

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**Instituto de Ciencias Agrícolas**



**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE MINERALES SOBRE  
RESPUESTAS REPRODUCTIVAS DE VACAS ANGUS  
LACTANTES BAJO UN PROGRAMA DE INSEMINACIÓN  
ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO**

**T E S I S**

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

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

**PRESENTA**

**MARIO GONZÁLEZ LÓPEZ**

**DIRECTOR**

**Ph.D. LEONEL AVENDAÑO REYES**

MEXICALI, B.C. MÉXICO

MAYO DE 2021

La presente tesis titulada “**Efecto de la adición de minerales sobre respuestas reproductivas de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo**”, realizada por el C. Mario González López, fue dirigida por el Ph.D. Leonel Avendaño Reyes siendo aceptada, revisada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS  
DE PRODUCCION ANIMAL

**Comité Particular**



**Presidente** \_\_\_\_\_

**Director de Tesis** Ph.D. Leonel Avendaño Reyes



**Sinodal** \_\_\_\_\_

**Ph.D. Abelardo Correa Calderón**



**Sinodal** \_\_\_\_\_

**Dr. Ulises Macías Cruz**



**Sinodal** \_\_\_\_\_

**Dr. Juan Augusto Hernández Rivera**

**“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE”**

Ejido Nuevo León, Mexicali Baja California, México, Mayo de 2021

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por prestarme vida, salud y fuerzas.

A mi esposa Yazmin Lucia Caraveo Gutiérrez por su apoyo incondicional en todos mis proyectos.

A mis padres y hermanos por estar a mi lado y por siempre creer en mí.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado durante todo el posgrado.

Al Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme formar parte de su matrícula escolar y brindarme todas las facilidades y comodidades durante mi estudio de posgrado.

Al comité de investigación en Fisiología y Genética Animal de la Maestría en Ciencias en Sistemas de Producción Animal, conformado por el Dr. Leonel Avendaño Reyes, Dr. Abelardo Correa Calderón, Dr. Ulises Macías Cruz y Dr. Juan Augusto Hernández Rivera, por su apoyo en el diseño, desarrollo y escritura del experimento, así como sus consejos y enseñanzas dentro y fuera del salón de clases.

A laboratorio Virbac México S.A de C.V por el apoyo con material y productos farmacéuticos necesario para el desarrollo del estudio.

A Corrales Valdivia (Rancho Nuevo, Tres Palmas y el Rocío) propiedad de Antonio Valdivia Jáuregui y todo su personal, especialmente al I.A.Z. Ernesto Emiliano Estrada Delgado, al M.V.Z. Paul Lee Gutiérrez y al I.A.Z. Ramón Alejandro Medina Martínez, por abrirme las puertas de sus instalaciones y apoyarme durante todo el desarrollo de campo de mi investigación.

## DEDICATORIAS

*“Dedicado a dios, mi esposa y mi familia que siempre  
han estado a mi lado apoyándome en todos mis  
proyectos profesionales y personales”*

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	ii
<b>DEDICATORIAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Ganadería bovina de carne en México .....	3
2.1.1 Antecedentes .....	3
2.1.2 Situación actual.....	3
2.2 Sistemas de producción bovina de carne .....	4
2.2.1 Sistemas de producción vaca-becerro.....	4
2.3 Fisiología del ciclo estral bovino.....	5
2.4 Técnicas de reproducción asistida en bovinos de carne.....	7
2.4.1 Inseminación artificial.....	7
2.4.2 Superovulación y transferencia de embriones <i>in vivo</i> .....	8
2.4.3 Producción de embriones <i>in vitro</i> .....	9
2.5 Factores relacionados con la reproducción en bovinos de carne.....	10
2.5.1 Efectos de la lactancia .....	11
2.5.2 Efectos de la nutrición.....	12
2.6 Relación de los minerales con la reproducción en bovinos de carne .....	14
2.6.1 Fósforo.....	15
2.6.2 Potasio.....	16
2.6.3 Magnesio .....	17
2.6.4 Cobre .....	18
2.6.5 Selenio.....	19
2.6.6 Adición de minerales al ganado bovino .....	20
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b> .....	22
3.1 Experimento 1 .....	22
3.1.1 Sitio de estudio .....	22
3.1.2 Animales y manejo.....	22

3.1.3 Alojamiento y alimentación .....	23
3.1.4 Tratamientos y diseño experimental .....	24
3.1.5 Sincronización de la ovulación e inseminación artificial.....	24
3.1.6 Diagnóstico de concepción .....	26
3.1.7 Variables de estudio .....	26
3.1.8 Análisis estadístico .....	26
3.2 Experimento 2 .....	26
3.2.1 Sitio de estudio .....	26
3.2.2 Animales y manejos.....	27
3.2.3 Alojamiento y alimentación .....	27
3.2.4 Tratamientos y diseño experimental .....	28
3.2.5 Sincronización de la ovulación e inseminación artificial.....	29
3.2.6 Diagnostico de concepción .....	30
3.2.7 Ultrasonografía ovárica y muestras de sangre .....	30
3.2.8 Variables de estudio .....	31
3.2.9 Análisis estadístico .....	33
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
4.1 Experimento 1 .....	34
4.1.1 Tasa de concepción y expresión de estro.....	34
4.2 Experimento 2 .....	35
4.2.1 Tasa de concepción.....	35
4.2.2 Actividad ovárica.....	35
4.2.3 Concentración sérica de minerales.....	36
4.2.4 Concentración sérica de progesterona .....	39
<b>V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>41</b>
5.1 Tasa de concepción .....	41
5.2 Tasa de expresión de estro.....	44
5.3 Actividad ovárica .....	45
5.4 Concentración sérica de minerales .....	51
5.5 Concentración sérica de progesterona .....	54
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>57</b>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>58</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Composición de ingredientes de la ración ofrecida a vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (Exp. 1). .....	23
<b>Cuadro 2.</b> Composición química del producto mineral (Fosfosan <sup>®</sup> ) aplicado a vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.....	24
<b>Cuadro 3.</b> Composición de ingredientes y nutrientes de la ración ofrecida a vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (Exp. 2). .....	28
<b>Cuadro 4.</b> Efecto de la adición mineral sobre la tasa de concepción y expresión de estro de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo. ....	34
<b>Cuadro 5.</b> Efecto de la dosis de minerales sobre la tasa de concepción de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.....	35
<b>Cuadro 6.</b> Efecto de la dosis de minerales sobre la actividad ovárica de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.....	36
<b>Cuadro 7.</b> Efecto de la dosis de minerales sobre las concentraciones séricas de potasio, fosforo y magnesio de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo. ....	37
<b>Cuadro 8.</b> Efecto de la dosis de minerales sobre las concentraciones séricas de progesterona de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo .....	39

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Protocolo de sincronización del estro y tratamientos de vacas Angus lactantes en el programa de IATF (Exp.1).....	25
<b>Figura 2.</b> Protocolo de sincronización del estro y tratamientos de vacas Angus lactantes en el programa de IATF (Exp. 2).....	29
<b>Figura 3.</b> Efecto del día de muestreo sobre las concentraciones séricas medias ( $\pm$ E.E) de potasio (K), fosforo (P) y Magnesio (Mg) de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.....	38
<b>Figura 4.</b> Efecto del día de muestreo sobre las concentraciones séricas medias ( $\pm$ E.E) de progesterona ( $P_4$ ) de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.....	40

## RESUMEN

Se realizaron dos experimentos para evaluar el efecto de diferentes dosis de un producto mineral inyectable (Fosfosan®) en respuestas reproductivas de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). En Exp. 1, se usaron 281 vacas Angus lactantes con cría al pie (~ 2 lactancias y condición corporal [CC] ~ 5 puntos). El programa IATF consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal (DIB) conteniendo 1 g de progesterona (P<sub>4</sub>) más 2 mg de benzoato de estradiol (BE) en el día 0. Luego el DIB fue retirado y se aplicó 0.5 mg de cipionato de estradiol (ECP), más 0.150 mg de d-cloprostenol (D-CLO) y 400 UI de eCG en el día 7. En el día 9 se realizó la IATF (a 48 h del retiro del DIB). Aleatoriamente las vacas se asignaron a uno de dos tratamientos bajo un diseño completamente al azar: 1) Testigo (n = 109); vacas sin adición de minerales, y 2) Tratado (n = 172); vacas adicionadas con 10 ml de un producto mineral inyectable formulado con P, K, Mg, Cu y Se el día 0 del programa IATF. Las variables medidas fueron tasa de expresión de estro (TE) y tasa de concepción (TC). En Exp. 2 se seleccionaron 72 vacas Angus lactantes con cría al pie (~ 2 lactancias y CC ~ 7 puntos). Las vacas se sometieron al mismo programa IATF que en Exp. 1, y de manera aleatoria se asignaron a uno de dos tratamientos bajo un diseño completamente al azar: 1) Una dosis (n = 36); vacas que recibieron 10 ml de minerales en día 0, y 2) Dos dosis (n = 36); vacas que recibieron 10 ml de minerales los días 0 y 7. En ambos tratamientos se utilizó el mismo producto mineral descrito en Exp.1. Adicionalmente, se eligieron al azar 8 vacas (n = 4 por tratamiento) en las que se realizó ultrasonografía para medir actividad ovárica y se les tomaron muestras de sangre para medir la actividad sérica de minerales y hormonas. Como variables de respuesta de la actividad ovárica se midió emergencia de la onda folicular (EOF), población folicular (PF), tamaño folicular (TF), número de folículos por clase (C1, C2, C3 y C4), tamaño del folículo dominante (FD). Mientras que para la actividad sérica de minerales y hormonas se midió la concentración K, P, Mg y P<sub>4</sub>, la tasa de concepción se midió mediante ultrasonografía 30 d después de la IATF en el total de las vacas. En Exp. 1, la

adición del producto mineral inyectable tendió a aumentar la TE ( $P = 0.0543$ ) y aumentó la TC ( $P < 0.05$ ) en las vacas. Durante el Exp. 2, la TC no varió ( $P > 0.05$ ) entre los grupos de vacas tratadas con una y dos dosis de minerales. Del mismo modo, las variables EOF, PF, TF, C1, C2, C3 y C4 no fueron afectadas ( $P > 0.05$ ) por la dosis de minerales adicionada. Por su parte, la dosis de minerales adicionada tuvo efecto ( $P < 0.05$ ) sobre FD. Se concluye que la adición de un producto mineral inyectable a base P, K, Mg, Cu y Se (Fosfosan®) resultó una estrategia efectiva para mejorar la tasa de concepción final de vacas Angus lactantes sometidas a programas IATF, sin embargo, el efecto de dosis puede ofrecer una ventaja limitada sobre la respuesta reproductiva, especialmente cuando el estado mineral de las vacas es adecuado.

**Palabras clave:** *Complemento mineral, tasa de concepción, actividad ovárica, vacas Angus.*

## ABSTRACT

Two experiments were conducted to assess the effect of different doses of an injectable mineral product (Fosfosan®) on reproductive responses of Angus cows receiving a fixed time artificial insemination (FTAI) program. In Exp. 1, 281 lactating Angus cows were used with calve at the foot (~ 2 lactations and body condition score [BCS] ~ 5 points). The FTAI program consisted of the insertion of an intravaginal device (DIB) containing 1 g progesterone (P<sub>4</sub>) plus 2 mg estradiol benzoate (EB) on day 0. Then the DIB was removed and 0.5 mg of estradiol cypionate (ECP), plus 0.150 mg d-cloprostenol (D-CLO) and 400 IU eCG were administered on day 7. The FTAI was performed on day 9, 48 h after DIB removal. The cows were randomly assigned to one of two treatments under a completely randomized design as follows: 1) Control (n = 109), cows with no mineral addition, and 2) Treated (n = 172) cows with 10 mL of an injectable mineral product formulated with P, K, Mg, Cu and Se on day 0 of the IATF program. Response variables were estrus expression rate (ER) and conception rate (CR). In Exp. 2, 72 lactating Angus cows with calve at the foot (~ 2 lactations and BCS ~ 7 points) were used. The cows were subjected to the same FTAI program than Exp. 1, and randomly were assigned to one of two treatments: 1) One dose (n=36), cows that received 10 mL minerals on day 0, and 2) Two doses (n=36), cows that received 10 ml minerals on days 0 and 7. The same mineral product described in Exp. 1 was used in both treatments. Additionally, eight cows were randomly selected (4 per treatment) in which ovarian activity was measured by ultrasonography, and also to collect blood samples to measure minerals and hormones in serum. As ovarian activity variables, emergency of the follicular wave (EFW), follicular population (FP), follicular size (FS), number of follicles per class (C1, C2, C3, and C4), and size of the dominant follicle (SDF) were measured. Serum minerals and hormones measured were K, P, Mg, and P<sub>4</sub>, while CR was measured by ultrasonography at 30 d after FTAI in all cows. In Exp.1, the addition of the mineral product tended to increase the ER ( $P = 0.0543$ ) and increased ( $P < 0.05$ ) CR in the cows. In Exp. 2, the CR did not differ ( $P < 0.05$ ) between mineral doses. Likewise, the variables EFW, FP, FS, C1, C2, C3, and C4 were not affected ( $P > 0.05$ ) by

mineral doses. Meanwhile, two mineral doses decreased ( $P < 0.05$ ) the SDF compared to one dose. Besides, the interaction treatment x time and time did not affect ( $P > 0.05$ ) concentrations of P, K, Mg and P<sub>4</sub>. We conclude that the addition of the mineral product (Fosfosan®) based on P, K, Mg, Cu, and Se resulted in an effective strategy to improve final conception rate of lactating Angus cows subjected to a FTAI program. However, the effect of dose may have a limited advantage on the reproductive response, especially when the mineral status of the cows is acceptable.

**Palabras clave:** *Mineral supplementation, conception rate, ovarian activity, Angus cattle.*

## I. INTRODUCCIÓN

El ganado bovino de carne en México representa alrededor del 93% del total de la población bovina. En base a lo anterior, se considera a la ganadería de carne como la actividad más desarrollada dentro de la ganadería bovina actual en el país (SIAP, 2019). Esta actividad se enfoca en la cría, desarrollo y engorda de razas bovinas que tienen la habilidad de producir carne (González-Padilla *et al.*, 2019). El departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA; por sus siglas en inglés) ha dividido la ganadería de carne en tres sistemas de producción: 1) Sistema vaca-becerro, 2) Desarrollo, y 3) Engorda (McBride y Mathews, 2011). En México el sistema de producción vaca-becerro es la actividad más extendida a lo largo de territorio nacional (Peel *et al.*, 2010). El sistema vaca-becerro se orienta a la cría de vacas y toros en forma extensiva para producir lotes de becerro anuales (Lassala *et al.*, 2020), por lo tanto, la eficiencia reproductiva del hato se considera el principal parámetro productivo (Diskin y Kenny, 2016). Fisiológicamente hablando las vacas se denominan poliéstricas continuas ya que presentan estro cada 21 días durante todo el año (Galina, 2008). Durante cada ciclo estral la actividad ovárica es contralada por una compleja interacción entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios (Martínez, 2002). Dicha interacción consiste en la liberación de una serie de hormonas que culminan con el desarrollo folicular y la ovulación de un folículo competente que tendrá la capacidad de ser fecundado por un espermatozoide (Forde *et al.*, 2011). La comprensión de la fisiología reproductiva bovina ha permitido el desarrollo de técnicas de reproducción asistida (TRA) que facilitan la manipulación práctica del ciclo estral con fines productivos (De la Mata, 2016). Entre otras TRA, los programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) son los más destacados comercialmente en la actualidad (Rodríguez-Martínez, 2012). Sin embargo, las tasas de concepción durante estos programas aún son relativamente bajas (Bó *et al.*, 2016). Se ha informado que la reproducción en vacas es multifactorial, donde la nutrición representa uno de los factores más importantes (Yavas y Walton, 2000). La nutrición es un modulador importante de funciones biológicas, entre ellas la reproducción (Maas, 1987). Una buena nutrición se conforma por el aporte de

energía, proteínas, vitaminas y minerales en cantidades correctas y en las formas biológicamente más disponibles para el organismo (Bindari *et al.*, 2013). Después de la energía y las proteínas los minerales son considerados los principales nutrientes para una óptima función reproductiva en bovinos (Balamurugan *et al.*, 2017). Se ha informado que minerales como el fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), cobre (Cu) y Selenio (Se) se relacionan con distintos aspectos reproductivo del ganado. Particularmente, se han descrito los efectos que estos minerales tienen sobre la tasa de concepción, actividad ovárica y síntesis de hormonas reproductivas (Ahuja y Parmar, 2017). Dada la importancia de los minerales en la reproducción bovina (Ceylan *et al.*, 2008) y la amplia deficiencia de minerales reportada en esta especie (Davy *et al.*, 2018), es de vital importancia establecer programas de adición de minerales que permitan cubrir las necesidades del ganado, especialmente durante la reproducción (Wilde, 2006). El uso de minerales orales de libre elección es la principal forma de adición mineral en el ganado (Greene, 2000), sin embargo, este método no es el más efectivo, debido a una alta variación en el consumo (Arthington y Swenson, 2004) y una gran interacción entre minerales y otros nutrientes dentro del sistema gastrointestinal que afectan negativamente su biodisponibilidad (Stokes *et al.*, 2017). De manera alternativa, los minerales inyectables se han utilizado como un método directo de adición, donde un animal recibe una cantidad conocida de minerales parenteralmente, evitando así la variación en consumo y las complejas interacciones gastrointestinales (Willmore *et al.*, 2015). En este sentido, Penteadó *et al.* (2017) reportaron que la adición parenteral de P, K, Mg, Cu y Se durante un programa IATF mejoró la tasa de concepción en vacas Nelore lactantes. Aunque varios estudios han reportado los efectos positivos de la adición de minerales sobre aspectos reproductivos del ganado bovino, es necesario dirigir investigaciones que permitan conocer los posibles mecanismos fisiológicos involucrados en dicha respuesta. Por lo tanto, se diseñó un estudio para evaluar el efecto de un producto mineral inyectable y diferentes dosis del mismo sobre respuestas reproductivas de vacas Angus lactantes bajo un programa IATF.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Ganadería bovina de carne en México

#### 2.1.1 Antecedentes

Los inicios de la ganadería bovina de carne en México datan del año 1521 durante la época prehispánica, a partir de la colonización del territorio mexicano por la cultura española. Desde ese momento se introdujeron al país distintas embarcaciones con ganado bovino que se adaptó y reprodujo rápidamente; dichos eventos permitieron un crecimiento y distribución de la población bovina de manera acelerada, tanto en la región conquistada como sus alrededores (Villegas *et al.*, 2001). El ganado conducido a México desde España, reconocido como “criollo”, prevaleció como única raza existente desde de su introducción hasta finales del siglo XIX; fue a partir de entonces que se importaron las primeras razas de ganado de carne, principalmente la raza Hereford en 1896, la Brahman en 1923, Angus en 1925 y Charoláis en 1929 (Guijosa, 2006). El establecimiento y domesticación del ganado bovino consolidó a la ganadería como la principal fuente de proteína animal y la forma de uso de suelo más extendida del país (Hernández, 2001). Aunque el desarrollo en aquella época fue rápido, la ganadería bovina ha cambiado a lo largo de la historia como resultado de los distintos acontecimientos sociales, económicos, culturales y zoonosológicos por los que ha atravesado el país (Villegas *et al.*, 2001).

#### 2.1.2 Situación actual

A pesar de los cambios a lo largo del tiempo, la ganadería bovina de carne se ha fortalecido como actividad económica ocupando alrededor del 66.2% del territorio nacional, donde se desarrolla principalmente de forma extensiva (Chauvet, 1999). Esta actividad económica es de gran importancia para la industria alimentaria por mantener una constante producción de alimentos en cantidad y calidad suficientes (Peel *et al.*, 2011). Actualmente, la industria destinada a la producción de leche y carne bovina son los dos sectores que en conjunto conforman la ganadería bovina del país (Villegas *et al.*, 2001). De acuerdo a un informe publicado por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en 2019, la población bovina en

México alcanzó un total de 35´ 224, 960 bovinos, de los cuales el 93% representa al ganado productor de carne, mientras el resto es ganado productor de leche. En base a los datos registrados, es posible nombrar a la ganadería de carne como la actividad más desarrollada dentro de la ganadería bovina actual. Entre los estados más desarrollados en cuanto a población bovina se encuentran Veracruz, Jalisco, Chiapas, Chihuahua y Michoacán con los primeros cinco lugares respectivamente, mientras que el estado de Baja California se sitúa en el lugar veinticinco con un total de 235, 834 bovinos de carne (SIAP, 2019).

