



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN  
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

DIAGNÓSTICO Y SUPLEMENTACIÓN MINERAL EN  
VACAS HOLSTEIN EN LA COMARCA LAGUNERA,  
MÉXICO

TESIS

Que como requisito parcial  
para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

PRESENTA:

**PEDRO MEDA ALDUCIN**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de: **MAXIMINO HUERTA BRAVO, Ph. D.**



Junio de 2017

Chapingo, Estado de México

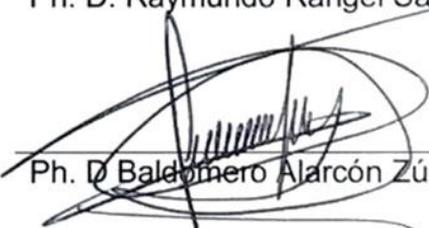
# DIAGNÓSTICO Y SUPLEMENTACIÓN MINERAL EN VACAS HOLSTEIN EN LA COMARCA LAGUNERA, MÉXICO

Tesis realizada por Pedro Meda Alducin bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

## DOCTOR EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:   
Ph. D. Maximino Huerta Bravo

ASESOR:   
Ph. D. Raymundo Rangel Santos

ASESOR:   
Ph. D. Baldomero Alarcón Zúñiga

LECTOR EXTERNO:   
Dr: Ignacio Arturo Domínguez Vara

## CONTENIDO

CONTENIDO .....	iii
LISTA DE CUADROS .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	ix
AGRADECIMIENTOS .....	x
DEDICATORIA .....	xi
RESUMEN GENERAL.....	1
GENERAL ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO 1 .....	3
1 INTRODUCCIÓN GENERAL .....	4
Objetivo General.....	5
Objetivos específicos .....	6
CAPÍTULO 2.....	8
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	9
2.1 LOS MINERALES Y SU IMPORTANCIA EN LA NUTRICIÓN ANIMAL... 9	
2.2 METABOLISMO GENERAL DE LOS MINERALES .....	10
2.2.1 Mecanismos de absorción de los minerales .....	10
2.3 CLASIFICACIÓN Y FUNCIONES GENERALES DE LOS MINERALES 16	
2.4 ESTRÉS CALÓRICO .....	21
2.4.1 Respuesta al estrés calórico.....	22

2.4.2	Estrés calórico y reproducción en ganado bovino .....	27
2.5	IMPACTO DEL ESTRÉS DE CALOR EN EL BALANCE ANIÓN-CATIÓN 30	
2.6	EFFECTO DE LOS MICROMINERALES SOBRE LA FERTILIDAD DE LAS VACAS LECHERAS .....	33
2.7	LITERATURA CITADA.....	35
	CAPÍTULO 3.....	40
3	ESTATUS MINERAL DE SUERO SANGUÍNEO, INCIDENCIA DE EVENTOS SANITARIOS Y TASA DE CONCEPCIÓN AL PRIMER SERVICIO EN VACAS HOLSTEIN.....	41
3.1	RESUMEN .....	41
3.2	INTRODUCCIÓN .....	43
3.3	MATERIALES Y MÉTODOS .....	44
3.3.1	Ubicación y animales en el estudio.....	44
3.3.2	Información sobre producción, sanidad y reproducción.....	44
3.3.3	Análisis de suero sanguíneo.....	45
3.3.4	Variación climática.....	46
3.3.5	Análisis estadístico .....	46
3.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
3.5	CONCLUSIONES .....	59
3.6	LITERATURA CITADA.....	60
	CAPÍTULO 4.....	67

4	SUPLEMENTACIÓN SUPRANUTRICIONAL DE MICROMINERALES SOBRE ESTATUS MINERAL DE SUERO SANGUÍNEO Y PARÁMETROS SANITARIOS Y PRODUCTIVOS EN VACAS HOLSTEIN.....	68
4.1	RESUMEN .....	68
4.2	INTRODUCCIÓN .....	70
4.3	MATERIALES Y MÉTODOS .....	71
4.3.1	Ubicación y animales en el estudio.....	71
4.3.2	Muestreo y análisis de suero sanguíneo.....	74
4.3.3	Análisis estadístico .....	76
4.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	77
4.5	CONCLUSIONES .....	90
4.6	LITERATURA CITADA.....	90

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Principales acarreadores ligados a soluto, responsables de pasar minerales al interior de las células intestinales. ....	12
Cuadro 2. Principales proteínas de transporte de minerales en la sangre.....	14
Cuadro 3. Signos de deficiencia y toxicidad causados por microminerales en animales. ....	20
Cuadro 4. Signos de deficiencia y toxicidad causados por macrominerales en animales. ....	21
Cuadro 5. Principales vías metabólicas y/o genes identificados en estudios como posibles candidatos para la regulación de la temperatura corporal. ....	26
Cuadro 6. Función asociada a reproducción y consecuencia de la deficiencia de minerales. ....	34
Cuadro 7. Medias de mínimos cuadrados de minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein con 30-60 DEL en dos épocas, 2 establos y sus interacciones.	48
Cuadro 8. Estadísticos descriptivos de minerales en suero sanguíneo en vacas Holstein con 30-60 DEL en dos épocas.....	49
Cuadro 9. Ecuaciones de predicción de minerales en suero sanguíneo y producción de leche en vacas Holstein de 30-60 DEL en dos épocas. ....	53

Cuadro 10. . Incidencias (%) y probabilidades de eventos sanitarios en los primeros 100 DEL y porcentaje de gestación a primer servicio de vacas Holstein en dos épocas y dos granjas. ....	54
Cuadro 11. Composición nutricional de dietas en los Estudios 1 y 2, y requerimientos de NRC 2001.....	74
Cuadro 12. Aporte del suplemento, estimación del aporte total de microminerales (vaca d-1) en vacas suplementadas, y porcentaje de aporte al requerimiento del NRC (2001) de Estudios 1 y 2. ....	75
Cuadro 13. Medias de mínimos cuadrados de concentraciones minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein bajo una suplementación mineral supranutricional por 2 meses y grupos testigo (Estudio 2). ....	79
Cuadro 14. Medias de mínimos cuadrados de concentraciones minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein bajo una suplementación mineral supranutricional por 2 meses y grupos testigo (Estudio 2). ....	80
Cuadro 15. Estadísticos descriptivos del porcentaje de muestras analizadas de suero sanguíneo de vacas Holstein que presentan valores inferiores (Def) o mayores (Alto) al rango (Estudio 1). ....	81
Cuadro 16. Estadístico descriptivo del porcentaje de muestras analizadas de suero sanguíneo de vacas Holstein que presentan valores inferiores (Def) o mayores (Alto) al rango (Estudio2). ....	81

