



Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión
Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental
Escuela Profesional de Zootecnia

**Suplementación con minerales orgánicos y su efecto sobre la eficiencia
reproductiva en vaquillas Holstein**

Tesis

Para optar el Título Profesional Ingeniero Zootecnista

Autores

Milagros Haydee Jara Depaz
Carlos Alberto Zuñiga Ortega

Asesor

Dr. Carlomagno Ronald Velásquez Vergara

Huacho – Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial – Sin Derivadas - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Reconocimiento: Debe otorgar el crédito correspondiente, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se realizaron cambios. Puede hacerlo de cualquier manera razonable, pero no de ninguna manera que sugiera que el licenciante lo respalda a usted o su uso. **No Comercial:** No puede utilizar el material con fines comerciales. **Sin Derivadas:** Si remezcla, transforma o construye sobre el material, no puede distribuir el material modificado. **Sin restricciones adicionales:** No puede aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros de hacer cualquier cosa que permita la licencia.



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

LICENCIADA

(Resolución de Consejo Directivo N° 012-2020-SUNEDU/CD de fecha 27/01/2020)

**Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental
Escuela Profesional de Zootecnia**

METADATOS

DATOS DEL AUTOR (ES):		
APELLIDOS Y NOMBRES	DNI	FECHA DE SUSTENTACIÓN
Milagros Haydee Jara Depaz	73747003	22 de noviembre del 2023
Carlos Alberto Zuñiga Ortega	15721568	22 de noviembre del 2023
DATOS DEL ASESOR:		
APELLIDOS Y NOMBRES	DNI	CÓDIGO ORCID
Dr. Carlomagno Ronal Velásquez Vergara	08471692	0000-0001-7707-4591
DATOS DE LOS MIEMBROS DE JURADOS – PREGRADO/POSGRADO-MAESTRÍA- DOCTORADO:		
APELLIDOS Y NOMBRES	DNI	CODIGO ORCID
Ing. Victor Israel Tello Alarcon	15707428	0000-0003-4524-6939
M(o) Pedro Martin Rios Salazar	15591709	0000-0002-4748-5557
Dr. Sc. Guisela Mónica Rojas Tuesta	40411323	0000-0003-1801-6214

Suplementación con Minerales Orgánicos y su Efecto Sobre la Eficiencia Reproductiva En Vaquillas Holstein

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

11%

PUBLICACIONES

12%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.dspace.uce.edu.ec

Fuente de Internet

1%

2

Submitted to CSU, Chico

Trabajo del estudiante

1%

3

Submitted to Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrion

Trabajo del estudiante

1%

4

docplayer.es

Fuente de Internet

1%

5

www.scielo.br

Fuente de Internet

1%

6

Submitted to Billy Blue Group

Trabajo del estudiante

<1%

7

Submitted to Universiti Brunei Darussalam

Trabajo del estudiante

<1%

8

revista-agroproductividad.org

Fuente de Internet

<1%

TESIS

Suplementación con minerales orgánicos y su efecto sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein

Autores: Milagros Haydee Jara Depaz
Carlos Alberto Zuñiga Ortega

Asesor: Dr. Carlomagno Ronald Velásquez Vergara

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ
CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS ALIMENTARIAS Y
AMBIENTAL**

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

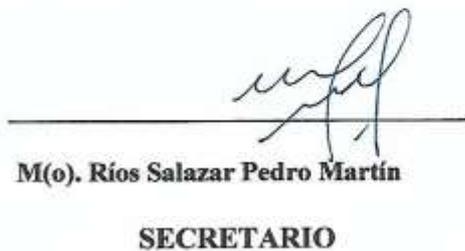
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

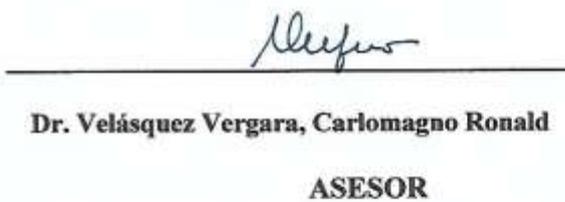
**SUPLEMENTACIÓN CON MINERALES ORGÁNICOS Y SU
EFECTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN
VAQUILLAS HOLSTEIN**

Sustentado y aprobado ante el Jurado evaluador


Ing. Tello Alarcón Víctor Israel
PRESIDENTE


M(o). Ríos Salazar Pedro Martín
SECRETARIO


Dr. Sc. Rojas Tuesta Guisela Mónica
VOCAL


Dr. Velásquez Vergara, Carlomagno Ronald
ASESOR

HUACHO – PERÚ

2023

DEDICATORIA

El presente trabajo, se lo dedicamos a Dios por habernos permitido llegar hasta este punto y habernos dado salud para lograr nuestros objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A nuestras familias, por el apoyo incondicional durante el proceso de la investigación.

A nuestro Asesor, Dr. Carlomagno Ronald Velásquez Vergara por brindarnos su apoyo y estar con nosotros en todo el transcurso de nuestra Tesis.

A los dueños de la empresa Pampa Milagrosa S.R.L. por permitirnos realizar nuestro proyecto de tesis.

Milagros Haydee Jara Depaz

Carlos Alberto, Zuñiga Ortega

AGRADECIMIENTOS

Con gran satisfacción y orgullo, dedico este trabajo de investigación a cada uno de mis familiares quienes de una u otra manera han estado presentes a lo largo de mi formación profesional, siendo mi apoyo para seguir adelante. A mi abuelo Guillermo, te extraño profundamente, y esta dedicatoria es mi pequeña forma de decirte que nunca te olvidaré. A mis padres Adolfo Jara y Justina Depaz, a mi hermana Paola; quienes con su apoyo incondicional y su motivación me han permitido llegar a alcanzar mi meta, agradecida eternamente por hacer de mí una mujer luchadora, comprometida y aguerrida, que refleja en cada accionar los valores inculcados desde el momento que llegue a formar parte de sus vidas. A mi esposo Fernando quien ha sido el pilar fundamental para llegar a culminar con éxito mi carrera, por sus palabras de aliento, por siempre estar en los momentos felices y en los más duros. A mi hija Aitana quien es mi motor principal que día a día me impulsa para seguir adelante para poder ofrecerle siempre lo mejor, querida Aitana quiero que sepas que tú eres lo más importante en mi vida y que todo es por ti.

Milagros Haydee Jara Depaz

Orgullosamente dedico este trabajo de investigación científica a mis familiares quienes fueron mi mayor fortaleza en cada día, en cada momento y durante el tiempo que pude estar en las aulas para alcanzar y lograr terminar mi carrera profesional.

A mis padres que me motivaron a seguir esforzándome, a mis hijos que fueron toda mi inspiración y mi alegría de poderles decir algún día como hoy que junto a ustedes y por ustedes pude lograr un sueño que siempre quise ser un gran profesional e ingeniero zootecnista.

Agradecido con nuestro señor que desde el cielo me brinda salud, trabajo y mucha sabiduría para resolver todos los tropiezos que me puso la vida en este camino.

Carlos Alberto Zuñiga Ortega

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto de la aplicación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein. **Metodología:** Treinta vaquillas de $18,6 \pm 2,4$ meses de edad y 394 ± 37 kg de peso corporal fueron alojadas en dos grupos experimentales de quince animales cada uno. Uno de los grupos recibió un suplemento por vía subcutánea que aportaba 20 mg de Zn, 10 mg de Cu, 2,5 mg de Se, 70 mg de vitamina E y 28.900 UI de vitamina A por mL. La aplicación fue de 1 ml por cada 50 kg de peso corporal, y la dosis se repitió a los 30 días de la primera aplicación. La detección de preñez se realizó 35 días después de la primera o segunda inseminación. Se evaluó la presentación de celo, concepción al primer servicio, número de servicios por concepción y concepción total. Los datos se analizaron mediante la prueba de proporción de la función pro test del software R. **Resultados:** No se encontraron diferencias estadísticas significativas para presentación de celo (87,7 y 60%), tasa de concepción (68,75 y 53,37%), tasa de preñez (50 y 32%) y servicios por concepción (1,45 y 1,87) y en vaquillas con y sin aplicación, respectivamente. **Conclusiones:** La suplementación no mejoró la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein.

Palabras clave: Minerales orgánicos, vaquillas, tasa de concepción, tasa de preñez, servicios por concepción.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of the application of organic minerals and fat soluble vitamins on reproductive efficiency in Holstein heifers. **Methodology:** Thirty heifers of 18.6 ± 2.4 months of age and 394 ± 37 kg body weight were housed in two experimental groups of fifteen animals each. One of the groups received a subcutaneous supplement providing 20 mg Zn, 10 mg Cu, 2.5 mg Se, 70 mg vitamin E and 28,900 IU vitamin A per mL. The application was 1 mL per 50 kg of body weight, and the dose was repeated 30 days after the first application. Pregnancy detection was performed 35 days after the first or second insemination. Estrus presentation, conception at first service, number of services per conception and total conception were evaluated. Data were analyzed using the ratio test of the pro test function of the software R. **Results:** No significant statistical differences were found for heat presentation (872.7 y and y 60%), conception rate (68.75 y and 53.37%), pregnancy rate (50 y and 32%) and services per conception (1.45 y and 1.87) and in heifers with and without application, respectively.. respectively. **Conclusions:** Supplementation did not improve reproductive efficiency in Holstein heifers.

Key words: Organic minerals, heifers, conception rate, pregnancy rate, services per conception.

INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
INDICE GENERAL.....	xi
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema.....	3
1.2.1 Problema general.....	3
1.2.2 Problemas específicos.....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Justificación de la Investigación.....	4
1.5 Delimitación del estudio.....	4
1.6 Viabilidad del Estudio.....	5
CAPITULO II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
1.7 Antecedentes de la investigación.....	6
1.8 Bases teóricas.....	8
1.8.1 Fisiológica de los oligoelementos en estudio relacionados con la reproducción.....	8
1.8.2 Fisiología de las vitaminas en estudio relacionados con la reproducción.....	16
1.9 Definición de términos básicos.....	20
1.10 Hipótesis de investigación.....	21
1.10.1 Hipótesis general.....	21
1.10.2 Hipótesis específicas.....	21
1.11 Operacionalización de las variables.....	22
CAPITULO III. METODOLOGIA.....	23

1.12	Gestión del experimento.....	23
1.12.1	Ubicación.....	23
1.12.2	Características del área experimental	23
1.12.3	Tratamientos	23
1.12.4	Diseño experimental.....	24
1.12.5	VARIABLES EVALUADAS	24
1.12.6	Conducción del experimento	25
1.13	Técnicas para el procesamiento de la información.	26
CAPITULO IV. RESULTADOS		28
1.14	Presentación de celos	28
1.15	Tasa de Concepción	28
1.17.	Número de servicios por concepción	30
CAPITULO V. DISCUSIÓN		32
1.16	Presentación de celo	32
1.17	Tasa de Concepción y Tasa de preñez	32
CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		34
1.18	Conclusiones	34
1.19	Recomendaciones.....	34
CAPITULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		35
ANEXOS.....		40

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efectos de la deficiencia de Zn en los procesos metabólicos asociados al crecimiento (MacDonald, 2000).....	10
Figura 2. Función antioxidante del Zn y producción de ROS iniciada por la NADPH oxidasa (Kloubert y Rink, 2015).	11
Figura 3. Interacciones ruminales entre el cobre y sus antagonistas (López-Alonso & Miranda, 2020).	13
Figura 4. Propuesta de roles de LOX en respuesta a diferentes factores (Wei et al., 2020). β APN, β -aminopropionitrilo; β FGF, factor de crecimiento de fibroblastos β ; BMP-1, proteína morfogenética ósea-1; ECM, matriz extracelular; FSH, hormona folículo-estimulant	14
Figura 5. Vías generales de absorción de Se, síntesis hepática de SePP1 y distribución a diversos órganos (Shini et al., 2015).	15
Figura 6. Protección celular del Se estabilizando el hidropéroxido.	16
Figura 7. El AR y el FGF9 actúan de forma antagónica para determinar el destino de las células germinales (Bowles et al., 2010).	18
Figura 8. Comparación de la entrada de radicales libres en un sistema con y sin defensa antioxidante (Garcia et al., 2022).	19
Figura 9. Protección celular de la vitamina E estabilizando el hidropéroxido.	20
Figura 10. Línea de tiempo del tratamiento sin aplicación (A) y con aplicación (B) de la suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles a vaquillas primerizas y su efecto sobre la eficiencia reproductiva.....	26
Figura 11. Efecto de suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre la presentación de celos en vaquillas Holstein.....	28
Figura 12. Efecto de la aplicación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre la concepción al primer servicio en vaquillas Holstein .. ¡Error! Marcador no definido.	

