

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MEJORAMIENTO DE LA REPRODUCCIÓN EN VACAS LECHERAS
MEDIANTE UNA INYECCIÓN ANTES Y DESPUÉS DEL PARTO DE β -
CAROTENO Y VITAMINA E

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

EDUARDO AGUIRRE JUSTO

ASESORES:

MVZ Jorge Ávila García

MVZ MPA Miguel Ángel Blanco Ochoa

México, D.F

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORA

Con todo mi amor, infinita gratitud y respeto a mis padres.

A mi madre, María Elena Justo Herrera, por todo el apoyo y cariño que me ha brindado a lo largo de los años, por inculcarme los valores necesarios para ser un hombre de bien, por demostrarme siempre amor incondicional. A mi padre, Mateo Aguirre Arizmendi, por haberme inculcado el amor a la ganadería, por ser un ejemplo de vida personal y profesionalmente, por apoyarme a lo largo de mi vida y de mi carrera como el mejor de los maestros.

A mis hermanos, César Mateo y Luis Enrique, quienes son motivo de inspiración para seguir adelante, gracias por su apoyo y cariño incondicional.

A María Fernanda Bon Prendes, por acompañarme a través de estos años siendo un ejemplo a seguir y la mejor de las motivaciones.

Con gran cariño a todos mis profesores, por el tiempo y conocimientos adquiridos.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por todo el esfuerzo que han hecho para que yo pueda estar aquí, por su amor y apoyo sin condiciones.

Agradezco al MVZ Jorge Ávila García por haberme permitido trabajar a su lado, gracias por todas las enseñanzas, apoyo y guía para llevar a cabo este trabajo, por la confianza, conocimientos adquiridos y la amistad forjada a través de todos estos años.

Al MVZ MPA Miguel Ángel Blanco Ochoa, por el apoyo brindado a lo largo de mi formación y de este trabajo, por su apoyo y comprensión, por la confianza, buenos consejos y por su amistad.

Al Dr. Jorge Luengo Creel, por el apoyo brindado a través de los laboratorios Schutze-Segen S.A. de C.V., por su interés en que ésta investigación se llevara a cabo. Gracias por el respaldo y amistad.

A los trabajadores y dueños del rancho cantarranas, que en todo momento mostraron apoyo para realizar este trabajo.

A todos mis profesores por haber colaborado en mi formación.

A los miembros de mi jurado, por el tiempo dedicado, por los consejos y conocimientos compartidos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a mi Facultad, por la oportunidad de estudiar en la mejor Universidad y máxima casa de estudios.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
RESULTADOS.....	8
DISCUSIÓN.....	9
CONCLUSIÓN.....	16
CUADROS.....	17
FIGURAS.....	18
LITERATURA.....	23

Resumen

Aguirre Justo, Eduardo. Mejoramiento de la reproducción en vacas lecheras mediante una inyección antes y después del parto de β -caroteno y Vitamina E. (Bajo la dirección de MVZ Jorge Ávila García y MVZ MPA Miguel Ángel Blanco Ochoa).

En el presente trabajo, se estudió el posible efecto que pudiera tener el β -caroteno y la Vitamina E sobre aspectos reproductivos en un hato de vacas lecheras bien manejado. El β -caroteno y Vitamina E ayudan al organismo del animal a mantener un equilibrio en los mecanismos antioxidantes, lo que favorece la fertilidad.

Este estudio tuvo como objetivo, evaluar el desempeño reproductivo de vacas Holstein tratadas con β -caroteno y Vitamina E, y compararlo con el desempeño de vacas no tratadas. Para tal fin, se formaron 2 grupos de vacas de 25 animales cada uno y se evaluó la fertilidad, días a primer calor, servicios por concepción, tasa de concepción a primer servicio, porcentaje de abortos, retenciones placentarias, patologías uterinas y quistes ováricos. Se calculó la tasa de preñez, el promedio de días abiertos e intervalo entre partos, y se determinó la concentración de progesterona en suero en dos diferentes momentos después del parto; para comparar los resultados entre grupo tratado y testigo. El grupo tratado fue sometido a un protocolo de inyección por vía intramuscular de 30 ml por animal de β -caroteno y Vitamina E, 20 días antes del parto, 30 y 60 días después del parto. Cada ml de la asociación mencionada contiene 15 mg de β -caroteno y 18.2 mg de Vitamina E. La concentración de progesterona en suero fue determinada en los días 30 y 60 post-parto.

Los resultados en la mayoría de los parámetros estudiados, no mostraron diferencias significativas entre el grupo tratado y testigo. Los parámetros que sí arrojaron diferencias estadísticamente significativas fueron la tasa de concepción a primer servicio, en donde el grupo tratado obtuvo 50%, y el testigo 20% ($p < 0.05$), lo que pudo haber repercutido en el incremento de 8% en la tasa de preñez obtenido en el grupo tratado, en comparación con el grupo testigo; la concentración de progesterona sérica en la muestra 2 de las vacas tratadas que quedaron gestantes, presentó un incremento significativo con respecto a la muestra 2 de las vacas tratadas que no quedaron gestantes.

La homogeneidad de los resultados, tuvo como causa probable el buen manejo reproductivo y de alimentación del hato lechero estudiado.

Mejoramiento de la reproducción en vacas lecheras mediante una inyección antes y después del parto de β -caroteno y Vitamina E.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la producción intensiva de leche en México ha aumentado sus niveles de tecnología, de manera que se han desarrollado nuevas técnicas de alimentación, se ha incrementado el número de ordeños al día, se cuenta con salas de ordeño altamente tecnificadas y programas de medicina preventiva detallada, con el fin de tener una mayor producción de leche. Debido a esto, los animales han sido sometidos a una gran presión de producción para generar ganancias económicas superiores.

Éste estrés de producción, ha repercutido negativamente en la reproducción de las vacas lecheras en nuestro país, por lo que es necesario recurrir a nuevas alternativas en las prácticas de manejo reproductivo, para incrementar la eficiencia reproductiva en los hatos lecheros.

La asociación de β -caroteno y Vitamina E mejoraría la actividad reproductiva. El β -caroteno posee características que ayudan a mantener las funciones del aparato reproductivo y la inmunidad, gracias a que conserva la integridad del epitelio del ovario por su acción antioxidante. ^(1,2,3,4)

En el ovario, el β -caroteno promueve la síntesis de progesterona y estradiol, de forma que contribuye a alcanzar los niveles de progesterona necesarios para la implantación. Además, la acumulación de grandes cantidades de β -caroteno le proporciona coloración al cuerpo lúteo. ^(5,6,7)

En el útero, el β -caroteno ayuda a la implantación y fijación del embrión, y favorece la fertilidad al producir proteínas mucosales, que son esenciales para la nutrición del embrión en las primeras fases de implantación. ^(2,8)

El β -caroteno es deficitario en muchos forrajes secos como el ensilado de alfalfa y de pastos, pastos mixtos, alfalfa achicalada y ensilado de maíz. Por el contrario, las pasturas frescas contienen altas concentraciones de β -carotenos, aunque éstos decrecen a veces hasta la mitad de su contenido en menos de 24 horas después de haber sido cortados. La biodisponibilidad de β -carotenos en el pasto ensilado y alfalfa es muy difícil de establecer debido a la edad y corte. ^(5,8,9)

Durante el invierno y en época de sequía, la presencia de β -carotenos se ve reducida en los forrajes mencionados; por lo que la concentración en el cuerpo lúteo de las vacas se ve afectada; siendo los meses en donde hay más abundancia de forraje fresco cuando más concentración existe. ^(3,4,5,7,9)

La Vitamina E presenta una elevada actividad neutralizante, ya que actúa como antioxidante sobre los radicales libres, dando como resultado la integridad de la membrana celular. También regula la síntesis de prostaglandinas e inhibe la agregación plaquetaria, asume un papel primordial en la respuesta inmune específica del organismo. Protege al β -caroteno de la degradación metabólica, de manera que se logra una sinergia farmacológica entre ambos, por lo que se tiene una actividad local antioxidante que funciona ante los radicales libres. ^(3,9)

