto, Sin embargo, el porcentaje de vacas vacías para el G β fue menor comparado con el GC. Es probable que esto se deba a que el β -caroteno efectivamente tiene influencias benéficas en los parámetros reproductivos en animales con deficiencia de este y que tal vez la mayoría de los animales que se utilizaron en este estudio no necesitaban la suplementación de β -caroteno, ya que no se le hizo un estudio previo de sus niveles de β -carotenos en sangre, lo cuál sería recomendable para próximas investigaciones.

VII. REFERENCIAS

1. Ahlswede L. Lotthamer K.H. 1978. Untersuchungen über eine spezifische, vitamin A unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. Mitt. Organuntersuchungen-Gewichts und Gehaltsbestimmungen. Dtsch Tierärztl wochenschr. 85: 7-12.
2. Akar Y., Gazioglu A. 2006. Relationship between vitamin A and β -carotene levels during the postpartum period and fertility parameters in cows with and without retained placenta. Bull Vet. Ins. Pullawy 50: 93-96.
3. Aréchiga, 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. Journal Dairy Science 81:390-402.
4. Aréchiga, C. F., Ortiz, O., Hansen, P. J. 1994. Effect of Prepartum Injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. Theriogenology, 41:1251-1258.
5. Aréchiga, C. F., Vázquez-Flores, S., Ortiz, O., Hernández-Ceron, J., Porras, A., McDowell, L. R., Hansen, P. J. 1998. Effect of injection of β -carotene or vitamin E and Selenium on fertility of lactating dairy cows. Theriogenology, 50:65-76.
6. Aréchiga, C.F., S. Vázquez-Flores O. Ortiz, J Hernández-Ceron, A. Porras, L.R. McDowell y P.J. Hansen. 1998b. Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. Theriogenology. 50: 65-76.
7. Arikan S. Rodway G. 2001. Seasonal variation in bovine luteal concentrations of beta-carotene. Tur. J. Vet. Anim. Sci. 25: 165-168.
8. Arikan, S. y Rodway G. 2000. Effects of high density lipoprotein containing high or low β -carotene concentrations on progesterone production and β -carotene uptake and depletion by bovine luteal cells. Animal Reproduction Science 62: 253-263.
9. Armstrong, G. A., Hearst, J. E. 1996. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. FASEB J. 10, 228-237.

10. Sergio A.R. Paiva, MD, PhD, Robert M. Russell MD. 1999. β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* 5: 426–433.
11. Beckman, K. B. y B. N. Ames 1998. The free radical theory of ageing matures. *Physiological Reviews* 78:547-579.
12. Bendich A., Olson J.A., 1989. Biological actions of carotenoids. *FASEB J.* 3:1927-1932.
13. Chew B.P. Holpuch D.M. O'Fallon J.V. 1984. Vitamin A and β -carotene in bovine and porcine plasma, liver corpora lutea, and follicular fluid. *Journal of Dairy Science.* 67: 1316-1322.
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. *Journal of Animal Science.* 44:1055.
15. de Castro T., E. Rubianes, A. Menchaca y A. Rivero. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52:399-411.
16. Irmgard Immig, F. Schweigert, 2007. Deficiencia de β -caroteno en las vacas lecheras: un problema muy extendido en Europa. *Frisona Española* 159: 78-80.
17. Ealy, A.D., Aréchiga, 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. *Journal of Dairy Science*, 77: 3601-3607.
18. Ergun Y, Erdogan Z, 2002. The effect of feeding on fertility in dairy cows II: vitamin, mineral and fertility relationship. *Bull. Univ. Vet. Med. Ankara* 18: 13-17.
19. Folman Y., Ascarelli I., Kraus D., Barash H. 1987. Adverse effect of β -carotene in diet on fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 70: 357-366.
20. Ganguly J. Rao MRS. Murthy SK. Sandara K. 1980. Systemic mode of action of Vitamin A. *Vitamin. Horm.* 38: 1-54.