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Información total de la investigación.....	41
Anexo 2. Funciones y corridas de las estadísticas de proporciones	41

INTRODUCCION

La ganadería en el Perú es una actividad económica muy importante del 80% de familias campesinas que viven en las zonas alto andinas. La problemática de la ganadería bovina nacional está referida principalmente a su baja productividad, acompañada de una reducida rentabilidad de la actividad. (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2008). La ganadería bovina viene a ser la segunda actividad económica más importante del sector agropecuario, aporta el 11.5% del valor de la producción, leche 3.8% y carne 7.7% (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2008).

Uno de los principales problemas que se observa en la ganadería lechera de la costa central es la fluctuación en la producción de forrajes, existiendo épocas de abundancia (noviembre – mayo) y épocas de escasez (Junio – octubre) , esta variabilidad genera épocas de restricción alimenticia que origina en el animal la deficiencia de minerales y vitaminas, siendo las principales, Cobre, Selenio, Fósforo, Zinc, Manganeso y Vitaminas A, D y E, afectando principalmente la función reproductiva, generando en la vaca cuadros de anestro y disminución de la tasa de concepción.

El Cobre, Selenio, Fósforo, Zinc, Manganeso y las Vitaminas A, D y E son necesarias para garantizar una buena función reproductiva en la hembra. Diversos estudios efectuados demuestran que la incorporación y/o aplicación de estos micronutrientes en la vaca mejora la presentación de celos, ovulación y supervivencia del embrión.

En el mercado se encuentra a disposición de los ganaderos, diversos productos orgánicos a base de minerales y vitaminas inyectables que están indicados para mejorar la eficiencia reproductiva, como los compuestos a base de selenio, cobre y zinc, cuya eficiencia en el campo no ha sido demostrada fehacientemente. Por esta razón, este proyecto tiene por objetivo evaluar el efecto de los minerales orgánicos sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas.

CAPITULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

La ganadería lechera en la costa central peruana enfrenta problemas de disponibilidad de forrajes, con temporadas de abundancia entre los meses de noviembre a mayo y épocas de escasez entre los meses de junio a octubre. Durante los meses de escasez, el forraje suministrado varía de especie y calidad nutricional. Por lo general, el ganadero asegura el aporte mínimo de fibra, pero descuida nutrientes cuantitativamente insignificantes, pero cualitativamente determinantes sobre la producción animal.

El cobre y el zinc son ampliamente deficientes en los forrajes, mientras que el contenido de selenio es bastante variable, ya que algunos lugares tienen deficiencias extremas y en otros son suficientes (Willmore et al., 2021), mientras que las vitaminas liposolubles como el ADE son aportadas por los ingredientes del concentrado o de los glicolípidos presentes en los forrajes (McDonald et al., 2010). Los microminerales y vitaminas liposolubles antes mencionados intervienen en procesos claves durante la etapa reproductiva de la hembra, y su deficiencia puede afectar su rendimiento reproductivo (Clagett-Dame & Knutson, 2011; Md Amin et al., 2022).

Los factores de manejo importantes a considerar cuando se preparan vaquillas para lograr la preñez incluyen un eficiente plan de nutrición (Kirchhoff, 2015). Animales deficientes en nutrientes priorizarán su metabolismo basal antes que el ciclo estral y la reproducción (Short et al., 1990), además, las vacas lecheras actuales experimentan un considerable estrés oxidativo debido a sus elevadas tasas metabólicas, lo que se traduce en una susceptibilidad a los patógenos de las enfermedades (Jin et al., 2014) y deficiencia reproductiva.

El suministro de microminerales a través del alimento, a menudo no satisfacen las necesidades del ganado bovino, por lo que se complementan a través de minerales de libre elección o bloques nutricionales (Arthington et al., 2014). Sin embargo, la biodisponibilidad de las fuentes de microminerales puede variar debido a las interacciones con otros minerales y componentes del alimento dentro del tracto gastrointestinal (Spears, 2003). Suplementar microminerales y vitaminas liposolubles vía inyectable ofrece la oportunidad de suplementar nutrientes que pasan completamente por

el tracto gastrointestinal y, por tanto, evitan las complejas interacciones ruminales (Stokes et al., 2017).

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles influye sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein, en el establo Pampa Milagrosa, durante el año 2019?

1.2.2 Problemas específicos

¿La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles influye sobre la presentación de celos en vaquillas Holstein?

¿La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles influye sobre la concepción al primer servicio en vaquillas Holstein?

¿La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles influye sobre el número de servicios por concepción en vaquillas Holstein?

¿La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles influye sobre el porcentaje de concepción total en vaquillas Holstein?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein.

1.3.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre la presentación de celos en vaquillas Holstein.

Evaluar el efecto de la suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre la concepción al primer servicio en vaquillas Holstein.

Evaluar el efecto de la suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre el número de servicios por concepción en vaquillas Holstein.

Evaluar el efecto de la suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre el porcentaje de concepción total en vaquillas Holstein.

1.4 Justificación de la Investigación

La eficiencia reproductiva es el principal componente de una explotación de ganado bovino lechero económicamente eficiente y puede estar influenciada por una serie de factores como la raza, la edad, la salud y la nutrición (Guirado, 2018). En vaquillas primerizas, su eficiencia reproductiva será medida por la tasa de concepción a la inseminación artificial (IA) de un solo servicio, por el número de concepciones por el número de inseminaciones y por la tasa de concepción (Kirchhoff, 2015). Estos parámetros pueden predecir si las novillas serán capaces de producir terneros más viables y rentables al destete en su primera temporada reproductiva.

El principal cuello de botella de la eficiencia reproductiva es la nutrición (Guirado, 2018). Considerando los componentes de la dieta, los microminerales y vitaminas liposolubles tendrían un gran impacto en la eficiencia reproductiva del ganado vacuno lechero. Sin embargo, una de las principales desventajas del uso de suplementos minerales en la dieta es que pueden no ser absorbidos adecuadamente debido a las interacciones con otros nutrientes a nivel ruminal (Suttle, 2010), por lo que el uso de inyectables con minerales traza es una alternativa de interés.

1.5 Delimitación del estudio

La presente investigación se realizó en el establo Pampa Milagrosa S.R.L. ubicada en el Distrito de Santa María, Provincia de Huaura, Región de Lima. Comprendió la evaluación reproductiva relacionado a la presentación de celos, porcentaje de concepción, número de servicios /concepción en las vaquillas entre los meses de junio a agosto del 2019.

1.6 Viabilidad del Estudio

El estudio con los recursos humanos y financieros; y se tiene la autorización del dueño del estable para su ejecución.

CAPITULO II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.7 Antecedentes de la investigación

Willmore et al. (2021) determinaron los efectos de un oligoelemento inyectable (que contiene cobre, manganeso, selenio y zinc) sobre el estado de los oligoelementos y los impactos resultantes en la reproducción de las vacas de carne y el crecimiento de sus terneros. Las vacas de carne fueron asignadas a recibir oligoelementos o ninguna inyección antes del parto y la reproducción durante dos años consecutivos. Los terneros nacidos de vacas que recibieron oligoelementos también recibieron al nacer en ambos años y a los $49 \pm 1,3$ días de edad en el año 1. La aplicación de oligoelementos aumentó el Zn hepático y tendió a aumentar las concentraciones de Cu en el hígado. Se observaron efectos de corta duración de la aplicación de oligoelementos sobre el Se. El Cu y el Zn hepáticos se consideraron adecuados y el Se marginal en las vacas control. La preñez por IA y la tasa global de preñez no difirieron entre los tratamientos. La aplicación de oligoelementos no aumentó la ganancia de los terneros antes del destete. Estos datos indican que la aplicación de oligoelementos no mejora el rendimiento reproductivo de las vacas de carne con un estado adecuado de minerales traza ni el rendimiento predestete de sus terneros.

Guirado (2018) evaluó el rendimiento reproductivo en vacas alimentadas con minerales traza complejos frente a minerales traza inorgánicos. En este estudio, 68 vacas se dividieron por igual en grupos de vacas alimentadas con minerales traza complejos (tratamiento) y de vacas alimentadas con minerales traza inorgánicos (control). Las vacas comenzaron a ser alimentadas 30 días antes de la IA. Veintiocho días después de la IA (día 28), se diagnosticó la preñez de todas las vacas y se retiraron del experimento las que no estaban preñadas. Aunque las tasas de preñez no difirieron entre el tratamiento y el control, las vacas alimentadas con oligoelementos complejos tuvieron una mayor recuperación de ovocitos y una producción de embriones in vitro más eficiente. El investigador concluye que la suplementación de las vacas de carne con una fuente compleja de minerales traza mejora la eficiencia reproductiva en comparación con las vacas alimentadas con una fuente inorgánica de minerales traza.

Stokes et al. (2017) evaluaron los efectos de minerales traza inyectable administrado al inicio de un protocolo de liberación intravaginal controlada (Controlled Intravaginal Drug Release: CIDR) de 14 días sobre el rendimiento y la reproducción de

las novillas de tres diferentes genotipos. Las inyecciones de minerales traza se administraron 33 días antes del inicio del protocolo CIDR. Las novillas del grupo control recibieron una inyección salina, mientras que al grupo tratamiento se les inyectó la dosis 1 ml/68 kg de peso corporal. En el grupo de vaquillas Angus las tasas de preñez fueron similares entre los tratamientos; en el grupo de vaquillas Angus × Simmental se observó una tendencia a que las novillas suplementadas con minerales traza tuvieran una mayor tasa de preñez en la IA (62 vs. 45%), mientras que en el grupo Angus comercial tampoco se observó mejoras en la tasa de preñez. La respuesta variable observada en los distintos genotipos se debería a las diferencias de raza, época de parto, fuentes de minerales y estrategias de manejo.

Kirchhoff (2015) evaluó el uso de un producto de minerales traza inyectable, además de un programa de minerales en la dieta, en el éxito reproductivo de novillas de un año, basándose en la hipótesis de que, cuando las necesidades de minerales traza en la dieta están cubiertas, el uso de un producto inyectable de minerales traza en las novillas en desarrollo no afectaría a las tasas de preñez en la IA a tiempo fijo (IATF) de servicio único. Las novillas con minerales traza tuvieron mayores tasas de preñez (51,28%) que las novillas control (25,58%). El porcentaje de novillas con minerales traza (30,77%) y control (47,50%) que mostraron un comportamiento estral antes IATF, no fue diferente entre los tratamientos. La conclusión es que, a pesar de que los requerimientos de minerales traza en la dieta se cumplieron, el uso de una inyección de minerales traza mejoró las tasas de preñez después de la IATF, pero no afectó el comportamiento del estro.

Sales et al. (2011) evaluaron el efecto de la suplementación con oligoelementos inyectables (100 mg de zinc, 100 mg de manganeso, 50 mg de cobre y 25 mg de selenio) sobre el número de novillas sincronizadas con éxito, y sobre las tasas de concepción y de pérdida de preñez de las receptoras de embriones sometidas a protocolos de transferencia programada de embriones (TET). La administración subcutánea de oligoelementos no aumentó el número de novillas sincronizadas con éxito en comparación con los controles no inyectados. Sin embargo, las novillas pertenecientes al grupo oligoelementos tenían una probabilidad 1,58 veces y 1,72 veces mayor de estar preñadas entre los 23 y 48 días después del TET en comparación con el grupo control, respectivamente. Por el contrario, el tratamiento con oligoelementos no redujo la tasa de pérdida de preñez. Aunque la

administración subcutánea de oligoelementos 17 días antes de la TET no aumentó el número de novillas sincronizadas con éxito, se observó un aumento significativo en la tasa de concepción (supervivencia del embrión) a los 23 y 48 días después de la TET en las novillas del grupo oligoelementos.