Al momento del parto, la vaca lechera presenta una drástica disminución de β -caroteno plasmático por su transferencia hacia el calostro, se mantiene así por algunas semanas, por lo que coincide con un balance energético negativo que afecta la primera ovulación, ya que el β -caroteno es esencial para aumentar el nivel plasmático de progesterona en el curso del ciclo estral del animal, por lo que su uso evita los calores silenciosos y prolongados. Se ha demostrado que la primera oleada folicular de vacas después del parto es dependiente de los niveles de β -caroteno durante el periodo seco. ^(2,9,10,11)

La aplicación intramuscular de β -caroteno y Vitamina E, ayudaría a reducir la incidencia de quistes ováricos por la acción antioxidante sobre las células luteínicas y foliculares; además del efecto estimulante de la esteroidogénesis. ^(2,3,5)

En estudios realizados por Lotthammer ⁽¹⁾ y por otros investigadores ^(5,12), la tasa de concepción a primer servicio después de los 120 días post-parto, en un grupo de vacas a las que se les proporcionó β -caroteno, fue superior en un 28% y 15% respectivamente, comparado con el grupo control.

Se sabe que concentraciones de β -caroteno, en el suero de vacas con retención placentaria, son significativamente más bajas que en vacas en donde no se presenta. Esto debido a que concentraciones adecuadas de β -caroteno en el plasma, mejoran los mecanismos de defensa mediante funciones fagocíticas y linfocíticas. ^(2,10,11)

La diferencia entre el β -caroteno y la Vitamina A, es que ésta última no puede penetrar la barrera hemática folicular; el β -caroteno puede ingresar al folículo y ahí convertirse en

Vitamina A para realizar funciones antioxidantes locales y probablemente funcionar como precursor local de retinoides, por lo que mejora la calidad folicular y se garantiza la producción de progesterona. ^(3,5)

Concentraciones inadecuadas de β -caroteno se traducen en una deficiente ovulación, incremento en la presencia de quistes ováricos, disminuye la tasa de fertilidad y provoca reabsorciones y pérdidas embrionarias por la baja presencia de la hormona progesterona en el cuerpo lúteo. ^(3,8,9)

A pesar de que las causas de pérdida embrionaria son multifactoriales, se sabe que la concentración sistémica inadecuada de progesterona durante la fase luteal temprana está asociada a estas pérdidas. Un mecanismo por el cual la progesterona participa en la supervivencia embrionaria, se debe a que altera la composición de fluido uterino. Aunque el mecanismo exacto es incierto, se ha reportado que la progesterona influye en la secreción uterina de factores de crecimiento, agentes inmunosupresores, enzimas y otros componentes necesarios para el desarrollo del embrión. ⁽⁸⁾

Se ha encontrado también una disminución en la presencia de abortos y pérdidas embrionarias; así como el periodo entre el celo y la ovulación se reduce en animales suplementados con β -caroteno. ^(2,3)

La administración de β -caroteno a las vacas durante el periodo seco, ayuda significativamente a la salud del becerro recién nacido, ya que se encuentran altas concentraciones de β -caroteno y retinol en el calostro, reduciendo la incidencia y severidad de diarreas y neumonías mediante la protección de las mucosas y de los epitelios; por lo que se recomienda inyectar a la madre antes del parto para tener una buena producción de IgA. ^(9,11)

El preparado farmacéutico que contiene β -caroteno y Vitamina E[®] proporciona concentraciones plasmáticas superiores a las fisiológicas por más de 40 días. Se debe administrar 20 días antes del parto y después del parto al día 30 y 60, con lo que se cubre el periodo fértil más importante en la vaca lechera.

[®]Dalmavital. Laboratorios Schutze-Segen S.A de C.V.

HIPÓTESIS

La aplicación intramuscular antes del parto y después del parto de β -caroteno y Vitamina E ayudará a mejorar los parámetros reproductivos en vacas lecheras de la raza Holstein.

OBJETIVO

Demostrar que la aplicación intramuscular antes del parto y posterior al parto de β -caroteno y Vitamina E, reduce la incidencia de quistes ováricos, disminuye los casos de retención placentaria y otras patologías uterinas (metritis, endometritis), mejora la fertilidad, reduce los días abiertos, acorta los días a primer calor, reduce el número de servicios por concepción, disminuye el porcentaje de abortos, mejora la tasa de preñez y tasa de concepción a primer servicio en ganado lechero de la raza Holstein.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización

El estudio se realizó en una explotación de ganado productor de leche, ubicado en el municipio de Teoloyucan, Estado de México. Está localizado a 2, 280 msnm, entre las coordenadas geográficas 19° 45' 11" latitud norte y entre 99° 11' 15" longitud oeste. El clima que predomina es templado subhúmedo con lluvias en verano; la temperatura media anual es de 15 °C y la máxima de 30 °C. La precipitación pluvial máxima en 24 horas es de 46.2 mm. ⁽¹³⁾

Animales experimentales

Grupo Tratado: 25 vacas lecheras de primer parto en adelante.

Grupo Testigo: 25 vacas lecheras de primer parto en adelante.

Se repartieron las vacas en forma aleatoria para cada grupo.

Se anotó en su tarjeta la evaluación clínica y tratamientos.

Se siguió el procedimiento reproductivo del rancho en forma idéntica en ambos grupos. Los celos se detectan por medio de podómetros que registran el aumento de actividad física de la vaca; además en el rancho, se apoyan en el personal de trabajo que observa a los animales a las 6 a.m., a las 2 p.m. y a las 6 p.m. por un tiempo de media hora para detectar celos.

En esta explotación, el periodo voluntario de espera es de 60 días. Una vez que las vacas son inseminadas y no repiten calor, son checadas a los 52 días para diagnóstico de gestación, una vez más a los 5 meses y se confirma al secado.

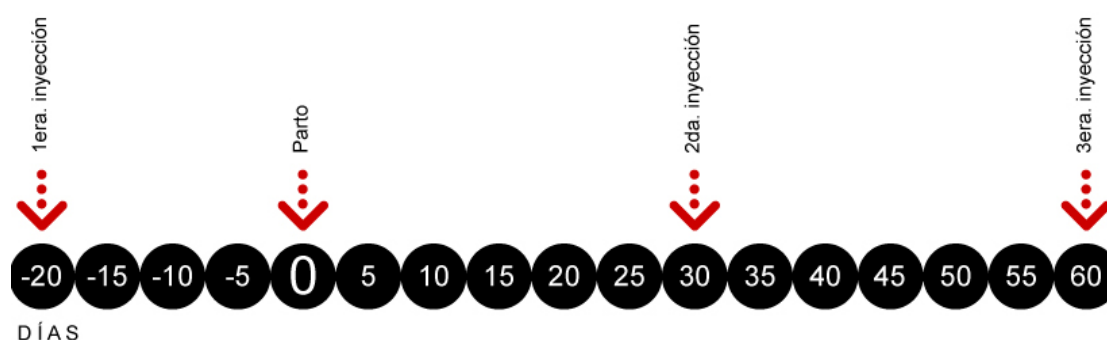
Se anotaron los resultados y datos correspondientes a parámetros reproductivos: días a primer calor, número de inseminaciones, porcentaje de vacas gestantes, abortos, días abiertos e intervalo entre partos. Además se tomó registro de las fechas de gestación de los animales.

Trabajo experimental

Grupo I: Tratado

Se inyectó 30 ml de la asociación de β -caroteno con Vitamina E por animal (450 mg de β -caroteno y 546 mg de Vitamina E por cabeza), a los 20 días antes del parto, 30 y 60 días después del parto por vía intramuscular.