## **2.2 Sistemas de producción bovina de carne**

La ganadería bovina de carne es una actividad pecuaria enfocada en la cría, desarrollo y engorda de ganado bovino con características de producción cárnica (González-Padilla *et al.*, 2019). Esta actividad se desarrolla ante una amplia variedad de condiciones geográficas, climáticas y tecnológicas que prevalecen en el país (Peel *et al.*, 2010). Una clasificación utilizada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA; por sus siglas en inglés), divide a la ganadería de carne en tres sectores o sistemas de producción: 1) Sistema vaca-becerro, 2) Desarrollo o pre engorda, y 3) Finalización o engorda (McBride y Mathews, 2011). En México, todo el ganado de carne proviene de un sistema de producción vaca-becerro, por lo tanto, este sistema se considera el inicio del ciclo productivo y uno de los sectores más importantes de la ganadería de carne nacional (Peel *et al.*, 2010). Los estados del norte del país, incluyendo Baja California, se caracterizan por el desarrollo del sistema vaca-becerro y engorda en corral, donde predominan las razas de ganado europeo tales como Hereford, Charoláis y Angus, así como sus cruza con ganado cebuino (Villegas *et al.*, 2001).

### **2.2.1 Sistemas de producción vaca-becerro**

El sistema de producción vaca-becerro es un sector de la ganadería de carne orientado a la cría de ganado bovino (vacas y toros) para producir lotes de becerros anualmente. Este sistema se desarrolla principalmente de manera extensiva en pastos inducidos o naturales (agostaderos) donde el ganado se mantiene durante

todo el año. Las estrategias reproductivas se basan principalmente en sistemas de empadre continuo (todo el año) y, en menor medida, programados para una estación del año (60 a 90 días); los partos usualmente siguen un patrón estacional predispuestos a la temporada de mayor disponibilidad de forraje (Lassala *et al.*, 2020). Después del parto, los becerros lactantes se mantienen con las vacas para luego ser destetados (alrededor de 7-9 meses), posteriormente son vendidos, subastados, exportados o engordados dentro de unidades de producción dentro del país. En términos generales, las vacas son mantenidas durante las etapas de cría, gestación, parto y lactancia bajo un sistema de pastoreo extensivo (McBride y Mathews, 2011). Aunque el sistema vaca-becerro se desarrolla principalmente bajo condiciones extensivas, una modalidad intensiva en corral (aunque menos común), también es una opción viable cuando las condiciones geográficas no facilitan el uso del pastoreo. Cabe mencionar que la producción intensiva, en contraste a la extensiva, implica costos de producción más altos (Villegas *et al.*, 2001). Esta diferencia requiere volver más eficientes las actividades reproductivas y de gestión en los sistemas intensivos, como una medida justificable de su aplicación. Por ser su objetivo principal la producción de becerros, la eficiencia reproductiva del hato es el principal parámetro productivo a considerar (Diskin y Kenny, 2016). Tomando en cuenta que una vaca tiene la capacidad de criar y destetar un becerro por año, las producciones de cría vaca-becerro han establecido como objetivo principal lograr índices de parto de 12 meses. Por lo tanto, tras un periodo de 280 días de gestación la vaca debe volver a su ciclo reproductivo y quedar preñada entre los 80 y 85 días posparto para lograr el índice de partos establecido (Yavas y Walton, 2000). Aunque el potencial reproductivo de una vaca ha sido bien caracterizado, la eficiencia reproductiva general del rebaño de carne en México es relativamente baja, ya que las tasas de concepción anuales oscilan alrededor del 32% (Lassala *et al.*, 2020).

### **2.3 Fisiología del ciclo estral bovino**

Las vacas se consideran poliéstricas continuas por su capacidad de presentar actividad de estro en promedio cada 21 días durante todo el año (Galina, 2008). El ciclo estral consta de una fase folicular y una fase lútea. La fase folicular dura entre 4

y 6 días, dando inicio con el proceso de luteolisis y concluyendo con la ovulación. La fase lútea tiene una duración entre 14 y 18 días, iniciando con la formación del cuerpo lúteo después de la ovulación y finalizando con el proceso de luteolisis. Adicionalmente, se ha dividido al ciclo estral en cuatro etapas denominadas proestro, estro, metaestro y diestro. Las etapas proestro y estro son una división de la fase folicular, mientras que las etapas metaestro y diestro son una división de la fase lútea (Forde *et al.*, 2011). En cada ciclo estral los ovarios se someten a una serie de cambios morfológicos controlados fisiológicamente por la interacción del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico (Martínez, 2002). Dicha interacción da inicio con la liberación de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) del hipotálamo, en respuesta a los niveles circulantes de estradiol ( $E_2$ ) y progesterona ( $P_4$ ) en sangre; esta hormona se une a las células gonadotropas de la hipófisis anterior para estimular la síntesis de hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Las hormonas FSH y LH se relacionan directamente con los cambios morfológicos del ovario durante el ciclo estral. Por su parte, la hormona FSH promueve el desarrollo de la fase folicular, mientras que LH promueve la fase lútea del ciclo estral (Senger, 2012). La actividad ovárica durante el ciclo estral se lleva a cabo bajo un patrón de ondas de desarrollo folicular. Una onda de desarrollo folicular es el crecimiento sincrónico de un número determinado de folículos pequeños de los cuales se seleccionará uno que potencialmente ovulará después del proceso de luteolisis, mientras el resto de los folículos sufrirán atresia. Durante el ciclo estral del ganado bovino, se han identificado alrededor de 2 a 3 ondas de desarrollo folicular (Bó *et al.*, 1995). Tras la ovulación, el ovocito contenido dentro del folículo es liberado directamente al oviducto, dando la posibilidad de que sea fecundado por un espermatozoide previamente depositado en el tracto reproductivo de la hembra. El sitio de ovulación dará lugar a la formación de un cuerpo lúteo que se encargará de producir altas concentraciones de  $P_4$  como requisito para el establecimiento y mantenimiento de la preñez. En caso de no llevarse a cabo la fecundación, el proceso de luteolisis estimulado por la prostaglandina uterina dará lugar al reinicio del ciclo reproductivo (Forde *et al.*, 2011).

## **2.4 Técnicas de reproducción asistida en bovinos de carne**

El conocimiento de los mecanismos fisiológicos que regulan el ciclo estral bovino es de suma importancia para el desarrollo de programas reproductivos eficientes (Moore y Thatcher, 2006). Gracias a la comprensión de dichos mecanismos, se han desarrollado distintos métodos que facilitan la manipulación práctica del ciclo estral con fines productivos; dichos métodos se han denominado técnicas de reproducción asistida o TRA (De la Mata, 2016). Estas técnicas tienen como objetivo mejorar la eficiencia reproductiva del ganado bovino, a través de la manipulación de eventos y estructuras relacionadas con la reproducción (ovulación, fecundación y desarrollo embrionario) para lograr el establecimiento de la preñez y el nacimiento de una cría sana (Velázquez, 2008). El desarrollo de las TRA ha impactado de manera positiva en el sector ganadero enfocado a la cría de ganado, ya que permite acortar los intervalos generacionales y propagar el material genético deseable dentro del rebaño (Rodríguez-Martínez, 2012). Las TRA se desarrollaron durante varias generaciones a través de los años, y dentro de estas técnicas se incluye la inseminación artificial, superovulación y transferencia de embriones *in vivo*, producción de embriones *in vitro*, transgénesis, clonación y sexado de semen entre otras (Velazquez, 2008). Aunque las distintas TRA han evolucionado a lo largo del tiempo, solo la inseminación artificial, la superovulación y transferencia de embriones *in vivo* y la producción de embriones *in vitro* han tenido un impacto comercial en las producciones ganaderas (Bertolini y Bertolini, 2009).

### **2.4.1 Inseminación artificial**

La inseminación artificial (IA) es una técnica reproductiva de primera generación (Bertolini y Bertolini, 2009), desarrollada durante la década de 1930 (Machaty *et al.*, 2012) y considerada una de las principales técnicas reproductivas utilizada mundialmente para difundir la genética deseable en las producciones ganaderas (Bó *et al.*, 2016). La importancia de su aplicación se debe a que es una técnica fácil, económica y exitosa (Vishwanath, 2003). En bovinos la IA es una técnica que consiste en la deposición de semen en la luz del cuerpo uterino durante el intervalo que comprende desde la mitad hasta el final del estro (Machaty *et al.*,

2012). El uso generalizado de la IA ha impulsado el desarrollo de programas que permiten la sincronización del estro y la ovulación para realizar IA en un momento determinado, estos programas son conocidos como programas de inseminación artificial a tiempo fijo o IATF (Bertolini y Bertolini, 2009). El objetivo de los programas IATF consiste en colocar sincrónicamente a un grupo de hembras en la etapa de estro, facilitando la técnica IA en un momento específico del programa. Básicamente los programas IATF se basan en tres principios fisiológicos: 1) Promover el desarrollo de una fase folicular, 2) Controlar la duración de la fase luteal, y 3) Inducir la ovulación (Islam, 2011). Dichos principios pueden lograrse mediante el uso de productos farmacéuticos disponibles en el mercado que simulan la actividad hormonal que regula la función ovárica normal en el ganado (Moore y Thatcher, 2006); en este sentido, las combinaciones basadas en estradiol y progesterona para sincronizar el estro en ganado de carne han sido los más populares en los últimos años (Bó *et al.*, 2013). Dichas combinaciones se basan en la inserción intravaginal de un dispositivo liberador de progesterona más la inyección de una de las distintas variedades de estradiol, ya sea benzoato de estradiol o 17 $\beta$ -estradiol (inducir fase folicular) el día 0, seguido del retiro del dispositivo intravaginal de progesterona más una inyección de PGF2- $\alpha$  (inducir luteolisis) y una inyección de cipionato de estradiol (inducir ovulación) el día 7. Además, se ha reportado la adición de gonadotropina coriónica equina (eCG) el día 7 del protocolo a vacas que están lactando a su cría y que presentan una baja condición corporal (inducir crecimiento folicular). Estos protocolos presentan tasas de concepción que oscilan alrededor del 50% después de la inseminación artificial (Bó *et al.*, 2016).

#### **2.4.2 Superovulación y transferencia de embriones *in vivo***

La combinación de la superovulación con la transferencia de embriones *in vivo* (MOET), es una técnica reproductiva de segunda generación (Bertolini y Bertolini, 2009), disponible a nivel comercial desde principios de la década de 1980 (Moore y Thatcher, 2006), que permite la producción múltiple de prole a partir de hembras genéticamente superiores (Baruselli *et al.*, 2006). Básicamente, la técnica MOET consiste en la superovulación e inseminación artificial de hembras donantes, con la

posterior recolección y transferencia de embriones al útero de hembras receptoras mediante un método de deposición transcervical (Rodríguez-Martínez, 2012). Aunque una variedad de protocolos MOET han sido probados, estos se han simplificado a la inserción de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona más la inyección de benzoato de estradiol y progesterona (inducir fase folicular) el día 0, seguido de inyecciones (dos veces al día durante cuatro días) de dosis decrecientes de FSH (inducir superestimulación ovárica) a partir del día 4, posteriormente se inyecta PGF2- $\alpha$  (inducir luteolisis) el día 6, luego se retiran los dispositivos intravaginales de progesterona coincidiendo con la última inyección de FSH el día 7, después se inyecta LH (inducir ovulación) el día 8 y se continúa con la IATF entre las 12 y 24 h posteriores a la inyección de LH, para finalizar se realiza la recolección y transferencia de embriones a hembras receptoras por métodos no quirúrgicos el día 15 (Baruselli *et al.*, 2006). La técnica MOET es una buena forma de comercializar material genético en las producciones ganaderas, sin embargo, las altas tasas (20-30%) de donantes que no responden al tratamiento superovulatorio, la variabilidad en la producción de embriones (4 a 8 por vaca) en vacas donantes y las bajas tasas de concepción (50 a 60%) en hembras receptoras después de la transferencia embrionaria son factores que limitan su aplicación en la producción ganadera (Velazquez, 2008).

#### **2.4.3 Producción de embriones *in vitro***

La producción de embriones *in vitro* (PIV) es una técnica reproductiva de tercera generación (Bertolini y Bertolini, 2009), que tomó auge a finales de la década de 1980 con el nacimiento del primer becerro producido por este método (Moore y Thatcher, 2006). Esta técnica dio una nueva alternativa para superar la infertilidad reportada en hembras genéticamente superiores tras la técnica IATF y MOET (Machaty *et al.*, 2012). La técnica PIV consta de cuatro pasos bien definidos, que consisten en la recuperación de ovocitos de hembras donantes mediante aspiración folicular guiada por ultrasonido (OPU), maduración *in vitro* de ovocitos (MIV), fertilización *in vitro* de ovocitos (FIV) y cultivo de embriones *in vitro* (CIV) para la transferencia a hembras receptoras (Penitente-Filho, 2015). Se ha reportado que las

tasas de concepción de embriones producidos mediante PIV se reduce comparado con las técnicas IATF y MOET, con porcentajes que van del 30% al 40% tras la transferencia embrionaria (Moore y Thatcher, 2006). A pesar de las mejoras en los procedimientos de maduración, fertilización y cultivo embrionario, la técnica PIV aún requiere su refinamiento (Stroebech *et al.*, 2015). Se ha reportado becerros más pesados al nacer, mayor periodo de gestación, mayor incidencia de abortos, mortalidad perinatal y anomalías congénitas en preñeces logradas a partir de PIV (Penitente-Filho, 2015). Además, los altos costos relacionados con la técnica PIV hacen que tenga poca aplicación en producciones ganaderas enfocadas a la cría de ganado, especialmente en países en desarrollo (Rodríguez-Martínez, 2012).

Aunque las distintas TRA han tenido un notable progreso con los años, la sincronización del estro combinada con la inseminación artificial sigue siendo la técnica más destacada comercialmente en la actualidad (Rodríguez-Martínez, 2012). Sin embargo, su aplicación en las unidades de producción de ganado de carne en México es relativamente baja, donde tan solo el 9.1% y 4.6% de las producciones implementan las técnicas de sincronización del estro e inseminación artificial, respectivamente (Lassala *et al.*, 2020).

## **2.5 Factores relacionados con la reproducción en bovinos de carne**

El reinicio de la actividad ovárica durante el periodo posparto es el principal evento necesario para restablecer la función reproductiva bovina (Garverick y Smith, 1993). Los mecanismos asociados con la adquisición de la actividad ovárica y la función reproductiva en el periodo posparto resultan de la activación funcional del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico, sin embargo, tal evento comúnmente se retrasa ocasionando un estado de anestro posparto en el ganado (Hess *et al.*, 2005). Varios factores se han relacionado con la activación del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico y, por tanto, con la extensión del anestro posparto en ganado de carne (Montiel y Ahuja, 2005). Entre otros, la lactancia y la nutrición se consideran los factores más importantes implicados en la activación de dicho eje (Córdova-Izquierdo, 2016), por lo tanto, tienen la capacidad de reducir la eficiencia reproductiva de hembras sometidas a programas de IATF (Yavas y Walton, 2000).

### **2.5.1 Efectos de la lactancia**

Los efectos de la lactancia sobre la reproducción en ganado bovino de carne han sido claramente establecidos. El proceso fisiológico de lactancia aumenta la incidencia de anestro durante el periodo posparto como resultado del retraso de la activación ovárica (Orihuela y Galina, 2019). El anestro posparto producido por la lactancia en vacas de carne está dado por un efecto inhibitorio del patrón pulsátil de secreción de hormona LH en la hipófisis, a partir del bloqueo funcional de neuronas generadoras de GnRH en el hipotálamo; dicho efecto es mediado por el vínculo materno formado entre la vaca y su cría durante la lactancia (Crowe, 2008). La secreción de hormona LH en forma de pulsos desde la hipófisis es necesaria para la maduración final del folículo dominante y la ovulación del mismo, por lo tanto, su inhibición promueve la presencia de folículos dominantes más pequeños incapaces de adquirir la capacidad ovulatoria (Yavas y Walton, 2000). Un estado anovulatorio afecta la eficiencia reproductiva en vacas de carne sometidas a programas de IATF, reflejando sus efectos en bajas tasas de concepción tras la inseminación artificial (Wiltbank *et al.*, 2002). Se han desarrollado distintas estrategias de separación entre vacas y crías y sobre destete en busca de eliminar los efectos negativos de la lactancia sobre la actividad ovárica en vacas de carne. La restricción de la lactancia, el destete temporal y el destete precoz son las técnicas más comúnmente utilizadas para restablecer la función reproductiva posparto. A pesar de los beneficios sobre la actividad reproductiva de las vacas, las distintas estrategias mencionadas afectan el bienestar del ganado debido al estrés generado durante la separación de la madre y su cría (Orihuela y Galina, 2019).

El descubrimiento de la hormona eCG brindó una alternativa para mejorar la eficiencia reproductiva de vacas de carne lactantes sometidas a programas IATF (Baruselli *et al.*, 2004). Esta hormona es una glucoproteína sintetizada por las capas endometriales de yeguas preñadas entre los 40 y 150 días de gestación, que ha demostrado tener una función similar a las gonadotropinas hipofisarias FSH y LH cuando es aplicada en bovinos (Murphy y Martinuk, 1991). Su aplicación busca reestablecer el aporte de gonadotropinas para mejorar las tasas de concepción en vacas de carne amamantando sin la necesidad de ser separadas de sus crías,

manejo que reduce los efectos negativos que los métodos de separación y destete conllevan (Baruselli *et al.*, 2004). Recientemente se diseñó un experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de hormona eCG sobre la tasa de concepción en vacas de carne lactando; los autores reportaron tasas de concepción de 38.9% y 55.1% para los grupos testigo y tratados respectivamente (Baruselli *et al.*, 2003). Debido a los efectos que brinda la adición de hormona eCG a programas IATF, se ha establecido su uso para reemplazar los métodos tradicionales de separación y destete entre madre y cría establecidos por Orihuela y Galina (2019).

### **2.5.2 Efectos de la nutrición**

Hace algunos años fue establecida una estrecha relación entre nutrición y reproducción en animales domésticos (Hostetler *et al.*, 2003). El vínculo encontrado despertó gran interés por su estudio debido al fuerte impacto generado en los sistemas de producción animal (Amin, 2014). La nutrición es un importante modulador de funciones biológicas, por lo tanto, es capaz de regular distintos procesos fisiológicos como la función reproductiva (Maas, 1987). Particularmente se ha informado que la nutrición se relaciona con aspectos como la pubertad, ciclo estral, fecundación, preñez, parto y posparto (Córdova-Izquierdo, 2016). Por sus efectos en la reproducción, las explotaciones enfocadas a la cría de ganado bovino han enfatizado en desarrollar programas de alimentación que permitan al ganado cumplir con sus requerimientos nutricionales (Hess *et al.*, 2005). Dichos programas deben proporcionar nutrientes esenciales en cantidades adecuadas y en formas que sean biológicamente más útiles (Yaso thai, 2014). Una buena nutrición se conforma por el aporte adecuado de energía, proteína, vitaminas y minerales en la dieta (Bindari *et al.*, 2013). Mientras que niveles adecuados de nutrientes mantienen una correcta función reproductiva, el aporte insuficiente de los mismos puede deteriorarla en gran medida (Olson *et al.*, 1999). El impacto sobre la reproducción difiere dependiendo del tipo de nutriente deficiente en la dieta, y por lo regular más de un nutriente son deficientes en la alimentación que se brinda al ganado bovino (Amin, 2014). Los efectos de la nutrición sobre la reproducción en el ganado están fuertemente influenciados por el balance energético del organismo (Wettemann *et al.*,

2003). Por lo tanto, la energía se considera el principal componente requerido en la dieta para un óptimo desempeño reproductivo (Boland *et al.*, 2001). En acuerdo a lo anterior, un estudio realizado en ganado de carne reportó al final de una temporada reproductiva tasas de concepción generales de 68% y 92% en vacas que fueron alimentadas con niveles bajos y altos de energía en una dieta de mantenimiento, respectivamente (Richards *et al.*, 1986). El control fisiológico que el estado energético ejerce sobre la reproducción aún no es claro, pero se cree que es mediado por varias señales metabólicas y endocrinas que interactúan con el eje hipotálamo-hipófisis-ovárico (Hess *et al.*, 2005). Los niveles circulantes de glucosa, ácidos grasos, insulina, hormona del crecimiento (GH), factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I), leptina y grelina son señales que desempeñan un papel clave en la función del eje reproductivo en el ganado (Chagas *et al.*, 2007). Dichas señales actúan sistémicamente en tres sitios distintos: 1) Hipotálamo: a través del control de la síntesis y liberación de GnRH; 2) Hipófisis: a través del control de la síntesis y liberación de LH; y 3) Ovario; a través de la regulación del crecimiento folicular y síntesis de estradiol y progesterona (Diskin *et al.*, 2003).