Vanegas et al. (2004) evaluaron los efectos de una o dos dosis de un suplemento mineral traza inyectable que contenía 20 mg/ml de zinc, 20 mg/ml de manganeso, 5 mg/ml de selenio y 10 mg/ml de cobre en la tasa de concepción de primer servicio. Las vacas del experimento 1 recibieron una dosis única y las del experimento 2 recibieron una dosis doble. En el experimento 1, las vacas de 38 a 45 días de lactación recibieron una dosis única de 5 ml de suplemento inyectado, mientras que en el experimento 2, las vacas y novillas preñadas recibieron una inyección inicial de 5 ml del suplemento mineral de 2 a 3 semanas antes del parto, repitiéndose una dosis igual de 38 a 45 d en la lactancia. En el experimento 1, las probabilidades de concepción (26,8 y 27,5% para el suplemento mineral y control, respectivamente) no fueron significativamente diferentes. En el experimento 1, las probabilidades de concepción en el primer servicio fueron significativamente menores (odds ratio = 0,66) para las vacas y novillas que recibieron el régimen de 2 dosis de minerales en comparación con los controles. Las tasas globales de concepción fueron del 21,5 y el 31,5% para los grupos de tratamiento y control del experimento 2, respectivamente. En este rebaño lechero de gestión intensiva, una única dosis de oligoelementos inyectados antes de la cría no tuvo efectos beneficiosos sobre la tasa de concepción en el primer servicio. Sin embargo, las vacas lecheras que recibieron una dosis de oligoelementos antes del parto y otra dosis antes de la IA tuvieron una menor concepción en el primer servicio.

1.8 Bases teóricas

1.8.1 Fisiológica de los oligoelementos en estudio relacionados con la reproducción

Según Overton y Yasui (2014), los principales oligoelementos de interés en las dietas para el ganado lechero incluyen al zinc (Zn), cobre (Cu), selenio (Se) y manganeso (Mn), existiendo evidencia que estos minerales pueden modular aspectos del metabolismo oxidativo y la función inmunológica en el ganado lechero, particularmente durante el período de transición y la lactancia temprana. Estos minerales son esenciales en funciones clásicamente definidas como componentes de enzimas y proteínas

antioxidantes clave (McDonald et al., 2010). A continuación, se describirán el metabolismo del Zn, Cu y Se en el organismo animal.

a. Zinc

El zinc (Zn) es un micromineral esencial en la nutrición del ganado lechero (Wenner et al., 2022), pero la incapacidad del organismo para almacenarlo hace necesario un suministro dietético constante para evitar la deficiencia (Ianni et al., 2020). Las sales iónicas como el sulfato de Zn (ZnSO_4) son altamente solubles y se disocian en iones de Zn elemental (Zn^{2+}) y sulfato (SO_4^{2-}) rápidamente en un entorno acuoso como el rumen (Wenner et al., 2022), mientras que las fuentes de minerales traza con fuertes enlaces covalentes, como los hidroxiclорados, pueden evitar que el metal se libere temprana y rápidamente en el tracto digestivo (Goff, 2018). Los quelatos de Zn-aminoácidos han demostrado que cambian los microbiomas del rumen en comparación con el ZnSO_4 (Ishaq et al., 2019), mientras que los minerales traza de hidroxiclорuro han demostrado que afectan positivamente a la digestibilidad de la fibra en vacas (Miller et al., 2020). Tanto los quelatos como el hidroxiclорuro de Zn pueden tener una mejor biodisponibilidad intestinal en comparación con las fuentes inorgánicas (Shaeffer et al., 2017) debido, posiblemente, a que el Zn unido covalentemente evita reacciones antagónicas, lo que resulta en una menor unión del mineral a la digesta en contraste con los minerales traza de sulfato (Caldera et al., 2019).

Según MacDonald (2000) la deficiencia de Zn en los animales se caracteriza por la inhibición del crecimiento y la disminución de la ingesta de alimentos (Figura 1). En ratas, la reducción de la ingesta de alimentos se produce a los 4-5 días de consumir una dieta pobre en Zn (Giugliano y Millward 1984), por lo que un déficit energético podría explicar el deterioro del crecimiento. Sin embargo, la alimentación forzada de ratas con una dieta pobre en zinc no logró corregir el crecimiento y agravó los síntomas clínicos de la deficiencia (Park et al. 1986). El crecimiento se produce mediante la división celular y requiere la síntesis de ADN, ARN y proteínas, por lo que el fracaso de la corrección del crecimiento con el aumento de la ingesta de alimentos sugiere que el crecimiento es la primera función limitante del Zn (MacDonald, 2000). El Zn participa como cofactor de muchas enzimas e influye en la expresión genética a través de los factores de transcripción

(Wu y Wu 1987). La hormona de crecimiento y el factor de crecimiento similar a la insulina 1 se ven afectados por la deficiencia de Zn, así como las vías de señalización de las hormonas mitógenas que dirigen específicamente la proliferación celular (MacDonald, 2000).

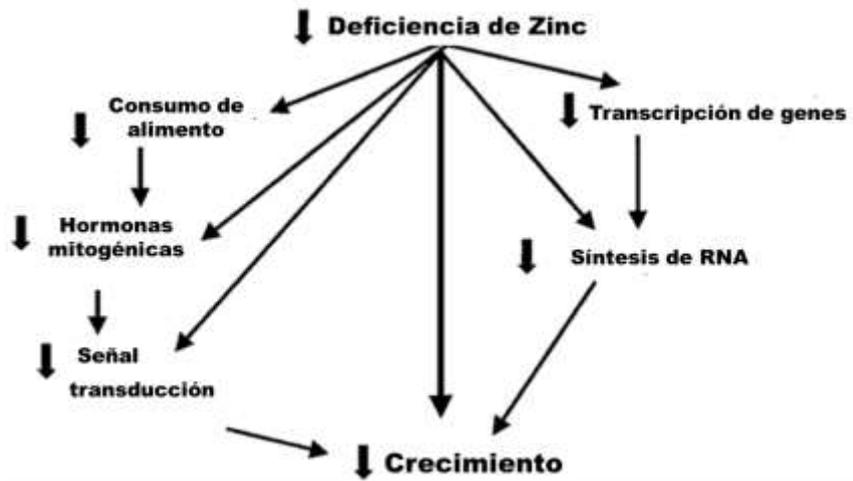


Figura 1. Efectos de la deficiencia de Zn en los procesos metabólicos asociados al crecimiento (MacDonald, 2000).

El Zn también tiene efectos antioxidantes, tal como lo describen Kloubert & Rink (2015) (Figura 2):

La NADPH oxidasa localizada en la membrana se encuentra predominantemente en la membrana de las vesículas que engullen patógenos dentro de los fagocitos. La NADPH oxidasa es capaz de generar radicales superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) mediante el uso de oxígeno (O_2) y NADPH citosólico y puede ser suprimida por el Zn. Posteriormente, el $\cdot\text{O}_2^-$ puede ser desmutado por la superóxido dismutasa, que utiliza el Zn como cofactor, formando peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que, a su vez, puede transformarse en el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) bajo participación del hierro, en ácido hipocloroso (HOCl) por la mieloperoxidasa, en agua y moléculas de oxígeno por la actividad de la catalasa, o en glutatión mediante la formación de agua y disulfuro de glutatión (GSSG) por la glutatión peroxidasa (GPx) con la posterior transformación en el GSH final con la ayuda de la glutatión reductasa (GSR). $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$ y H_2O_2 representan ROS y se indican con flechas rojas. El Zn podría ser responsable

de la disminución de la actividad de la GPx y la catalasa, por la disminución de la desintoxicación de H₂O₂.

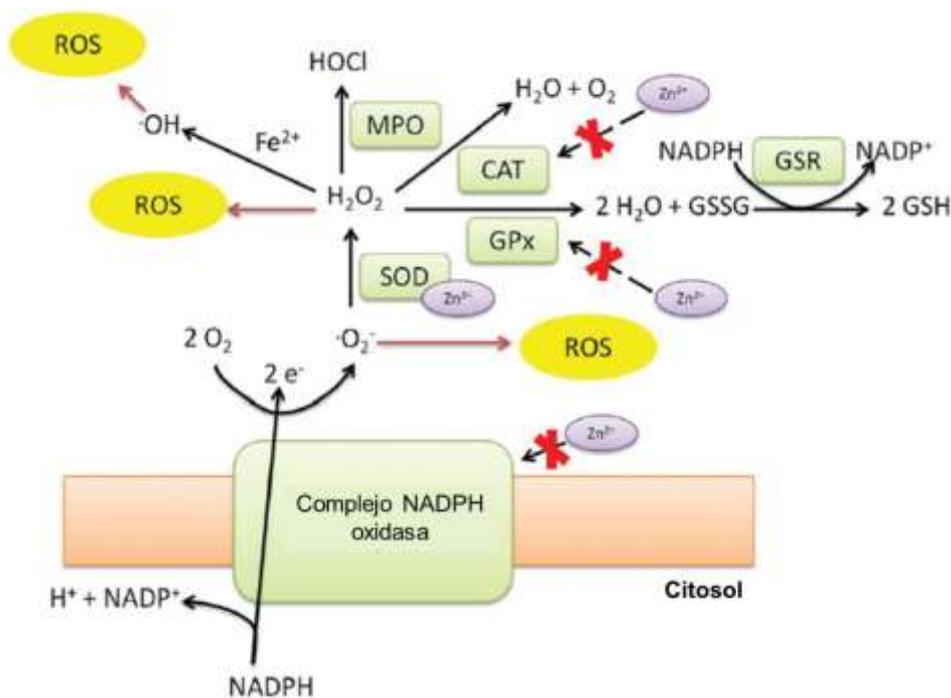


Figura 2. Función antioxidante del Zn y producción de ROS iniciada por la NADPH oxidasa (Kloubert y Rink, 2015).

b. Cobre

El cobre (Cu) es un elemento esencial para la vida y es necesario como cofactor en cientos de reacciones enzimáticas implicadas en la producción de glóbulos rojos, la fabricación de energía, la formación de hormonas, la síntesis de colágeno y la protección contra el daño oxidativo (López-Alonso & Miranda, 2020). Por otro lado, el Cu puede ser extremadamente tóxico cuando está presente en exceso (Mercer, 2001).

El suministro de Cu no es sencillo en los rumiantes. Otros elementos de la dieta, como el hierro (Fe) y el molibdeno (Mo), en combinación con el azufre (S), pueden interferir con la disponibilidad, la absorción y la función del Cu (Clarkson & Kendall, 2022). López-Alonso & Miranda (2020) manifiestan:

La triple interacción entre el Cu, Mo y S en el rumen hace que los rumiantes, sean muy susceptibles de sufrir una deficiencia secundaria de Cu; mientras que

el almacenamiento excesivo de Cu en el hígado para evitar la deficiencia se convierte en un peligro cuando los rumiantes son alimentados con dietas suplementadas con Cu, incluso ligeramente por encima de las necesidades. Estudios de seguimiento realizados sobre numerosas muestras recogidas de animales sacrificados han demostrado que un gran número de animales tienen concentraciones de Cu hepático muy por encima de los niveles adecuados en muchos países diferentes. Estas tendencias se deben, sin duda, a la suplementación de Cu destinada a prevenir la deficiencia de Cu, ya que es poco probable que la ingesta de Cu en la dieta a partir de los pastos cause niveles tan altos de acumulación en el tejido hepático. La sobrealimentación de Cu en el ganado está relacionada tanto con un escaso conocimiento del metabolismo del Cu como con la teoría de "si añadir un poco produce una respuesta, entonces añadir mucho producirá una respuesta mejor". A diferencia de la mayoría de los oligoelementos, el Cu en los rumiantes tiene estrechos márgenes de seguridad, que también deben formularse teniendo en cuenta las concentraciones de antagonistas del cobre en la dieta. (p.1).

El metabolismo del Cu dentro del rumen y la interacción entre el Cu, Mo y S, puede afectar a la salud (Dias et al., 2013). Esta interacción no competitiva conduce a un nivel de absorción intestinal del Cu mucho menor (que oscila entre el <1 y el 10%) que en las especies no rumiantes y en los terneros prerrumiantes (hasta el 70% (Spears, 2003)), pero que varía mucho en función de la presencia relativa de los antagonistas del Cu.