Cuadro 17. Ecuaciones de predicción de minerales en suero sanguíneo de vacas  
Holstein en grupos de vacas Frescas, Suplementadas y Testigo..... 83

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación general esquemática de rutas de absorción de macro y minerales (adaptado KEGG, genome.jp). .....	13
Figura 2. Relación esquemática entre el suministro de minerales y la salud animal, mostrando las bandas entre las concentraciones de la dieta, deficientes, marginales, adecuadas y tóxicas (Adaptado de NRC, 2005).....	18
Figura 3. Efectos del estrés calórico en ganado lechero (Adaptado de Dussert y Piron, 2012) .....	23
Figura 4. Respuesta celular al estrés (adaptado de Hansen, 2012). .....	25
Figura 5. . Concentraciones minerales de vacas Holstein tomadas entre los 30-60 DEL en relación a eventos sanitarios reproductivos dentro de los primeros 100 DEL. a y b durante las 2 épocas; c y d durante época fría, e, f y g durante la época cálida. ....	56
Figura 6. Diferencia ( $P < 0.05$ ) en concentraciones minerales de vacas Holstein en eventos sanitarios vs vacas sanas. A y B, concentraciones de Fe y Mg en incidentes de mastitis; C y D, concentraciones de Zn y Fe en incidentes de infección uterina.....	86
Figura 7. Producción promedio de leche semanal de los Estudios 1 y 2 (E1-E2) en grupos de suplementación mineral (S) y testigo (T).....	91

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para el desarrollo de mis estudios de Doctorado.

Al Ph.D. Maximino Huerta Bravo por su orientación, compartirme parte importante de sus conocimientos, la gran paciencia y la confianza depositada en un servidor y sobre todo por la amistad que me ha brindado en estos años.

Al Ph.D. Baldomero Alarcón Zúñiga y Ph.D. Raymundo Rangel Santos por sus importantes contribuciones en el presente trabajo, la amistad ofrecida y la franqueza de sus comentarios y consejos, siempre en bien de mi superación.

Al Dr. Ignacio A. Domínguez Vara, por el tiempo invertido en la revisión del presente trabajo así como sus valiosas contribuciones.

Al Posgrado en Producción Animal de la Universidad Autónoma Chapingo, por darme la oportunidad de dar un paso más en mi superación profesional, en especial a los profesores Rafael Núñez y Rodolfo Ramírez, Rufino López, Agustín Ruiz por su amistad y consejos, así como a la C. Blanca Hernández Rivera.

A los Ingenieros José Jaimes Jaimes, Juan de Dios Roldan, Vicente Hernández y al M.C. Adelfo Vite Aranda, por su amistad, confianza y gran apoyo en mi formación profesional.

A mis amigos del Posgrado José Luis Zepeda, Luis Antonio Saavedra, Gustavo de la Torre, Juan González, María Elena Torrez, Citlalli C. González, Saúl Hernández, y demás compañeros que hicieron mi estancia en el PPA una enriquecedora experiencia.

A mis amigos y tesisistas de URUZA Arturo Beltrán, Raúl Montoya, J. Antonio Francisco y Eduardo Fallad, por su colaboración en las fases de campo y laboratorio de los presentes estudios.

A la Familia Razo Herrera, por su hospitalidad y confianza y apoyo.

## DEDICATORIA

A mi padre Francisco Meda Ortiz, por ser mi fuente de admiración y mi más grande ejemplo a seguir.

A mi madre Marta Guadalupe Alducin Romero por todo el amor, cariño y preocupación que siempre has tenido para con migo y mis hermanos.

A mis hermanos Fernando y Leonardo Meda Alducin, por la paciencia, apoyo, cariño, comprensión y amistad en todo momento.

A Gemma Razo Herrera y Daniel E. G. Razo por su amor, cariño, comprensión y confianza, por todos los bellos momentos que pasamos y por todos los que nos esperan.

## DATOS BIOGRÁFICOS

### DATOS PERSONALES

Nombre:	Pedro Meda Alducin
Lugar de nacimiento:	Autlán de Navarro, Jalisco
Fecha de nacimiento:	01 de junio de 1985
Cartilla militar:	C-7494637
CURP:	MEAP850601HJCDDL05
Profesión	Maestro en Ciencias en Innovación Ganadera
Cedula profesional:	10139243
Correo electrónico:	meda23@hotmail.com, pedro.meda.alducin@gmail.com



### FORMACIÓN ACADÉMICA

Doctorado	Doctorado en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco México (junio de 2017)
Maestría:	Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco México (julio de 2012)
Licenciatura:	Ingeniero Agrónomo en Sistemas Pecuarios de Zonas Áridas, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo Durango (diciembre de 2009)

## RESUMEN GENERAL

### DIAGNÓSTICO Y SUPLEMENTACIÓN MINERAL EN VACAS HOLSTEIN EN LA COMARCA LAGUNERA, MÉXICO

El objetivo del estudio fue evaluar, en un sistema intensivo de bovinos lecheros, el estatus mineral en suero sanguíneo durante las épocas cálida y fría, así como la respuesta a la complementación micromineral supranutricional en términos de la concentración mineral en suero sanguíneo, los parámetros productivos, reproductivos y sanitarios de las vacas. En el primer estudio, se analizó, por espectrofotometría de absorción atómica, el contenido de los minerales Cu, Fe, Zn, Ca, Mg y K en el suero sanguíneo de dos establos de vacas Holstein ( $n=153$ ) durante dos épocas del año, cálida (ITH=72) y fría (ITH=56). La interacción época con establo lechero afectó ( $P<0.05$ ) la PL y todos los minerales, excepto Cu y K. Se observó una asociación entre la frecuencia de diarreas y el contenido de Cu y Mg en la época cálida, así como entre el contenido de Zn con las tasas de concepción. Durante la época fría se observó una asociación entre trastornos uterinos y el contenido de Zn, y entre el nivel de K y la incidencia de mastitis en las vacas. En el segundo estudio, ( $n=212$ ) vacas Holstein fueron utilizadas para evaluar el efecto de un suplemento supranutricional de Se, Cu, Cr y I, suministrado durante 60 días. Se evaluaron las concentraciones de Cu, Zn, Fe, Ca, Mg, Na, K y P en el suero sanguíneo. Se observó efecto de la interacción tratamiento con tiempo de suplementación en las concentraciones de los minerales evaluados. Las concentraciones de Zn y Mg fueron más bajas ( $P<0.05$ ) en las vacas con mastitis; mientras que las vacas con infección uterina presentaron valores más altos de Zn y Fe, comparadas con vacas clínicamente sanas ( $P<0.05$ ). No hubo diferencias en la producción total de leche ( $P>0.05$ ) por efecto de la complementación mineral. Las deficiencias minerales más comunes en el suero sanguíneo de vacas Holstein en sistema intensivo con complementación mineral continua fueron de Cu y Zn, mientras que los minerales Fe, Ca y K mostraron altas concentraciones.