Cuadro 1. Protocolo de inyección de β -caroteno y vitamina E.



Grupo II: Testigo

Se inyectó 30 ml de agua destilada a los 20 días antes del parto, 30 y 60 días después del parto por vía intramuscular.

Para ambos grupos, se evaluaron los siguientes parámetros:

- Días a primer calor.
- Número de servicios por concepción hasta los 120 días.
- Tasa de concepción a primer servicio.
- Porcentaje de Abortos hasta los 120 días.
- Tasa de preñez a los 120 días (eficiencia en la detección de estros por el porcentaje de concepción dividido entre 100).
- Días abiertos.

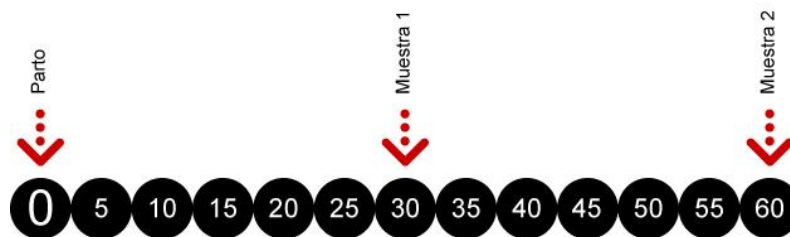
- Intervalo entre partos.

También se tomó registro de retenciones placentarias, patologías uterinas y quistes ováricos. Se cuantificó la progesterona en suero de los animales tratados y testigo, en dos diferentes momentos después del parto, a los 30 y 60 días, para correlacionar las gestaciones obtenidas en ambos grupos con los niveles de progesterona obtenidos.

Muestras sanguíneas

Se recolectaron muestras de sangre en los días 30 (muestra 1) y 60 (muestra 2) después del parto, por punción de la vena coccígea, utilizando tubos al vacío sin anticoagulante ⁽¹⁵⁾. El inicio del muestreo, se consideró como día 0 el momento del parto. Una vez que se obtuvieron las muestras sanguíneas, fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos para obtener el suero ⁽¹⁵⁾, el cual fue almacenado a -20 °C hasta su análisis en el laboratorio de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, para la medición de progesterona sérica por medio de Radioinmunoanálisis ⁽¹⁶⁾, y así poder correlacionar las concentraciones de progesterona con los parámetros reproductivos a estudiar.

Cuadro 2. Protocolo de toma de muestras sanguíneas.



Análisis estadístico

Los datos expresados en porcentajes (fertilidad y vacas gestantes por servicio) se analizaron mediante una prueba de χ^2 para diferencias entre las proporciones. La comparación de los días de entrada a primer calor post-parto entre los grupos de vacas testigo y tratadas se realizó mediante un prueba t de *Student* para dos medias independientes.

La concentración de progesterona entre el primer vs. el segundo muestreo para cada grupo se comparó mediante una prueba t de *Student* para medias dependientes, debido a que

ambos muestreos se encuentran relacionados. Para la comparación de la progesterona medida en el primer muestreo de vacas testigo vs vacas tratadas se realizó con una *t* de *Student* para medias no relacionadas.

Los datos se analizaron con el programa estadístico Prism 5.03 (GraphPad Software Inc.). Los datos se presentan como el promedio \pm desviación estándar. En todos los casos se considero un valor de $p < 0.05$ como significativo.

RESULTADOS

En los análisis de vacas en gestación, se determinó que las vacas tratadas con β -caroteno y Vitamina E alcanzaron un 56% de preñez, mientras que el grupo testigo solo obtuvo el 40%. No se obtuvieron diferencias estadísticas significativas (figura 1).

En los días a primer calor, el total de vacas tratadas presentó dos grupos (16 vacas) cercanos al día 60, en las vacas testigo no se presentaron grupos similares (figura 2A). Cuando se analizaron las vacas gestantes de los días a primer calor, se observó que el 64% de vacas gestantes presentaron una agrupación cercana al límite del día 60, a diferencia de las vacas testigo en donde no hubo tal agrupación (figura 2B). En los días a primer calor, el promedio para el grupo tratado, fue de 47 días; y para el grupo testigo, 43 días, mostrando una diferencia de 4 días (figura 2A). No se obtuvieron diferencias estadísticas significativas.

En el parámetro de los servicios por concepción, se obtuvo que la tasa de concepción a primer servicio en las vacas tratadas es de 50%, mientras que en las vacas testigo solo un 20% necesitó 1 servicio, el resto de vacas del grupo testigo (80%) necesitaron entre 2 y 3 servicios por concepción. La tasa de concepción a primer servicio fue mayor en los animales tratados con respecto al grupo testigo, mostrando diferencias estadísticas significativas (figura 3; $p < 0.05$). El promedio de servicios por concepción en el grupo tratado fue de 1.8, mientras que en el testigo fue de 2.

Se calculó el porcentaje de abortos, tasa de preñez (eficiencia en la detección de estros por el porcentaje de concepción, dividido entre 100), retenciones placentarias, patologías uterinas (metritis), y quistes ováricos.

El porcentaje de abortos en el grupo testigo fue de 4%, mientras que en los animales tratados fue nulo. Las vacas tratadas con β -caroteno y Vitamina E obtuvieron una mejor tasa de preñez que el grupo testigo, con un 28% y 20% respectivamente. En cuanto a las

retenciones placentarias, el grupo testigo arrojó un 24%, y el tratado un 20%. En las patologías uterinas y quistes ováricos, en ambos grupos se obtuvo el mismo resultado, 28% y 0% respectivamente. (cuadro 3)

Se obtuvo el promedio de los días abiertos e intervalo entre partos, los cuales arrojaron resultados similares en ambos grupos. Los días abiertos en promedio para el grupo tratado fueron de 84, y en el grupo testigo de 87. El intervalo entre partos fue de 11.9 y 12.1 meses, para el grupo tratado y testigo respectivamente. No se encontraron diferencias significativas. (cuadro 4)

Se cuantificó la presencia de progesterona en suero en 2 diferentes tiempos (figura 4) y se señala que en las vacas tratadas, la muestra 2 de las vacas gestantes presentó un incremento significativo con respecto a la muestra 2 de las vacas no gestantes (figura 4A). En las vacas testigo no se presentó ninguna diferencia (figura 4B). No se encontraron diferencias entre el primer y segundo muestreo de las vacas gestantes testigo vs. tratadas.

Se generaron grupos en las vacas tratadas y testigo dependiendo de la concentración de progesterona en las 2 muestras. Los 2 grupos formados fueron: vacas con la muestra 1 que presentaron concentraciones séricas de progesterona $< 1\text{ng/ml}$ y muestra 2 $> 1\text{ng/ml}$, y vacas con la muestra 1 con concentraciones de progesterona sérica $> 1\text{ng/ml}$ y muestra 2 $> 1\text{ng/ml}$. El grupo con la muestra 1 $<1\text{ng/ml}$ y muestra 2 $> 1\text{ng/ml}$ de las vacas tratadas con β -caroteno y Vitamina E que quedaron gestantes fue del 50% mientras que las no tratadas que gestaron fue del 43%. En el grupo muestra 1 $>1\text{ng/ml}$ y muestra 2 $>1\text{ng/ml}$, las vacas tratadas gestantes fueron del 58% mientras que las vacas gestantes testigo fueron del 54% (figura 5).

DISCUSIÓN

El presente estudio demuestra que el grupo tratado con la asociación de β -caroteno y Vitamina E, presentó mejorías en algunos aspectos reproductivos, en comparación con el grupo testigo. Las vacas tratadas con β -caroteno y Vitamina E, obtuvieron un mayor porcentaje de concepción que las vacas del grupo testigo, 56% y 40% respectivamente.