El S y el Mo reaccionan para formar tiomolibdatos (mono, di, tri y tetratiomolibdatos), que se unen fuertemente al Cu (los tri- y tetratiomolibdatos se unen al Cu de forma irreversible) para formar tiomolibdatos de Cu (López-Alonso & Miranda, 2020; Figura 3). Si no hay suficiente Cu en el lugar donde se forman los tiomolibdatos para "destoxificarlos", pueden ser absorbidos en la circulación sistémica, formando complejos con el Cu contenido en los compuestos biológicos, haciéndolos biológicamente inactivos (Clarkson et al., 2019). Una vez dentro de la célula tienen el potencial de interrumpir el transporte de Cu a través de la unión al Cu localizado en las chaperonas, transportadores y enzimas de Cu (Suttle, 2012).

Si no hay suficiente Cu en el rumen, el MoS₄ pasa al torrente sanguíneo y se une a las cuproenzimas, bloqueándolas.

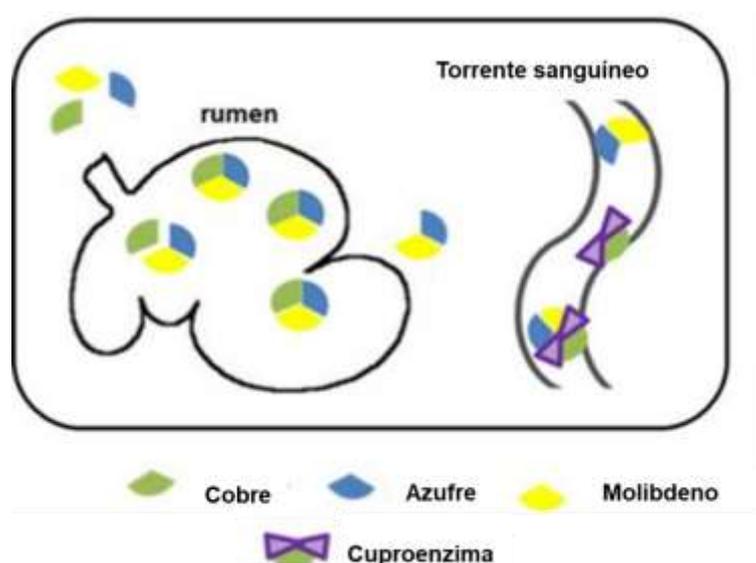


Figura 3. Interacciones ruminales entre el cobre y sus antagonistas (López-Alonso & Miranda, 2020).

La subfertilidad que responde a una suplementación adecuada de cobre se caracteriza por la reducción o ausencia de celo y la reducción de las tasas de concepción (Kendall et al., 2003). La subfertilidad que responde al cobre es el resultado de la perturbación del patrón normal de crecimiento y desarrollo de los folículos ovulatorios, un efecto que puede estar mediado, al menos en parte, por la actividad de la lisil oxidasa (Kendall et al., 2003). Las proteínas lisil oxidasas (LOX) son aminas oxidasas secretoras que contribuyen a la formación de la matriz extracelular (ECM) de forma dependiente del cobre (Finney et al., 2014).

Según Wei et al. (2020), la regulación de LOX se produce a múltiples niveles, incluyendo el nivel transcripcional y traslacional, y tras la activación de la enzima tanto intracelular como extracelular. Estas regulaciones y reacciones se correlacionan con la transformación de la matriz extracelular durante la embriogénesis y conducen a cambios en la adhesión y proliferación celular, que se corresponden con el desarrollo de los órganos (Figura 4).

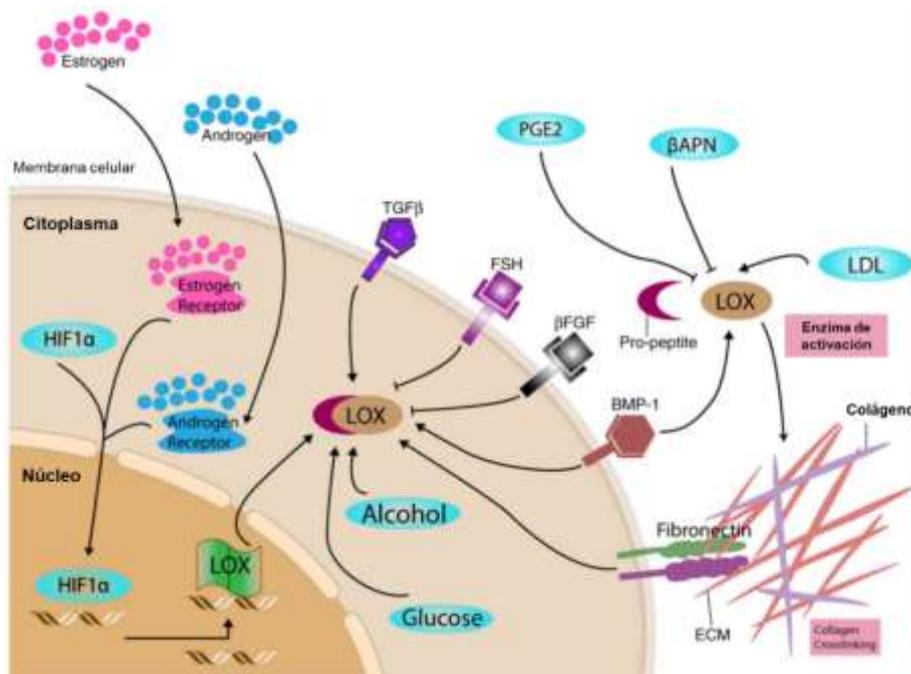


Figura 4. Propuesta de roles de LOX en respuesta a diferentes factores (Wei et al., 2020). β APN, β -aminopropionitrilo; β FGF, factor de crecimiento de fibroblastos β ; BMP-1, proteína morfogenética ósea-1; ECM, matriz extracelular; FSH, hormona folículo-estimulante

c. Selenio

El selenio (Se) es uno de los oligoelementos esenciales que influyen en la función fisiológica y el crecimiento de los animales (Ferro et al., 2021). En la alimentación animal, los aditivos de Se se dividen en 2 formas principales: Se orgánico y Se inorgánico. Según Gu et al. (2022), el Se orgánico es más eficaz que el Se inorgánico para aumentar el rendimiento del crecimiento, el estado antioxidante y la concentración de Se en los tejidos, principalmente debido a su mayor biodisponibilidad y retención en los tejidos.

En la figura 5 se muestra un resumen del metabolismo del Se. Según Shini et al. (2015):

La absorción del Se se produce en el intestino delgado, donde se absorben fácilmente tanto las formas inorgánicas como las orgánicas del Se. El selenito se absorbe de forma pasiva a través de la pared intestinal, mientras que el selenato,

así como las formas orgánicas de Se se absorben por transporte activo. El Se se distribuye por todo el cuerpo, desde el hígado hasta el cerebro, el páncreas y los riñones, observándose mayores concentraciones en el hígado y los riñones. El Se es transportado en la sangre por la selenoproteína P (SePP1) y la glutatión peroxidasa extracelular (GSH-Px). Tras el recambio proteico, el Se liberado puede reciclarse a través de la circulación enterohepática o excretarse principalmente por la orina y las heces. (p.1278).

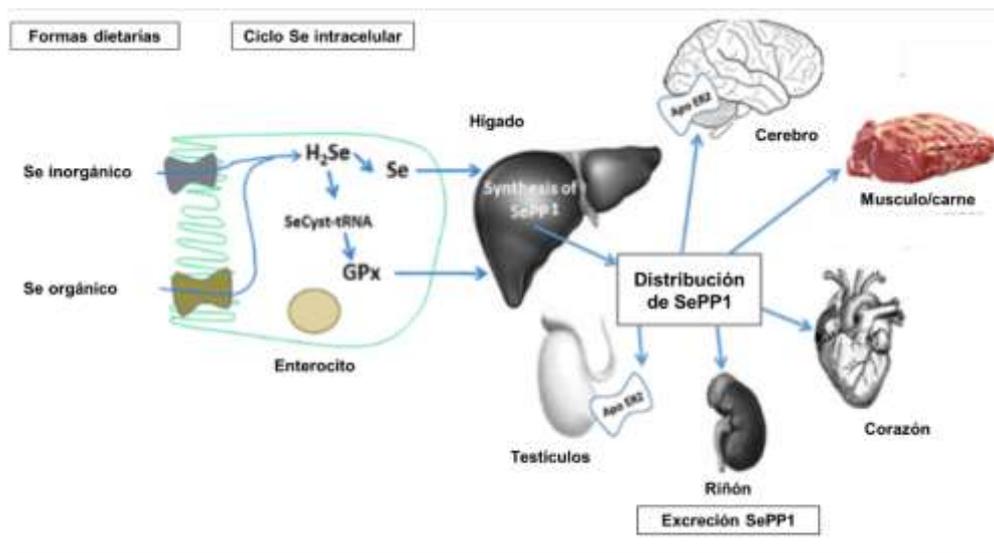


Figura 5. Vías generales de absorción de Se, síntesis hepática de SePP1 y distribución a diversos órganos (Shini et al., 2015).

El Se es un metaloide y ejerce sus funciones biológicas principalmente a través de las selenoproteínas. Según Wen-Hsing & Xin (2017):

Las selenoproteínas incluyen tres familias de enzimas (glutatión peroxidasa, tiorredoxina reductasas y yodotironina deiodinasas), proteínas similares a la tiorredoxina, del retículo endoplásmico y otras con funciones relacionadas con el transporte y el almacenamiento del Se. Tanto la deficiencia como el exceso de Se afectan a la expresión de las selenoproteínas. Las incidencias de deficiencia y toxicidad de selenio en animales y humanos suelen estar bien correlacionadas con los contenidos de selenio disponibles en el suelo asociados a su entorno vital, y las formas químicas del Se afectarán su absorción, retención y utilización en la dieta. (p.449).

El Se forma parte de las glutatión peroxidadasas (GPx), una de las enzimas más importantes de defensa antioxidante del organismo animal (Mehdi & Dufrasne, 2016), por lo que puede desempeñar un papel en el mantenimiento de la función normal del sistema reproductor de la hembra (Md Amin et al., 2022). La GPx está presente en el citosol y en las mitocondrias, y tiene un alto grado de afinidad por el H_2O_2 en comparación con la catalasa (Valko et al., 2007), además de descomponer el peróxido lipídico (Higuchi, 2014). La figura 6 muestra la actividad antioxidante del Se como parte de la enzima GPx.

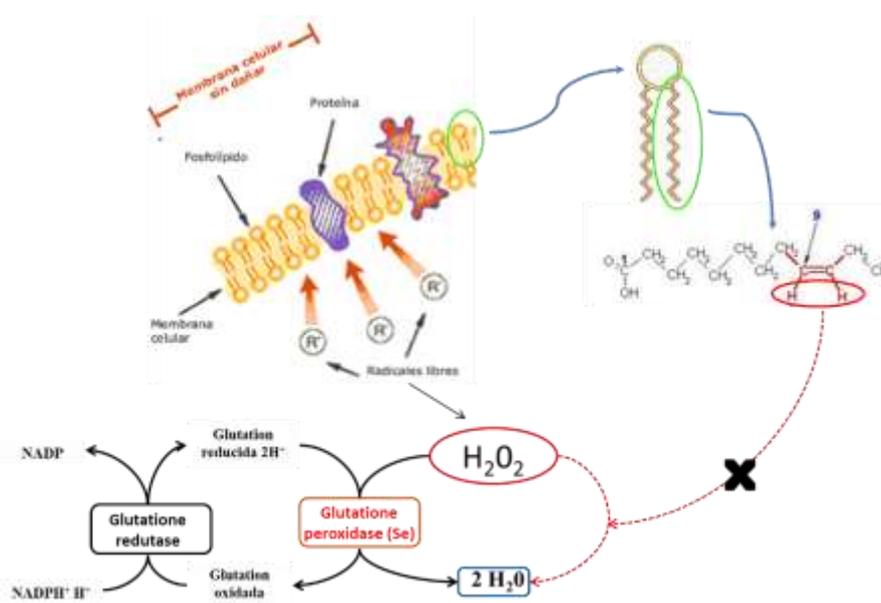


Figura 6. Protección celular del Se estabilizando el hidroperóxido.