**Palabras clave:** bovinos lecheros, estrés calórico, minerales, sanidad, reproducción, complementación micromineral

---

Tesis de Doctorado en Ciencias en Innovación Ganadera. Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Pedro Meda Alducin

Director de tesis: Ph.D. Maximino Huerta Bravo

## GENERAL ABSTRACT

### DIAGNOSIS AND MINERAL SUPPLEMENTATION IN HOLSTEIN COWS IN THE “COMARCA LAGUNERA, MÉXICO”

The objective of this work was to evaluate an intensive system of dairy cattle with the purpose of characterizing the mineral status in blood serum in warm and cold times, as well as to evaluate supranutritional micromineral supplementation and blood mineral status, in both cases estimating its association with productive, reproductive and health parameters. In a first study, the minerals Cu, Fe, Zn, Ca, Mg, and K in the blood serum of the Holstein cows were analyzed in two warm seasons (ITH = 72) and Cold (ITH = 56) of the year. Of the milk. The epoch-to-stable interaction affected ( $P < 0.05$ ) PL and all minerals evaluated except Cu and K. An association between diarrhea and Cu and Mg was observed in the warm season, as well as between Zn with conception rates. During the cold period an association between uterine and Zn disorders and between K and mastitis was observed. In the second study, Holstein cows were used to evaluate the effect of a supranutritional supplement of Se, Cu, Cr and I supplied during 60 d and evaluated Cu, Fe, Zn, Ca, Mg, Na, K and P in the blood serum. An interaction treatment by time of supplementation were observed in the concentrations of the minerals evaluated. Lower concentrations ( $P < 0.05$ ) of Zn and Mg were observed in cows that presented incidents of mastitis, whereas cows with incidents of uterine infections showed high levels of Zn and Fe compared to healthy cows ( $P < 0.05$ ). There were no differences in total milk production ( $P > 0.05$ ). The most common blood serum mineral deficiencies in Holstein cows in an intensive system with continuous mineral supplementation are Cu, and Zn, while the minerals commonly found in high concentrations are Fe, Ca and K.

**Key words:** Heat stress, minerals, sanitary incidents, milk yield, supranutritional micromineral supplementation.

---

Doctoral Thesis, Graduate Department in Animal Production, Chapingo Autonomous University.  
Author: Pedro Meda Alducin  
Advisor: Ph.D. Maximino Huerta Bravo

# CAPÍTULO 1

# 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Los minerales están presentes en las células y tejidos del organismo animal en diversas combinaciones funcionales y químicas, y en concentraciones características dependientes del elemento y tejido. Las concentraciones de los elementos esenciales deben mantenerse dentro de unos límites estrechos para salvaguardar la integridad funcional y estructural de los tejidos, y para mantener, en estado normal, el crecimiento, la salud y la productividad de los animales (Suttle, 2010).

Una serie de elementos inorgánicos son esenciales para el crecimiento normal y la reproducción de los animales. Los minerales requeridos en cantidad mayor (gramo) se denominan macrominerales e incluyen al calcio (Ca), fósforo (P), sodio (Na), cloro (Cl), potasio (K), magnesio (Mg) y azufre (S); estos minerales tienen una función vital en el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la presión osmótica, el potencial eléctrico de la membrana y la transmisión nerviosa. Los minerales requeridos en cantidades pequeñas (miligramos o microgramos) se denominan microminerales o minerales traza; este grupo incluye al cobalto (Co), cobre (Cu), yodo (I), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se), zinc (Zn) y tal vez cromo (Cr) y flúor (F). Se ha sugerido que otros elementos son esenciales basándose en estudios realizados en otras especies, pero en general, no se considera que éstos tengan alguna importancia práctica en el ganado lechero (NRC, 2001).

El estrés calórico (EC) es la combinación de una temperatura alta del aire, la radiación solar y la humedad, estos factores, en conjunto, reducen la pérdida de calor por medio de la convección, aumentando la temperatura corporal del animal. Se han observado rangos de temperatura corporal para vacas Holstein saludables en los primeros 10 días posparto de 38.5 a 39.4 °C (Burfeind *et al.*, 2012). Para determinar si la vaca se encuentra en estrés calórico se ha usado el

índice de temperatura-humedad, donde valores a partir de 68 unidades pueden afectar la producción de leche y comprometer la fertilidad, así como alterar el metabolismo de las vacas, lo que puede comprometer el sistema inmune e incrementar la susceptibilidad a problemas sanitarios (Collier *et al.*, 2006).

A nivel molecular, el estrés calórico puede causar alteraciones en la expresión de los genes involucrados, directa o indirectamente, en la protección contra las temperaturas altas. En el ganado bovino, Collier *et al.* (2008), agruparon a los genes involucrados en la respuesta al EC en tres categorías: a) en características del pelaje, b) en la respuesta celular, y c) los que actúan a nivel sistémico. Como ya se mencionó, cuando un bovino lechero es expuesto a un ITH mayor a 68 unidades se considera en EC (Collier *et al.*, 2011), presentando una sobre expresión de los genes asociados a la respuesta al estrés y a la reparación de proteínas; en contraste, bajo condiciones de EC, se observa una sub expresión de los genes relacionados al metabolismo celular, morfogénesis y funciones específicas como la biosíntesis en tejido mamario (Collier *et al.*, 2006).

Para contribuir al conocimiento de la nutrición mineral en vacas Holstein, en particular, sobre posibles desbalances nutricionales que pudiesen presentarse en este ganado bajo un régimen de suplementación mineral continua, se plantearon y desarrollaron una serie de estudios que involucraron el diagnóstico del estado mineral en suero sanguíneo en dos épocas del año, así como la evaluación de la respuesta a la suplementación mineral supranutricional sobre el estatus mineral sérico, relacionada con los parámetros productivos, reproductivos y sanitarios de las vacas.