El ganado bovino también requiere proteínas en la dieta como fuente de aminoácidos esenciales y nitrógeno, que son absorbidos desde el rumen para utilizarse como sustrato en diferentes procesos fisiológicos como la reproducción (Boland *et al.*, 2001). La ingesta deficiente y excesiva de proteínas, aunque menos importante que la energía, también contribuyen a la infertilidad y al bajo rendimiento reproductivo del ganado (Amin, 2014). Las deficiencias de proteínas se han asociado con un bajo rendimiento reproductivo en ganado bovino (Bindari *et al.*, 2013). En este sentido, un estudio llevado a cabo en vacas de carne informó que la alimentación con una dieta deficiente de proteínas afectó la tasa de expresión del estro, tasa de concepción al primer servicio y tasa de concepción general (Sasser *et al.*, 1988). Además, las deficiencias de proteínas producen una disminución de la ingesta de alimento, lo cual exacerba aún más los efectos negativos sobre la reproducción (Maas, 1987). En contraste, se informó que vacas alimentadas con altos niveles de proteína (17% a 19%) en la dieta tienen una reproducción comprometida, como resultado del aumento de las concentraciones de urea y amoníaco, tanto en sangre

como fluidos uterinos, que afectan la viabilidad de espermatozoides, ovocitos y embriones (Cordova-Izquierdo, 2016). Debido a que los eventos reproductivos son sensibles a los cambios en la disponibilidad de energía y proteína en la dieta, es recomendable gestionar su uso en la alimentación de hembras bovinas destinadas a reproducción (Meikle *et al.*, 2018), además, se ha sugerido no subestimar el papel que desempeñan el resto de los nutrientes en dichas funciones, tal es el caso de las vitaminas y los minerales (Maas, 1987).

## **2.6 Relación de los minerales con la reproducción en bovinos de carne**

Además de la energía y las proteínas, los minerales representan un componente importante para la óptima función reproductiva del ganado bovino (Balamurugan *et al.*, 2017). Los minerales son compuestos inorgánicos presentes en los tejidos de animales en proporciones muy variables (Underwood y Suttle, 1999). Debido a su naturaleza inorgánica, los minerales no pueden sintetizarse en el organismo animal, por lo tanto, su obtención a través de la alimentación resulta indispensable (McDowell, 2003). Balamurugan *et al.* (2017) señala que alrededor de catorce minerales se consideran esenciales para el ganado bovino, y que, de acuerdo a sus requerimientos en la dieta, se clasifican como macro y micro minerales. Los macro minerales como calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg), potasio (K), sodio (Na), cloro (Cl) y azufre (S) son compuestos requeridos en la dieta en cantidades mayores a 100 ppm, mientras que los micro minerales como cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (H), manganeso (Mn), selenio (Se), yodo (I) y zinc (Zn) se requieren en cantidades menores a 100 ppm (Ojha *et al.*, 2018). El aporte adecuado de minerales promueve una óptima función reproductiva, mientras que las deficiencias, desbalances y excesos de los mismos pueden causar trastornos reproductivos severos (Sharma *et al.*, 2007). Aunque todos los minerales son importantes para ciertas funciones del organismo, solo algunos se consideran de particular importancia para la reproducción del ganado (Ceylan *et al.*, 2008). Los macro minerales como el P, K y Mg (Jacobson, 1972) y, micro minerales como el Cu y Se son de importancia para la correcta función reproductiva del ganado bovino (Yasothai, 2014).

### 2.6.1 Fósforo

Después del Ca, el P es el segundo mineral más abundante en el cuerpo de los animales, con alrededor del 80% presente en huesos y dientes como componente estructural, mientras que el 20% restante se encuentra libre en fluidos y tejido corporales donde cumple otras funciones esenciales (Underwood y Suttle, 1999). El P está involucrado con el crecimiento, la diferenciación celular, forma parte estructural de ácidos nucleicos, ADN y ARN, y se asocia con lípidos para formar los fosfolípidos que son componentes de las membranas celulares (Macedo *et al.*, 2016). Además, el P está implicado en el metabolismo energético celular, por lo tanto, es necesario para todos los procesos fisiológicos dependientes de energía, como la reproducción (Suttle, 2010). Se ha informado que rebaños que se alimentan con pastos deficientes en P tienen una reproducción deteriorada (Karn, 2001). Las deficiencias de P en ganado bovino se relacionan con retraso de la pubertad, estros irregulares, anestro y bajas tasas de concepción (Ahuja y Parmar, 2017). Un estudio realizado con ganado bovino reportó concentraciones séricas de P más bajas en vacas que repiten ciclo (5.19 mg/dL) y vacas en anestro (4.50 mg/dL), comparadas con vacas sanas que no presentan trastornos reproductivos (6.30 mg/dL); dicho estudio sugiere que la incidencia de estos trastornos puede estar mediada por alteraciones del patrón de desarrollo folicular ovárico durante el ciclo estral como resultado de bajas reservas fisiológicas de este mineral (Ceylan *et al.*, 2008). Otro estudio similar reportó concentraciones séricas de P y tasas de concepción más bajas en vacas que recibieron solo el 70-80% de sus requerimientos de P en la dieta, lo cual fue revertido cuando se brindó a las vacas la cantidad adecuada de este mineral; del mismo modo este estudio sugiere que los efectos sobre la tasa de concepción de las vacas pueden estar relacionados con la disminución de la actividad ovárica tras una baja ingesta de P (Yasoithai, 2014). En acuerdo con estos dos estudios, Phiri *et al.* (2007) menciona que una baja fertilidad en bovinos deficientes de P está asociada con diferentes condiciones fisiológicas, entre las cuales el bajo desarrollo folicular de los ovarios resulta una de las más importantes a considerar. Por lo tanto, se recomienda establecer programas de adición de P al ganado bovino para mejorar su desempeño reproductivo (Ahuja y Parmar, 2017).

### **2.6.2 Potasio**

El K es el tercer mineral más abundante del cuerpo animal y el principal catión presente en el líquido intracelular (NRC, 2000). Representa alrededor del 75% del total de cationes dentro de la célula (McDowell, 2003). Sus principales funciones se relacionan con el mantenimiento del equilibrio ácido-base, regulación del equilibrio hídrico y osmótico, impulsos nerviosos, transmisión sináptica, reacciones enzimáticas y contracción muscular (NRC, 2000). Se ha informado que las deficiencias y excesos de K deterioran la función reproductiva normal en el ganado bovino, entre otros aspectos se menciona que las alteraciones de dicho mineral retrasan la pubertad, retrasan la ovulación, afectan el desarrollo del cuerpo lúteo, disminuyen la fertilidad y aumentan la incidencia de anestro en el ganado, sin embargo, no se han establecido con claridad los posibles mecanismos fisiológicos involucrados en dicho efecto (Yasothai, 2014). McDowell (2003) menciona que los efectos de los desbalances de K en bovinos pueden estar relacionados con alteraciones en la liberación de hormonas y desarrollo embrionario temprano. Otro informe menciona que el deterioro de los procesos reproductivos puede estar mediado por debilidad muscular del aparato reproductor tras una deficiencia de K en el ganado (Yasothai, 2014). Por otra parte, un estudio reciente sugiere que la composición mineral del líquido folicular juega un papel importante sobre función reproductiva de búfalas. Entre otros minerales se encontró que las concentraciones de K en el líquido folicular cambian significativamente durante las distintas fases de crecimiento del folículo, dichas concentraciones muestran una tendencia decreciente en relación al crecimiento del folículo. Los autores de este estudio mencionan que la disminución en la concentración del K en el líquido folicular durante las diferentes fases de crecimiento del folículo puede deberse a una mayor utilización de este mineral como sustrato en reacciones que intervienen tanto en el desarrollo del folículo como en la maduración del ovocito (Kalmath y Ravindra, 2007). Debido a sus efectos en la función reproductiva y la baja capacidad de almacenamiento en el organismo de la especie bovina, se debe implementar un suministro constante de K en la dieta de esta especie para mantener niveles fisiológicos adecuados (Lamar, 2013).

### 2.6.3 Magnesio

El Mg es el segundo catión más abundante (después del K) en los líquidos intracelulares (McDowell, 2003). Se distribuye en proporciones variables en los distintos compartimentos del cuerpo, donde cumple funciones estructurales, fisiológicas y enzimáticas (NRC, 2000). Al igual que el Ca y el P, el Mg forma parte estructural de huesos y dientes donde se almacena alrededor del 60-70%, mientras el resto se distribuye en el líquido intracelular y extracelular, donde participa principalmente como activador de sistemas enzimáticos del metabolismo intermedio necesarios para la formación de energía, tales como la glucólisis, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa (McDowell, 2003). Además, se ha reportado que el Mg está involucrado en la contracción muscular y la transmisión de impulsos nerviosos (Underwood y Suttle, 1999). Las deficiencias de Mg se relacionan con la respuesta inmune deprimida, anemia e infertilidad (Ingraham *et al.*, 1987). Se ha sugerido un papel reproductivo del Mg en bovinos, ya que fue reportada una reducción del intervalo entre partos de 394 días a 373 días y una reducción de los servicios por concepción de 1.94 a 1.54 en vacas adicionadas con este mineral (Dugmore *et al.*, 1987). Otro estudio similar reportó una mejora en la tasa de concepción en vacas lecheras que fueron alimentadas con un suplemento mineral que contenía Mg, con porcentajes del 57% y 33% para los grupos tratado y control respectivamente (Ingraham *et al.*, 1987). Del mismo modo, un estudio llevado a cabo en búfalas menciona que la concentración de Mg del líquido folicular puede estar relacionada con la mejora de la fertilidad de esta especie. Aunque este estudio no describe el papel reproductivo del Mg y los mecanismos fisiológicos involucrados en la mejora de la fertilidad de búfalas, los autores sugieren que las concentraciones de Mg del líquido folicular podrían estar involucradas en el desarrollo del folículo a través un estímulo directo sobre la proliferación de células foliculares (Kalmath y Ravindra, 2007). Por otra parte, un estudio en vacas demostró que las bajas concentraciones séricas de Mg están asociadas con un estado anovulatorio en ganado bovino, en este sentido los autores sugieren que las deficiencias de este mineral pueden estar afectado los mecanismos hormonales y enzimáticos necesarios que se requieren para que se lleve a cabo la ovulación normal del ganado (Das *et al.*, 2009).

#### 2.6.4 Cobre

El Cu es un micro mineral necesario para que los organismos vivos funcionen normalmente (Michaluk y Kochman, 2007). Se considera esencial para la actividad de numerosas enzimas, cofactores y proteínas fisiológicamente importantes, que participan en procesos como la respiración celular, defensa antioxidante y transporte del hierro (Suttle, 2010). Debido al papel del Cu en dichos eventos, la deficiencia de este mineral se ha relacionado con una disminución del crecimiento, baja inmunidad y reproducción deteriorada (Brasche, 2015). La privación de cobre en rumiantes se ha asociado con una amplia gama de problemas clínicos, entre los cuales se menciona la infertilidad (Underwood y Suttle, 1999). En este sentido, las deficiencias de Cu en bovinos se han asociado con estro retrasado o deprimido, muerte embrionaria temprana, retención de placenta, baja fertilidad, anestro y baja tasa de concepción (Balamurugan *et al.*, 2017). Un estudio llevado a cabo en ganado bovino reporto los efectos que el Cu ejerce sobre la función reproductiva, donde las vacas con concentraciones de Cu en suero más altas tuvieron menos días hasta el primer servicio (56 y 70 d), menos días hasta la concepción (58 y 183 d) y menos servicios por concepción (1.1 y 4.4), comparadas con las vacas que tuvieron concentraciones de Cu en suero más bajas (Kappel *et al.*, 1984). Otro estudio reveló que las concentraciones de Cu en suero fueron más bajas en vacas que repiten ciclo (0.59 mg/L) y en anestro (0.65 mg/L), comparadas con vacas que no presentan estos trastornos (0.75 mg/dL), dicho estudio sugiere que cambios mínimos en las concentraciones de Cu en suero pueden predisponer al ganado a padecer dichos trastornos (Ceylan *et al.*, 2008). Aunque los resultados obtenidos al evaluar los efectos del Cu sobre la reproducción del ganado han sido consistentes, los mecanismos fisiológicos que intervienen en dicha respuesta no se conocen con exactitud. Una revisión de literatura reciente sugiere que los efectos del Cu sobre la reproducción pueden estar mediados por su efecto modulador en reacciones enzimáticas involucradas tanto en la síntesis y liberación de hormona GnRH en el hipotálamo, así como hormona LH en la hipófisis, que son necesarias para un adecuado desarrollo folicular y ovulación en el ganado bovino (Michaluk y Kochman, 2007).

### 2.6.5 Selenio

El Se es un micro mineral esencial para el ganado bovino (Mehdi y Dufrasne, 2016), ya que interviene en una variedad de reacciones bioquímicas que están involucradas con el sistema de defensa antioxidante, metabolismo hormonal y control redox en reacciones celulares entre otras (McDowell, 2003). Dichas reacciones son necesarias para mantener una adecuada salud, crecimiento y reproducción del ganado (Suttle, 2010). En su papel reproductivo, las deficiencias de Se en bovinos se han relacionado con estros silenciosos e irregulares, ovarios quísticos, muerte embrionaria temprana, abortos, retención de placenta, mastitis, metritis y bajas tasas de concepción (Ojha *et al.*, 2018). Un estudio llevado a cabo en vacas de carne informó que la adición de Se en animales deficientes en este mineral puede mejorar la función reproductiva, este estudio demostró que las vacas adicionadas con Se inyectable tuvieron más ovocitos fecundados después de la superovulación comparado con las vacas del grupo control (Weaver, 1987). Por otra parte, un estudio llevado a cabo en ganado bovino lechero informó una mejora en la tasa de concepción al primer servicio en vacas adicionadas con Se, los resultados indicaron tasas del 58% y 30% para las vacas de los grupos tratado y control respectivamente McClure *et al.*, 1986). Aunque los resultados de estos estudios fueron contundentes, los autores no proporcionan una explicación precisa de los mecanismos fisiológicos en los cuales interviene el selenio para mejorar la reproducción del ganado (McClure *et al.*, 1986). Una revisión de literatura publicada recientemente sugiere que el aumento de la fertilidad en vacas adicionadas con selenio se atribuye a una reducción de la muerte embrionaria durante el primer mes de gestación (Mehdi y Dufrasne, 2016). Otro reporte experimental sugiere que la disminución de la fertilidad en ganado deficiente en Se puede ser resultado del metabolismo anormal de hormonas tiroideas (Žust *et al.*, 1996). Un mecanismo adicional del Se sobre la reproducción fue descrito por Basini y Tamanini (2000), quienes reportaron que él Se actúa directamente sobre la foliculogenesis y estereidogenesis ovárica, ya que encontraron una mayor proliferación de células de la granulosa y síntesis de estrógenos en ovocitos bovinos tratados con Se durante su maduración *in vitro*.

### **2.6.6 Adición de minerales al ganado bovino**

El ganado bovino recibe minerales principalmente a través del alimento, sin embargo, las fuentes alimenticias a menudo no cumplen con las cantidades adecuadas que el ganado requiere (Stokes *et al.*, 2017). Dada la amplia deficiencia de minerales reportada en el ganado bovino (Davy *et al.*, 2018) y el indiscutible papel que desempeñan estos compuestos en la reproducción de dicha especie (Ceylan *et al.*, 2008), resulta necesario establecer programas de adición de minerales que permitan al ganado cubrir sus necesidades y volver más eficiente los sistemas de producción (Wilde, 2006). La adición de minerales al ganado es de particular importancia cuando se incrementan sus necesidades biológicas, tal como sucede durante la reproducción y la lactancia (Stokes *et al.*, 2017). Existen múltiples métodos para adicionar minerales al ganado bovino, el uso de minerales de libre elección, bloques de sal mineralizados y productos inyectables entre otros, son algunas opciones disponibles para los productores actualmente (Arthington *et al.*, 2014). El principal método utilizado para adicionar minerales al ganado de carne es el uso de mezclas orales de minerales de libre elección (Greene, 2000), sin embargo, la variación en la ingesta de minerales (Arthington y Swenson, 2004) y la interacción con otros minerales y componentes de la dieta dentro del tracto gastrointestinal asociados con este método, pueden afectar su biodisponibilidad (Stokes *et al.*, 2017). El uso alternativo de minerales inyectables ha sido una opción eficiente para adicionar minerales al ganado (Venegas *et al.*, 2004). Los minerales inyectables representan un método directo de adición mineral donde cada animal recibe una cantidad conocida de minerales por vía parenteral (Willmore *et al.*, 2015), evitando así la variabilidad asociada con la ingesta y las complejas interacciones ruminales con otros componentes de la dieta (Stokes *et al.*, 2017). Una vez inyectados los minerales en el animal, estos se distribuyen por todo el cuerpo y se incorporan a nivel celular según las necesidades fisiológicas, mientras el resto es transportado al hígado para su almacenamiento (Stokes *et al.*, 2018). Varios estudios han reportado los efectos de minerales inyectables sobre aspectos reproductivos en el ganado bovino. Recientemente se llevó a cabo un estudio en ganado de carne donde se evaluó el efecto de la adición de un producto mineral inyectable que contenía P, K,

Mg, Cu y Se durante un programa de IATF, sobre la tasa de concepción de vacas primíparas y multíparas lactantes, resultando en que la tasa de concepción fue mayor en las vacas del grupo tratado comparado con las vacas del grupo control (52% y 45% respectivamente). Este estudio concluye que es posible mejorar la tasa de concepción de vacas de carne lactantes mediante la adición de minerales inyectables durante un programa de IATF (Penteado *et al.*, 2017). Otro estudio similar reportó un aumento en la tasa de concepción en vaquillas y vacas primíparas de carne adicionadas durante un programa de IATF con un producto mineral inyectable que contenía P, K, Mg, Cu y Se, los porcentajes reportados fueron más altos en un 10% y 15% para vaquillas y vacas primíparas tratadas con minerales respectivamente, comparadas con las vacas de los grupos testigo que no recibieron minerales (Macedo *et al.*, 2016). Aunque varios estudios han reportado los efectos positivos de la adición de minerales sobre aspectos reproductivos del ganado bovino, es necesario dirigir investigaciones que permitan conocer los posibles mecanismos fisiológicos involucrados en dicha respuesta. Por lo tanto, se diseñó un estudio para evaluar el efecto de un producto mineral inyectable y diferentes dosis del mismo sobre respuestas reproductivas de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

### III. MATERIALES Y METODOS

El presente estudio constó de dos experimentos. En el primero se realizó un análisis retrospectivo de información referente a protocolos de sincronización del estro en los cuales se utilizó la adición de un suplemento mineral para mejorar la tasa de concepción. Mientras que el segundo, dados los resultados del primero, se condujo para probar dos dosis del suplemento mineral.

#### 3.1 Experimento 1

##### 3.1.1 Sitio de estudio

El experimento 1 (Exp. 1) tuvo una duración de cinco meses, desde diciembre de 2018 a mayo de 2019 (invierno-primavera). Se llevó a cabo en la recría El Rocío, ubicada en el Ejido Tlaxcala, valle de Mexicali, Baja California, en la región Noroeste de México. Las coordenadas geográficas del sitio son 32°28'01.1" de latitud norte y 115°08'05.3" de longitud oeste. El clima de la región es árido y seco, con temperaturas máximas registradas en verano de hasta 52° C y mínimas en invierno de -6° C. La precipitación promedio anual es de 86 mm, considerada escasa y se concentra principalmente en los meses de noviembre y diciembre (García, 1985).