1.8.2 Fisiología de las vitaminas en estudio relacionados con la reproducción

a. Vitamina A

Los rumiantes obtienen vitamina A en la dieta a partir de fuentes vegetales (McDonald et al., 2010). La vitamina A y su precursor, el betacaroteno, son conocidos por sus efectos sobre la visión, el crecimiento celular normal, las células epiteliales y, por tanto, la integridad y estabilidad de la superficie de la mucosa (Jin et al., 2014). Algunos estudios han demostrado que la vitamina A puede mejorar los sistemas de defensa antioxidante contra el estrés oxidativo (Kleczkowski et al., 2004). Sordillo et al. (1997) indicaron que la vitamina A tiene efectos estimulantes sobre las poblaciones de células inmunitarias y se ha correlacionado con un aumento general de la resistencia a las enfermedades.

En la hembra, el efecto de la deficiencia de vitamina A sobre el resultado reproductivo depende del momento en que se impone la deficiencia, así como de su gravedad (Clagett-Dame & DeLuca, 2002). Ratas hembras con deficiencia de vitamina A siguen ovulando y formando cuerpos lúteos de forma irregular o a intervalos normales; sin embargo, se encuentran óvulos degenerados en la última porción de la trompa y no hay pruebas de que se haya producido la blastogénesis (Clagett-Dame & Knutson, 2011).

Cuando se suministran cantidades limitadas de carotenoide provitamina A a ratas hembras deficientes en vitamina A antes del apareamiento, se produce una deficiencia materna de vitamina A menos grave que permite que se produzca la fecundación y la implantación, pero a menudo se produce la muerte embrionaria a mitad de la gestación (Warkany & Schraffenberger, 1946). La vitamina A materna también desempeña un papel en el desarrollo y/o mantenimiento de la placenta. El estado relativo de la vitamina A en la hembra, tanto en el momento de la concepción como a lo largo de la preñez, es un factor determinante en el resultado reproductivo, y su deficiencia puede conducir a un fallo completo de la reproducción antes de la implantación o a la reabsorción o malformación del feto (Clagett-Dame & Knutson, 2011).

Actualmente se considera que el ácido retinoico todo-trans (AR) es la forma de vitamina A que favorece la reproducción masculina y femenina, así como el desarrollo embrionario (McDonald et al., 2010). La generación de espermatozoides y ovocitos requiere que las células germinales se sometan a la meiosis, el proceso en el que las células diploides dan lugar a células haploides (Clagett-Dame & Knutson, 2011). En la hembra, las células germinales entran en meiosis I durante la embriogénesis, mientras que en el varón este proceso se produce de forma postnatal. Según Bowles et al. (2010) el destino sexual de las células germinales está determinado por dos moléculas de señalización producidas por las células somáticas de la gónada, FGF9 y RA. Cyp26b1 y Fgf9 se expresan en gran medida en los testículos (azul) pero se regulan a la baja en el ovario (rosa). Dado que CYP26B1 degrada la AR endógena, los niveles de AR son bajos en los testículos, mientras que los niveles de FGF9 son altos. En el ovario, la AR no se degrada y los niveles de FGF9 son bajos. Tanto RA como FGF9 actúan

directamente sobre las células germinales (se muestra en el círculo blanco) para regular al alza Stra8 (RA) o para evitar su regulación al alza (FGF9) (Figura 7).

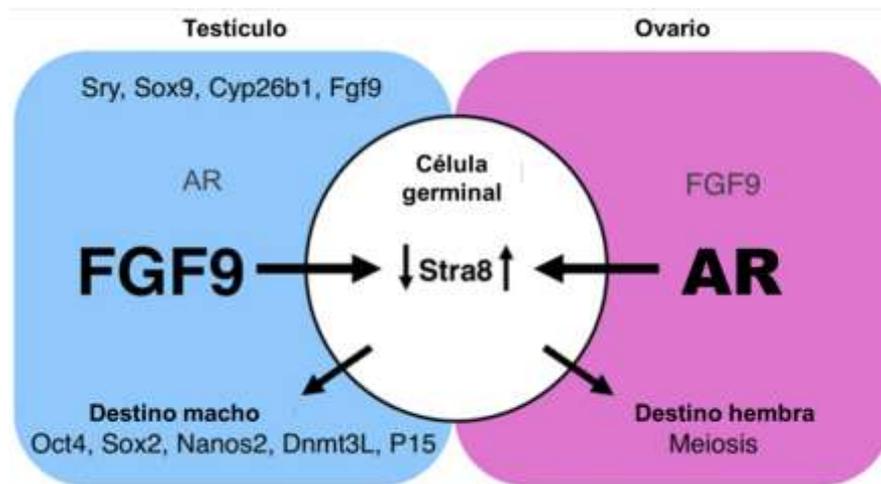


Figura 7. El AR y el FGF9 actúan de forma antagónica para determinar el destino de las células germinales (Bowles et al., 2010).

b. Vitamina E

La vitamina E se refiere a un grupo de productos naturales derivados de plantas, solubles en grasa y estructuralmente relacionados, compuestos por tocoferoles y tocotrienoles (McDonald et al., 2010). La vitamina E posee propiedades antioxidantes que contrarresta el estrés oxidativo inducido por los radicales libres del oxígeno y el desequilibrio de los niveles oxidativos-antioxidantes, por lo que puede desempeñar un papel en el mantenimiento de la función normal del sistema reproductor de la hembra (Md Amin et al., 2022).

Cuando la cantidad de radicales libres en las células supera el número de moléculas estables, se produce un aumento de la actividad oxidativa en el interior de la célula, conocida como estrés oxidativo (Garcia et al., 2022). Bajo estrés oxidativo, se forman radicales libres que afectan a las macromoléculas y dañan su estructura y función, incluyendo las proteínas y los lípidos del ADN y el ARN (McDonald et al., 2010). Garcia et al. (2022) grafican el estrés oxidativo en un sistema con y sin defensa antioxidante (Figura 8).



Figura 8. Comparación de la entrada de radicales libres en un sistema con y sin defensa antioxidante (Garcia et al., 2022).

Los radicales libres pueden afectar las funciones celulares del sistema reproductivo femenino, interrumpiendo la homeostasis intracelular y provocando provocar daños celulares (Mohd Mutalip et al., 2018). La presencia de un exceso de radicales libres puede influir en el desarrollo embrionario temprano mediante la modificación de los factores de transcripción clave que modifican las expresiones génicas (Dennery, 2004). Las altas concentraciones de radicales libres en el tracto reproductivo femenino afectarían negativamente la fertilización de los ovocitos inhibiendo la implantación embrionaria (Lee, 2004), además el estrés oxidativo está implicado en el desarrollo embrionario defectuoso y retardado debido al daño de la membrana celular, el daño del ADN y la apoptosis inducidos por el OS (Agarwal et al., 2003). La apoptosis da como resultado la formación de embriones fragmentados que tienen posibilidades limitadas de implantación y crecimiento (Jurisicova et al., 1996).

El mecanismo antioxidante puede inhibir la generación de radicales libres o anular su reactividad mediante diferentes sistemas antioxidantes que actúan contra el efecto nocivo de los radicales mediante la acción de moléculas enzimáticas y sequestradores químicos (McDonald et al., 2010). Según Garcia et al. (2022), las principales defensas contra el daño oxidativo son los antioxidantes enzimáticos, sin embargo, los antioxidantes no enzimáticos también actúan contra los radicales

libres, sacrificando su integridad molecular para evitar alteraciones moleculares (Figura 9).

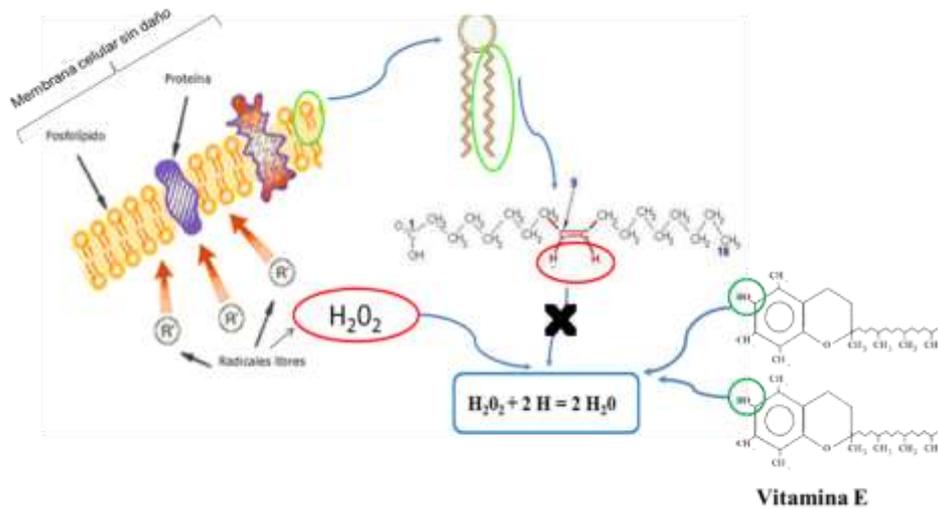


Figura 9. Protección celular de la vitamina E estabilizando el hidroperóxido.

1.9 Definición de términos básicos

Elementos traza u oligoelementos: Especies químicas presentes en los tejidos corporales en cantidades muy pequeñas.

Vitaminas liposolubles: Se disuelven en grasas como las vitaminas A, D, E, K., y se almacenan en los tejidos adiposos y en el hígado.

Minerales orgánicos: se encuentran unidos a otras moléculas orgánicas, comúnmente aminoácidos o proteínas, lo cual incrementa su biodisponibilidad, aumenta la absorción y la retención de los mismos por parte del organismo, y disminuyendo su excreción e impacto ambiental.

Cofactores: Son componentes de los complejos enzimáticos que no poseen actividad catalítica per se, sino que actúan acelerando la velocidad de reacción de la enzima presente en el complejo, asegurando una eficiencia catalítica adecuada.

Estrés oxidativo: Incremento en la concentración de las especies reactivas de oxígeno debido a la disminución o inhibición de los mecanismos antioxidantes endógenos.

Mecanismo antioxidante: Acción barredora de radicales simples de oxígeno y radicales thioil y podría estar relacionada con los procesos que involucran expresión genética y diferenciación celular.

1.10 Hipótesis de investigación

1.10.1 Hipótesis general

HGn: La suplementación parenteral de un complejo de microminerales y vitaminas liposolubles no influye sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein.

HGa: La suplementación parenteral de un complejo de microminerales y vitaminas liposolubles si influye sobre la eficiencia reproductiva en vaquillas Holstein.

1.10.2 Hipótesis específicas

HEn1: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no influye sobre la presentación de celos en vaquillas Holstein.

HEa1: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sí influye sobre la presentación de celos en vaquillas Holstein.

HEn2: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no influye sobre la concepción al primer servicio en vaquillas Holstein.

HEa2: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sí influye sobre la concepción al primer servicio en vaquillas Holstein.

HEn3: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no influye sobre el número de servicios por concepción en vaquillas Holstein.

HEa3: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sí influye sobre el número de servicios por concepción en vaquillas Holstein.

HEn4: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no influye sobre el porcentaje de concepción total en vaquillas Holstein.

HEa4: La suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sí influye sobre el porcentaje de concepción total en vaquillas Holstein.

1.11 Operacionalización de las variables

Tabla 1.

Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADORES	ESCALA
Independiente			
Suplementos orgánicos	Zinc	20 mg / ml	Variable continua
	Cobre	10 mg /ml	
	Selenio	2.5 mg/ ml	
Vitaminas	A	28.900 UI / ml	Variable continua
	E	70 mg / ml	
Dependiente			
Parámetros Reproductivos	Presentación de Celos	Nº	Variable Discontinua y continua
	Concepción al 1º Servicio	Nº	
	Servicios / Concepción	Nº	
	Concepción total	Nº	

CAPITULO III. METODOLOGIA

1.12 Gestión del experimento

1.12.1 Ubicación

La investigación se realizó en el establo lechero Pampa Milagrosa S.R.L, ubicado en el distrito de Santa María, Provincia de Huaura, Lima, entre los meses de junio a octubre del 2019.

1.12.2 Características del área experimental

- Se utilizó dos corrales de 25 x 18 (450 m²), con un área de 30 m² por vaquilla.
- El área de comedero por animal en cada corral fue de 1.42 m lineales por vaquilla.
- El bebedero de cada corral contaba con las siguientes dimensiones: 5 m de largo por 1.5 de ancho y 1 metro de profundidad.
- Los corrales contaban con sombras de columnas de palos y techo de estera. El área del techo era de 15 x 6 (90 m²), con un área de sombra por vaquilla de 6 m².