## OBJETIVO GENERAL

Diagnosticar las concentraciones basales de minerales en suero sanguíneo de vacas lecheras de la raza Holstein en sistema de producción estabulado ubicado

en la región de la Comarca Lagunera, México, y evaluar una el efecto de una suplementación supranutricional de Se, Cu, Cr e I y su relación con parámetros productivos, reproductivos y sanitarios.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A. Evaluar el perfil mineral basal en suero sanguíneo de vacas Holstein estabuladas en las épocas cálida y fría.
- B. Evaluar la relación entre el estatus mineral sérico de las vacas con parámetros productivos, reproductivos y sanitarios durante las épocas cálida y fría.
- C. Evaluar el efecto de la suplementación mineral supranutricional sobre el estatus mineral sérico de vacas Holstein estabuladas.
- D. Evaluar la relación entre el estatus mineral sérico de las vacas bajo una suplementación mineral supranutricional con parámetros productivos, reproductivos y sanitarios.

## CAPÍTULOS DE LA TESIS

A continuación se presentan los capítulos y los temas abordados en este trabajo de investigación.

### CAPÍTULO 2: REVISIÓN DE LITERATURA

Se presenta información sobre la importancia de la nutrición mineral y el efecto del estrés calórico en el ganado bovino productor de leche.

### CAPÍTULO 3: ESTATUS MINERAL DE SUERO SANGUÍNEO, INCIDENCIA DE EVENTOS SANITARIOS Y TASA DE CONCEPCIÓN AL PRIMER SERVICIO EN VACAS HOLSTEIN

En este capítulo se presenta información del perfil mineral en suero sanguíneo en vacas Holstein bajo estrés calórico y en época fría, y su relación con algunos problemas sanitarios y tasa de concepción al primer servicio de vacas en la región de la Comarca Lagunera, México.

### CAPÍTULO 4: SUPLEMENTACIÓN SUPRANUTRICIONAL DE MICROMINERALES SOBRE ESTATUS MINERAL DE SUERO SANGUÍNEO Y PARÁMETROS SANITARIOS Y PRODUCTIVOS EN VACAS HOLSTEIN

En este capítulo se presenta información sobre el efecto de un suplemento mineral supranutricional sobre producción de leche y algunos parámetros sanitarios en vacas Holstein en la región de la Comarca Lagunera, México.

## CAPÍTULO 2

## 2 REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 LOS MINERALES Y SU IMPORTANCIA EN LA NUTRICIÓN ANIMAL

Los minerales son elementos inorgánicos esenciales para los seres vivos, que no pueden ser sintetizados por el organismo, por tal razón, necesitan estar presentes en los alimentos consumidos, para que puedan desarrollar apropiadamente sus funciones metabólicas, aunque esto conduzca a la presencia de algunos minerales de los cuales no se ha comprobado su esencialidad (McDonald *et al.*, 2006). Los minerales son esenciales para el buen funcionamiento del organismo ya que tienen como principal función asegurar el crecimiento, el mantenimiento y la reproducción apropiados, juegan un papel importante en numerosas reacciones químicas que son utilizadas para transmisiones nerviosas, mantener el balance ácido-base del cuerpo y de líquidos. También son necesarios para la función celular, contracción muscular, así como ayudar al desarrollo del sistema inmunológico (NRC, 2001).

Los minerales están presentes en las células y tejidos del organismo animal en diversas combinaciones funcionales y químicas, y en concentraciones características dependientes del elemento y tejido. Las concentraciones de los elementos esenciales deben mantenerse dentro de unos límites estrechos para salvaguardar la integridad funcional y estructural de los tejidos, y para mantener inalterado el crecimiento, la salud y la productividad de los animales (Suttle, 2010).

## 2.2 METABOLISMO GENERAL DE LOS MINERALES

Visto de manera general, la digestión es el proceso que prepara a los nutrientes para su absorción. Los minerales en los ingredientes o alimentos se encuentran asociados a proteínas, carbohidratos y grasas. El propósito de la digestión es hacer a los complejos de grandes moléculas en unidades más pequeñas, liberando minerales como iones libres en el proceso.

La absorción intestinal de los minerales es el determinante más crítico de su biodisponibilidad y, por lo tanto, de su valor final para el organismo. Harris (2014) enumera el proceso de absorción en tres etapas:

Etapa I, implica la transferencia de los minerales recién liberados de la luz del intestino al enterocito; Etapa II, el mineral, al entrar en el enterocito, debe atravesar la distancia desde la superficie apical o la superficie basolateral, para alcanzar un portal de salida en el lado seroso del intestino. Dependiendo del tipo de mineral, esta etapa se logra ya sea por movimiento libre en el citosol (macrominerales), o bien, cuando está unido a una proteína o atrapado dentro de una vesícula (típico en microminerales); la Etapa III, implica la salida del mineral en el lado seroso. En conjunto, a las tres etapas se les conoce como transporte transmural (Harris, 2014).

### 2.2.1 Mecanismos de absorción de los minerales

#### Transporte de minerales

El transporte paracelular es el realizado a través del epitelio intestinal utilizando los espacios intersticiales del mismo. El transporte paracelular se realiza atravesando la célula epitelial mediante el cruce de dos membranas celulares y el citoplasma (Nelson, 2008).

## Proteínas de captura citosólica

En caso de ataques de patógenos o por un repentino incremento de microelementos por cualquier otra causa, se puede inducir la síntesis de una proteína de unión al elemento en el citosol de células absorbentes, atrapando y limitando la cantidad del mineral que pasa al sistema (Urban *et al.*, 2009; Harrison, 2014).

## Transcitosis

La transcitosis es el transporte de minerales desde un lado de una célula al otro dentro de un acarreador ligado a la membrana. Es una estrategia utilizada por los organismos multicelulares para mover selectivamente el material entre dos entornos diferentes, manteniendo, al mismo tiempo, las distintas composiciones de esos entornos. La transcitosis es la ruta menos utilizada para la absorción de micronutrientes (Tuma y Hubbard, 2003).