##### 3.1.2 Animales y manejo

Se utilizaron 281 vacas de raza Angus, en estado lactante y con cría al pie durante el estudio. Las vacas tuvieron un rango de 1 a 4 lactancias ( $2.16 \pm 1.1$  lactancias); con promedio de  $66.8 \pm 49.2$  días posparto y peso vivo promedio de  $488.3 \pm 79.2$  kg. Se evaluó la condición corporal (CC) de cada animal y se obtuvieron calificaciones de entre 4 a 6 puntos, donde 1 significa emaciada y 9 obesa (Lowman *et al.*, 1976). Previo al inicio del experimento (día 0), a todas las vacas se les realizó un examen clínico de ovarios y útero. Los ovarios se evaluaron para detectar actividad folicular (presencia de folículos  $\geq 2$  mm), mientras que el útero se evaluó para medir el estado de involución uterina (tamaño y salud). Todas las vacas presentaron actividad folicular y se encontraron involucionadas del útero de acuerdo a los criterios utilizados. El examen clínico se realizó mediante ultrasonografía

transrectal de ovarios y útero usando un escáner de ultrasonido portátil en tiempo real (iScan, Draminski ®, Olsztyn, Polonia) equipado con transductor lineal de 7.5 MHz. Todos los manejos reproductivos fueron realizados por un solo médico veterinario experimentado.

### 3.1.3 Alojamiento y alimentación

Las vacas se alojaron en corrales con tubo de acero con dimensiones 50 x 30 m (1,500 m<sup>2</sup>); el área en corral fue alrededor de 20 m<sup>2</sup>/vaca; el espacio en comedero fue de 70 cm/vaca y el de sombra 7 m<sup>2</sup>/vaca, la cual se estableció a 4.5 m de altura y con orientación norte - sur. Los corrales contaban con bebederos automáticos para que las vacas tuvieran acceso a agua limpia y fresca durante todo el día. La alimentación se basó en una ración de mantenimiento que contenía ensilado de maíz, heno de avena y heno alfalfa, la cual se ofreció en alrededor del 3% de su peso vivo (15 kg/vaca/d). En el Cuadro 1 se muestra la composición de ingredientes de la ración ofrecida a las vacas durante este experimento. El total de la ración por vaca se ofreció en dos servidas al día, la primera por la mañana a las 6:00 h y la segunda por la tarde a las 14:00 h. Las servidas diarias se calcularon para brindar alrededor del 40% y 60% de la ración respectivamente. Antes, durante y después del experimento las vacas no tuvieron acceso a ninguna fuente de adición de minerales diferente a los tratamientos establecidos.

**Cuadro 1.** Composición de ingredientes de la ración ofrecida a vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (Exp. 1).

Ingrediente	Valor <sup>1</sup>	
	%	Kg
Silo de maíz	50	2,000
Heno de avena	40	1,600
Heno de alfalfa	10	400
Total	100	4,000

<sup>1</sup>Inclusión de ingredientes a la ración.

### 3.1.4 Tratamientos y diseño experimental

La vaca se consideró la unidad experimental del estudio, las cuales se asignaron a uno de dos tratamientos de manera aleatoria bajo un diseño completamente al azar, con el objetivo de evaluar el efecto de un suplemento mineral inyectable. Los tratamientos fueron: 1) Testigo (n=109); las vacas no recibieron minerales, y 2) Tratado (n=172); las vacas recibieron 10 ml de minerales (MIN; Fosfosan<sup>®</sup>, Virbac, México) el día 0 (Figura 1). El Cuadro 2 muestra los componentes químicos que contiene el producto mineral inyectable. Las inyecciones se aplicaron vía intramuscular (i.m.) en la región del cuello usando jeringas de 10 ml y agujas hipodérmicas calibre 18G x 1 ½' (una aguja por vaca).

**Cuadro 2.** Composición química del producto mineral (Fosfosan<sup>®</sup>) aplicado a vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

Componente	Cantidad <sup>2</sup>
Glicerofosfato de sodio 5.5 H <sub>2</sub> O	1.4
Fosfato monosódico 2 H <sub>2</sub> O	2.01
Cloruro de cobre 2 H <sub>2</sub> O	0.04
Cloruro de potasio	0.06
Cloruro de magnesio 6 H <sub>2</sub> O	0.25
Selenato de Sodio	0.024
Vehículo c.b.p. <sup>1</sup>	10 ml

<sup>1</sup>c.b.p. = Cantidad bastante para.

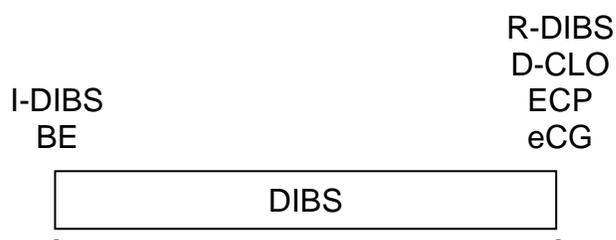
<sup>2</sup>Cantidad en gramos de componente.

### 3.1.5 Sincronización de la ovulación e inseminación artificial

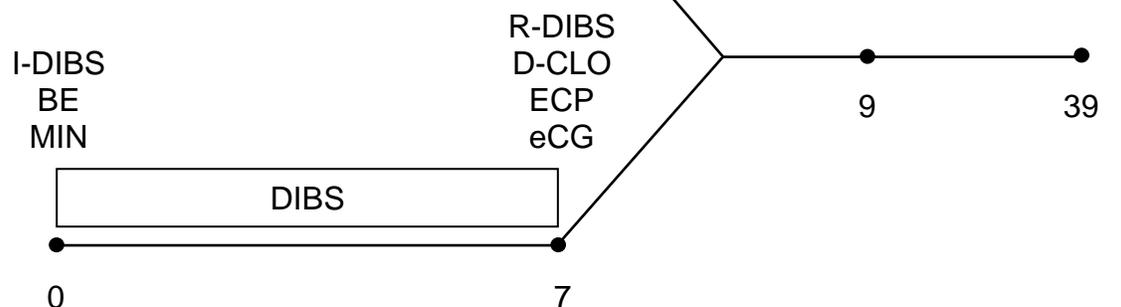
La ovulación en las vacas se sincronizó mediante un protocolo hormonal a base de progesterona y estradiol. El protocolo consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal impregnado de progesterona que contenía 1.0 g de progesterona (DIBS<sup>®</sup>, Virbac, México) más la inyección de 2 mg i.m. de benzoato de estradiol (BE; EstroActive<sup>®</sup>, Virbac, México) en el día 0 del protocolo (inicio del experimento). En el día 7 se retiraron los dispositivos de progesterona y se

inyectaron 0.5 mg i.m. de cipionato de estradiol (ECP; CipioActive<sup>®</sup>, Virbac, México) más 0.150 mg i.m. de D-Cloprostenol (D-CLO; InducelActive<sup>®</sup>, Virbac, México) y 400 UI i.m. de gonadotropina coriónica equina (eCG; Novormon<sup>®</sup> 5000, Virbac, México). En el día 9, a 48 h del retiro de DIBS, se realizó inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) usando semen congelado de toros de la raza Angus con fertilidad probada. Las inyecciones se aplicaron siguiendo la metodología descrita en párrafos anteriores (ver 3.1.4 Tratamientos y diseño experimental). La Figura 1 muestra el manejo reproductivo y tratamientos de las vacas durante el Exp. 1.

### 1) Testigo (n=109)



### 2) Tratado (n=172)



**Figura 1.** Protocolo de sincronización del estro y tratamientos de vacas Angus lactantes en el programa de IATF (Exp.1); I/R DIBS= Inserción/Retiro de Dispositivo Intravaginal Bovino Syntex (1.0 g/vaca); BE= Benzoato de estradiol (2 mg/vaca); D-CLO= D-Cloprostenol (0.150 mg/vaca); ECP= Cipionato de estradiol (0.5 mg/vaca); eCG= Gonadotropina coriónica equina (400 UI/vaca); MIN= Fosfosan (10 ml/vaca); IATF= Inseminación artificial a tiempo fijo (48 h después de retirar DIBS); DXC= Diagnóstico d concepción.

### **3.1.6 Diagnóstico de concepción**

El diagnóstico de preñez (DXC) se realizó a las vacas 30 d después de la IATF (Figura 1), mediante ultrasonografía transrectal del útero usando el mismo equipo de ultrasonido descrito en párrafos anteriores (ver 3.1.2 Animales y manejo).

### **3.1.7 Variables de estudio**

Las variables de estudio fueron: 1) Tasa de concepción; definida como el porcentaje de vacas preñadas del total que fueron inseminadas, medida a los 30 d de la IATF. El criterio utilizado para determinar la concepción fue la presencia de vesícula amniótica, observada mediante ultrasonografía de útero, 2) Tasa de expresión de estro; definida como el porcentaje de vacas que expresaron estro del total de vacas sincronizadas, medida al momento de la IATF. El criterio utilizado para medir celo fue la observación visual de moco cervical cristalino que emanaba de la vulva al momento de la IATF.

### **3.1.8 Análisis estadístico**

La variable tasa de concepción y tasa de expresión de estro fueron analizadas mediante prueba de independencia utilizando la distribución Ji-cuadrada a través del procedimiento PROC FREQ del programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Se declaró un nivel de significancia al 5% y se consideró tendencia a un nivel de significancia entre 5% y 10%.

## **3.2 Experimento 2**

### **3.2.1 Sitio de estudio**

El segundo experimento (Exp. 2) tuvo duración de cuatro meses, desde diciembre de 2018 a abril de 2019 (invierno-primavera), y se condujo en la misma zona de estudio. El experimento se llevó a cabo en una recría ubicada a 18 km de distancia del primer sitio experimental, ambas pertenecientes a la misma empresa, que se ubica en el Ejido Veracruz II, valle de Mexicali, Baja California. Las coordenadas geográficas del sitio son 32°24'23.6" latitud norte y 115°06'28.5"

longitud oeste. Las condiciones climáticas predominantes en este experimento son las mismas a las descritas en Exp. 1 (ver 3.1.1 Sitio de estudio).

### **3.2.2 Animales y manejos**

Se utilizaron 72 vacas de raza Angus, en estado lactante y con cría al pie durante el estudio. Las vacas tenían en promedio de 2 lactancias,  $74.5 \pm 19.1$  días posparto y peso vivo promedio de  $566.5 \pm 69.7$  kg. Se evaluó la CC de cada animal y se obtuvieron calificaciones entre 8 a 9 puntos ( $8.48 \pm 0.43$  puntos), donde 1 es emaciada y 9 es obesa (Lowman *et al.*, 1976). Previo al inicio del experimento (día 0), se realizó un examen clínico de ovarios y útero usando la metodología descrita en Exp. 1 (ver 3.1.2 Animales y manejo). Se encontró que todas las vacas presentaban actividad folicular y estaban involucionadas del útero, de acuerdo a los criterios utilizados. El examen clínico se realizó mediante ultrasonografía de ovarios y útero usando el mismo equipo de ultrasonido descrito en Exp. 1 (ver 3.1.2 Animales y manejo). Todos los manejos reproductivos fueron realizados por el mismo médico veterinario experimentado.

### **3.2.3 Alojamiento y alimentación**

Las vacas se alojaron en corrales con tubo de acero con dimensiones de 30 x 30 m ( $900 \text{ m}^2$ ); el área en corral fue de  $25 \text{ m}^2/\text{vaca}$ ; el espacio en comedero fue de  $83 \text{ cm}/\text{vaca}$  y de sombra fue de  $8 \text{ m}^2/\text{vaca}$ , la cual se estableció a 4.5 m de altura y con orientación norte - sur. Los corrales contaban con bebederos automáticos para que las vacas tuvieran acceso a agua limpia y fresca durante todo el día. La alimentación se basó en una ración de mantenimiento que contenía silo de maíz, zacate sudan y heno de alfalfa, la cual se ofreció en alrededor del 3% de su peso vivo ( $16 \text{ kg}/\text{vaca}/\text{día}$ ). En el Cuadro 3 se muestra la composición de ingredientes y nutrientes de la ración ofrecida a las vacas durante este experimento. La logística de servidas de alimentación diaria se realizó usando la metodología descrita en Exp. 1 (ver 3.1.3 Alojamiento y alimentación). Además, las vacas tampoco recibieron ninguna fuente adicional de minerales diferente a los tratamientos establecidos.

**Cuadro 3.** Composición de ingredientes y nutrientes de la ración ofrecida a vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (Exp. 2).

Componente	Valor <sup>1</sup>	
	%	kg
<b>Ingrediente</b>		
Silo de maíz	55	2,200
Zacate sudan	40	1,600
Heno de alfalfa	5	200
Total	100	4,000
<b>Nutriente</b>		
MS	94.2	-
CE	12.5	-
MO	87.5	-
PC	13	-
EE	4.67	-
FDN	54.4	-
FDA	29.8	-

<sup>1</sup>Inclusión de ingredientes a la ración; MS= Materia seca; CE= Cenizas; MO= Materia orgánica; PC= Proteína cruda; EE= Extracto etéreo; FDN= Fibra detergente neutro; FDA= Fibra detergente ácido.

### 3.2.4 Tratamientos y diseño experimental

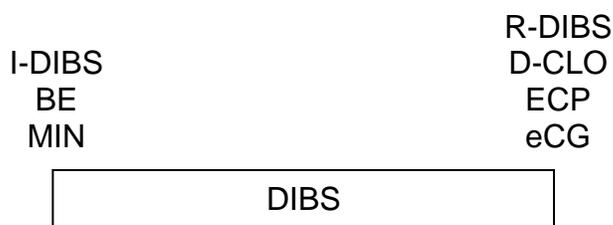
La vaca se consideró la unidad experimental del estudio, las cuales se asignaron a uno de dos tratamientos de manera aleatoria bajo un diseño completamente al azar, con el objetivo de evaluar el efecto de distintas dosis de un suplemento mineral inyectable (Fosfosan<sup>®</sup>, Virbac, México). Los tratamientos fueron: 1) Una dosis (n =36); las vacas recibieron 10 ml de minerales el día 0, y 2) Dos dosis (n = 36); las vacas recibieron 10 ml de minerales los días 0 y 7 (Figura 2). El Cuadro 2 muestra los componentes químicos que contiene el producto mineral inyectable. Todas las inyecciones se aplicaron siguiendo la metodología descrita en Exp. 1 (ver

el punto 3.1.4 de tratamientos y diseño experimental).

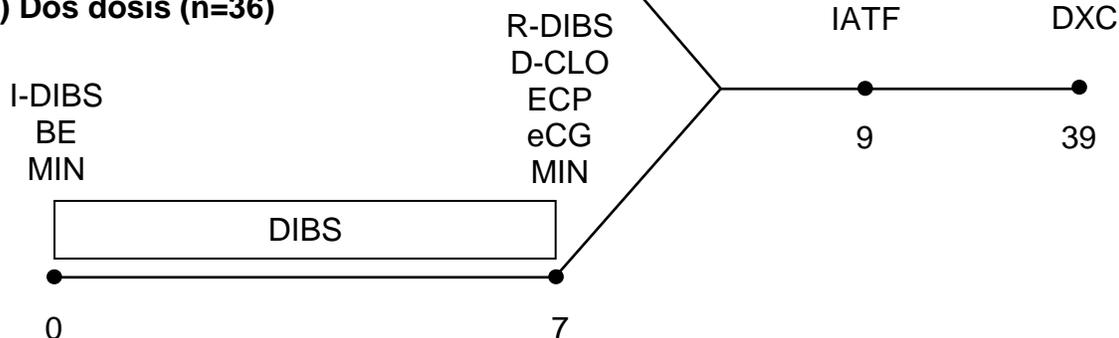
### 3.2.5 Sincronización de la ovulación e inseminación artificial

La ovulación se sincronizó en las vacas mediante el mismo protocolo hormonal utilizado en el Exp. 1 (ver 3.1.5 Sincronización del estro e inseminación artificial). La Figura 2 muestra el manejo reproductivo y tratamientos de las vacas durante el Exp. 2.

#### 1) Una dosis (n=36)



#### 2) Dos dosis (n=36)



**Figura 2.** Protocolo de sincronización del estro y tratamientos de vacas Angus lactantes en el programa de IATF (Exp. 2); I/R DIBS= Inserción/Retiro de Dispositivo Intravaginal Bovino Syntex (1.0 g/vaca); BE= Benzoato de estradiol (2 mg/vaca); D-CLO= D-Cloprostenol (0.150 mg/vaca); ECP= Cipionato de estradiol (0.5 mg/vaca); eCG= Gonadotropina coriónica equina (400 UI/vaca); MIN= Fosfosan (10 ml/vaca); IATF= Inseminación artificial a tiempo fijo (48 h después de retirar DIBS); DXC= Diagnostico de concepción.

### **3.2.6 Diagnostico de concepción**

El diagnostico de concepción (DXC) se realizó a las vacas 30 d después de la IATF (Figura 2), mediante ultrasonografía transrectal del útero usando el mismo equipo de ultrasonido descrito en el Exp. 1 (ver 3.1.2 Animales y manejo).

### **3.2.7 Ultrasonografía ovárica y muestras de sangre**

Adicionalmente, previo al inicio del experimento, se seleccionó una muestra de 8 vacas ( $n = 4$  por tratamiento) de manera aleatoria, con el objetivo de realizar ultrasonografía ovárica y coleccionar muestras de sangre de las mismas. La ultrasonografía se utilizó para evaluar la actividad ovárica, mientras que las muestras de sangre se utilizaron para medir la concentración sérica de minerales y progesterona durante el experimento.

#### **3.2.7.1 Actividad ovárica**

Se realizaron sesiones de ultrasonografía ovárica con el objetivo de evaluar la actividad ovárica de las vacas durante el experimento. Los ultrasonidos se realizaron los días 0, 1, 3, 5 y 7 (desde la inserción hasta el retiro del DIBS). Durante cada ultrasonido se evaluó la actividad folicular de las vacas mediante escaneo directo de ambos ovarios, tomando conteos y mediciones del total de folículos presentes. La actividad folicular se evaluó antes (día 0) y después de la adición de minerales en cada grupo de tratamiento. Adicionalmente, el día 0 se evaluó la presencia o ausencia de cuerpo lúteo para determinar si las vacas estaban ciclando antes de iniciar el experimento (presencia=ciclando y ausencia=no ciclando). La ultrasonografía ovárica se realizó vía transrectal usando el mismo equipo de ultrasonido descrito en Exp. 1 (3.1.2 Animales y manejo).

#### **3.2.7.2 Análisis de minerales**

Con el objetivo de medir el estado mineral (potasio, fosforo y magnesio) de las vacas durante el experimento, se coleccionaron muestras de sangre (una por vaca) los días -10, 0, 9, 14, 19 y 31. Las concentraciones de potasio, fosforo y magnesio en suero se determinaron antes (día -10 y 0) y después (día 9, 14, 19 y 31) de la adición

de minerales en cada grupo de tratamiento. Las muestras fueron colectadas en tubos de 6 ml de tapa roja para obtención de suero (BD Vacutainer<sup>®</sup>, NJ, USA) mediante punción de la vena coccígea utilizando agujas de tomas múltiples calibre 18G x 1' (BD Vacutainer<sup>®</sup>, NJ, USA). Inmediatamente después de su colección las muestras se conservaron en refrigeración y se transportaron al Laboratorio de Fisiología Animal del Instituto de Ciencias Agrícolas, ubicado en el ejido Nuevo León, valle de Mexicali, Baja California, donde fueron centrifugadas a 3500 G durante 15 min a 10° C (Heraeus Megafuge 8R, Thermo Scientific<sup>™</sup>, Osterode am Harz, Alemania) para después recolectar el suero en viales de 2 ml y ser conservado en congelación a -4°C hasta su análisis.

### **3.2.7.3 Análisis de progesterona**

Se colectaron muestras de sangre (una por vaca) con el objetivo de medir el comportamiento de progesterona de las vacas durante el experimento. Las muestras se colectaron los días -10, 0, 7, 9, 14, 19, 24, 29 y 31. Las concentraciones de progesterona en suero se determinaron antes (día -10 y 0) y después (día 7, 9, 14, 19, 24, 29 y 31) de la adición de minerales en cada grupo de tratamiento. Las muestras del día -10 y 0 sirvieron para determinar si las vacas estaban ciclando antes de iniciar el experimento ( $\geq 1.0$  ng/ml). Las muestras de sangre fueron manejadas de la misma manera desde su colección hasta su análisis de acuerdo a la metodología descrita en párrafos anteriores (ver 3.2.7.2 Análisis de minerales).

### **3.2.8 Variables de estudio**

Las variables de estudio se dividieron en cuatro categorías: Tasa de concepción, actividad ovárica y concentración sérica de minerales y progesterona.

#### **3.2.8.1 Tasa de concepción**

Las variables de concepción fueron: 1) Tasa de concepción: definida como el porcentaje de vacas preñadas del total que fueron inseminadas. El criterio utilizado para determinar la concepción fue la presencia de vesícula amniótica observada mediante ultrasonografía del útero 30 d después de la IATF.