1.12.3 Tratamientos

Se utilizaron 30 vaquillas de la raza Holstein de 18.6 ± 2.4 meses de edad y peso corporal promedio de 394 ± 37 kg, que fueron distribuidas aleatoriamente en dos corrales. Quince vaquillas de uno de los corrales fueron suplementadas vía subcutánea con minerales orgánicos y vitaminas liposolubles. Los tratamientos fueron los siguientes:

Tratamiento 1: vaquillas primerizas sin suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles.

Tratamiento 2: vaquillas primerizas con suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles.

El producto utilizado fue un complejo vitamínico mineral inyectable, conocido comercialmente como Selcozinc. El contenido de minerales y vitaminas por ml fue el siguiente: 20 mg Zn, 10 mg Cu, 2.5 mg Se, 70 mg vitamina E y 28.900 UI vitamina A.

La aplicación del complejo vitamínico mineral inyectable es recomendado para ser utilizado como terapia individual en animales con signos clínicos de carencias de Selenio, Zinc, Cobre y/o Vitaminas A y E. Animales con actividad inmunológica deprimida o sujetos a stress, síndromes deficitarios, procesos de distrofia muscular en rumiantes jóvenes, retención de membranas placentarias, prevención de bovinos en zonas carenciales y entequ seco.

1.12.4 Diseño experimental

Se empleo un diseño completamente al azar con dos tratamientos y 15 réplicas por tratamiento. Cada vaquilla primeriza fue considerada como replica. El modelo aditivo lineal matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Es el i-ésimo dato del j-ésimo tratamiento

μ = Efecto común a todas las observaciones.

T_i = Efecto del i-esimo tratamiento.

ε_{ij} = Es el error experimental.

1.12.5 Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

Presentación de celos: Después de la suplementación subcutánea de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles, se realizaron observaciones diarias en todas las vaquillas evaluadas, en turnos de 0, 6, 12, 18 y 24 h., para detectar los signos de presentación de celo durante los primeros 21 días post aplicación del suplemento.

% presentación de celos = (Vaquillas que presentaron celos/total de vaquillas) x 100

Porcentaje de concepción: Relaciona la preñez con las inseminaciones efectuadas.

% concepción= (Total vaquillas preñadas /total de inseminaciones) x 100

Número de servicios por concepción: Al final de la evaluación (60 días), se cuantifico el número de inseminaciones realizadas y se dividió entre el número de vacas preñadas por tratamiento.

Servicios x concepción = Total de inseminaciones/total vaquillas preñadas

Tasa de preñez: Este parámetro evalúa mejor la eficiencia reproductiva del hato al combinar la presentación de celos con la tasa de concepción.

Tasa de preñez (%) = Tasa de presentación de celos x Tasa de concepción

1.12.6 Conducción del experimento

La dosificación parenteral en las vaquillas suplementadas fue de 1 ml por cada 50 kg de peso corporal, y repetida después de 30 días, vía subcutánea.

Después de la aplicación, todas las vaquillas, tanto las suplementadas como las no suplementadas fue observadas diariamente para detectar el celo.

Para la aplicación del complejo de microminerales y vitaminas liposolubles, se utilizó jeringas descartables de 10 ml de capacidad y aguja descartable N° 16 x 1 pulgada.

El diagnóstico de preñez fue realizado a los 35 días posterior a la IA a través de la técnica de palpación rectal. Para ello, se utilizó guantes obstétricos.

Toda la información de campo fue registrada en un cuaderno, que luego fue transferido al software Milk Check del área de registro pecuario de la empresa.

La figura 10 muestra la línea de tiempo de la investigación.

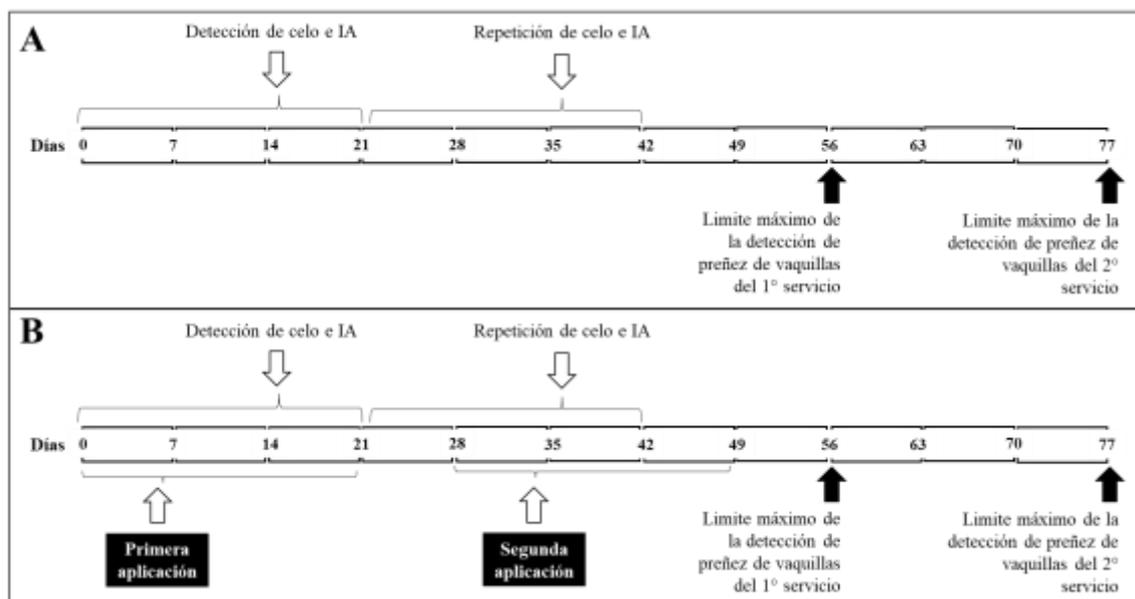


Figura 10. Línea de tiempo del tratamiento sin aplicación (A) y con aplicación (B) de la suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles a vaquillas primerizas y su efecto sobre la eficiencia reproductiva.

1.13 Técnicas para el procesamiento de la información.

Para la evaluación de los datos de las variables presentación de celos, concepción al primer servicio, servicios por concepción y concepción total, se elaboró una tabla de contingencia de 2x2. Todos los datos fueron analizados por la prueba de proporciones con la función `prop.test()` utilizando el software R. Esta función es utilizada para probar el valor nulo de que las proporciones (probabilidades de éxito) en varios grupos son las mismas, o que son iguales a ciertos valores dados (Newcombe, 1998). La función es la siguiente:

```
prop.test(x, n, p = NULL, alternative = c("two.sided", "less", "greater"), conf.level = 0.95, correct = TRUE)
```

Donde:

- X: es el vector que contiene el n° de veces que ocurre el suceso de interés en cada muestra.
- n: es el vector que contiene los tamaños muestrales.
- p: se introduce como nulo.
- alternative: es el tipo de test.

correct: es la corrección de continuidad de Yates, que se introduce por defecto para cuando el número esperado de éxitos o fracasos es <5 .

El estadístico de contraste es el χ^2 de Pearson, donde df son los grados de libertad.

CAPITULO IV. RESULTADOS

1.14 Presentación de celos

La figura 11 y Tabla 3 muestra la presentación de celos de vaquillas con y sin suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles para el primer servicio de inseminación. No se encontró diferencias estadísticas significativas para la presentación celo ($p = 0.07$) en ambos grupos de vaquillas evaluadas. Sin embargo se observa una tendencia a una mayor presentación de celos en el grupo de vaquillas tratadas con suplemento mineral. La presentación de celos para el segundo servicio de inseminación fue similar en ambos grupos ($p=0,57$). En general la presentación de celos total fue similar en ambos tratamientos ($p=0,10$).

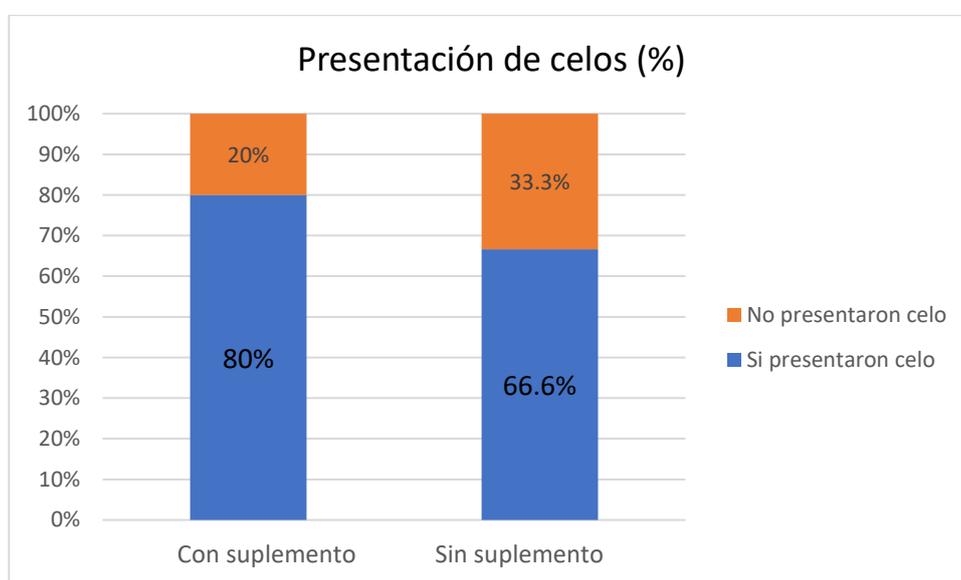


Figura 11. *Presentación de celos (%) posterior a la aplicación de suplemento mineral en vaquillas Holstein*

1.15 Tasa de Concepción

La figura 12 y la Tabla 3 muestran los resultados obtenidos en relación a la tasa de concepción. No se determinaron diferencias ($p>0,05$) en la tasa de concepción al primer, segundo y el total entre las vaquillas con tratamiento con suplemento mineral y el grupo sin tratamiento.

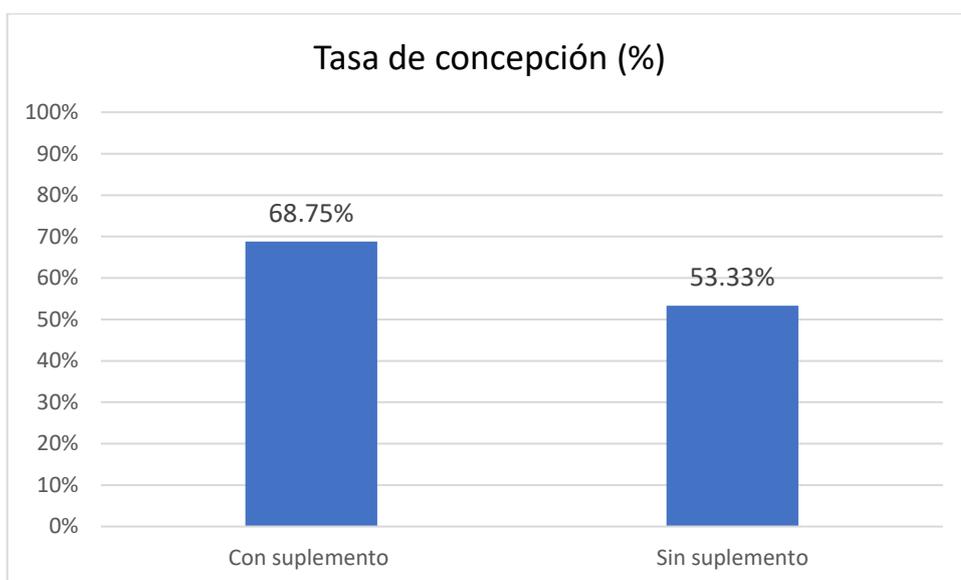


Figura 12. *Tasa de concepción en vaquillas con y sin suplementación mineral*

1.16. Tasa de preñez

No se determinaron diferencias ($p > 0,05$) en la tasa de preñez al primer servicio, entre las vaquillas con tratamiento con suplemento mineral y el grupo sin tratamiento, tal como se detalla en la tabla 3 y Figura 13.