Al evaluar los días a primer calor, el grupo tratado obtuvo un promedio de 47, y el grupo testigo 43. En el grupo testigo hubo 2 vacas que nunca presentaron calor durante todo el periodo en que se llevó a cabo la investigación. El promedio obtenido por ambos grupos se

encuentra dentro del rango encontrado por Lara et al. (2002)¹⁷, para vacas dedicadas a la producción intensiva de leche en México, el cual fue de 45.8 ± 2.7 días. El promedio de días a primer calor obtenido en el grupo tratado fue menor al encontrado por Rakes et al. (1985)¹⁸ en vacas suplementadas con β -caroteno, el cual fue de 60.8 y 51.8 días, en grupos alimentados con ensilado de alfalfa y ensilado de maíz respectivamente. El grupo tratado obtuvo el mismo resultado que lo encontrado por Akordor et al. (1986)¹⁹ en vacas suplementadas con β -caroteno, el cual fue de 47 días. El rango de días de expresión para el primer calor post-parto fue de 65 y 76 días para las vacas del grupo tratado y testigo, respectivamente. Este resultado indica una mayor dispersión en la expresión del primer celo para las vacas testigo, lo cual, se corroboró al analizar la distribución de entrada a primer calor para ambos grupos. En la figura 2, se aprecia que para las vacas tratadas, se forman dos grupos estrechos de expresión de estro, patrón no observado en las vacas testigo. Esto nos indica que el grupo tratado presentó una menor dispersión en dicho parámetro, y que la mayoría de las vacas en el grupo tratado expresó su primer calor alrededor del día establecido como el periodo voluntario de espera, por lo que fisiológicamente estarían mejor preparadas para una nueva gestación.

Se deduce que el promedio de días a primer calor de los grupos tratado y testigo, se debe en gran parte a la dieta que reciben, la cual debe de impactar en dicho parámetro. Una dieta adecuada permite a las vacas mantener una condición corporal óptima durante el periodo de transición, esto evita la pérdida de la condición corporal durante las primeras cuatro semanas después del parto, ya que la pérdida de más de 1 punto en escala de 1 a 5, alarga el periodo del parto a la primera ovulación.⁽²⁰⁾ Se piensa que la aplicación de β -caroteno durante el periodo seco afecta la primera oleada folicular positivamente⁽¹¹⁾, acortando los días a primer calor.

En cuanto al promedio de los servicios por concepción del grupo tratado y testigo fue de 1.8 y 2 respectivamente. El resultado obtenido en esta investigación en el grupo tratado fue mayor al encontrado por Lotthammer et al. (1979)¹ en vacas a las que se le administró β -caroteno, el cual fue de 1.42; pero mejor que el encontrado por Akordor et al. (1986)¹⁹ y por Rakes et al. (1985)¹⁸, quienes obtuvieron resultados de 2.14 y 1.93 servicios por concepción, estos estudios con los que se compara son de la década de los 80, cuando el

promedio de servicios por concepción era menor a 2 (Lucy 2001)²¹, y según el mismo autor en el año 2000 es mayor a 3. El promedio de servicios por concepción obtenido en el presente estudio esta dentro del rango sugerido por Ávila García (2009)²² como ideal, que es de 1.5 a 2. La tasa de concepción a primer servicio obtenida en el grupo tratado fue mayor con respecto al grupo testigo, 50% y 20% respectivamente. El resultado obtenido en el grupo tratado, fue mejor que el obtenido por Wang et al (1998)⁵, quienes obtuvieron 38.1%, fue superior al obtenido por Casas (2006)²³, quien obtuvo 33.3% y similar al obtenido por Akordor et al (1986)¹⁹, que obtuvieron 54% en vacas suplementadas con β -caroteno. También fue similar al obtenido por Aréchiga et al (1998)²⁴, en donde obtuvieron $46.1 \pm 5.3\%$, en vacas a las que se les administró Vitamina E y Selenio.

El uso de β -caroteno y Vitamina E mejora la calidad folicular y puede proporcionar una adecuada producción de progesterona, por lo que se evitan reabsorciones y pérdidas embrionarias por una baja presencia de esta hormona en el cuerpo lúteo. (^{3,5,8,9})

Según un estudio realizado por Beal (1995)²⁵, un incremento en la tasa de concepción de 1%, representa una ganancia de 6.34 dólares por animal en los dividendos de un establo. En el presente estudio, la tasa de concepción a primer servicio del grupo tratado fue superior al testigo, por lo que las ganancias económicas se verán reflejadas en el patrimonio del rancho. El porcentaje de abortos obtenido por el grupo tratado y testigo, fue de 0% y 4%, respectivamente. Los resultados alcanzados se encuentran por debajo del máximo propuesto como ideal por Ávila (2009)²² que propone del 1-4%; y Hernández y Ortiz (2007)²⁶,²⁷, no más del 12%.

La tasa de preñez a los 120 días obtenida para el grupo tratado en el presente estudio fue de 28%, y en el grupo testigo de 20%. Al comparar los resultados de este trabajo con lo obtenido por Aréchiga et al. (1998)¹² para vacas tratadas con β -caroteno durante 90 días después del parto, la tasa de preñez que obtuvo a los 120 días fue de 35.4% y 21.1% en los grupos tratado y testigo respectivamente, siendo similar al resultado de esta investigación. Otro estudio de Aréchiga et al. (1998)²⁴, en donde se midieron los efectos de la administración de β -caroteno inyectado en vacas lecheras, obtuvo una tasa de preñez de $21.6 \pm 7\%$ para el grupo tratado, y de 24.4 ± 6.7 para el grupo testigo. En otro estudio, llevado a cabo por De Ondarza et al. (2009)²⁸ en el que midió el efecto de la suplementación

de β -caroteno en 7 periodos de 21 días sobre la tasa de preñez de vacas lecheras, el promedio que obtuvo fue de 21% y 20% para el grupo tratado y testigo respectivamente, por lo que es mejor el resultado obtenido en este estudio; es también superior al estudio de Casas (2006)²³, quien obtuvo una tasa de preñez de 23.9%.

Según Hernández y Ortiz (2007)²⁶, una meta posible para la tasa de preñez (eficiencia en la detección de estros por el porcentaje de concepción, dividido entre 100) en los hatos lecheros nacionales es de 20%, y en Estados Unidos la tasa de preñez promedio es de 14%. En ambos casos, las tasas de preñez obtenidas en los estudios referidos en donde se utilizó β -caroteno, son superiores a lo propuesto como meta. En el estudio realizado por De Ondarza et al. (2009)²⁸, el promedio de la tasa de preñez numéricamente fue mayor en el grupo suplementado con β -caroteno (20% vs. 21% para el grupo testigo y tratado respectivamente), pero esta diferencia no es significativa. Sin embargo, para los dos últimos periodos de 21 días, la tasa de preñez para el grupo testigo fue de 11% y la del grupo tratado de 22%. Así mismo, Aréchiga et al. (1998)¹², aunque encontró que la suplementación con β -caroteno no mejoró las funciones reproductivas globales, concluyó que las vacas que fueron suplementadas con β -caroteno durante más de 90 días obtuvieron mejores tasas de preñez (35.4% vs. 21.1%). Esto puede indicar que, un periodo extenso de tratamiento con β -caroteno es necesario para poder tener un impacto positivo en la eficiencia reproductiva.