### **3.2.8.2 Actividad ovárica**

Las variables ováricas fueron: 1) Presencia de cuerpo lúteo, definida como el número de vacas con presencia de cuerpo lúteo detectado en la sesión de ultrasonido el día 0. 2) Emergencia onda folicular, definida como el tiempo (d) transcurrido desde el inicio de la sincronización hasta la emergencia de la onda folicular. Para su medición se usó como criterio la aparición de un número determinado de folículos  $\leq 5$  mm que no habían sido detectados en la sesión de ultrasonido previa. 3) Población folicular, definida como el total (número) de folículos  $\geq 2$  mm detectados mediante ultrasonido ovárico. 4) Tamaño folicular, definido como el tamaño (mm) promedio del total de folículos  $\geq 2$  mm detectados mediante ultrasonido ovárico. Para su medición se promediaron los diámetros vertical y horizontal de cada folículo detectado. 5) Folículos clase 1, definida como el total (número) de folículos  $\leq 5$  mm detectados mediante ultrasonido ovárico. 6) Folículos clase 2, definida como el total (número) de folículos entre 5 y 9 mm detectados mediante ultrasonido ovárico. 7) Folículos clase 3, definida como el total (número) de folículos entre 10 y 15 mm detectados mediante ultrasonido ovárico. 8) Folículos clase 4, definida como el total (número) de folículos  $> 15$  mm detectados mediante ultrasonido ovárico. Para la medición de cada clase de folículos (1, 2, 3 y 4) se tomaron conteos del total de folículos presentes entre las medidas correspondientes a cada clase. 9) Folículo dominante, definida como el tamaño (mm) promedio del folículo más grande detectado mediante ultrasonido ovárico el día 7. Para su medición se promediaron los diámetros vertical y horizontal de cada folículo detectado.

### **3.2.8.3 Concentración sérica de minerales**

Las variables minerales fueron: 1) Concentración de potasio (K), definida como la concentración (mg/dL) de potasio en suero. 2) Concentración de fósforo (P), definida como la concentración (mg/dL) de fósforo en suero. 3) Concentración de magnesio (Mg), definida como la concentración de magnesio (mg/dL) en suero.

#### **3.2.8.4 Concentración sérica de progesterona**

Las variables de progesterona fueron: 1) Concentración de progesterona ( $P_4$ ), definida como la concentración (ng/ml) de progesterona suero.

#### **3.2.9 Análisis estadístico**

La variable tasa de concepción fue analizada mediante prueba de independencia utilizando la distribución Ji-cuadrada a través del procedimiento PROC FREQ. Las variables ováricas fueron analizadas mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento PROC GLM. El modelo incluyó el efecto de tratamiento (Una dosis/Dos dosis) y como covariables los días posparto y condición corporal. En el caso de valores registrados como conteos (emergencia onda folicular, población folicular, folículos clase 1, 2, 3 y 4), no presentaron distribución normal, por lo que se utilizó la transformación raíz cuadrada para normalizar su distribución y reducir la variación; no obstante, los resultados se presentan en las unidades originales. Las variables sobre concentración de minerales y progesterona se sometieron a un análisis de varianza con mediciones repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento PROC MIXED. El modelo incluyó efecto de tratamiento (Una dosis/Dos dosis), tiempo (día de muestreo) y la interacción tratamiento  $\times$  tiempo. Vaca dentro de tratamiento se utilizó como variable aleatoria. Se probaron varias estructuras de covarianza para verificar la que mejor se ajustara al modelo. La estructura de covarianza Unstructured (UN) fue la que mejor ajuste mostró de acuerdo a los criterios Akaike y Bayesiano. Las medias y errores estándar fueron generadas mediante una prueba de medias utilizando el procedimiento LSMEANS/PDIFF. Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Se declaró un nivel de significancia al 5% y se consideró tendencia a un nivel de significancia entre 5 y 10%.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Experimento 1

#### 4.1.1 Tasa de concepción y expresión de estro

Los resultados obtenidos en la variable tasa de concepción y tasa de expresión de estro por efecto de la adición de minerales se presentan en el Cuadro 4. La adición de minerales durante el programa de inseminación artificial a tiempo fijo tuvo efecto ( $P = 0.0465$ ) sobre la tasa de concepción de vacas Angus lactantes, donde los porcentajes obtenidos fueron de 66.86% y 55.05% para el grupo tratado y testigo respectivamente. Por otra parte, la adición de minerales durante el programa de inseminación artificial a tiempo fijo presentó una tendencia ( $P = 0.0543$ ) a aumentar la tasa de expresión de estro de vacas Angus lactantes con respecto al grupo testigo. Los resultados de ambas variables evidencian un aumento de alrededor del 12% en vacas suplementadas con minerales respecto a los grupos testigo.

**Cuadro 4.** Efecto de la adición mineral sobre la tasa de concepción y expresión de estro de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

Tratamiento	Tasa de concepción	Tasa de expresión de estro*
Testigo	55.05 (60/109) <sup>a</sup>	44.04 (48/109) <sup>a</sup>
Tratado	66.86 (115/172) <sup>b</sup>	55.81 (96/172) <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Porcentajes con distinta literal dentro de columnas difieren.

\*Esta diferencia se consideró tendencia.

Tasa de concepción ( $P = 0.0465$ ).

Tasa de expresión de estro ( $P = 0.0543$ )

## 4.2 Experimento 2

### 4.2.1 Tasa de concepción

Los resultados obtenidos en la variable tasa de concepción por efecto de la dosis de minerales adicionada se presentan en el Cuadro 5. La dosis de minerales adicionada durante el programa de inseminación artificial a tiempo fijo no tuvo efecto ( $P = 0.4793$ ) sobre la tasa de concepción de vacas Angus lactantes, siendo los porcentajes de 55.56% y 47.22% para los grupos tratados con una y dos dosis de minerales respectivamente.

**Cuadro 5.** Efecto de la dosis de minerales sobre la tasa de concepción de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

Tratamiento	Tasa de concepción
Una dosis	55.56 (20/36) <sup>a</sup>
Dos dosis	47.22 (17/36) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Porcentajes con la misma literal no difieren ( $P = 0.4793$ ).

### 4.2.2 Actividad ovárica

En el Cuadro 6 se resumen los resultados obtenidos en las variables ováricas por efecto de la dosis de minerales adicionada. El 50% de las vacas en cada grupo de tratamiento se encontraban ciclando según los criterios establecidos (presencia o ausencia de cuerpo lúteo). La dosis de minerales adicionada durante el programa de inseminación artificial a tiempo fijo tuvo efecto ( $P = 0.0367$ ) sobre el tamaño del folículo dominante de vacas Angus lactantes, siendo los tamaños obtenidos de 15.17 mm y 13.44 mm en vacas que recibieron una y dos dosis de minerales respectivamente. Sin embargo, no se encontró efecto ( $P > 0.05$ ) de la dosis de minerales para el resto de las variables ováricas medidas durante el estudio.

**Cuadro 6.** Efecto de la dosis de minerales sobre la actividad ovárica de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

	Tratamiento		E.E <sup>3</sup>	Valor de <i>P</i>
	Una dosis <sup>1</sup>	Dos dosis <sup>2</sup>		
No. de vacas	4	4	-	-
Presencia de CL				
No. de vacas	2	2	-	-
% de vacas	50	50	-	-
Emergencia onda folicular (d)	3.40	3.09	0.2037	0.3719
Población folicular (No.)	35.28	36.36	2.8619	0.7987
Tamaño folicular (mm)	4.49	4.55	0.2185	0.8494
Folículos clase 1 (No.)	28.69	27.85	3.1443	0.8562
Folículos clase 2 (No.)	5.98	8.19	0.9256	1.1178
Folículos clase 3 (No.)	1.40	1.59	0.1887	0.4819
Folículos clase 4 (No.)	1	1	-	-
Folículo dominante (mm)	15.17	13.44	0.3788	<b>0.0367</b>

<sup>1</sup>Inyección de 10 ml de minerales el día 0.

<sup>2</sup>Inyección de 10 ml de minerales los días 0 y 7.

<sup>3</sup>Error estándar.

#### 4.2.3 Concentración sérica de minerales

Los resultados de las concentraciones séricas de potasio, fosforo y magnesio por efecto de la dosis de minerales adicionada se presentan en el Cuadro 7 y Figura 3. La interacción dosis de minerales × día de muestreo no tuvo efecto sobre las concentraciones de potasio ( $P = 0.9267$ ), fosforo ( $P = 0.9386$ ) ni magnesio ( $P = 0.6187$ ) de las vacas. El efecto individual de la dosis de minerales tampoco tuvo efecto sobre las concentraciones potasio ( $P = 0.4136$ ), fósforo ( $P = 0.1370$ ), ni magnesio ( $P = 0.2099$ ). Sólo el efecto individual del día de muestreo resultó

significativo ( $P < 0.01$ ) sobre las concentraciones séricas de los 3 minerales analizados durante el estudio.

**Cuadro 7.** Efecto de la dosis de minerales sobre las concentraciones séricas de potasio, fosforo y magnesio de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

	Tratamiento (Tx)			Valor de P		
	Una dosis <sup>1</sup>	Dos dosis <sup>2</sup>	E.E. <sup>3</sup>	Tx	Tiempo	Tx x Tiempo
Potasio (mg/dL)	18.35	17.91	0.3597	0.4136	<b>&lt;0.0001</b>	0.9267
Fosforo (mg/dL)	5.86	5.39	0.2087	0.1370	<b>&lt;0.0001</b>	0.9386
Magnesio (mg/dL)	2.43	2.50	0.0382	0.2099	<b>0.0008</b>	0.6187

<sup>1</sup>Inyección de 10 ml de minerales el día 0.

<sup>2</sup>Inyección de 10 ml de minerales los días 0 y 7.

<sup>3</sup>Error estándar.

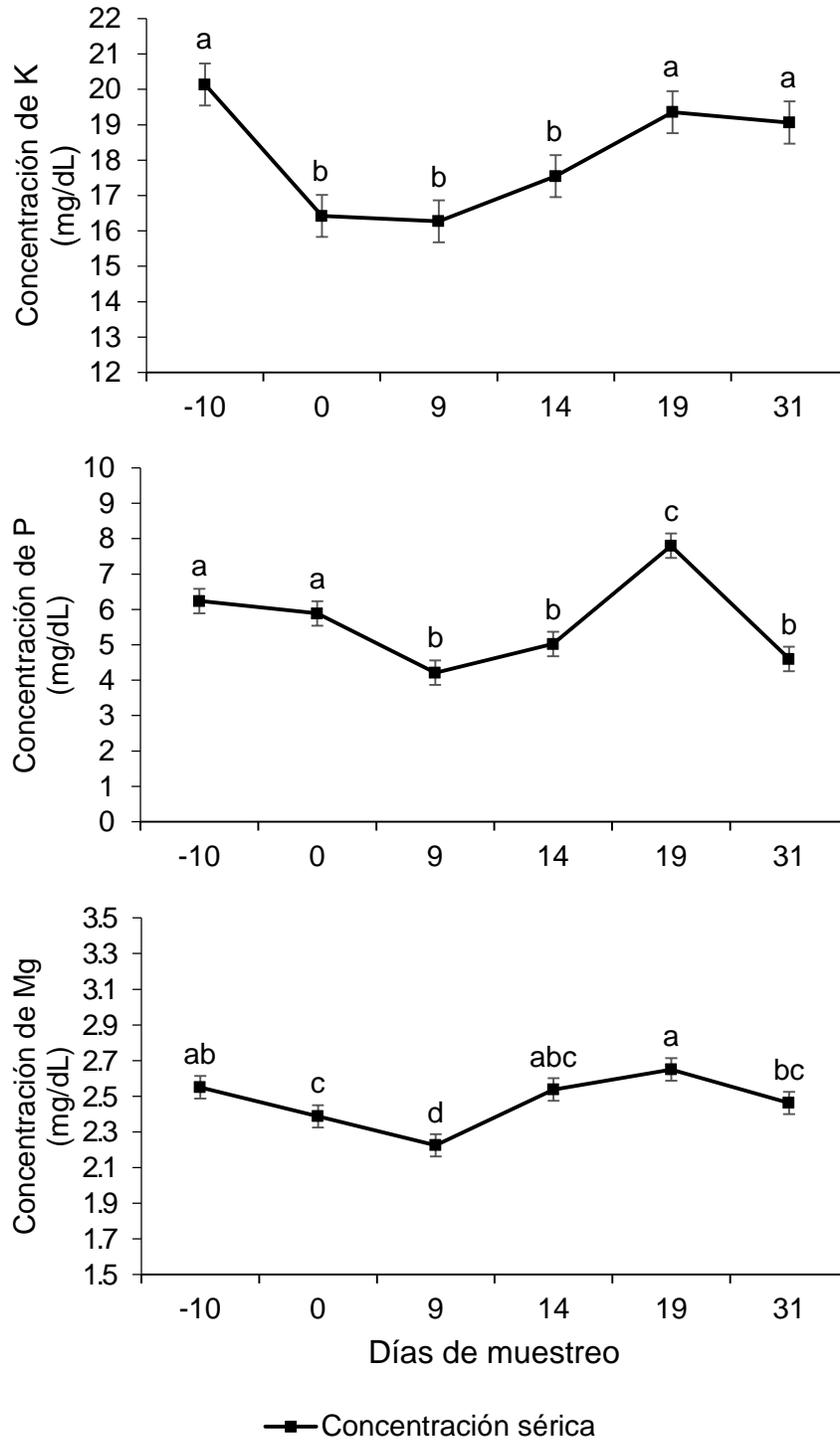


Figura 3. Efecto del día de muestreo sobre las concentraciones séricas medias ( $\pm$  E.E) de potasio (K), fosforo (P) y Magnesio (Mg) de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo. Hubo efecto de muestreo ( $P < 0.01$ ).

#### 4.2.4 Concentración sérica de progesterona

Los resultados de las concentraciones séricas de progesterona por efecto de la dosis de minerales adicionada se presentan en el Cuadro 8 y Figura 4. El efecto individual de la adición de una o dos dosis de minerales no tuvo efecto ( $P = 0.9889$ ) sobre las concentraciones de progesterona de vacas Angus lactantes. Del mismo modo la interacción de la dosis de minerales  $\times$  día de muestreo no tuvo efecto ( $P = 0.9036$ ) sobre las concentraciones de progesterona de las vacas. Por su parte el efecto individual del día de muestreo mostró efecto ( $P = 0.0082$ ) sobre las concentraciones de progesterona de las vacas durante el estudio.

**Cuadro 8.** Efecto de la dosis de minerales sobre las concentraciones séricas de progesterona de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

	Tratamiento (Tx)			Valor de P		
	Una dosis <sup>1</sup>	Dos dosis <sup>2</sup>	E.E <sup>3</sup>	Tx	Tiempo	Tx $\times$ Tiempo
Progesterona (ng/ml)	8.06	8.08	0.9232	0.9889	<b>0.0082</b>	0.9036

<sup>1</sup>Inyección de 10 ml de minerales el día 0.

<sup>2</sup>Inyección de 10 ml de minerales los días 0 y 7.

<sup>3</sup>Error estándar.

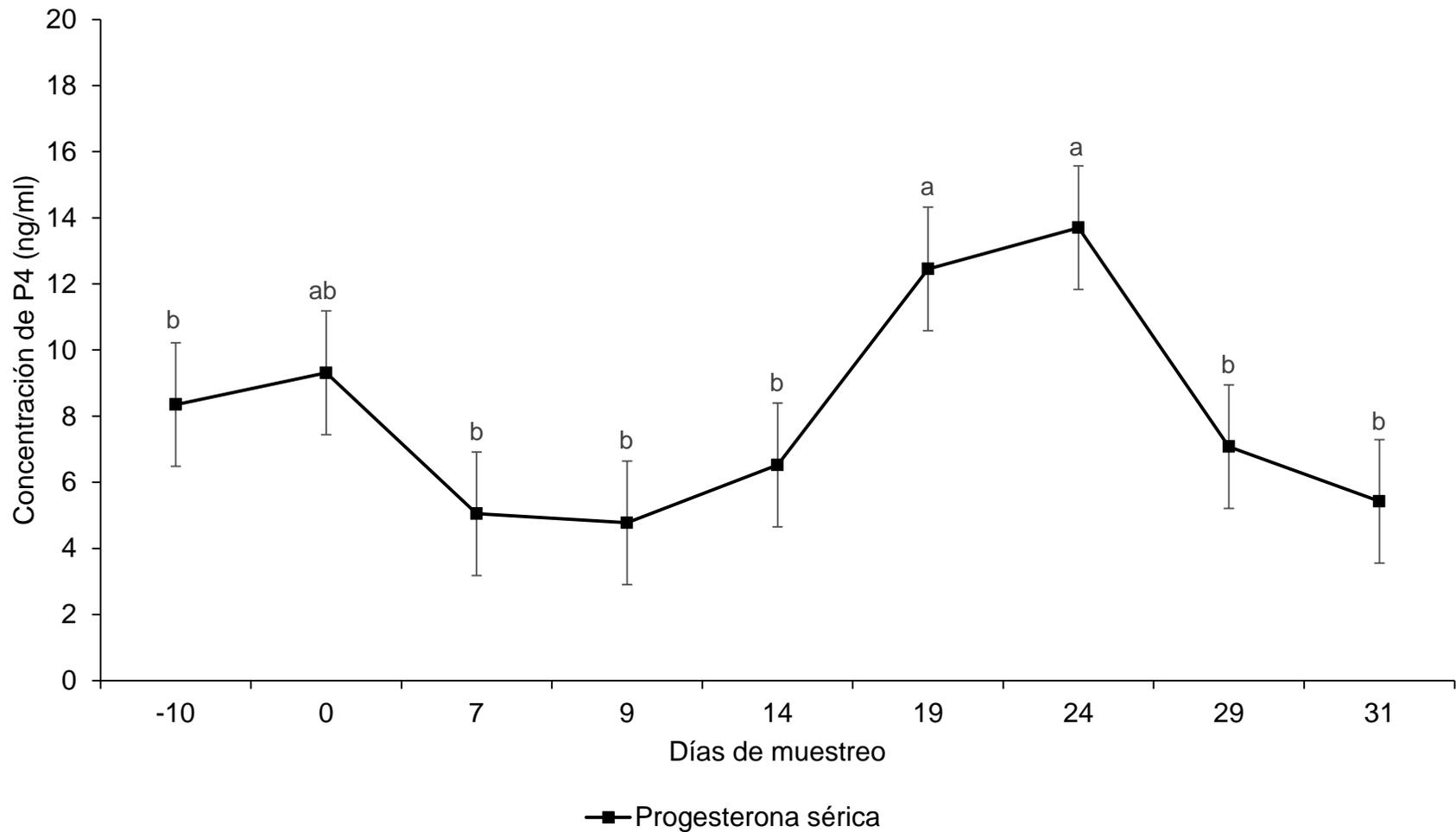


Figura 4. Efecto del día de muestreo sobre las concentraciones séricas medias ( $\pm$  E.E) de progesterona (P<sub>4</sub>) de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo. Hubo efecto de muestreo ( $P = 0.0082$ ).

<sup>ab</sup> Medias con distinta literal difieren.