Una teoría que se ha propuesto es la "transcitosis" del hierro, en la que los átomos de hierro absorbido permanecen dentro de estructuras vesiculares intracelulares que pueden fusionarse con vesículas derivadas de la superficie vasolateral para exportar el Fe fuera de las células o entregar el Fe a otros compartimentos intracelulares. El hierro también puede estar unido por la ferritina citosólica, que equivale esencialmente a un bloqueo de la mucosa a la absorción de hierro, la unión Fe-Ferritina se pierde en última instancia cuando los enterocitos son desprendidos en el lumen intestinal (Harris, 2014).

## *Los acarreadores ligados por soluto (SLC)*

Los acarreadores ligados a solutos (Solute Ligand Carriers por sus siglas en inglés), son proteínas de transporte de membrana que controlan las funciones fisiológicas esenciales, incluyendo la absorción de nutrientes, el transporte de iones y la eliminación de desechos. La superfamilia de SLC se subdivide en 48

familias, con cerca de 400 transportadores, muchos de ellos relacionados con los minerales (Cesar-Razquin *et al.*, 2015). Muchos SLC utilizan la energía del ATP o un gradiente de iones para proporcionar la fuerza motriz. Los transportadores son básicamente proteínas de membrana integrales (que pasan a través de la bicapa lipídica de la membrana completa) y en la mayoría de los casos reconocen y son específicos para un solo factor (Harris, 2014). En el Cuadro 1 se presentan los principales SLC asociados a minerales y en la Figura 1 se muestran las rutas de absorción para macro y micro minerales.

Cuadro 1. Principales acarreadores ligados a soluto, responsables de pasar minerales al interior de las células intestinales.

Mineral	Acarreador	Nombre y/o función
Cobre		CTR1, DMT-1, Nramp2 (ion transportador bivalente)
Zinc	SLC39A4	Zip4 (factor de acrodermatitis enteropática)
Sodio	SLCA5	Familia de acarreadores de sodio
Yodo	SLC5A11	Acarreadores de Na llevan el Iodo a la glándula tiroides
Fósforo	NPT2	Cotransportador de fosfato dependiente de sodio
Cloruro/bicarbonato	SLCA26A6	Cloro/bicarbonato antiporter
Magnesio	TRPM6	Subfamilia del canal catiónico de potencial de receptor transitorio M miembro 6

Adaptado de Harris (2014)

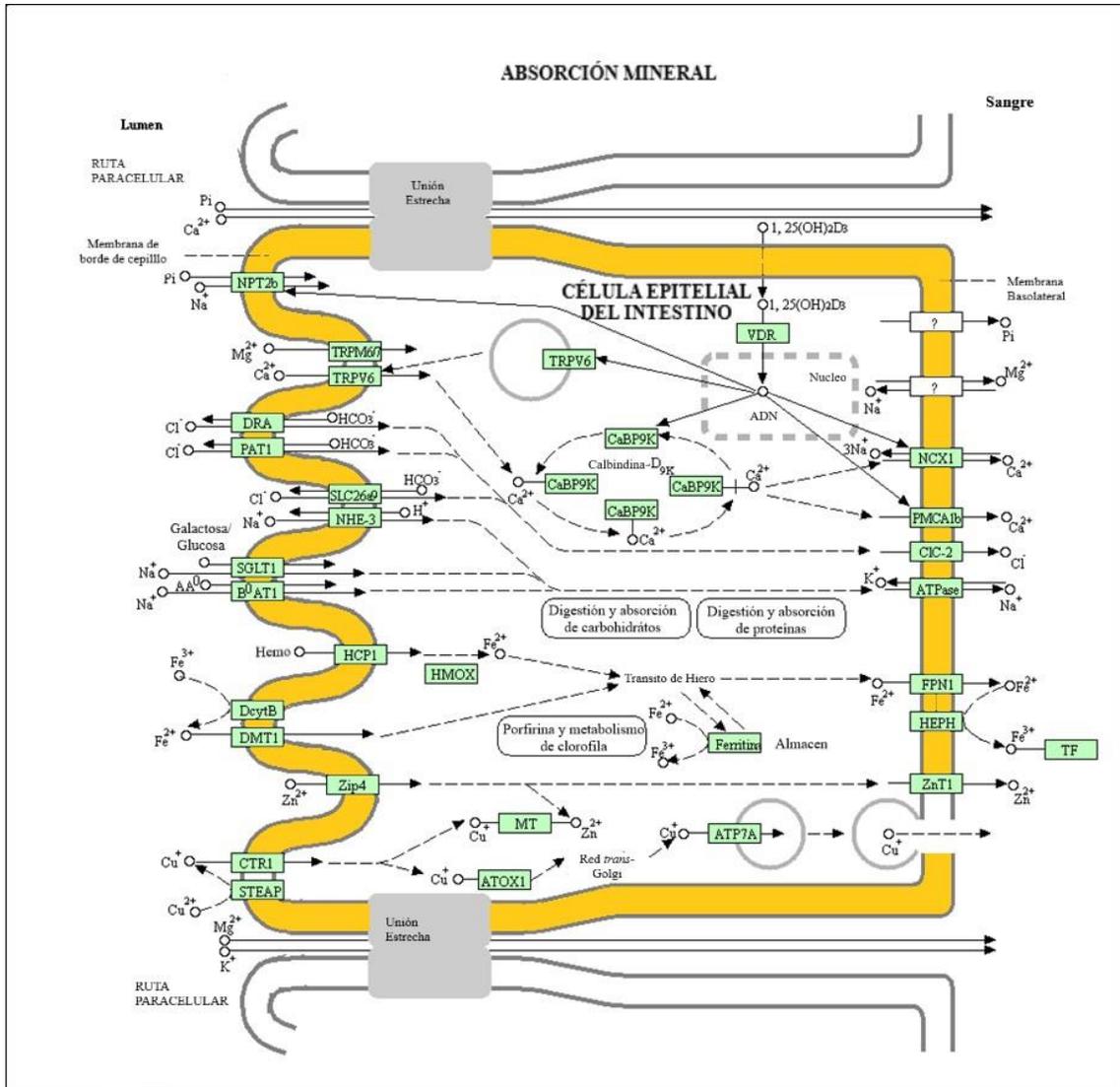


Figura 1. Representación general esquemática de rutas de absorción de macro y minerales (adaptado KEGG, genome.jp).

Se debe considerar que algunos minerales que se disocian en el retículo-rumen, el omaso y el abomaso pueden formar compuestos insolubles o no digeribles que se eliminan vía las heces; los minerales pueden unirse con polifenoles vegetales y azúcares para formar complejos no digeribles (McDonald *et al.*, 2006).