Para los servicios por concepción y porcentaje de abortos, la diferencia entre el grupo tratado y testigo ha sido mínima, sin embargo, para la tasa de preñez la diferencia entre el grupo inyectado con β -caroteno y el testigo se amplía a 8%. Se asume que se obtuvieron mejores resultados porque el β -caroteno y la Vitamina E ayudan a mantener un equilibrio en los mecanismos antioxidantes; ya que un incremento en la producción de radicales libres puede afectar la fertilidad debido a que los tejidos del ovario, los espermatozoides y los embriones en etapas tempranas de desarrollo, son muy sensibles al daño causado por ellos^(20, 28). Las vacas lecheras altas productoras tienen un metabolismo intenso, bajo estas condiciones, aproximadamente el 1-2% del oxígeno metabolizado se convierte en especies reactivas al oxígeno. Éstas, como los radicales libres tienen efectos adversos al causar daño al ADN y destrucción de las proteínas⁽²⁹⁾. Se asume que el β -caroteno y la Vitamina E funcionan como sistemas antioxidantes, protegiendo la integridad de la membrana celular, y así, mejorando la

fertilidad y evitando abortos. Además, el líquido folicular contiene altas concentraciones de antioxidantes para proteger a los ovocitos del daño que pudieran causar los radicales libres⁽³⁰⁾.

El Balance Energético Negativo (BEN) juega un papel importante en las causas de baja fertilidad, afectando procesos reproductivos como el retraso a la primera ovulación posterior al parto, y disminuyendo las concentraciones séricas de progesterona en el segundo y tercer ciclo posterior al parto, afectando así la supervivencia embrionaria. Se sabe que el punto más bajo de BEN llega entre los días 10 y 20 posterior al parto, y se sigue así hasta el día 70-80⁽³¹⁾.

La inyección de β -caroteno y Vitamina E pudo haber influido a que el reinicio de la actividad ovárica fuera adecuada, ya que se sabe, que la primera oleada folicular después del parto es dependiente de las concentraciones de β -caroteno durante el periodo seco⁽¹¹⁾, por lo que la inyección de éste compuesto, ayudó a las vacas a estar preparadas mejor fisiológicamente para poder gestar.

En cuanto a los días abiertos e intervalo entre partos, se obtuvo un promedio de 84 y 87 para los días abiertos en los grupos tratado y testigo respectivamente. El intervalo entre partos fue de 11.9 para el grupo tratado y de 12.1 meses para el grupo testigo. Rakes et al. (1985)¹⁸ obtuvo un promedio de 108.5 y 101.8 días en grupos tratados con β -caroteno que consumieron silo de alfalfa y de maíz. Akordor et al. (1986)¹⁹, obtuvo un promedio de 97 días en vacas suplementadas con β -caroteno. El promedio ideal de días abiertos según diversos autores varía entre 100 y 160 días. Gasque (2008)³², recomienda de 85-100 días, Hernández y Ortiz (2007)²³ proponen de 120-130 días y Ávila (2009)²² propone de 120-160 días. Así mismo, el intervalo entre partos propuesto por distintos autores es de 12-13 meses^(22, 26, 32, 33). A pesar de esto, Lucy (2001)²¹ encontró que el promedio de intervalo entre partos en varios hatos dedicados a la producción de leche intensiva es de 14-15 meses. Esto puede tener explicación en el aumento a la producción de leche al que se ha sometido a los animales en los últimos años.

Los días abiertos determinan la duración del intervalo entre partos⁽³¹⁾, ya que entre más cortos sean los días del parto a la concepción, el intervalo entre partos es menor. Actualmente es difícil alcanzar un intervalo entre partos de 12-13 meses, ya que las vacas

lecheras están sujetas a un manejo intensivo para producir grandes volúmenes de leche (>8,500 Kg), lo cual está asociado con una disminución de la fertilidad. Tener un intervalo entre partos muy corto no siempre resulta conveniente, ya que se obtiene un menor volumen acumulado de leche, además, es frecuente que muchas vacas lleguen al secado con altas producciones de leche por haber tenido un servicio efectivo muy rápido. En este sentido, en hatos lecheros explotados intensivamente, un intervalo entre partos de 13.5 meses es una buena meta.⁽²⁶⁾

En esta investigación, los resultados obtenidos en los días abiertos y el intervalo entre partos, se encuentran dentro de los parámetros ideales; se deduce que puede estar relacionado con una buena alimentación y un buen manejo reproductivo.

En las retenciones placentarias, metritis y quistes ováricos, se encontró muy poca diferencia entre el grupo tratado y el grupo testigo. Los resultados arrojaron un 20% y 24% en retenciones placentarias para el grupo tratado y testigo respectivamente; 28% de metritis para ambos grupos; y en ningún grupo se diagnosticó la presencia de quistes ováricos. Michal et al. (1994)³⁴, obtuvo un 25% de vacas con retención placentaria tratadas con β -caroteno y un 41% en los animales del grupo testigo. Probablemente debido a que, según Kida (2008)¹⁰, Kawashima et al. (2009)¹¹ y Michal et al. (1994)³⁴, el β -caroteno actúa sobre los mecanismos de defensa, potenciando la proliferación de linfocitos y la función fagocítica, lo que favorecería la expulsión de la placenta. Sin embargo, en la presente investigación, se superó el rango propuesto por Ávila (2009)²² como parámetro reproductivo recomendable para retenciones placentarias, que es de 5-10%, por lo que se interpreta que el uso de β -caroteno y Vitamina E no tuvo ningún efecto positivo en la disminución de retenciones placentarias.

En lo que se refiere a metritis y quistes ováricos, en ambos grupos se obtuvo el mismo resultado, 28% y 0% respectivamente, contrastando con lo obtenido por Akordor et al. (1986)¹⁹, que obtuvo un 7% de metritis y un 11% y 7% para quistes foliculares y lúteos respectivamente, en vacas suplementadas con β -caroteno. Michal et al. (1994)³⁴ reportó un 8% de metritis en el grupo tratado con β -caroteno vs. 18% del grupo control. Inaba et al. (1986)³⁵, reportó que las vacas con quistes ováricos tienen menores concentraciones plasmáticas de β -caroteno que las que no presentaron quistes. Ávila (2009)²² propone un

rango de 5-10% para metritis y quistes ováricos. En el presente trabajo no hubo diferencias en los porcentajes obtenidos de metritis y quistes ováricos por el grupo tratado con β -caroteno y Vitamina E y el grupo testigo.

Con respecto a la concentración de progesterona sérica, se encontró que en las vacas tratadas, la muestra 2 de las vacas gestantes presentó un incremento significativo con respecto a la muestra 2 de las vacas no gestantes (figura 4A). En las vacas testigo no se presentó ninguna diferencia. Lo que resalta la importancia de concentraciones adecuadas de progesterona para la gestación.

Varios autores señalan que existe una correlación entre los compuestos antioxidantes y los niveles de progesterona, Lotthamer et al. (1979)¹, Arikan y Rodway (2001)⁷, y Chew et al. (1984)³⁶, ya que indican que el mecanismo antioxidante se activa con la estereidogénesis, debido a la formación de radicales libres en el cuerpo lúteo. También afirman que los niveles de β -caroteno en plasma, fluido folicular y cuerpo lúteo se incrementan durante el diestro y la gestación, lo que sugiere que el β -caroteno tiene un papel importante en la función luteal. Esto nos lleva a pensar que mediante la inyección de β -caroteno y Vitamina E, los niveles de progesterona se verían aumentados durante la fase luteal, afectando así de manera positiva a la fertilidad. Sin embargo, Morales et al. (2000)³⁷, encontraron que los niveles de progesterona entre animales gestantes y no gestantes, no eran diferentes. Por otro lado, Holness et al. (1981)³⁸, reportaron que las vacas gestantes tenían en promedio valores más altos de progesterona que las vacas que no gestaron, y que aquellos animales en los que la concentración de progesterona no superó los 4.5 ng/ml no lograron gestar. La mayoría de las funciones de la progesterona están encaminadas a culminar de manera exitosa la gestación una vez lograda la concepción, ya que es el principal producto de secreción del cuerpo lúteo; inhibe la conducta sexual, que puede ser riesgosa para una gestación establecida, inhibe las concentraciones uterinas, provoca el cierre del cérvix y estimula a las glándulas endometriales a secretar la leche uterina que permite la nutrición del embrión hasta su implantación.^(26, 33)

Siendo el cuerpo lúteo una glándula transitoria, muestra uno de los mayores índices de crecimiento. Al segundo día de la ovulación las concentraciones sanguíneas de progesterona

comienzan a elevar, y al quinto día ya se detectan concentraciones mayores de 1 ng/ml, lo que indica que el cuerpo lúteo ha adquirido plena funcionalidad.⁽²⁶⁾

En el presente estudio, a pesar de que la concentración de progesterona en suero, de las vacas tratadas y testigo, resultó similar tanto en las vacas con diagnóstico de gestación y las de no gestación, la diferencia significativa que hubo en la muestra 2 de las vacas tratadas gestantes y no gestantes, nos confirma la necesidad de tener buenos niveles de progesterona para la gestación.