## V. DISCUSIÓN

La eficiencia reproductiva es el factor clave para el éxito y rentabilidad de los sistemas de producción de vacas de carne que se orientan a producir becerros anualmente (Diskin y Kenny, 2016). Se ha postulado que múltiples factores se relacionan con la eficiencia reproductiva del ganado, y dentro ellos la nutrición mineral representa uno de los más importantes (Davy *et al.*, 2019). En este sentido, diferentes investigaciones y revisiones de literatura se han publicado en un esfuerzo por demostrar los efectos de estos compuestos sobre parámetros reproductivos del ganado (Arthington y Swenson, 2004; Balamurugan *et al.*, 2017). Particularmente, se han descrito los efectos que los minerales tienen sobre la tasa de concepción, actividad ovárica y síntesis de hormonas reproductivas (Ahuja y Parmar, 2017). Es crucial conocer los mecanismos fisiológicos exactos por los cuales los minerales mejoran el desempeño reproductivo en bovinos. Comprender dichos mecanismos permitirá plantear las bases para desarrollar programas de adición de minerales durante programas reproductivos de esta especie (Guirado-Dantas, 2018). En base a lo anterior, el presente estudio se diseñó para evaluar el efecto de un producto mineral inyectable y diferentes dosis del mismo sobre respuestas reproductivas de vacas Angus lactantes bajo un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

### 5.1 Tasa de concepción

El efecto de la adición de minerales sobre variables como la tasa de concepción en el ganado ha sido motivo de estudio en diferentes investigaciones (Willmore *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2017). Dicha variable expresa el número de vacas que se preñan respecto al número de vacas que fueron inseminadas o servidas por un toro (Pessoa *et al.*, 2018). En el presente estudio (Exp.1), la adición de un complejo mineral inyectable a base de P, K, Mg, Cu y Se durante el programa IATF aumentó la tasa de concepción de vacas Angus lactantes. Los resultados obtenidos muestran que es posible aumentar la tasa de concepción

hasta en 12% respecto al grupo que no recibió minerales durante el estudio. Los datos generados concuerdan con los resultados publicados por Macedo *et al.* (2016), quienes encontraron un aumento del 15% en la tasa de concepción de vacas Nelore adicionadas con el mismo producto mineral inyectable respecto al grupo testigo. Por su parte, Penteado *et al.* (2017) obtuvieron solo un aumento del 7% en la tasa de concepción de vacas Nelore lactantes tratadas con el mismo producto mineral, comparado con las vacas no tratadas durante el estudio. Del mismo modo Sales *et al.* (2011), al evaluar el efecto de un complejo mineral inyectable a base de Zn, Mn, Se y Cu, reportaron un aumento en la tasa de concepción de novillas cruzadas (*Bos taurus* × *Bos indicus*) 23 días después de la transferencia de embriones programada, con porcentajes de 48% y 36% en los grupos tratado y testigo respectivamente. Aunque los resultados han sido consistentes, los mecanismos fisiológicos exactos que intervienen en dicha respuesta aún crean incertidumbre. Ceylan *et al.* (2008) menciona que las concentraciones fisiológicas de minerales, específicamente de Zn, Cu y P, deben mantenerse dentro de un margen muy estrecho, y que cualquier alteración en sus niveles séricos puede afectar parámetros reproductivos en las vacas, como la concepción. En acuerdo al párrafo anterior, una revisión de literatura reciente (Hostetler *et al.*, 2003) propone que la respuesta de los minerales sobre la concepción puede estar mediada por la función directa de estos compuestos en reacciones metabólicas y hormonales que intervienen en el desarrollo embrionario temprano. En este sentido, los autores mencionan que, si el suministro de minerales es deficiente, la concepción puede verse afectada negativamente, resultando en altas tasas de mortalidad embrionaria durante el primer mes de gestación. Del mismo modo, Sales *et al.* (2011), en base a sus resultados, sugieren que la adición específica de Cu, Zn, Mg y Se inyectable puede tener efecto sobre la tasa de concepción de las vacas, posiblemente por una acción directa sobre mecanismos fisiológicos que apoyan la sobrevivencia embrionaria. En base la literatura citada, es posible especular que en el presente estudio (Exp.1), el aumento del 12% en la tasa de concepción de vacas tratadas es resultado de una mayor disponibilidad de minerales circulantes que apoyaron el

desarrollo embrionario temprano y el establecimiento de la concepción, tal como lo sugiere Hostetler *et al.* (2003). Por otra parte, el efecto de la dosis de minerales adicionada sobre la tasa de concepción de vacas también ha sido motivo de estudio en experimentos reproductivos (Vanegas *et al.*, 2004). Dichos experimentos se basan en la hipótesis de que el aumento de la dosis de minerales adicionada mejora el desempeño reproductivo de las vacas. Dicha hipótesis fue probada por Mundell *et al.* (2012), quienes reportaron que la adición de dos dosis de un complejo mineral inyectable (antes y después del parto) aumento la tasa de concepción de vacas cruzadas (Angus x Hereford) respecto al grupo testigo (60.2 y 51.2, respectivamente). A diferencia del estudio anterior, en nuestro estudio (Exp. 2), la adición de una o dos dosis de un complejo mineral inyectable a base de P, K, Mg, Cu y Se no tuvo efecto importante sobre la tasa de concepción de vacas Angus lactantes. Los porcentajes obtenidos en los grupos de vacas tratados con una y dos dosis de minerales fueron 55.56% y 47.22% respectivamente. Aunque no hubo un efecto significativo, el tratamiento con dos dosis de minerales redujo la tasa de concepción de las vacas en 8% respecto al grupo que recibió solo una dosis de minerales durante el estudio. Estos resultados son similares a los reportados por Vanegas *et al.* (2004), quienes probaron el efecto de una y dos dosis de un complejo mineral inyectable a base de Zn, Mn, Se y Cu sobre la tasa de concepción de vacas lecheras. Sus resultados mostraron una disminución del 5% en la tasa de concepción del grupo de vacas tratadas con dos dosis respecto al grupo que solo recibió una dosis del complejo mineral. Aunque Vanegas *et al.* (2004) no describen el mecanismo fisiológico de dicha respuesta, los autores sugieren que la adición de minerales por encima de los requerimientos puede tener un valor limitado sobre la reproducción de las vacas, incluso con efectos potencialmente negativos. Dichos hallazgos son respaldados por Olson *et al.* (1999), quienes concluyeron en su estudio que la adición alimenticia de Cu, Co, Mn y Zn por encima de los requerimientos de vacas de carne puede ocasionar toxicidad subclínica o desequilibrios de minerales que reducen el rendimiento reproductivo de los animales. Dicha conclusión se basa en los hallazgos encontrados en su experimento, donde las tasas de concepción al final de la

temporada reproductiva fueron de 85%, 85% y 100% para los grupos tratados con niveles altos de minerales orgánicos, inorgánicos y testigo, respectivamente. A pesar que nuestros resultados no fueron significativos, se puede pensar en un posible efecto negativo del aumento de la dosis sobre la tasa de concepción de las vacas, como lo sugieren Vanegas *et al.* (2004) y Olson *et al.* (1999), sin embargo, nuestros análisis de minerales séricos muestran que estos no variaron entre tratamientos o tratamiento x tiempo y se encontraban dentro de rangos fisiológicos normales de acuerdo a la especie (ver 4.2.3 Concentración sérica de minerales).

## **5.2 Tasa de expresión de estro**

Algunos factores relacionados con la expresión conductual de estro en el ganado fueron revisados por Orihuela (2000), quien entre otros factores considera a la nutrición mineral como particularmente importante. En el Exp.1, la adición de un complejo mineral inyectable a base de P, K, Mg, Cu y Se durante el programa IATF tendió aumentar (12%) la tasa de expresión de estro de vacas Angus que estaban lactando. Nuestros resultados son similares a los obtenidos por Pessoa *et al.* (2017), quienes al evaluar el efecto de un complejo mineral inyectable formulado con los mismos elementos que la investigación anterior en vacas Angus y Hereford, encontraron una mayor tasa de expresión de estro en el grupo de vacas tratadas respecto al grupo testigo (67.4 y 51.5% respectivamente). Del mismo modo, Gupta *et al.* (2017), al evaluar el efecto de una mezcla de minerales orales que contenía Ca, P, Mg, I, Cu, Zn, Mn y Co, encontraron una mayor intensidad en la expresión de estro en las vacas adicionadas con minerales respecto al grupo testigo. Entre otros parámetros, los autores reportaron una mayor proporción de vacas con descarga de moco cristalino a través de la vulva, considerado como un signo característico de estro en bovinos. En base a sus resultados, Gupta *et al.* (2017) concluyen que la adición de una mezcla de minerales orales mejora la ciclicidad reproductiva de las vacas, con un aumento marcado en la expresión de los signos de celo. Aunque la literatura citada no describe cómo influyen fisiológicamente los minerales sobre la expresión de estro en las vacas, es posible hipotetizar que dicha respuesta puede estar mediada por

una mayor producción de estrógenos, ya que esta hormona es la responsable de los signos característicos de celo en los animales. En respaldo a esta hipótesis, Devasenat *et al.* (2010) reportaron un aumento en la concentración plasmática de estrógenos después de que las vacas cruzadas diagnosticadas con trastornos reproductivos (anestro y repetidoras de estro) fueron adicionadas con Ca, P, Cu, Zn y Mn en el alimento. Del mismo modo, Del Río-Avilés *et al.* (2019) relacionaron el estro con mayores concentraciones de estrógenos en vacas lecheras adicionadas con minerales; en ese estudio se probó el efecto de un complejo de minerales inyectables similar al utilizado en el presente estudio (P, K, Mg, Cu y Se) sobre la eficiencia reproductiva de vacas Holstein durante la época de verano. En dicho estudio los resultados evidenciaron un aumento significativo en la concentración de estrógenos en suero de vacas adicionadas con minerales respecto al grupo testigo (6.21 pg/mL y 4.91 pg/mL respectivamente). Por otra parte, Basini y Tamanini (2000), basados en los hallazgos encontrados en su experimento, proponen que los minerales, particularmente Se, influye en la síntesis de estrógenos como resultado de una mayor proliferación de células de la granulosa en folículos ováricos bovinos. Aunque en el presente estudio (Exp. 1) no se midió la concentración de estrógenos en suero ni la proliferación de células de la granulosa en el folículo, es probable que el aumento marcado de la expresión de estro en las vacas adicionadas con minerales sea el resultado de un efecto directo sobre estas variables, según lo descrito por Basini y Tamanini (2000).

### **5.3 Actividad ovárica**

A pesar de la influencia de los minerales sobre el desempeño reproductivo en bovinos, se sabe poco del papel de estos compuestos sobre la fisiología del ovario (da Silva, 2018). Algunas publicaciones previas sugieren que los efectos reproductivos de los minerales en bovinos pueden estar mediados por acciones directas sobre el desarrollo del folículo ovárico de esta especie (Boland, 2003; Stokes *et al.*, 2018). Se sabe que, de manera normal en bovinos, las gonadotropinas FSH y LH se unen a los ovarios para estimular el crecimiento folicular en forma de ondas (2 a 3 ondas). Cada onda de crecimiento folicular se

conforma por emergencia, selección y dominancia, seguidas de atresia u ovulación de un folículo (Crowe, 2008). Durante cada onda de crecimiento folicular emergen un grupo de folículos (8 a 40 folículos), de los cuales solo uno será seleccionado para continuar su desarrollo hacia la dominancia, mientras el resto sufrirá atresia. Si el folículo dominante de la onda coincide con la regresión del cuerpo lúteo se convierte en un folículo ovulatorio, de lo contrario sufrirá atresia como el resto de los folículos (Martínez, 2002). En base a la fisiología ovárica normal, en el presente estudio (Exp.2), se probó el efecto de la dosis de un complejo mineral inyectable a base P, K, Mg, Cu y Se sobre variables relacionadas con la actividad ovárica (emergencia de la onda folicular, población folicular, número de folículos por clases y folículo dominante) en vacas Angus lactante. Al inicio de este estudio (Día 0), el 50% de las vacas en cada grupo de tratamiento fueron diagnosticadas como cíclicas (presencia de cuerpo lúteo). Sin embargo, dicho estado no influyó sobre la sincronización de la emergencia de la onda folicular de las vacas, ya que en la totalidad de las vacas experimentales emergió una nueva onda folicular después de ser tratadas con BE y DIB el día 0 del estudio. Además, el tiempo transcurrido desde la aplicación de BE y DIB hasta la emergencia de la onda folicular no fue afectada por la dosis de minerales adicionada, siendo los valores obtenidos 3.40 d y 3.09 d para los grupos adicionados con una y dos dosis de minerales. Se conoce poco sobre los efectos de los minerales en la emergencia de la onda folicular en el ganado bovino, sin embargo, se ha generado mucha información sobre esta variable en experimentos dirigidos a evaluar protocolos hormonales para IATF. En su estudio Bó *et al.* (1995), reportaron que la emergencia de la onda folicular ocurrió en  $4.3 \pm 0.2$  d en el 94% de las vacas que fueron sincronizadas. Por otra parte, Martínez *et al.* (2005) encontraron que las vacas que fueron sincronizadas con estrógenos y dispositivo intravaginal de progesterona tenían una media de  $4.1 \pm 0.2$  d hasta la emergencia de la onda folicular. A pesar de que la dosis de minerales no tuvo efecto sobre la emergencia de la onda folicular en nuestro estudio, ésta ocurrió en el 100% de las vacas y en un tiempo promedio más corto que los reportados por Bó *et al.* (1995) y Martínez *et al.* (2005). Esto último es importante en programas

IATF, ya que la emergencia de la onda folicular se considera un principio fisiológico básico que se debe cumplir para el éxito de un programa reproductivo en bovinos (Islam, 2011).

El recuento total de folículos antrales o población folicular es una variable que se asocia con la fertilidad en el ganado. Entre otras ideas se ha informado que las vacas con población folicular alta producen más ovocitos de mejor calidad y más embriones transferibles que las vacas con población folicular baja (Ireland *et al.*, 2008). Según un estudio reciente, la población folicular en bovinos puede verse afectada por factores como la raza, edad, condición corporal y estado nutricional (Dorice *et al.*, 2019). Se ha estudiado la influencia nutricional sobre la población folicular, particularmente, basado en el uso de minerales (González-Maldonado *et al.*, 2017). En el presente estudio (Exp. 2), la adición durante el programa IATF de una o dos dosis de un complejo mineral inyectable formulado con P, K, Mg, Cu y Se no tuvo efecto sobre la población folicular de vacas Angus lactantes, con valores de 35.28 y 36.26 folículos para los grupos tratados con una y dos dosis respectivamente. Nuestros hallazgos, son similares a los obtenidos por Stokes *et al.* (2018), quienes reportaron que no hubo efecto del tratamiento de dosis repetidas de minerales inyectables (Zn, Mg, Se y Cu) sobre el número total de folículos antrales ( $\geq 3$  mm) en novillas Angus, siendo los resultados 17.1 y 17.8 folículos para los grupos tratado y testigo, respectivamente. Similarmente, González-Maldonado *et al.* (2017), reportaron que no hubo efecto significativo de la inyección parenteral de Zn, Mn, Se y Cu sobre la población folicular de vacas Holstein respecto al grupo testigo (8.38 y 8.02 folículos respectivamente). Según Jimenez-Krassel *et al.* (2009), la población folicular es muy variable entre individuos, pero es altamente repetible en cada individuo, por lo tanto, es un parámetro que puede ser utilizado para clasificar fenotípicamente al ganado y poder estimar su desempeño reproductivo futuro. Esto último fue probado por Mossa *et al.* (2012), quienes asociaron la población de folículos ováricos ( $\geq 3$  mm) con la fertilidad en bovinos. En este estudio los autores contaron el número total de folículos en cada ovario mediante ecografía y clasificaron al ganado en tres

categorías de acuerdo al total de folículos encaneados: bajo ( $\leq 15$ ), intermedio (16 a 24) y alto ( $\geq 25$ ). Todas las vacas fueron inseminadas después de la detección del estro conductual y diagnosticadas para preñez mediante ecografía; las tasas de concepción reportadas al final de la temporada reproductiva fueron de 94, 88 y 84% para los grupos con población folicular alta, intermedia y baja, respectivamente. En nuestro estudio, aunque la población folicular (35.28 y 36.36 folículos) no se vio afectada por la dosis (una o dos dosis) de minerales adicionada en vacas Angus lactantes, los resultados indican que la vacas pueden ser clasificadas dentro de una población folicular alta ( $\geq 25$ ) según los criterios establecidos por Mossa *et al.* (2012). Probablemente la alta población folicular encontrada en nuestro estudio, más que un efecto de los minerales, puede ser resultado de la influencia de otros factores como raza, edad y condición corporal, tal como lo sugieren Dorice *et al.* (2019).

Por otra parte, nuestros resultados evidenciaron que la adición de una o dos dosis de un complejo mineral inyectable que contenía P, K, Mg, Cu y Se no tuvo efecto ( $P > 0.05$ ) sobre el número de folículos de las diferentes clases, donde el número medio de folículos encontrados fue de 28.69, 5.98, 1.40 y 1 folículos (una dosis) y 27.85, 8.19, 1.59 y 1 folículos (dos dosis), para las clases 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con Lamb *et al.* (2008) quienes, al clasificar los folículos en cuatro categorías de acuerdo a su tamaño, no encontraron diferencias en el número de folículos por categoría en vacas que fueron adicionadas con minerales orgánicos, inorgánico y testigo. Los resultados de dicho estudio fueron 11.83, 6.97, 1.81 y 0.55 (orgánico), 13.48, 8.21, 1.13 y 0.59 (inorgánico) y, 11.78, 7.97, 2.15, y 0.66 (testigo), para folículos  $\geq 7$  y  $\leq 9$ ,  $>9$  y  $\leq 11$ ,  $>11$  y  $\leq 13$ , y  $>13$  mm, respectivamente. Aunque no se encontró un efecto de la dosis de minerales sobre el número total de folículos clase 1, 2, 3 y 4 en el presente estudio, se observó, una variación decreciente en el número de folículos desde la clase 1 hasta la 4. Este decremento en el número de folículos observada es considerado un comportamiento normal de la dinámica folicular ovárica. En su estudio Dorice *et al.* (2019), al estudiar la actividad folicular durante el ciclo estral en ganado *Bos indicus*, encontraron que el número

promedio de folículos pequeños (<3 mm), medianos ( $\geq 3$  y  $\leq 8$  mm) y grandes (> 8 mm) fue de  $17.33 \pm 1.36$ ,  $9.75 \pm 1.00$  y  $0.61 \pm 0.32$  folículos, respectivamente. En este estudio los autores mencionan que los cambios decrecientes en el número de folículos pequeños, medianos y grandes son resultado del proceso normal de reclutamiento, selección y dominancia folicular en bovinos.

Entre otras variables, el tamaño del folículo dominante y preovulatorio se han asociado con el establecimiento de la concepción en vacas de leche (Lopes *et al.*, 2007) y de carne (Núñez-Olivera *et al.*, 2014). Por lo tanto, la búsqueda de tratamientos alternativos que influyan sobre estas variables son claramente justificables. En su estudio Kor *et al.* (2013), relacionaron la concentración de minerales del líquido folicular con el tamaño del folículo en vacas. En este estudio, las concentraciones de minerales tendieron a aumentar en relación al crecimiento del folículo, con concentraciones más altas en folículos grandes (10-20 mm). Dichos hallazgos dan soporte al papel de los minerales en la fisiología ovárica, especialmente en el crecimiento folicular y justifica la importancia de adicionar minerales a vacas durante programas reproductivos. En el Exp. 2, la adición de una dosis de un complejo mineral inyectable a base de P, K, Mg, Cu y Se tuvo efecto significativo sobre el tamaño del folículo dominante respecto al grupo de vacas que recibió dos dosis durante el estudio (15.17 y 13.44 mm, respectivamente). Si bien el efecto de los minerales sobre el tamaño del folículo dominante y preovulatorio en vacas ha sido estudiado en repetidas ocasiones, los estudios dirigidos a evaluar el efecto de la dosis sobre estas variables aún son escasos. A diferencia de nuestros resultados, González-Maldonado *et al.* (2017) evaluaron el efecto de la adición de una dosis parenteral de un producto mineral a base de Zn, Mn, Se y Cu en vacas Holstein obesas sobre el desarrollo de estructuras ováricas, y no encontraron diferencias significativas en el tamaño del folículo dominante entre los grupos tratado y testigo (13.15 y 11.46 mm, respectivamente). Del mismo modo, Vedovatto *et al.* (2019) al evaluar el efecto de una dosis del mismo producto mineral utilizado en el estudio anterior, pero en vacas Nellore, reportó que no hubo diferencias significativas en el tamaño del folículo dominante entre los grupos tratado y testigo (13.6 y 13.9 mm,

respectivamente). Es difícil hacer una comparación válida entre nuestros resultados y los publicados por González-Maldonado *et al.* (2017) y Vedovatto *et al.* (2019) debido a las diferencias evidentes en el tipo de ganado, clima, tipo de minerales y dosis utilizadas, sin embargo, podemos establecer una asociación entre estudios basados en la importancia dada al tamaño del folículo dominante sobre la fertilidad del ganado bovino. Esto último fue respaldado Lamb *et al.* (2001), quienes reportaron tasas de concepción más altas en vacas de carne que tenían folículos dominantes >12 mm que aquellas con folículos ≤12mm. Similarmente, otro estudio reportó una disminución en la tasa de concepción y un aumento en la mortalidad embrionaria en vacas Angus con folículos más pequeños el día de la ovulación; basados en sus hallazgos los autores proponen que la capacidad de desarrollo y maduración del ovocito mejora conforme aumenta el tamaño del folículo, lo cual influye sobre la tasa de concepción (Perry *et al.*, 2005). Del mismo modo, Lopes *et al.* (2007) encontraron una relación positiva entre el tamaño del folículo dominante y la concentración de estrógenos plasmáticos el día de la inseminación artificial, que a su vez se asociaron con una mayor tasa de concepción diagnosticada 30 días posteriores al servicio de las vacas. Además, Vasconcelos *et al.* (2001) en su estudio, relacionó el tamaño del folículo dominante con el tamaño del cuerpo lúteo y su capacidad para sintetizar progesterona. En este estudio los autores reportaron que los folículos más grandes (8.68 y 12.53 mm) que fueron inducidos a ovular, desarrollaron un cuerpo lúteo más grande (2.862 y 5.363 mm<sup>3</sup>), que produjo mayores concentraciones de progesterona (1.16 y 1.42 ng/mL), y se asoció positivamente con la tasa de concepción de las vacas. En base al párrafo anterior, Busch *et al.* (2008) proponen que los efectos del tamaño del folículo dominante sobre la concepción pueden atribuirse a una mayor competencia del ovocito desarrollado o la presencia de un ambiente uterino más apto para la implantación. En nuestro estudio, a pesar del efecto encontrado en el tamaño del folículo dominante, éste no influyó sobre la tasa de concepción de las vacas tratadas con una y dos dosis de minerales en Exp. 2, sin embargo, se considera que esta variable puede estar relacionada con el aumento en la tasa de concepción (12%) y tasa de expresión del estro (12%) en

vacas adicionadas con minerales durante el Exp. 1. El efecto nulo del tamaño del folículo dominante sobre la tasa de concepción final de las vacas, puede deberse a que ambos tamaños se encontraban dentro del rango normal reportado para esta variable. Por otra parte, tal como lo sugerimos en la tasa de concepción (ver 5.1.1 Tasa de concepción), se puede hipotetizar que la disminución del tamaño del folículo dominante después de aumentar la dosis a las vacas sea resultado de desbalances incluso niveles tóxicos de minerales en el cuerpo. Sin embargo, dicha hipótesis puede ser descartada ya los resultados encontrados en las concentraciones séricas potasio, fosforo y magnesio indican que estos compuestos no variaron entre tratamientos o tratamiento x tiempo y se encontraban dentro del rango normal específico de la especie (ver 4.2.3 Concentración sérica de minerales). En base a lo anterior, cabe la posibilidad que algún otro factor no contemplado en nuestro estudio este influyendo en dicha respuesta.