21. Graves- Hoagland R, Hoagland T. A., Woody C. O., 1988. Effect of beta-carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. *Journal of Dairy Science*. 72: 1854-1858.
22. Greiwe-Crandell, K. M., D.S Kronfeld, L. S. Gay, D Sklan, W. Tiegs y P. A. Harris. 1997. Vitamin a repletion in thoroughbred mares with retinyl palmitate or beta-carotene. *Journal of Animal Science* 75:2684-2690.
23. Hemken R.W., Bremel D.H., 1982. Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 65: 1069-1073
24. Hurley W.L., Doane R.M, 1989. Recent developments in the roles of vitamins and minerals reproduction. *Journal of Dairy Science*. 72: 784-804
25. 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.
26. J. Santamaria, 2003. El beta-caroteno en la reproducción del ganado vacuno. *Ganaderia* 21: 48-51.
27. Kawate, N., N. Monrita, M. Tsuji, H. Tamada, T. Inaba y T. Sawada. 2000. Roles of pulsatile release of lh in the development and maintenance of corpus luteum function in the goat. *Theriogenology* 54: 1133-1143.
28. Quintela L.A., J.J. Becerra, C. Díaz, G. Alonso y P.G. Herradón. 2008. La importancia del β -caroteno y la vitamina A en la fertilidad. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela, 116: 26-29.
29. Lazaro Isidro Ruiz Vidal. 2012. Tesis de licenciatura. Efecto del betacaroteno inyectable en vacas lecheras sobre los principales parámetros reproductivos. pp-21.
30. M. T. Coffey and J. H. Britt. 1993. Enhancement of sow reproductive performance by beta-carotene or vitamin A. *Journal of Animal Science*, 71:1198-1202.

31. McCracken, J.A., E.E. Custer y J.C. Lamsa. 1999. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. *Physiol Rev.* 79: 263-323.
32. Michal J.J. Heirman LR, Wong T.S, Chew B. P. Frigg M, Volker L. 1994. Modulatory affects of dietary beta-carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 77:1408-1421.
33. Miller J. K. and BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E. 1993. Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function. *Journal of Dairy Science.* 76: 2812-2823.
34. Muller L. D., Owens M.J. 1974. Factors associated with the incidence of retained placentas. *Journal of Dairy Science.* 57: 725-728.
35. Pethes G, Horvath E, Kulcsar M, Muszenicza G, Somorjai G, Varga B. Haraszi J, 1985, in vitro progesterone production of corpus luteum cells of cows fed low and high levels of beta-carotene. *Zbl. Vet. Med.* 32: 289-296.
36. Rodríguez Martínez Rafael, Arellano R. Gerardo, Meza Herrera César, Castillo Gastón. 2002. Effect of β -carotene food supplementation upon ovary activity and hormonal profile in goats from Region Lagunera. 11-17. http://www.uaaan.mx/DirInv/Avances_2002/Capri/Caroteno.pdf
37. Raymundo Venzor Ochoa. 2012. Tesis de licenciatura. Efecto del betacaroteno inyectable en vaquillas lecheras sobre los principales parámetros reproductivos. pp-24.
38. Schweigert F., Wierich M., Rambeck W., Zucker H. 1988. Carotene cleavage activity in bovine ovarian follicles. *Theriogenology.* 30: 923-930.
39. Schweigert, F.J. 2003: Research Note: Changes in the Concentration of beta-carotene, alpha- tocopherol and retinol in the bovine corpus lutium during the ovarian cycle. *Arch. Tieremahr,* 57:307-310
40. T. G. Dunn and G. E. Moss. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *Journal of Animal Science.* 70:1580-1593.

41. Weiss W.P., 1998. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cow: a review. *Journal of Dairy Science*. 81: 2493-2501.
42. Weng B. C., Chew B., Wong T., Park J., Kim H. and Lepine A. 2000. Beta-carotene uptake and changes in ovarian steroids and uterine proteins during the estrous cycle in the canine. *Journal of Animal Science*. 78: 1284-1290.
43. Yasar Akar And Abdullah Gazioglu 2005. Relationship Between Vitamin A And B-Carotene Levels During The Postpartum period and fertility parameters in cows with and without retained placenta. *Bull Vet Inst Pulawy* 50: 93-96.
44. Armando Enriquez, 2016. Papel del beta-caroteno en la nutrición del ganado lechero. <http://ganaderiasos.com/wp-content/uploads/2016/02/papel-del-beta-caroteno-en-la-nutricic3b3n-del-ganado-lechero.pdf>
45. Gaspar Loayza Moreno, 2015. *El beta-caroteno y su relación directa con la salud reproductiva de la vaca lechera*. <http://pronutron.blogspot.es/1449064242/el-beta-caroteno-y-su-relacion-directa-con-la-salud-reproductiva-de-la-vaca-lechera/>