Esto nos sugiere, que la diferencia en la tasa de preñez observada en las vacas del grupo tratado y testigo no se asoció con diferencias en la función del cuerpo lúteo, ya que en los animales del grupo testigo, las concentraciones de progesterona se mantuvieron en niveles adecuados, pero se obtuvieron menos gestaciones que en el grupo tratado

Los resultados obtenidos en la presente investigación tienen también como factores que pudieron intervenir: la genética, el manejo, la alimentación, la salud y el nivel de producción de los animales de esta explotación lechera intensiva.

CONCLUSIONES

Los animales tratados con β -caroteno y Vitamina E mostraron algunas mejorías en el desempeño reproductivo en comparación con los animales testigo, la diferencia más contrastante se mostró en la tasa de concepción a primer servicio, en donde se obtuvieron diferencias significativas en comparación con el grupo testigo, 50% y 20% respectivamente. Este resultado pudo impactar en la tasa de preñez del grupo tratado, que fue superior al testigo por un 8%. La explotación en donde se realizó la investigación cuenta con un buen manejo reproductivo y de alimentación, lo que pudo influir en la uniformidad de los resultados. El β -caroteno y la Vitamina E puede ser una alternativa para mejorar el desempeño reproductivo en hatos lecheros de nuestro país, por lo que se exhorta a realizar más investigación sobre el tema.

CUADROS

Cuadro 3.

Porcentaje de abortos, tasa de preñez, retenciones placentarias, patologías uterinas y quistes ováricos. El grupo tratado fue inyectado con β -caroteno y Vitamina E, 20 días antes del parto, 30 y 60 días después del parto. El grupo testigo fue inyectado en los mismos días con agua destilada.

Grupo	Abortos	Tasa de preñez	Retenciones placentarias	Patologías uterinas	Quistes ováricos
Tratado	0%	28%	20%	28%	0%
Testigo	4%	20%	24%	28%	0%

n=25

Cuadro 4.

Promedio de días abiertos e intervalo entre partos. El grupo tratado fue inyectado con β -caroteno y Vitamina E, 20 días antes del parto, 30 y 60 días después del parto. El grupo testigo fue inyectado en los mismos días con agua destilada.

Grupo	Días abiertos	Intervalo entre partos (meses)
Tratado	84.57	11.9
Testigo	87.5	12.1

n= 25

FIGURAS

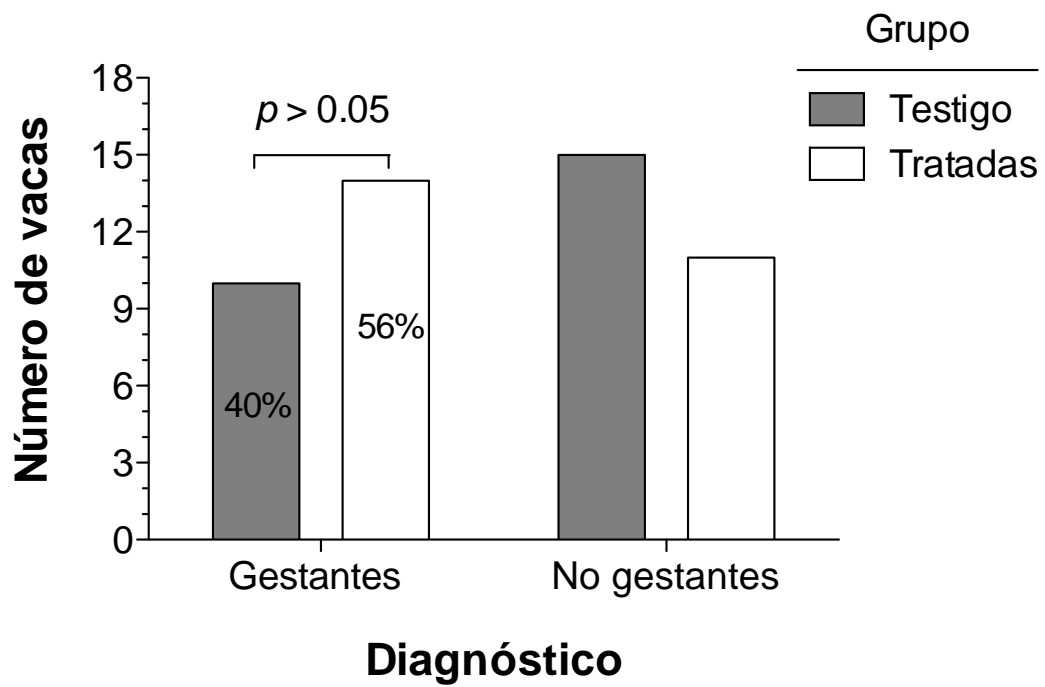


Figura 1. Comparación de vacas gestantes y no gestantes tratadas con β -caroteno y Vitamina E. Se realizó una prueba X^2 cuadrada con una $p > 0.05$.

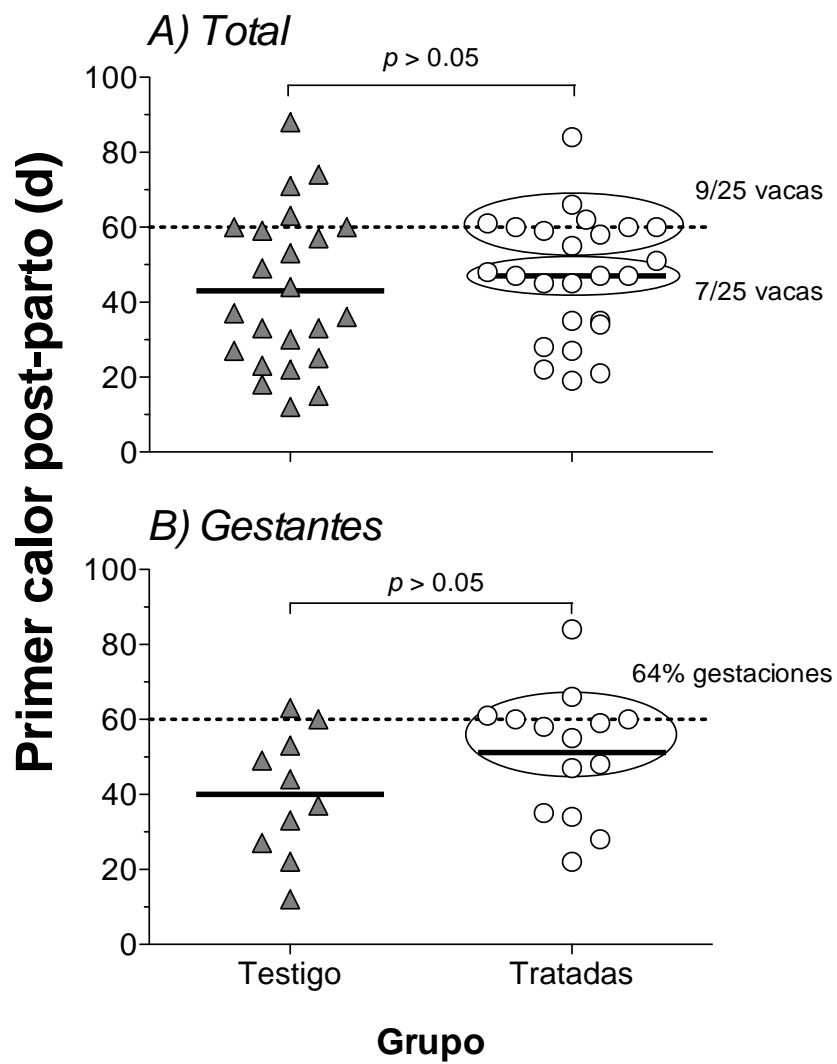


Figura 2. Comparación de las vacas tratadas con β -caroteno y Vitamina E en los días en que las vacas presentaron el primer calor postparto. A) vacas gestantes y no gestantes. B) Solo se muestran las vacas que quedaron preñadas. La línea punteada indica los días normales de espera para la primer inseminación. La línea gruesa indica la media. Se utilizó una Prueba *t* de Student para dos medias independientes con una $p > 0.05$.