#### **5.4 Concentración sérica de minerales**

La concentración sanguínea de minerales se ha estudiado como un indicador del estado mineral en los animales. En bovinos, dichos niveles tienen un papel muy importante en aspectos como la reproducción (Fadlalla *et al.*, 2020). Por lo tanto, su estudio se ha utilizado para determinar la relación de estos compuestos con eventos reproductivos (Barui *et al.*, 2015). En este sentido, se ha establecido que cualquier deficiencia en los niveles séricos por debajo del límite fisiológico puede afectar la fertilidad de las vacas (Fadlalla *et al.*, 2020). Lo anterior fue comprobado por Krishnamoorthy *et al.* (2017) quienes relacionaron las deficiencias séricas de minerales en suero con la ocurrencia de algunos trastornos reproductivos y baja fertilidad en vacas cruzadas. Basados en dichos hallazgos, otros autores consideran que, para mantener una adecuada función reproductiva en vacas, las concentraciones de minerales en el organismo deben mantenerse en niveles óptimos (Ceylan *et al.*, 2008). Una revisión de literatura reciente menciona que cuando los niveles de minerales son deficientes, una inyección formulada con minerales puede ser suficiente para mantener concentraciones sanguíneas

adecuadas (Ahuja y Parmar, 2017). Se ha informado que los valores séricos normales de K, P y Mg en bovinos oscilan entre 15.25 y 22.68 mg/dl (Goff, 2004), entre 4.0 y 9.0 mg/dl y entre 1.8 y 3.2 mg/dl, respectivamente (McDowell, 2003). En base los valores de referencia citados, al inicio del Exp. 2 (Día -10 y 0), se determinó que las vacas tenían un adecuado estado mineral, ya que tenían concentraciones séricas de K, P, y Mg dentro del rango normal de la especie. Después del tratamiento con minerales, se observó que el efecto combinado de la dosis de minerales  $\times$  día de muestreo, así como el efecto principal dosis de minerales, no tuvieron efecto importante sobre las concentraciones séricas medias de K, P y Mg en vacas Angus lactantes. Por su parte, el efecto del tiempo resultó significativo sobre las concentraciones séricas de K, P y Mg en las vacas. Nuestros resultados son similares a los reportados por González-Maldonado *et al.* (2017), quienes al evaluar otros minerales en suero (Cu y Zn) después del tratamiento con un complejo de minerales inyectables, encontraron que ni la interacción de tratamiento  $\times$  tiempo, ni el efecto principal del tratamiento afectaron las concentraciones séricas de estos minerales. Además, al igual que nuestros resultados, dicho estudio reportó una variación en las concentraciones séricas de los minerales a través del tiempo. Del mismo modo Rérat *et al.* (2009) evaluaron diferentes niveles (bajo y alto) de minerales en la dieta en vacas lecheras antes y después del parto, y no encontraron diferencias en las concentraciones plasmáticas de Ca, P y Mg en las vacas. En nuestro estudio, también observamos que en general las concentraciones séricas de minerales por tratamiento fueron 18.35 y 17.91 mg/dl (potasio), 5.86 y 5.39 mg/dl (fosforo), y 2.43 y 2.50 mg/dl (magnesio) para los grupos de vacas tratados con una y dos dosis de minerales, respectivamente. Basados en nuestros resultados y la literatura consultada, consideramos que, aunque la dosis de minerales adicionada a las vacas no afectó las concentraciones séricas de K, P y Mg durante el estudio, los niveles séricos medios de estos compuestos se mantuvieron dentro de niveles adecuados de acuerdo a la especie. Posiblemente, los efectos nulos de la dosis de minerales adicionada sobre las concentraciones séricas de K, P y Mg durante el estudio estén relacionados con el estado mineral de las vacas antes del tratamiento

mineral. En base a lo anterior, se puede hipotetizar que las vacas diagnosticadas con un estado mineral óptimo no necesitaban un tratamiento mineral, mucho menos una dosis adicional, para llevar a cabo sus funciones reproductivas normales. Es necesario destacar la importancia de mantener niveles de minerales adecuados en suero, ya que al disminuir o aumentar dichos niveles más allá del umbral reportado pueden presentarse efectos importantes sobre la función reproductiva en bovinos. En este sentido, Das *et al.* (2009) al evaluar el perfil de minerales séricos durante el ciclo estral en vacas cruzadas que tenían ciclos normales, encontraron que las concentraciones séricas medias de fosforo fueron de 5.45 mg/dl. En contraste al reporte anterior, Satapathy *et al.* (2018) reportaron en su estudio que las vacas cruzadas diagnosticadas con trastornos reproductivos tenían concentraciones séricas de fosforo 3.54 mg/dl, que fue considerada anormalmente baja en relación a los niveles normales establecidos. Es posible Podemos establecer que en el presente estudio la función reproductiva era normal y las concentraciones séricas de P en las vacas se encontraban dentro de niveles normales, ya que se obtuvo una media general de 5.62 mg/dl de P. En relación al magnesio, Das *et al.* (2009) reportaron que las concentraciones séricas promedio de Mg fueron significativamente más altas en vacas cruzadas con ovulación normal (3.12 mg/dl) comparado con vacas con ovulación retrasada (2.98 mg/dl). A pesar de que se encontró una diferencia en la concentración sérica de Mg en vacas con distintos estados ovulatorios, ambas medias se encontraban dentro de los límites normales reportados por McDowell (2003); dichos hallazgos permiten pensar que, hasta mínimos cambios en las concentraciones de este mineral, dentro de los márgenes normales establecidos, pueden predisponer a alteraciones en el ciclo reproductivo de las vacas. Lo anterior fue comprobado por Ceylan *et al.* (2008), ya que reportaron que las concentraciones séricas medias (dentro del rango normal) no fueron distintas entre vacas lecheras en anestro (2.20 mg/dl), vacas que repiten ciclo (2.21 mg/dl) y vacas consideradas sanas (2.14 mg/dl). Al igual que los resultados citados anteriormente, nuestros resultados se consideran normales según lo descrito por McDowell (2003), ya que obtuvimos una media general de 2.46 mg/dl de Mg en las vacas.

## 5.5 Concentración sérica de progesterona

La producción de progesterona lútea es necesaria para la síntesis de secreciones endometriales, el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la concepción (Carr *et al.*, 2020). Se ha informado que la concepción en bovinos se asocia positivamente con la concentración sérica de progesterona siete (Martins *et al.*, 2014) y nueve días (Perry *et al.*, 2005) después de la IATF. En este sentido, experimentos se han centrado en el estudio de tratamientos que permitan mejorar la fase lútea y la producción de progesterona en bovinos; este es el caso de Devasenat *et al.* (2010), quienes relacionaron el estado mineral (P, Cu, Zn y Mn) con la producción de progesterona durante la preñez temprana en vacas que fueron adicionadas con minerales en el alimento. Del mismo modo, Kalita *et al.* (2015) determinaron que el estado mineral (Cu y Zn) en vacas afecta la producción de hormonas esteroideas, entre ellas la progesterona. Por lo tanto, la adición de minerales puede considerarse un tratamiento útil para mejorar la producción de progesterona lútea y la concepción en vacas que han sido inseminadas. Al inicio de nuestro estudio (Exp. 2), en base a la metodología descrita por Gunn *et al.* (2015), encontramos que las vacas de ambos grupos de tratamiento estaban ciclando, ya que tenían concentraciones séricas de progesterona  $\geq 1$  ng/ml en dos muestreos consecutivos con intervalos de 10 días (día -10 y 0). Después del tratamiento con minerales, las concentraciones de progesterona sérica durante el estudio no variaron entre los grupos de vacas tratadas con una (8.06 ng/ml) y dos dosis (8.08 ng/ml) de minerales inyectables (P, K, Mg, Cu y Se). Del mismo modo, la interacción de la dosis de minerales x día de muestreo no tuvo efecto sobre las concentraciones séricas de progesterona obtenidas en nuestro estudio. Nuestros hallazgos son similares a los reportados por Vedovatto *et al.* (2019), quienes evaluaron el efecto de un complejo de minerales inyectables formulado con Zn, Mn, Se y Cu, y no encontraron efecto significativo sobre las concentraciones plasmáticas de progesterona después de la IATF (día 14) en vacas Nelore, las medias reportadas fueron 3.7 y 3.1 ng/ml para los grupos tratado y testigo, respectivamente. Aunque los autores del estudio

anterior no encontraron diferencias en las concentraciones séricas de progesterona entre tratamientos (tratado y testigo), reportaron una diferencia en el diámetro del cuerpo lúteo (30.1 y 30.8 mm, respectivamente). A partir de estos hallazgos, se informó de una mayor eficiencia en la producción de progesterona por cantidad de tejido lúteo en el grupo tratado con minerales respecto al grupo testigo, y se sugiere un posible efecto de los minerales en el proceso de esteroidogénesis ovárica. Aunque no se encontraron diferencias en las concentraciones séricas de progesterona en el presente estudio, cabe la posibilidad que algo similar haya sucedido con el diámetro del cuerpo lúteo, tal como lo reportó Vedovatto *et al.* (2019); sin embargo, dicho escenario solo puede ser hipotético, ya que esta variable no fue medida durante el experimento. Por otra parte, como se discutió en párrafos anteriores, el tamaño del folículo dominante también se ha asociado con las concentraciones plasmáticas de progesterona después de la inseminación artificial en vacas (Vasconcelos *et al.*, 2001). Sin embargo, en nuestro estudio, a pesar del efecto de la dosis de minerales sobre el tamaño del folículo dominante, éste no influyó sobre las concentraciones séricas de progesterona de vacas Angus lactantes. En otro estudio, Carr *et al.* (2020) reportaron que la adición específica de Se (orgánico e inorgánico), suministrado en una mezcla oral afectó las concentraciones plasmáticas de progesterona siete días después del estro en vacas Angus; en este estudio se hace referencia a la adición de Se como una terapia dirigida a promover la función endometrial, mejorar el desarrollo embrionario y aumentar las tasas de concepción en bovinos. Un posible efecto antioxidante de los minerales sobre la fase lútea fue propuesta Nazari *et al.* (2019), ya que al evaluar el estado de minerales (Cu y Zn) y antioxidantes (superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa) séricos en vacas Holstein, encontraron una asociación entre los niveles corporales de estos compuestos con la producción de progesterona lútea y la fertilidad de las vacas. En este estudio los autores sugieren que el Cu y el Zn, a través de un proceso antioxidante, pueden tener efecto directo sobre procesos fisiológicos como la esteroidogénesis ovárica. Finalmente, en nuestro estudio (Exp. 2) se encontró que el efecto del muestro como efecto principal tuvo efecto significativo sobre las

concentraciones séricas de progesterona en vacas Angus lactantes. Según lo descrito por Crowe (2008), nuestros hallazgos son resultado de una fase lútea normal en bovinos, ya que después de la ovulación se forma el cuerpo lúteo a partir de las células foliculares y, progresivamente, aumenta la concentración de progesterona circulante. Del mismo modo, Kalita *et al.* (2015), al evaluar las concentraciones de progesterona durante el ciclo estral en vacas con ciclos normales, reportaron que las concentraciones eran bajas el día del estro y posteriormente aumentaron hasta alcanzar un pico en la fase lútea media, para finalmente disminuir gradualmente hasta niveles basales. Es posible determinar que las vacas del presente estudio tenían un ciclo estral normal, ya que las concentraciones séricas de progesterona siguieron un patrón similar (ver Fig. 4) al descrito por Kalita *et al.* (2015).

## VI. CONCLUSIONES

Se concluye que en el Exp.1 la adición de un producto mineral inyectable formulado con P, K, Mg, Cu y Se impacta de manera positiva sobre la reproducción de vacas Angus lactantes sometidas a un programa IATF, con efecto directo sobre la tasa de concepción, posiblemente mediada por un aumento marcado la tasa de expresión de estro en las vacas. Por otra parte, en el Exp. 2 se concluye que la adición de una dosis de minerales es suficiente para mantener un adecuado estado sérico de P, K, Mg y  $P_4$  en las vacas, ya que las medias entre tratamientos no variaron durante el estudio. Del mismo modo, para la mayoría de las variables ováricas (excepto para FD) se considera que una dosis de minerales basta para mantener una función reproductiva óptima en las vacas. A pesar que la dosis de minerales tuvo efecto sobre FD, no se observó una diferencia en la tasa de concepción final de las vacas, probablemente esto se deba a que las medias encontradas para FD en ambos grupos de tratamiento se encontraban dentro del rango normal reportado en bovinos. Además, la evidencia de un estado de minerales séricos dentro de niveles normales de acuerdo a la especie antes y durante el estudio, posiblemente no permitió un efecto adicional sobre la respuesta reproductiva de las vacas cuando la dosis de minerales fue aumentada. Por lo tanto, se considera que la adición de minerales inyectables durante un programa IATF es una estrategia efectiva para mejorar la respuesta reproductiva final de las vacas, sin embargo, la adición de dosis más altas de minerales puede tener un valor limitado sobre la reproducción, especialmente cuando el estado mineral de las vacas es adecuado. Se recomienda, dirigir más investigaciones para conocer con exactitud los posibles mecanismos fisiológicos involucrados en la función reproductiva de las vacas después de la adición de distintas dosis de minerales durante programas IATF.

## LITERATURA CITADA

- Ahuja, A. K. and Parmar, D. 2017. Role of minerals in reproductive health of dairy cattle: a review. *Int. J. Livest. Res.* 7(10):16-26.
- Amin, R. U. 2014. Nutrition: Its role in reproductive functioning of cattle - a review. *Veterinary Clinical Science*, 2(1):1-9.
- Arthington, J. D., Moriel, P., Martins, P. G. M. A., Lamb, G. C. and Havenga, L. J. 2014. Effects of trace mineral injection on measures of performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92:2630–2640.
- Arthington, J. D. and Swenson, C. K. 2004. Effects of trace mineral source and feeding method on the productivity of grazing Braford cows. *Prof. Anim. Sci.* 20:155-161.
- Balamurugan, B., Ramamoorthy, M., Mandal, R. S., Keerthana, J., Gopalakrishnan, G., Kavya, K. M., Kharayat, N. S., Chaudhary, G. R. and Katiyar, R. 2017. Mineral an important nutrient for efficient reproductive health in dairy cattle. *Int. J. Sci. Environ. Technol.* 6 (1):694–701.
- Ball, P. J. H. and Peters, A. R. 2004. *Reproduction in Cattle.* (3rd. Ed.). Ames, Iowa, United States: Wiley-Blackwell.
- Barui, A., Batabyal, S., Ghosh, S., Saha, D. and Chattopadhyay, S. 2015. Plasma mineral profiles and hormonal activities of normal cycling and repeat breeding crossbred cows: A comparative study. *Vet. World.* 8(1):42-45.
- Baruselli, P. S., Marques, M. O., Nasser, L. F., Reis, E. L., and Bó, G. A. 2003. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with cidr-b devices for timed artificial insemination. *Theriogenology* 59:214.
- Baruselli, P. S., Reis, E. L., Marques, M. O., Nasser, L. F. and Bó, G. A. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:479–486.
- Baruselli, P. S., Sá Filho, M. F., Martins, C. M., Nasser, L. F., Nogueira, M. F., Barros, C. M. and Bó, G. A. 2006. Superovulation and embryo transfer in

- Bos indicus cattle. *Theriogenology*, 65(1):77-88.
- Basini, G., and Tamanini, C. 2000. Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18:1-17.
- Bertolini, M. and Bertolini, L. R. 2009. Advances in reproductive technologies in cattle: from artificial insemination to cloning. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 56:184-194.
- Bindari, Y. R., Shrestha, S., Shrestha, N. and Gaire, T. N. 2013. Effects of nutrition on reproduction- A review. *Adv. Appl. Sci. Res.* 4(1):421-429.
- Bó, G. A., Adams, G. P., Pierson, R. A. and Mapletoft, R. J. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43:31-40.
- Bó, G. A., Baruselli, P. S. and Mapletoft, R. J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod.* 10(3):137-142.
- Bó, G. A., De la Mata, J. J., Baruselli, P. S., and Menchaca, A. 2016. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*. 86(1):388-396.
- Boland, M. P. 2003. Trace minerals in production and reproduction in dairy cows. *Adv. Dairy Technol.* 15:319-330.
- Boland, M. P., Lonergan, P. and O'Callaghan, D. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*. 55(6):1323–1340.
- Brasche, C. J. 2015. Effect of a trace mineral injection on beef cattle performance. Master thesis, University of Nebraska, Lincoln, Nebraska, USA.
- Busch, D. C., Atkins, J. A., Bader, J. F., Schafer, D. J., Patterson, D. J., Geary, T. W. and Smith, M. F. 2008. Effect of ovulatory follicle size and expression of estrus on progesterone secretion in beef cows. *J. Anim. Sci.* 86(3):553-563.
- Carr, S., Jia, Y., Crites, B., Hamilton, C., Burriss, W., Edward, J. L., Matthews, J. and Bridges, P. J. 2020. Form of supplemental selenium in vitamin-mineral premixes differentially affects early luteal and gestational concentrations of progesterone, and postpartum concentrations of prolactin in beef cows.

- Animals, 10(6):967.
- Ceylan, A., Serin, I., Aksit, H. and Seyrek, K. 2008. Concentrations of some elements in dairy cows with reproductive disorders. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 52:109-112.
- Chagas, L. M., Bass, J. J., Blache, D., Burke, C. R., Kay, J. K., Lindsay, D. R., Lucy, M. C., Martin, G. B., Meier, S., Rhodes, F. M., Roche, J. R., Thatcher, W. W. and Webb, R. 2007. Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(9):4022–4032.
- Chauvet, M. (1999). *La ganadería bovina de carne en México: Del auge a la crisis*. D.F., México: Ediciones y Gráficos Eón.
- Cordova-Izquierdo, A. 2016. Best practices in animal reproduction: impact of nutrition on reproductive performance livestock. *J. Adv. Dairy Res.* 4(1):1-4.
- Crowe, M. 2008. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 43(5):20-28.
- Das, J. M., Dutta, P., Deka, K. C., Biswas, R. K., Sarmah, B. C. and Dhali, A. 2009. Comparative study on serum macro and micro mineral profiles during oestrus in repeat breeding crossbred cattle with impaired and normal ovulation. *Livestock Res. Rural Dev.* 21(5):1-6.
- Da Silva, F. A. 2018. The effects of injectable trace mineral supplements in donor cows at the initiation of a superovulation protocol on embryo outcomes and pregnancy rates in recipient females. Master Thesis, North Dakota State University, Fargo, North Dakota, USA.
- Davy, J. S., Forero, L. C., Shapero, M. W. K., Rao, D. R., Becchetti, T. A., Rivers, C. K., Stackhouse, J. W., DeAtley, K. L. and McNabb, B. R. 2019. Mineral status of California beef cattle. *Transl. Anim. Sci.* 3(1), 66–73.
- De la Mata, J. J. 2016. Prolongación del proestro y reducción del periodo de inserción del dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne inseminadas a tiempo fijo. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Del Río-Avilés, A. 2019. Eficiencia reproductiva y productiva de vacas Holstein

suplementadas con minerales durante la época de verano. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México.