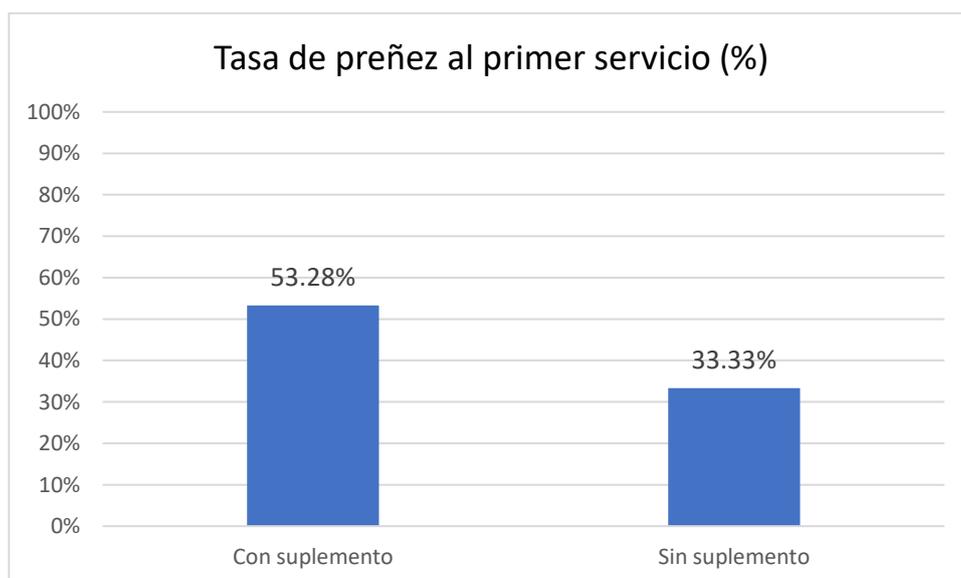


Figura 13. *Tasa de preñez en vaquillas con y sin suplementación mineral*

1.17. Número de servicios por concepción

La tabla 2 y la figura 14 muestran el número de servicios por concepción de vaquillas con y sin suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles. No se encontró diferencias estadísticas significativas para el número de servicios por concepción ($p = 0.219$) en ambos grupos de vaquillas evaluadas.

Tabla 2.

Efecto de la suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles sobre el número de servicios por concepción en vaquillas Holstein

Parámetros de medición	Tratamientos	
	Con suplemento parenteral	Sin suplemento parenteral
Inseminaciones, N	16	15
Preñez, N	11	8
Servicios por concepción	1,45	1,87
Prueba de proporciones (p-valor)	0.219	

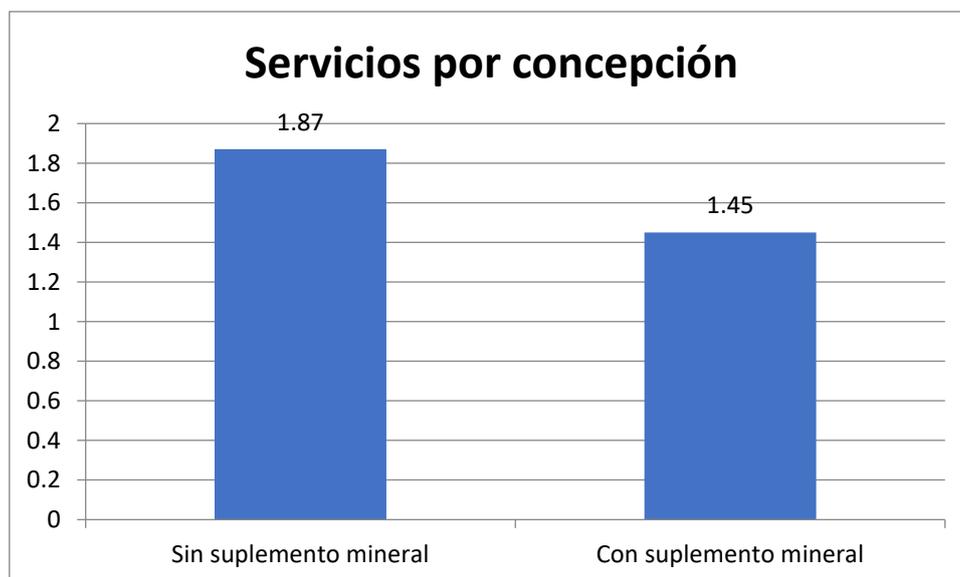


Figura 14. *Servicios por concepción en vaquillas Holstein sin y con suplemento mineral*

Tabla 3

Parámetros reproductivos obtenidos con y sin suplementación mineral en vaquillas Holstein

Parámetros	T0: Sin suplemento mineral	T1: con suplemento mineral
Primer servicio		
Vaquillas (n)	15	15
Presentaron celo (n)*	66.66% (10/15)	80% (12/15)
Preñadas	5	8
Tasa concepción 1° servicio	50%	66,6%
Tasa preñez 1° servicio	33,33%	53,28%
Segundo servicio		
Presentaron celo (n)	50,0% (5/10)	57,14% (4/7)
Preñadas	3	3
Tasa concepción 2° servicio	60,0%	75,0%
Tasa preñez 2° servicio	30%	42,85%
Total		
Presentaron celo (n)	60% (15/25)	72.7% (16/22)
Preñadas	8	11
Tasa concepción	53,33%	68,75%
Tasa preñez	32%	50%

CAPITULO V. DISCUSIÓN

1.16 Presentación de celo

Detectar el momento óptimo del celo para la inseminación es clave para el éxito de alcanzar la preñez. El comportamiento del celo puede ser influenciado por la disponibilidad de nutrientes (McDonald et al., 2010), como en el caso de los microminerales, que se necesitan en bajas concentraciones, pero su impacto en el rendimiento reproductivo puede ser significativo (Guirado, 2018). En el presente estudio, la presentación de celo no fue influenciada por la suplementación. Resultados similares fueron reportados por Sales et al. (2011) quienes al suplementar vía subcutánea 100 mg Zn/ml, 100 mg Mn/ml, 50 mg Mn/ml y 25 mg Se/ml no aumentó el número de novillas sincronizadas con éxito en comparación con los controles no inyectados (82,1 % y 83,1 %, respectivamente). Kirchhoff (2015) al evaluar su hipótesis que, cuando las necesidades de microminerales en la dieta están cubiertas, el uso de un producto inyectable de microminerales (15 mg Cu/ml, 60 mg Zn/ml, 10 mg Mn/m, y 5 mg Se/ml) en las novillas en desarrollo no afectaría el rendimiento reproductivo, observaron un comportamiento estral no significativo de 73 y 60 % para las vaquillas que recibieron o no la suplementación antes de la IA..

1.17 Tasa de Concepción y Tasa de preñez

Según Kirchhoff (2015), en muchos sistemas de manejo, la eficiencia reproductiva de las vaquillas se mide inicialmente por la tasa de concepción a la IA de un solo servicio. En la presente investigación, la concepción al primer servicio no fue influenciado significativamente por la suplementación de microminerales y vitaminas liposolubles. Similares resultados reportaron Vanegas et al. (2004) quienes al suplementar un suplemento de microminerales inyectable que contenía 20 mg Zn/ml, 20 mg Mn/ml, 5 mg Se/ml y 10 mg Cu/ml reportaron probabilidades de concepción al primer servicio de 26,8 y 27,5% para el suplemento mineral y control, respectivamente, que no fueron significativamente diferentes. Asimismo, Willmore et al. (2021) al evaluar el rendimiento productivo de vacas suplementadas con 15 mg Cu/ml, 10 mg Mn/ml, 5 mg Se/ml de Se y 60 mg Zn/ml antes del parto y antes del servicio reportaron probabilidades de 0.38 y 039 servicios necesarios para la concepción en vacas sin y con la suplementación de microminerales. Sin embargo, Kirchhoff (2015) reportó mayores tasas de concepción a

los 32 días post IA en vaquillas suplementadas con respecto al control (51 vs 26%, respectivamente).

Según Stokes et al. (2017), el aumento del estatus mineral puede ser de particular importancia cuando se incrementan las necesidades biológicas como en la etapa reproductiva. Sales et al. (2011) observaron que vaquillas pertenecientes al grupo suplementado con microminerales tenían una probabilidad 1,58 veces y 1,72 veces mayor de estar preñadas 23 y 48 días después del trasplante de embriones en comparación con el grupo control que no recibieron suplementación alguna. Sin embargo, Willmore et al. (2021) no encontraron diferencias estadísticas para la tasa de concepción total en vacas con y sin suplementación de microminerales antes del parto y antes del servicio, reportando probabilidades similares de 0.93 y 0.90, respectivamente.

Guirado (2018) con el supuesto que los microminerales tienen un impacto importante en la eficiencia reproductiva del ganado vacuno, proporcionó alimento sin y con suplementación de microminerales 30 días antes de la IA. Los resultados mostraron tasas de preñez similares (53 y 65%, respectivamente), pero las vacas alimentadas con oligoelementos orgánicos tuvieron una mayor recuperación de ovocitos y una producción de embriones *in vitro* más eficiente.

CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1.18 Conclusiones

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente estudio, se concluye:

- La suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no aumento la presentación de celos en vaquillas Holstein
- La suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no mejoró el porcentaje de concepción en vaquillas Holstein.
- La suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no mejoró la eficiencia de servicios por concepción en vaquillas Holstein.
- La suplementación de minerales orgánicos y vitaminas liposolubles no mejoró la tasa de preñez en vaquillas Holstein.

1.19 Recomendaciones

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente estudio, se recomienda:

- Evaluar el uso de suplementos orgánicos usando un mayor número de animales
- Desarrollar trabajos de investigación similares en bovinos de crianza exgtensiva, donde las condiciones nutricionales afectan a los animales por la producción cíclica de forrajes

CAPITULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arthington, J. D., Moriel, P., Martins, P. G., Lamb, G. C., & Havenga, L. J. (2014). Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves. *Journal of animal science*, 92(6), 2630-2640. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7164>
- Bowles, J., Feng, C. W., Spiller, C., Davidson, T. L., Jackson, A., & Koopman, P. (2010). FGF9 suppresses meiosis and promotes male germ cell fate in mice. *Developmental cell*, 19(3), 440-449. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.08.010>
- Caldera, E., Weigel, B., Kucharczyk, V. N., Sellins, K. S., Archibeque, S. L., Wagner, J. J., Han, H., Spears, J. W., & Engle, T. E. (2019). Trace mineral source influences ruminal distribution of copper and zinc and their binding strength to ruminal digesta^{1,2,3}. *Journal of animal science*, 97(4), 1852-1864. <https://doi.org/10.1093/jas/skz072>
- Clagett-Dame, M., & DeLuca, H. F. (2002). The role of vitamin A in mammalian reproduction and embryonic development. *Annual review of nutrition*, 22, 347-381. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.010402.102745E>
- Clagett-Dame, M., & Knutson, D. (2011). Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients*, 3(4), 385-428. <https://doi.org/10.3390/nu3040385>
- Clarkson, A. H., & Kendall, N. R. (2022). UK ruminant farmer understanding of copper-related terminology. *Preventive veterinary medicine*, 205, 105693. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105693>
- Clarkson, A. H., Paine, S., Martín-Tereso, J., & Kendall, N. R. (2019). Copper physiology in ruminants: trafficking of systemic copper, adaptations to variation in nutritional supply and thiomolybdate challenge. *Nutrition Research Reviews*, 1-7. doi:10.1017/s0954422419000180
- Dennery P.A. (2004). Role of redox in fetal development and neonatal diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 6(1), 147-153. <https://doi.org/10.1089/152308604771978453>
- Dias, R. S., López, S., Montanholi, Y. R., Smith, B., Haas, L. S., Miller, S. P., & France, J. (2013). A meta-analysis of the effects of dietary copper, molybdenum, and sulfur on plasma and liver copper, weight gain, and feed conversion in growing-finishing cattle. *Journal of animal science*, 91(12), 5714-5723. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6195>
- Ferro, C., Florindo, H. F., & Santos, H. A. (2021). Selenium Nanoparticles for Biomedical Applications: From Development and Characterization to Therapeutics. *Advanced healthcare materials*, 10(16), e2100598. <https://doi.org/10.1002/adhm.202100598>
- Finney, J., Moon, H. J., Ronnebaum, T., Lantz, M., & Mure, M. (2014). Human copper-dependent amine oxidases. *Archives of biochemistry and biophysics*, 546, 19-32. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.12.022>