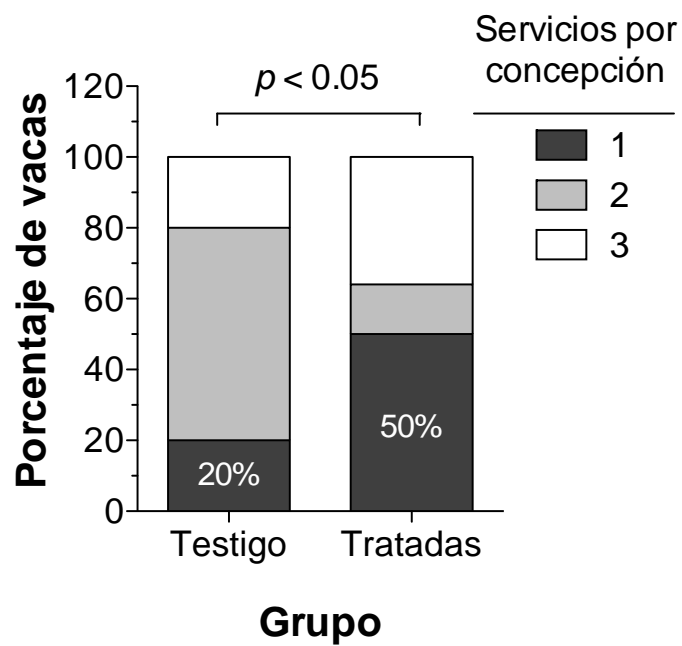


Figura 3. Comparación del número de servicios por concepción en 2 grupos, testigo y tratado con β -caroteno y Vitamina E. La prueba X^2 cuadrada fue realizada con una $p < 0.05$.

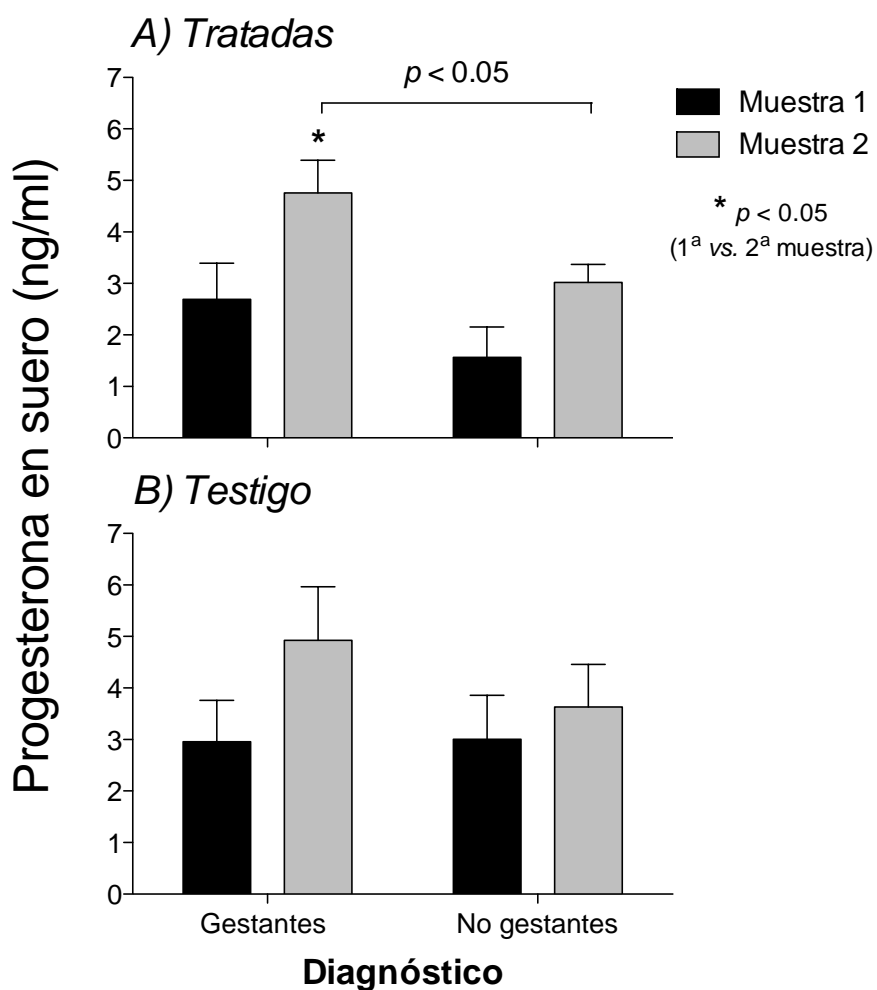


Figura 4. Cuantificación de progesterona en suero en dos tomas de muestra de vacas gestantes y no gestantes. A) Comparación de las muestras de vacas tratadas con β -caroteno y Vitamina E. B) Comparación de vacas no tratadas. Se realizó una prueba t de Student con una $p < 0.05$.

La concentración de progesterona en suero de las vacas tratadas y testigo resultó similar tanto en las vacas con diagnóstico de gestación y las de no gestación ($p > 0.05$). Esto en ambos periodos de muestreo.

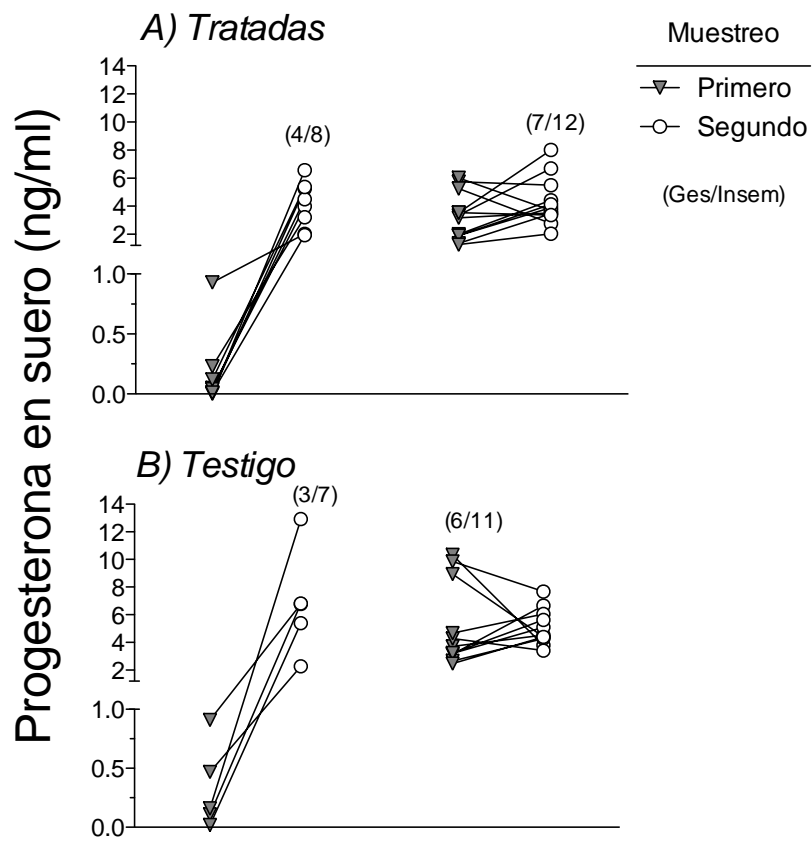


Figura 5. Comparación de dos grupos: Vacas con la muestra 1 < 1ng/ml y muestra 2 > 1ng/ml, vacas con la muestra 1 > 1ng/ml y muestra 2 > 1ng/ml en vacas tratadas (A) y no tratadas (B) con β -caroteno y Vitamina E.