- Devasenat, B., Reddy, I. J., Ramana, J. V., Prasad, P. E. and Prasad J. R. 2010. Effect of supplementation of area specific mineral mixture on reproductive performance of crossbred cattle-a field study. *Indian J. Anim. Nutr.* 27(3):265-270.
- Diskin, M. G. and Kenny, D. A. 2016. Managing the reproductive performance of beef cows. *Theriogenology* 86(1):379-387.
- Diskin, M. G., Mackey M. R., Roche, J. F. and Sreenan J. M. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78(3-4):345–370.
- Dorice, A. K., Ferdinand, N., Justin, K., Augustave, K. and Linda, K. K. 2019. Effects of breed, age, body condition score, and nutritional status on follicular population, oocyte yield, and quality in three Cameroonian zebu's cattle *Bos indicus*. *Adv. Agric.* 2019:1-15.
- Dugmore, T. J., Lesch, S. F. and Walsh, K. P. 1987. The effect of magnesium oxide supplementation on the fertility of dairy cows grazing fertilized pastures. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 17(4):183-185.
- Endres, M. I. and Schwartzkopf-Genswein, K. 2018. Overview of cattle production systems. In: Tucker, C. B. (1st. Ed.). *Advances in Cattle Welfare* (pp. 1–26). Duxford, Cambridge, United States: Woodhead Publishing.
- Fadlalla, I. M., Omer, S. A. and Atta, M. 2020. Determination of some serum macroelement minerals levels at different lactation stages of dairy cows and their correlations. *Scientific African*, 8:1-8.
- Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F., and Crowe, M. A. 2011. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 124(3-4):163–169.
- Galina, C. y Valencia, J. 2008. *Reproducción de los animales domésticos*. (3ra. Ed.). D.F, México: LIMUSA.
- García E. 1985. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen

- (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 2da ed. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, DF, México.
- Garverick, H. A. and Smith, M. F. 1993. Female Reproductive Physiology and Endocrinology of Cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 9(2):223-247.
- Goff, J. P. 2004. Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clin. Food Anim.* 20(3):471-494.
- González-Maldonado, J., Rangel-Santos, R., Rodríguez-de Lara, R. and García-Peña, O. 2017. Effect of injectable trace mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentrations in over-conditioned Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 181:57-62.
- González-Padilla, E., Lassala, A., Pedernera, M. and Gutierrez, C. G. 2019. Cow-calf management practices in Mexico: Farm organization and infrastructure. *Vet Méx*, 6(3):1-17.
- Greene, L. W. (2000). Designing mineral supplementation of forage programs for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 77(1):1-9
- Guijosa, V. A. 2006. Principales razas de bovinos productores de carne en México. Morelia, Michoacán, México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Guirado-Dantas, F. 2018. Effect of Mineral Supplementation on Reproductive Efficiency of Beef Cows. Master Thesis, The University of Tennessee, Knoxville, Tennessee, USA.
- Gunn, P. J., Schoonmaker, J. P., Lemenager, R. P. and Bridges, G. A. 2015. Feeding distiller's grains as an energy source to gestating and lactating beef heifers: impact on female progeny growth, puberty attainment, and reproductive processes. *J. Anim. Sci.* 93:746-757.
- Gupta, R., Singh, K., Sharma, M. and Kumar, M. 2017. Effect of mineral mixture feeding on the productive and reproductive performance of crossbred cattle. *Int. J. Livest. Res.* 7(12):231-236.

- Hernández, L. 2001. Historia ambiental de la ganadería en México. Veracruz, México. Instituto de Ecología.
- Hess, B. W., Lake, S. L., Scholljegerdes, E. J., Weston, T. R., Nayigihugu, V., Molle, J. D. C. and Moss, G. E. (2005). Nutritional controls of beef cow reproduction. *J. Anim. Sci.* 83(13):90-106.
- Hostetler, C. E., Kincaid, R. L. and Mirando, M. A. (2003). The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *Vet J.* 166(2):125–139.
- Ingraham, R. H., Kappel, L. C., Morgan, E. B. and Srikandakumar, A. 1987. Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. *J. Dairy Sci.* 70(1):167-180.
- Ireland, J. L., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A. P., Ward, F., Lonergan, P., Smith, G. W., Perez, G. I., Evans, A. C., Ireland, J. J. 2008. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biol. Reprod.* 79:1219-1225.
- Islam, R. 2011. Synchronization of estrus in cattle: A review. *Vet. World.* 4(3):136-141.
- Jacobson, D. R., Hemken, R. W., Button, F. S. and Hatton, R. H. 1972. Mineral nutrition calcium, phosphorus, magnesium, and potassium interrelationships. *J. Dairy Sci.* 55(7):935-944.
- Jimenez-Krassel, F., Folger, J. K., Ireland, J. L., Smith, G. W., Hou, X., Davis, J. S., Lonergan, P., Evans, A. C. and Ireland, J. J. 2009. Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biol. Reprod.* 80:1272-1281.
- Kalita, D. J., Barua, K. K., Goswami, R. N., Saikia, D. and Dutta, R. 2015. Evaluation of micromineral status and ovarian hormonal profile and their interrelation in normal cyclings and repeat breeding cows. *Indian J. Anim. Res.* 49(6):798-801.
- Kalmath, G. P. and Ravindra, J. P. 2007. Mineral profiles of ovarian antral follicular

- fluid in buffaloes during follicular development. *Indian J. Anim. Res.* 41(2): 87-93.
- Kappel, L. C., Ingraham, R. H., Morgan, E. B. and Babcock, D. K. 1984. Plasma copper concentration and packed cell volume and their relationships to fertility and milk production in Holstein cows. *Am. J. Vet. Res.* 45(2):346-350.
- Karn, J. F. 2001. Phosphorus nutrition of grazing cattle: a review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 89(3-4):133-153.
- Kor, N. M., Khanghah, K. M. and Veisi, A. 2013. Follicular fluid concentrations of biochemical metabolites and trace minerals in relation to ovarian follicle size in dairy cows. *Annu. Res. Rev. Biol.* 3(4):397-404.
- Krishnamoorthy, P., Govindaraj, G., Gowda, N. K., Pal, D., Ravindra, J. P. and Roy, P. 2017. Reproductive Disorders and Its Relationship with Hormones and Mineral Status in Bovines of Organized Dairy Farms. *Int. J. Livest. Res.* 7(4):142-151.
- Lamar, K. C. 2013. Effects of dietary potassium carbonate and fat concentration in high distiller grain diets fed to dairy cows. Master Thesis, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.
- Lamb, G. C., Brown, D. R., Larson, J. E., Dahlen, C. R., DiLorenzo, N., Arthington, J. D. and DiCostanzo, A. 2008. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 106:221–231.
- Lamb, G. C., Stevenson, J. S., Kesler, D. J., Garverick, H. A., Brown, D. R. and Salfen, B. E. 2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F<sub>2</sub>alpha for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79(9):2253-2259.
- Lassala, A., Hernández-Cerón, J., Pedernera, M., González-Padilla, E. and Gutierrez, C. 2020. Cow-calf management practices in Mexico: Reproduction and breeding. *Vet Méx*, 7(1):1-15.
- Lopes, A. S., Butler, S. T., Gilbert, R. O. and Butler, W. R. 2007. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy

- outcome in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 99:34-43.
- Lowman, B. G., Scott, N. A. and Somerville, S. H. 1976. Condition scoring of cattle. Bulletin No. 6. Edinburgh, Scotland: East of Scotland College of Agriculture, Animal Production, Advisory and Development Department.
- Maas, J. 1987. Relationship between nutrition and reproduction in beef cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 3(3):633–646.
- Macedo, G. G., Oliveira, M. I. and Rocha, C.D. 2015. Synchronization of ovulation: how to mimic the reproductive physiology for best outcomes? *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 39(1):41-46.
- Macedo, G. G., Sivieri, L. B., Giroto, W. R., Peixoto, R. L., Baldassari, J. L., Schneider, A. A., Guerra, S. A., Pastre, G., Durel, L. and Silva, M. T. 2016. Uso de suplementação mineral injetável de glicerofosfato de sódio, fosfato monossódico e selenito de sódio durante o protocolo de sincronização da ovulação na concepção de fêmeas nelore. In: Proceedings of the XXX Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). Foz do Iguaçu, PR, Brazil, 2016. pp. 234.
- Machaty, Z., Peippo, J. and Peter, A. 2012. Production and manipulation of bovine embryos: Techniques and terminology. *Theriogenology*, 78(5):937–950.
- Martínez, M. F. 2002. Synchronization of follicular wave dynamics and ovulation for fixed-time artificial insemination in cattle. Doctoral Dissertation not published, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canadá.
- Martínez, M. F., Kastelic, J. P., Bó, G. A., Caccia, M. and Mapletoft, R. J. 2005. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 86:37-52.
- McBride, W. D. and Mathews, K. 2011. The Diverse Structure and Organization of U.S. Beef Cow-Calf Farms. Economic Information Bulletin No. 73. United States: United States Department of Agriculture, Economic Research Service.
- McClure, T.J., Eamens, G.J. and Healy, P.J. (1986) Improved fertility in dairy cows after treatment with selenium pellets. *Aus. Vet. J.* 63:144–146.

- McDowell, L. R. 2003. Minerals in Animal and Human Nutrition. 2nd. Ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science.
- Mehdi, Y. and Dufrasne, I. 2016. Selenium in cattle: A Review. *Molecules* 21(4): 545.
- Meikle, A., de Brunt, V., Carriquiry, M., Soca, P., Sosa, C., Adrien, M. L., Chilbroste, P. and Abecia, J. A. 2018. Influences of nutrition and metabolism on reproduction of the female ruminant. In: Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018). Foz do Iguaçu, PR, Brazil, September 16th to 20th, 2018. pp. 899-911.
- Michaluk, A. and Kochman, K. 2007. Involvement of copper in female reproduction. *Reprod. Biol.* 7(3):193-205.
- Montiel, F. and Ahuja, C. 2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 85:1-26.
- Moore, K. and Thatcher, W. W. 2006. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89(4):1254-1266.
- Mossa, F., Walsh, S. W., Butler, S. T., Berry, D. P., Carter, F., Lonergan, P., Smith, G. W., Ireland, J. J., Evans, A. C., 2012. Low numbers of ovarian follicles  $\geq 3$  mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:2355-2361.
- Mundell, L. R., Jaeger, J. R., Waggoner, J. W., Stevenson, J.S., Grieger, D. M., Pacheco, L. A., Bolte, J. W., Aubel, N. A., Eckerle, G. J., Macek, M. J., Ensley, S. M., Havenga, L. J. and Olson, K. C., 2012. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. *Prof. Anim. Sci.* 28:82-88.
- Murphy, B. D. and Martinuk, S. D. 1991. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr. Rev.* 12(1):27-44.
- National Research Council. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th. Rev. Ed. Washington, D.C.: National Academy Press.
- Nazari, A., Dirandeh, E., Ansari-Pirsaraei, Z. and Deldar, H. 2019. Antioxidant levels, copper and zinc concentrations were associated with postpartum

- luteal activity, pregnancy loss and pregnancy status in Holstein dairy cows. *Theriogenology*. 133:97-103.
- Nuñez-Olivera, R., de Castro, T., García-Pintos, C., Bó, G., Piaggio, J. and Menchaca, A. 2014. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol' based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 146(3-4):111-116.
- Ojha, L., Grewal, S., Singh, A. K., Pal, R. P. and Mir, S. H. 2018. Trace minerals and its role on reproductive performance of farm animals. *J. Entomol. Zool. Stud.* 6(4):1406-1409
- Olson, P. A., Brink, D. R., Hickok, D.T., Carlson, M. P., Schneider, N. R., Deutscher, G. H., Adams, D. C., Colburn, D. J. and Johnson, A. B. 1999. Effects of supplementation of organic and inorganic combinations of copper, cobalt, manganese, and zinc above nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows. *J. Anim. Sci.* 77(3):522–532.
- Orihuela, A. 2000. Some factors affecting the behavioral manifestation of oestrus in cattle: A review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 70:1–16.
- Orihuela, A. and Galina, C. S. 2019. Effects of separation of cows and calves on reproductive performance and animal welfare in tropical beef cattle. *Animals* 9(5):223.
- Peel, D., Johnson, R. and Mathews, K. 2010. *Cow-Calf Beef Production in México*. LDP-M-196-01. United States: United States Department of Agriculture, Economic Research Service.
- Peel, D., Mathews, K. and Johnson, R. 2011. *Trade, the Expanding Mexican Beef Industry, and Feedlot and Stocker Cattle Production in México*. LDP-M-206-01. United States: United States Department of Agriculture, Economic Research Service.
- Penitente-Filho, J. M. 2015. Improved in vitro production systems for bovine embryos. *CAB Reviews*, 10(48):1-14.
- Penteado, L., Barbosa, S. F., Sivieri, L. B., Decuadro, H. G., Durec, L., Alcantara, C. M. H., Goncalvez J. W. A., Machado, Z. G., Mingoti, R. D. and Baruselli, P.S. (2017). Effect of Fosfosal® supplementation on pregnancy rate at FTAI

- of suckled Nelore cows. In: Proc. 31st Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). Cabo de Santo Agostinho, PE, Brazil, August 17th to 19th, 2017. pp. 687.
- Perry, G. A., Smith, M. F., Lucy, M. C., Green, J. A., Parks, T. E., MacNeil, M. D., Roberts, A. J. and Geary, T. W. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102: 5268-5273.
- Pessoa, G. A., Martini, A. P., Parmeggiani, E. B., de Lima, B. S., Pastre, G., Durell, L. and Decuadro-Hansen, G. 2017. Effect of mineral injectable supplementation with phosphorus, selenium, magnesium, copper and potassium on cyclicity resumption and pregnancy rate of *Bos taurus* or crossbred beef cows during the protocol of FTAI. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.*15(Supl.2): S269-270.
- Pessoa, G. A., Martini, A. P., Sá Filho, M. F. and Rubin, M. I. B. 2018. Resynchronization improves reproductive efficiency of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to spring-summer or autumn-winter breeding season in South Brazil. *Theriogenology*. 122:14-22.
- Phiri, E. C. G. H., Nkya, R., Pereka, A. E., Mgasas, M. N. and Larsen, T. 2007. The effects of calcium, phosphorus and zinc supplementation on reproductive performance of crossbred dairy cows in Tanzania. *Trop. Anim. Health Prod.* 39(5): 313-323.
- Rérat, M., Philipp, A., Hess, H. D. and Liesegang, A. 2009. Effect of different potassium levels in hay on acid-base status and mineral balance in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92(12):6123-6133.
- Richards, M.W., Spitzer, J.C. and Warner, M.B. 1986. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 62(2):300-306.
- Rodriguez-Martínez, H. 2012. Assisted reproductive techniques for cattle breeding in developing countries: a critical appraisal of their value and limitations. *Reprod. Domest. Anim.* 47: 21–26.
- Sales, J. N. S., Pereira, R. V. V., Bicalho, R. C. and Baruselli, P. S. 2011. Effect of

- injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (*Bos indicus* × *Bos taurus*) synchronized for timed embryo transfer. *Livest. Sci.* 142:59–62.
- Sasser, R. G., Williams, R. J., Bull, R. C., Ruder, C. A. and Falk, D. G. (1988). Postpartum reproductive performance in crude protein-restricted beef cows: return to estrus and conception. *J. Anim. Sci.* 66(12):3033-3039.
- Satapathy, D., Mishra, S. K., Swain, R. K., Sethy, K., Barik, S., Sahoo, J. K. and Boitai, S. S. 2018. Incidence of Reproductive Problems and Blood Mineral Status of Crossbred Cattle in Kakatpur Block of Odisha, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7:471-480.
- Senger, P. L. 2012. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 3rd. Ed. Redmond, Oregon, United States: Current Conception, Inc.
- Sharma, M. C., Joshi, C., Das, G. and Hussain, K. 2007. Mineral nutrition and reproductive performance of the dairy animals: a review. *Indian J. Anim. Sci.* 77(7):599-608.
- Shimada, M. A. 2003. *Nutrición Animal*. D.F, México: Editorial Trillas.
- Short, R. E. and Adams, D. C. 1988. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Can. J. Anim. Sci.* 68:29–39.
- SIAP. 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762?idiom=es>. Consultado el 28 de agosto de 2020.
- Stokes, R. S., Ralph A. R., Mickna, A. J., Chapple, W. P., Schroeder, A. R., Ireland, F. A. and Shike D. W. 2017. Effect of an injectable trace mineral at the initiation of a 14 day CIDR protocol on heifer performance and reproduction. *Transl. Anim. Sci.* 1(4):458–466.
- Stokes, R. S., Volk, M. J., Ireland, F. A., Gunn, P. J. and Shike, D. W. 2018. Effect of repeated trace mineral injections on beef heifer development and reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 96(9):3943-3954.
- Stroebech, L., Mazzoni, G., Pedersen, H. S., Freude, K. K., Kadarmideen, H. N., Callesen, H. and Hyttel, P. 2015. In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology. *Anim.*

- Reprod. 12(3):465-472.
- Suttle, N. F. 2010. Mineral Nutrition of Livestock. 4th Ed. Wallingford, United Kingdom: CAB International.
- Underwood, E. J. and Suttle, N. F. 1999. The Mineral Nutrition of Livestock. 3rd. Ed. Wallingford, United Kingdom: CAB International.
- Vanegas, J. A., Reynolds, J. and Atwill, E. R. 2004. Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3665-3671.
- Vasconcelos, J. L., Sartori, R., Oliveira, H. N., Guenther, J. G., and Wiltbank, M. C. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56(2), 307-314.
- Vedovatto, M., Moriel, P., Cooke, R. F., Costa, D. S., Faria, F. J. Cortada Neto, I. M., Bento, A. L., Rocha, R. F., Ferreira, L. C., Almeida, R. G., Santos, S. A. and Franco, G. L. 2019. Effects of a single trace mineral injection at beginning of fixed-time AI treatment regimen on reproductive function and antioxidant response of grazing Nellore cows. *Anim. Reprod. Sci.* 211:1-8.
- Velazquez, M. A. 2008. Assisted reproductive technologies in cattle: applications in livestock production, biomedical research and conservation biology. *Annu. Rev. Biomed. Sci.* 10:36-62.
- Villegas, D. G., Bolaños, M. A. y Olgún, P. L. 2001. *La Ganadería en México*. Plaza y Valdez. México, D.F.
- Vishwanath, R. 2003. Artificial insemination: the state of the art. *Theriogenology*, 59:571-584.
- Weaver, L. D. (1987). Effects of nutrition on reproduction in dairy cows. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 3(3):513–532.
- Wettemann, R. P., Lents, C. A., Cicciooli, N. H., White, F. J. and Rubio, I. 2003. Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows. *J. Anim. Sci.* 8(2):48-59.
- Wilde, D. 2006. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 96:240-249.
- Willmore, C. J., Hall, J. B., Harrison, S. and Drewnoski, M. E. 2015. Effect of a

- trace mineral injection on pregnancy rate of Angus beef heifers when synchronized using the 14-day controlled internal drug-releasing insert–prostaglandin F<sub>2α</sub> protocol at a commercial feedlot. *Prof. Anim. Sci.* 31(6): 588–592.
- Wiltbank, J. N., Rowden, W. W., Ingalls, J. E., Gregory, K. E. and Koch, R. M. 1962. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *J. Anim. Sci.* 21(2):219-225.
- Wiltbank, M. C., Gümen, A., and Sartori, R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57(1):21–52.
- Yasoithai, R. 2014. Importance of minerals on reproduction in dairy cattle. *Int. J. Sci. Environ. Technol.* 3(6):2051-2057.
- Yavas, Y. and Walton, J. S. 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, 54:25-55.
- Žust, J., Hrovatin, B. and Šimundić, B. 1996. Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet. Rec.* 139(16): 391-394.