- Garcia, E.I.C., Elghandour, M.M.M.Y., Khusro, A., Alcala-Canto, Y., Tirado-González, D.N., Barbabosa-Pliego, A., & Salem, A.Z.M. (2022). Dietary Supplements of Vitamins E, C, and β -Carotene to Reduce Oxidative Stress in Horses: An Overview. *Journal of equine veterinary science*, *110*, 103863. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103863>
- Giugliano, R., & Millward, D.J. (1984). Growth and zinc homeostasis in the severely Zn-deficient rat. *The British journal of nutrition*, *52*(3), 545-560. <https://doi.org/10.1079/bjn19840122>
- Gu, X., & Gao, C. Q. (2022). New horizons for selenium in animal nutrition and functional foods. *Animal nutrition (Zhongguo xu mu shou yi xue hui)*, *11*, 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.06.013>
- Guirado F. (2018). Effect of Mineral Supplementation on Reproductive Efficiency of Beef Cows (tesis de maestria). University of Tennessee. USA. https://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/5043
- Higuchi, M. (2014). *Antioxidant Properties of Wheat Bran against Oxidative Stress. Wheat and Rice in Disease Prevention and Health*, 181–199. doi:10.1016/b978-0-12-401716-0.00015-5
- Ishaq, S.L., Page, C. M., Yeoman, C.J., Murphy, T. W., Van Emon, M.L., & Stewart, W.C. (2019). Zinc AA supplementation alters yearling ram rumen bacterial communities but zinc sulfate supplementation does not. *Journal of animal science*, *97*(2), 687-697. <https://doi.org/10.1093/jas/sky456>
- Juriscova, A., Varmuza, S., & Casper, R. F. (1996). Programmed cell death and human embryo fragmentation. *Molecular human reproduction*, *2*(2), 93-98. <https://doi.org/10.1093/molehr/2.2.93>
- Kendall, N. R., Marsters, P., Scaramuzzi, R. J., & Campbell, B. K. (2003). Expression of lysyl oxidase and effect of copper chloride and ammonium tetrathiomolybdate on bovine ovarian follicle granulosa cells cultured in serum-free media. *Reproduction (Cambridge, England)*, *125*(5), 657-665.
- Kirchhoff, A. A. (2015). *The effect of a supplemental trace mineral injection on developing beef bull and heifer reproduction* (tesis de maestria). Kansas State University. Kansas, USA. <http://hdl.handle.net/2097/20367>
- Kleczkowski, M., Kluciński, W., Sikora, J., & Zdanowicz, M. (2004). Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle--trace elements and enzymatic mechanisms (Part 3). *Polish journal of veterinary sciences*, *7*(3), 233-240.
- Kloubert, V., & Rink, L. (2015). Zinc as a micronutrient and its preventive role of oxidative damage in cells. *Food & function*, *6*(10), 3195-3204. <https://doi.org/10.1039/c5fo00630a>

- López-Alonso, M., & Miranda, M. (2020). Copper Supplementation, A Challenge in Cattle. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10(10), 1890. <https://doi.org/10.3390/ani10101890>
- MacDonald R. S. (2000). The role of zinc in growth and cell proliferation. *The Journal of nutrition*, 130(5S Suppl), 1500S-8S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1500S>
- McDonald, P., Edwards, L.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., & Wilkinson, R.G. (2010). *Animal Nutrition*. New York, EUA: Pearson.
- Md Amin, N.A., Sheikh Abdul Kadir, S.H., Arshad, A.H., Abdul Aziz, N., Abdul Nasir, N.A., & Ab Latip, N. (2022). Are Vitamin E Supplementation Beneficial for Female Gynaecology Health and Diseases?. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(6), 1896. <https://doi.org/10.3390/molecules27061896>
- Mehdi, Y., & DufRASne, I. (2016). Selenium in Cattle: A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(4), 545. <https://doi.org/10.3390/molecules21040545>
- Mercer, J.F. (2001). The molecular basis of copper-transport diseases. *Trends in molecular medicine*, 7(2), 64-69. [https://doi.org/10.1016/s1471-4914\(01\)01920-7](https://doi.org/10.1016/s1471-4914(01)01920-7)
- Mohd Mutalip, S.S., Ab-Rahim, S., & Rajikin, M.H. (2018). Vitamin E as an Antioxidant in Female Reproductive Health. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 7(2), 22. <https://doi.org/10.3390/antiox7020022>
- Newcombe R. G. (1998). Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. *Statistics in medicine*, 17(8), 873–890. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0258\(19980430\)17:8<873::aid-sim779>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0258(19980430)17:8<873::aid-sim779>3.0.co;2-i)
- Overton, T. R., & Yasui, T. (2014). Practical applications of trace minerals for dairy cattle. *Journal of animal science*, 92(2), 416-426. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7145>
- Park, J. H., Grandjean, C. J., Antonson, D. L., & Vanderhoof, J. A. (1986). Effects of isolated zinc deficiency on the composition of skeletal muscle, liver and bone during growth in rats. *The Journal of nutrition*, 116(4), 610-617. <https://doi.org/10.1093/jn/116.4.610>
- Sales, J.N.S., Pereira, R.V.V., Bicalho, R.C., & 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. *Livestock Science*, 142(1-3), 59-62. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.014>.
- Shaeffer, G.L., Lloyd, K.E., & Spears, J.W. (2017). Bioavailability of zinc hydroxychloride relative to zinc sulfate in growing cattle fed a corn-cottonseed hull-based diet. *Animal Feed Science and Technology*, 232, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.07.013>

- Shini, S., Sultan, A., & Bryden, W. (2015). Selenium Biochemistry and Bioavailability: Implications for Animal Agriculture. *Agriculture*, 5(4), 1277-1288. <https://doi.org/10.3390/agriculture5041277>
- Sordillo, L. M., Shafer-Weaver, K., & DeRosa, D. (1997). Immunobiology of the mammary gland. *Journal of dairy science*, 80(8), 1851-1865. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76121-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76121-6)
- Spears J. W. (2003). Trace mineral bioavailability in ruminants. *The Journal of nutrition*, 133(5 Suppl 1), 1506S-9S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1506S>
- Stokes, R. S., Ralph, A. R., Mickna, A. J., Chapple, W. P., Schroeder, A. R., Ireland, F. A., & Shike, D. W. (2017). Effect of an injectable trace mineral at the initiation of a 14 day CIDR protocol on heifer performance and reproduction. *Translational animal science*, 1(4), 458-466. <https://doi.org/10.2527/tas2017.0050>
- Suttle N. F. (2012). Copper imbalances in ruminants and humans: unexpected common ground. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 3(5), 666-674. <https://doi.org/10.3945/an.112.002220>
- Suttle, N.F. (2010). *Mineral Nutrition of Livestock* (fourth ed.). Oxfordshire, United Kingdom: CABI Publishing.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Vanegas, J. A., Reynolds, J., & Atwill, E. R. (2004). Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(11), 3665-3671. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73505-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73505-5)
- Warkany, J., & Schraffenberger, E. (1946). Congenital malformations induced in rats by maternal vitamin A deficiency; defects of the eye. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill.: 1929)*, 35, 150-169. <https://doi.org/10.1001/archophth.1946.00890200155008>
- Wei, S., Gao, L., Wu, C., Qin, F., & Yuan, J. (2020). Role of the lysyl oxidase family in organ development (Review) . *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20, 163-172. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8731>
- Wen-Hsing C., & Xin, G.L (2017). Chapter 37 - Selenium: Basic Nutritional Aspects. In J.F. Collins, *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals* (pp. 449-461). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802168-2.00037-3>.
- Wenner, B. A., Park, T., Mitchell, K., Kvidera, S. K., Griswold, K. E., Horst, E. A., & Baumgard, L. H. (2022). Effect of zinc source (zinc sulfate or zinc hydroxychloride) on relative abundance of fecal *Treponema* spp. in lactating dairy cows. *JDS communications*, 3(5), 334-338. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0238>

Willmore, C. J., Hall, J. B., & Drewnoski, M. E. (2021). Effect of a Trace Mineral Injection on Performance and Trace Mineral Status of Beef Cows and Calves. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(8), 2331. <https://doi.org/10.3390/ani11082331>

Wu, F. Y., & Wu, C. W. (1987). Zinc in DNA replication and transcription. *Annual review of nutrition*, 7, 251-272. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.07.070187.001343>

ANEXOS

Anexo 1. Información total de la investigación

Tratamiento	Edad, meses	Peso inicial, kg	Talla, cm	Primer celo	Primer diagnóstico preñez	Celo y 2da Inseminación	Segundo diagnóstico preñez
Con suplemento	22.2	474	1.32	Si	Preñez		
	22.5	395	1.28	Si	Preñez		
	21.2	395	1.22	Si	Vacía	Si	Preñez
	21.1	399	1.3	No	No celo	No	No celo
	22.8	414	1.21	Si	Vacía	Si	Preñez
	18.2	399	1.24	Si	Preñez		
	17.9	414	1.24	Si	Preñez		
	17.6	360	1.21	Si	Preñez		
	17.2	399	1.25	No	No celo		No celo
	16.7	395	1.23	Si	Vacía	SI	Vacía
	16.5	403	1.22	No	No celo		No celo
	16.3	397	1.27	Si	Preñez		
	16.0	359	1.24	Si	Preñez		
	15.6	301	1.24	Si	Vacía	Si	Preñez
	21.3	455	1.26	Si	Preñez		
Sin suplemento	22.3	464	1.32	Si	Preñez		
	21.9	435	1.3	No	No celo	Si	Preñez
	21.1	457	1.28	Si	Preñez		
	18.7	383	1.24	Si	Preñez		
	18.0	385	1.22	No	No celo	Si	Vacía
	17.9	381	1.24	No	No celo	No	No celo
	17.7	373	1.25	Si	Vacía	Si	Preñez
	17.4	368	1.21	No	No celo	No	No celo
	16.8	362	1.23	Si	Preñez		
	16.7	373	1.21	No	No celo	No	No celo
	16.0	361	1.22	Si	Vacía	Si	Vacía
	15.9	358	1.21	Si	Vacía	Si	Preñez
	15.6	355	1.23	No	No celo	No	No celo
	20.4	401	1.22	Si	Preñez		
	19.9	395	1.18	No	No celo	No	No celo

Anexo 2. Funciones y corridas de las estadísticas de proporciones

Presentación de celos

```
> prop.test(x=c(3,7), n=c(15,15), alternative="two.side", conf.level=0.95,
```

```
+ correct=FALSE)
```

2-sample test for equality of proportions without continuity correction

data: c(3, 7) out of c(15, 15)

X-squared = 2.4, df = 1, p-value = 0.1213

alternative hypothesis: two.sided

95 percent confidence interval:

-0.5902641 0.0569308

sample estimates:

prop 1 prop 2

0.2000000 0.4666667

Concepción al primer servicio

> prop.test(x=c(8,5), n=c(12,8), alternative="two.side", conf.level=0.95,

+ correct=FALSE)

2-sample test for equality of proportions without continuity correction

data: c(8, 5) out of c(12, 8)

X-squared = 0.03663, df = 1, p-value = 0.8482

alternative hypothesis: two.sided

95 percent confidence interval:

-0.3869134 0.4702467

sample estimates:

prop 1 prop 2

0.6666667 0.6250000

Servicios por Concepción

> prop.test(x=c(11,6), n=c(16,13), alternative="two.side", conf.level=0.95,

+ correct=FALSE)

2-sample test for equality of proportions without continuity correction

data: c(11, 6) out of c(16, 13)

X-squared = 1.5097, df = 1, p-value = 0.2192

alternative hypothesis: two.sided

95 percent confidence interval:

-0.127619 0.579542

sample estimates:

prop 1 prop 2

0.6875000 0.4615385

Concepción total

> prop.test(x=c(4,9), n=c(15,15), alternative="two.side", conf.level=0.95,

+ correct=FALSE)

2-sample test for equality of proportions without continuity correction

data: c(4, 9) out of c(15, 15)

X-squared = 3.3937, df = 1, p-value = 0.06545

alternative hypothesis: two.sided

95 percent confidence interval:

-0.6673162402 0.0006495735

sample estimates:

prop 1 prop 2

0.2666667 0.6000000