REFERENCIAS

1. Lotthammer KH, Cooke BC, Hoffman F. Importance of β -carotene for bovine fertility. Roche symposium 1979.
2. Quintela LA, Díaz C, Becerra JJ, Alonso G, Gracia S, Herradón PG. Papel del β -Caroteno y vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno: revisión. ITEA 2008; 104; 3: 399-410.
3. Schweigert FJ. β -Carotene in Dairy Cattle: Metabolism in the Ovary and Status Assessment. Memorias del XXV Jubilee World Buiatrics Congress; 2008 julio 6-11; Budapest, Hungría. Hungría: Hungarian Association for Buiatrics, 2008: 212-219.
4. Bendich A, Allen J. Biological actions of carotenoids. FASEB J 1989; 3: 1927-1932.
5. Wang JY, Larson LL, Owen FG. Effect of beta carotene supplementation on reproductive performance of dairy heifers. Theriogenology 1982; 18; 4: 461-473.
6. Schweigert FJ. Changes in the concentration of beta-carotene, alpha-tocopherol and retinol in the bovine corpus luteum during the ovarian cycle. Archives of animal nutrition 2003; 57; 4: 307-310.
7. Arikan S, Rodway R. Seasonal Variation in Bovine Luteal Concentrations of β -Carotene. Turk J Vet Anim Sci 2001; 25: 165-168.
8. Costello LM, O'Boyle P, Godkin JD, Diskin MG, Hynes AC, Morris DG. Retinol Binding Protein (RBP), retinol and beta-carotene in the bovine uterus and plasma during the oestrous cycle and relationship between systemic progesterone.
9. Schliffka W. β -Carotene Deficiency in Dairy Cattle – Reasons and Prevention. Memorias del XXV Jubilee World Buiatrics Congress; 2008 julio 6-11; Budapest, Hungría. Hungría: Hungarian Association for Buiatrics, 2008: 226-229.
10. Kida K. Possibility of β -Carotene as a New Indicator Of Nutrition and Reproduction in Periparturient Dairy Cattle. Memorias del XXV Jubilee World Buiatrics Congress; 2008 Julio 6-11, Budapest, Hungría. Hungría: Hungarian Association for Buiatrics, 2008: 220-225.
11. Kawashima C, Kida K, Schweigert FJ, Miyamoto A. Relationship between plasma β -carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first

- folicular wave postpartum in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2009; 111: 105-111.
12. Aréchiga CF, Staples CR, McDowell LR, Hansen PJ. Effects of timed insemination and Supplemental β -Carotene on Reproduction and Milk Yield of Dairy Cows Under Heat Stress. *Journal of Dairy Science* 1998; 81: 390-402.
 13. ESTADO DE MÉXICO. Informaciónn por municipio. {Página de internet}. Teoloyucan. {Actualización: 2009}. Disponible en: <http://www.estadodemexico.com.mx/portal/teoloyucan/>
 14. Góngora CJ, Hernández RR. Estadística descriptiva. México: Trillas, 1999.
 15. Cobos L, Castañeda A. Manual prácticas de laboratorio de inmunología. Segunda edición. En: Cobos L, Vicenci M, editores. Obtención y manejo de muestras sanguíneas. México, 2005: 39-49.
 16. Radioinmunoanálisis (RIA) (COAT-A-COUNT TKPG2, Progesterone SIEMENS).
 17. Lara V, Hernández CJ, Cruz O, Ortiz O, Gutiérrez CG. Inicio de la actividad ovárica posparto y características de la función lútea de vacas Holstein. Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría 2002. Acapulco, Gro, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos.
 18. Rakes AH, Owens MP, Britt JH, Whitlow LW. Effects of Adding Beta-Carotene to Rations of Lactating Cows Consuming Different Forages. *Journal of Dairy Science* 1985; 68: 1732-1737.
 19. Akordor FY, Stone JB, Walton JS, Leslie KE, Buchanan-Smith JG. Reproductive Performance of Lactating Holstein Cows fed supplemental β -Carotene. *Journal of Dairy Science* 1986; 69: 2173-2178.
 20. Hernández CJ. Causas y Tratamientos de la Infertilidad en la Vaca Lechera.
 21. Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end ?. *Journal of Dairy Science* 2001; 84: 1277-1293.
 22. Ávila GJ. En: Ávila TS, compilador. Producción de Leche con Ganado Bovino. Manual Moderno, 2da Edición, México 2009: 281.

23. Casas GA. Experiencia práctica con el uso de β -caroteno inyectable como potenciador de la tasa de concepción en ganado bovino lechero. Dalmavital. Informe Técnico. 2006.
24. Aréchiga CF, Vázquez-Flores S, Ortiz O, Hernández-Cerón J, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ. Effect of Injection of β -carotene or Vitamin E and Selenium on Fertility of Lactating Dairy Cows. Theriogenology 1998; 50: 65-76.
25. Beal WE. Economic Impact of Reproductive rate. Department of Animal and Poultry Sciences. Virginia Tech 1995.
26. Hernández CJ, Ortiz GO. En: Hernández CJ, Zavala RJ, editores. Reproducción Bovina. División del Sistema de Universidad Abierta. Primera Edición, México 2007: 209-218.
27. Hernández CJ, Porras AA, editores. Manejo Reproductivo en Bovinos en Sistemas de Producción de Leche. Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. [material en línea] Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/>.
28. De Ondarza MB, Wilson JW, Engstrom M. Case Study: Effect of Supplemental β -carotene on Yield of Milk and Milk Components and on Reproduction. The Professional Animal Scientist 2009; 25: 510-516.
29. Nockels CF. Antioxidants improve Cattle immunity followinf. Animal Feed Tech 1996; 62:59-68
30. Agarwall A, Allamaneni SSR. Oxidants and Antioxidants in Human Fertility. Middle East Fertility Society 2004; 9: 187-197.
31. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 1988; 71: 1063-1072
32. Gasque GR. Enciclopedia Bovina. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Primera edición 2008: 402.
33. Galina C, Cavestany C. En: Galina C, Valencia J, compiladores. Reproducción de los Animales Domésticos. 3ª Edición, Limusa, México 2009: 355-370.

34. Michal JJ, Heirman LR, Wong TS, Chew BP, Frigg M, Volker L. Modulatory effects of dietary beta-carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1994; 77:1408-1421.
35. Inaba T, Mezan M, Shimizu R, Nakano Y, Mori J. Plasma concentration of beta-carotene and vitamin A in cows with ovarian cysts. *Japan Journal of Veterinary Science* 1986; 48: 1275-1278.
36. Chew BP, Holpuch DM, O'fallon JV. Vitamin A and β -carotene in bovine and porcine plasma, liver, corpora lutea and follicular fluid. *Journal of Dairy Science* 1984; 67: 1316-1322.
37. Morales RS, Hernández CJ, Rodríguez TG, Peña FR. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Veterinaria México* 2000; 31 (3).
38. Holness DH, Sprowson GW, Sheward C, Geel A. Studies on plasma progesterone concentrations and fertility in Friesland dairy cows during the post-partum period. *J. Agric. Sci., Camb* 1981; 97: 649-654.