## Transporte post-absorción

Una vez incorporados los minerales al torrente sanguíneo, estos deberán ser transportados, movidos a través de las membranas celulares, y tener una ubicación intracelular, sin embargo, esto se ve influido por la solubilidad y abundancia del mineral en cuestión. En el Cuadro 2 se observan las principales proteínas de transporte para macro y microelementos.

Cuadro 2. Principales proteínas de transporte de minerales en la sangre.

<b>Mineral</b>	<b>Proteína</b>	<b>Observación</b>
Calcio	Albúmina	50% como enlace proteico
Magnesio	Albúmina	32% como enlace proteico
Hierro (no en heme)	Transferrina	2 átomos de hierro por proteína
Zinc	$\alpha$ 2-macroglobulina, albúmina	Moderadamente insertado
Cobre	Ceruloplasmina, albúmina	Firmemente enlazado a ambas proteínas
Manganeso	Transferrina, albúmina	Firmemente enlazado
Selenio	Selenoproteína P	Como selenocisteína
Iodo	Tiroglobulina	Enlaces covalentes
Fósforo	Lipoproteínas como fosfato	Asociado a lípidos
Cloro	Ninguna	Existe como ion libre
Sodio	Ninguna	Existe como ion libre
Potasio	Ninguna	Existe como ion libre

Adaptado de Harris (2014)

Por lo general, los minerales se transportan del lado seroso de la mucosa intestinal al hígado, ya sea en formas libres o enlazadas a través de la corriente sanguínea portal, pero pueden quedar "atrapados" en la misma mucosa intestinal. En algunos casos, desde el hígado, los minerales son transportados por el torrente sanguíneo periférico para ser absorbidos por diferentes órganos y tejidos, a tasas determinadas, por mecanismos transportadores localizados en

las membranas celulares y organelos celulares para satisfacer las necesidades intracelulares (Suttle, 2010).

Cuando un mineral penetra en la membrana de una célula periférica, se desafía a encontrar una dirección a seguir. En lugar de elegir el movimiento al azar, los minerales citosólicos (como sus contrapartes plasmáticas) se basan en proteínas dentro del citosol para proporcionar apoyo direccional. Además, dichas proteínas tienen señales estructurales incorporadas que permiten un atrapamiento en ubicaciones específicas. Así, los iones de calcio unidos a la calbindina tienden a situarse dentro del retículo endoplásmico, mientras que el calcio unido a la parvalbúmina se dirige al complejo del músculo actina-miosina. Los microminerales como el cobre, el zinc y el hierro, en su mayor parte, están ligados a las vesículas y tienden a moverse en todos los organelos, incluyendo el núcleo y las mitocondrias. Como se ha indicado anteriormente, las chaperonas para el cobre ayudan a dirigir el mineral a un organelo interno, una enzima o una vesícula secretora; cualquiera que sea la chaperona que sostiene al cobre es la dirección que tomara el mineral (Harris, 2014).

Las tasas de rotación de los minerales varían entre tejidos, pero generalmente son altas en la mucosa intestinal y el hígado, intermedias en otros tejidos blandos y bajas en los huesos, aunque las tasas de rotación de minerales están influenciadas por el estado fisiológico (por ejemplo, lactancia) y nutricional (deficiente o excedido). Los minerales también dejan un pool de transporte por secreción (leche, sudor y jugos digestivos) y excreción (orina); aquellos minerales secretados en el intestino delgado, antes de los sitios de absorción, pueden ser reabsorbidos, y el reciclaje resultante retrasa el inicio de la privación de minerales (Suttle, 2010).

## 2.3 CLASIFICACIÓN Y FUNCIONES GENERALES DE LOS MINERALES

Varios elementos inorgánicos son considerados esenciales para el crecimiento normal y la reproducción de los animales. Los requeridos en cantidades de gramo se denominan macrominerales y este grupo incluye al calcio (Ca), fósforo (P), sodio (Na), cloro (Cl), potasio (K), magnesio (Mg) y azufre (S), los cuales tienen un papel vital en el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la presión osmótica, el potencial eléctrico de la membrana y la transmisión nerviosa. Aquellos elementos requeridos en cantidades de miligramos o microgramos se denominan microminerales (minerales traza), este grupo incluye al cobalto (Co), cobre (Cu), yodo (I), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se), zinc (Zn) y tal vez al cromo (Cr) y al flúor (F). Se ha sugerido que otros elementos son esenciales basándose en estudios realizados en otras especies, pero en general no se considera que éstos tengan alguna importancia práctica en el ganado lechero (NRC, 2001).

De acuerdo con Suttle (2010), las cuatro principales funciones de los minerales se describen a continuación:

**Estructural.** Los minerales pueden formar componentes estructurales de órganos y tejidos corporales, tal como sucede con el calcio, fósforo, magnesio, flúor y silicio en huesos y dientes, y con el fósforo y el azufre en las proteínas musculares. Los minerales como el zinc y el fósforo forman parte de moléculas y membranas contribuyendo así a su estabilidad estructural.

**Fisiológica.** Los minerales se presentan como electrolitos en tejidos y fluidos corporales, intervienen en el mantenimiento de la presión osmótica, del equilibrio ácido-base, de la permeabilidad de la membrana y de la irritabilidad

tisular. Ejemplos de estos elementos son el sodio, potasio, cloro, calcio y magnesio en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y el jugo gástrico.

**Catalítica.** Los minerales pueden actuar como catalizadores de sistemas enzimáticos y hormonales, como componentes integrales y específicos de la estructura de metaloenzimas o como activadores menos específicos de dichos sistemas. El número y la variedad de las metaloenzimas identificadas han aumentado en las dos últimas décadas.

**Reguladora.** En los últimos años se ha descubierto que los minerales intervienen en la regulación de la replicación y diferenciación celular; el calcio, por ejemplo, influye en las señales de transducción y el zinc en las señales de transcripción, además de otras funciones reguladoras importantes, como por ejemplo el yodo que es constituyente de la tiroxina.

### 2.3.1 Desbalances minerales

La presencia de desbalances minerales no siempre es fácil de apreciar, pueden asociarse de manera aguda con cambios anatómicos y fisiológicos fácilmente perceptibles, o por el contrario, asociarse a cuadros subclínicos de difícil diagnóstico que se confunden entre los propios desbalances minerales o bien con otro tipo de desbalances nutricionales y otras enfermedades (McDowell y Arthington, 2005; Figura 2).



Figura 2. Relación esquemática entre el suministro de minerales y la salud animal, mostrando las bandas entre las concentraciones de la dieta, deficientes, marginales, adecuadas y tóxicas (Adaptado de NRC, 2005).

Los desequilibrios y deficiencias de los minerales son comunes en hatos lecheros, sobre todo en condiciones de pastoreo; Rogers y Gately (1999) describen el desequilibrio mineral en tres etapas:

a) Desequilibrio no clínico: La salud y la productividad del rebaño son normales. El diagnóstico se basa en el desequilibrio mineral en sangre, alimento o suelo en ausencia de problemas de salud. La confirmación es por la ausencia de respuesta a la suplementación con los minerales deficientes.

b) Desequilibrio subclínico: Hay pocos o ningún signo clínico, pero la productividad (fertilidad, tasa de crecimiento, rendimiento de la leche, calidad de la leche) está deprimida en el 20-50% del grupo. El diagnóstico es difícil: deben eliminarse otras causas de mal desempeño (mala calidad o manejo de pastizales, mala calidad o cantidad de piensos invernales, parasitismo, infecciones crónicas, secuelas a enfermedades de lactancia, etc.). Entonces, un desequilibrio mineral severo en sangre, alimento o suelo es sugestivo. La confirmación es por una

respuesta dramática en la productividad a la suplementación con el mineral deficiente. Algunos hatos con signos subclínicos no corregidos pueden desarrollar signos clínicos posteriormente.

c) Desequilibrio clínico: Algunos o todos los signos clínicos están presentes en el 10-30% o más del rebaño y otros 10-40% suelen tener menor productividad (signos subclínicos). El diagnóstico se basa en el historial, los signos clínicos y, a veces, los hallazgos post-mortem. Se confirma mediante pruebas de sangre, alimento y suelo, y por una respuesta dramática a la suplementación con los minerales deficientes.

La manifestación de signos clínicos en los animales, ya sea por privación o intoxicación mineral, es la fase final del desbalance. Es quizá en las etapas intermedias donde se suscitan las mayores repercusiones negativas sobre el mantenimiento de la salud, el crecimiento y la reproducción, siendo estas funciones las que definen el éxito de cualquier sistema de producción animal (Suttle, 2010) (Cuadros 3 y 4).

También, en las etapas intermedias, entre el estado óptimo del animal y los niveles extremos de la deficiencia o la intoxicación, donde se expresan con menor definición las manifestaciones de los desbalances de minerales, y cuya apreciación visual es nula o confusa, obligan a proponer modelos para las fases que teóricamente anteceden al evidente desbalance y su posible secuencia (Suttle, 2010).

Cuadro 3. Signos de deficiencia y toxicidad causados por microminerales en animales.

Mineral	Signos de deficiencia	Signos de Toxicidad
Fe	Depresión del sistema inmune, anemia, baja tasa de crecimiento	Reducción del consumo de alimento, baja ganancia de peso, diarrea, hipotermia, acidosis metabólica
Co	Falta de apetito, anemia, emaciación, disminución de la producción de leche, pelo áspero, mucosas pálidas	Disminución del apetito y de la ganancia de peso, anemia
Cr	Intolerancia a la glucosa, pérdida de peso, desórdenes nerviosos	Hiperactividad, midriasis, lagrimeo y diarrea, reducción de la fertilidad
Cu	Anemia, diarrea severa, crecimiento lento, decoloración del pelo, ataxia en recién nacidos, infertilidad temporal, fibrosis miocárdica y huesos frágiles	Depresión, cólicos, parálisis, reducción de consumo, producción de leche, deterioro de la reproducción, orina de color rojo obscura, muerte
I	Bocio, anestro, ceguera en neonatos, anormalidades en semen	Incluyen flujo nasal y lagrimal, conjuntivitis, tos, bronconeumonía, pérdida de pelo y dermatitis
Mn	Anormalidades óseas, bajas tasas de concepción, abortos, deformaciones fetales	Baja tasa de crecimiento
Se	Enfermedad del músculo blanco, retención placentaria, baja tasa reproductiva, inmunidad reducida, muerte súbita.	Salivación, dificultad respiratoria, edema y congestión pulmonar, reflejo de la falla circulatoria y cambios degenerativos en el corazón, el hígado y los riñones
Zn	Disminución del consumo de alimento y parámetros productivos, anormalidades en piel y pezuñas, baja fertilidad	Reducción del apetito y del crecimiento, pica

Adaptado de: McDowell y Arthington, 2005; NRC, 2005; Suttle, 2010; Harris, 2014.

Cuadro 4. Signos de deficiencia y toxicidad causados por macrominerales en animales.

Mineral	Signos de deficiencia	Signos de Toxicidad
Ca	Fiebre de leche, crecimiento lento, anormalidades óseas, reducción en producción de leche	Reducción en el consumo de alimento, defectos óseos
Cl	Pica, hipofagia, emaciación, estreñimiento, depresión cardiovascular	
K	Disminución del consumo de alimento y agua, debilidad muscular, trastornos nerviosos, rigidez y delgadez excesiva	Tetania, fiebre de leche, paro cardíaco
Mg	Tetania, hiperexcitabilidad	Aletargamiento, diarrea, inapetencia, disminución en la producción
Na	Pica, incremento en consumo de agua	Reducción de consumo de alimento y agua, diarrea, baja en parámetros productivos
P	Huesos frágiles, debilidad general, pérdida de peso, delgadez excesiva, producción de leche y reproducción reducidas, pica	Reducción en el consumo de alimento, defectos óseos
S	Pérdida de peso, debilidad, lagrimeo, reducción de la producción de leche	Ataxia, ceguera y convulsiones, a menudo seguido de la muerte

Adaptado de: McDowell y Arthington, 2005; NRC, 2005; Suttle, 2010.

## 2.4 ESTRÉS CALÓRICO

El estrés calórico (EC) es la combinación de la temperatura elevada del aire, la radiación solar y humedad altas, en conjunto reducen la capacidad del animal para perder el calor por convección, aumentando la temperatura corporal. Se han observado rangos de temperatura corporal para vacas Holstein sanas en los primeros 10 días posparto de 38.5 a 39.4°C (Burfeind *et al.*, 2012). Para

determinar si la vaca se encuentra en estrés calórico se ha usado el índice de temperatura-humedad, donde valores a partir de 68 unidades pueden afectar la producción de las vacas lecheras (Figura 3) (Collier *et al.*, 2006).

#### 2.4.1 Respuesta al estrés calórico

West (1992) menciona que entre las respuestas al EC que tienen un efecto perjudicial, tanto en la producción como en el estado fisiológico de la vaca, se encuentran la reducción de la ingesta de alimento, la disminución de la actividad física, aumentos de la frecuencia respiratoria, del flujo sanguíneo periférico y la sudoración (Figura 3).

La tasa respiratoria (TR) se considera como el indicador más apropiado para monitorear el estrés térmico. Ominski *et al.* (2002) utilizaron el aumento en el volumen tidal (VT) y TR como indicadores durante el EC moderado para sugerir que cambiar la alimentación de la mañana a la noche no alivia la disminución en la producción de leche y la composición de la leche. La temperatura rectal y TR también se utilizaron como predictores de la disminución de los rasgos de la producción de leche y la ingesta de alimento durante el estrés moderado en vacas Holstein (Spiers *et al.*, 2004)

La respuesta sistémica al estrés calórico es impulsada por el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico en conjunto con los componentes endócrinos.

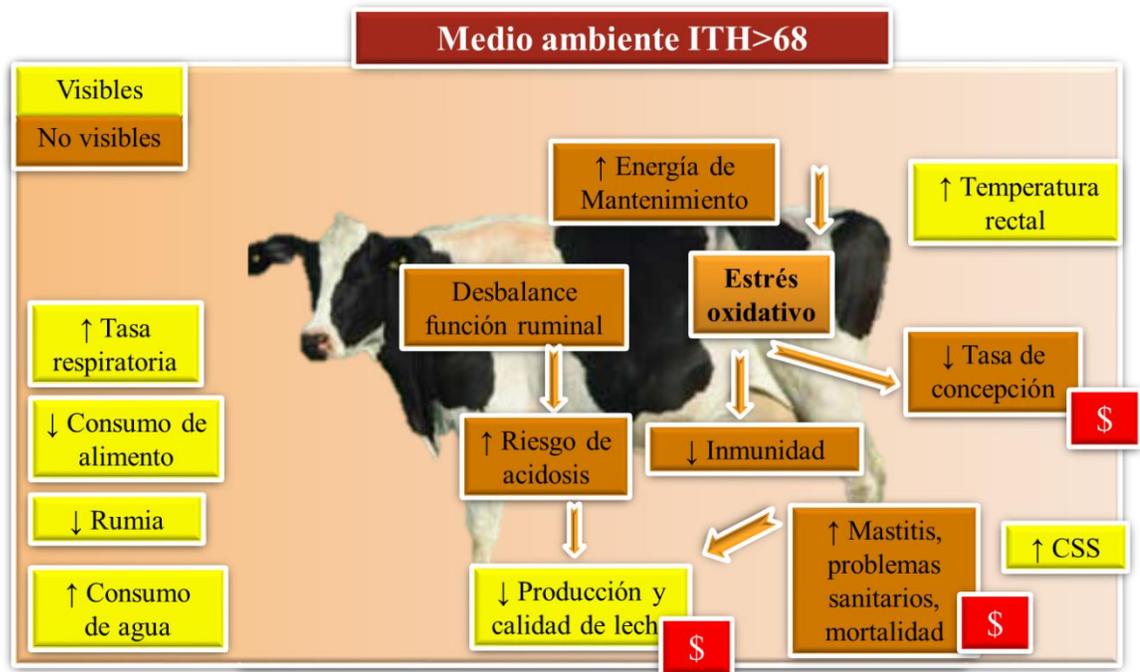


Figura 3. Efectos del estrés calórico en ganado lechero (Adaptado de Dussert y Piron, 2012)

Se ha observado que la disminución de los parámetros productivos comienza el día en que se inicia el estrés, pero no es máxima hasta 48 horas después del inicio del mismo (Collier *et al.*, 1981). Esto sugiere que hay eventos intermedios entre el aumento de la temperatura corporal y la reducción en el rendimiento de la leche. Rhoads *et al.* (2009) demostraron que la reducción de la ingesta de alimentos sólo representó el 40% de la disminución en el rendimiento de la leche y que otros factores probablemente estaban involucrados en la rápida disminución de la producción atribuida al estrés calórico (EC) severo. Los autores postularon que la reducción de la disponibilidad de glucosa podría reducir potencialmente las tasas de síntesis de lactosa y contribuir a la reducción del volumen de leche.

Las hormonas de respuesta al estrés (glucocorticoides) se elevan durante la exposición inicial al EC y luego se deprimen con períodos prolongados de EC; de manera similar, la insulina se incrementa en sangre lo que puede ser un factor

importante para la disposición de glucosa para los tejidos periféricos (Collier *et al.*, 2008).

El metabolismo de la glucosa está muy influenciado por una variedad de estímulos que incluyen hormonas, citoquinas, estado fisiológico y situaciones de estrés calórico, los cuales aumentan la tasa de gluconeogénesis hepática. Las hormonas, como el glucagón y las catecolaminas, actúan para regular la gluconeogénesis mediante la inclusión del co-activador PGC-1 $\alpha$ . El glucagón y las catecolaminas actúan a través de la vía del AMP cíclico y de la proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc (CREB) para estimular la expresión génica de PGC-1 $\alpha$ ; la PGC-1 $\alpha$  participa con factores de transcripción a nivel del promotor de genes gluconeogénicos (fosfoenolpiruvato carboxiquinasa 1, PEPCK) para activar su expresión (Collier *et al.*, 2008).

Recientemente, ha habido un interés distinto en evaluar los aspectos fisiológicos de las vacas con estudios de asociación del genoma en su conjunto (Dikmen *et al.*, 2013). Las asociaciones genéticas podrían contribuir a una comprensión más profunda de la termotolerancia en el ganado lechero. Posteriormente, la aplicación de la selección genómica utilizando la variación genética de los rasgos fisiológicos durante el EC podría ayudar a mejorar la tolerancia al calor del ganado mediante la detección de genes implicados en las respuestas fisiológicas a EC (Dikmen *et al.*, 2013).

A nivel molecular, el estres calórico (EC) causa alteraciones en la expresión de los genes involucrados directa o indirectamente en la protección contra las altas temperaturas (Figura 4). En el ganado bovino, Collier *et al.* (2008) agruparon a los genes involucrados en la respuesta al EC en tres categorías: a) en características del pelaje, b) en la respuesta celular, y c) los que actúan a nivel sistémico.

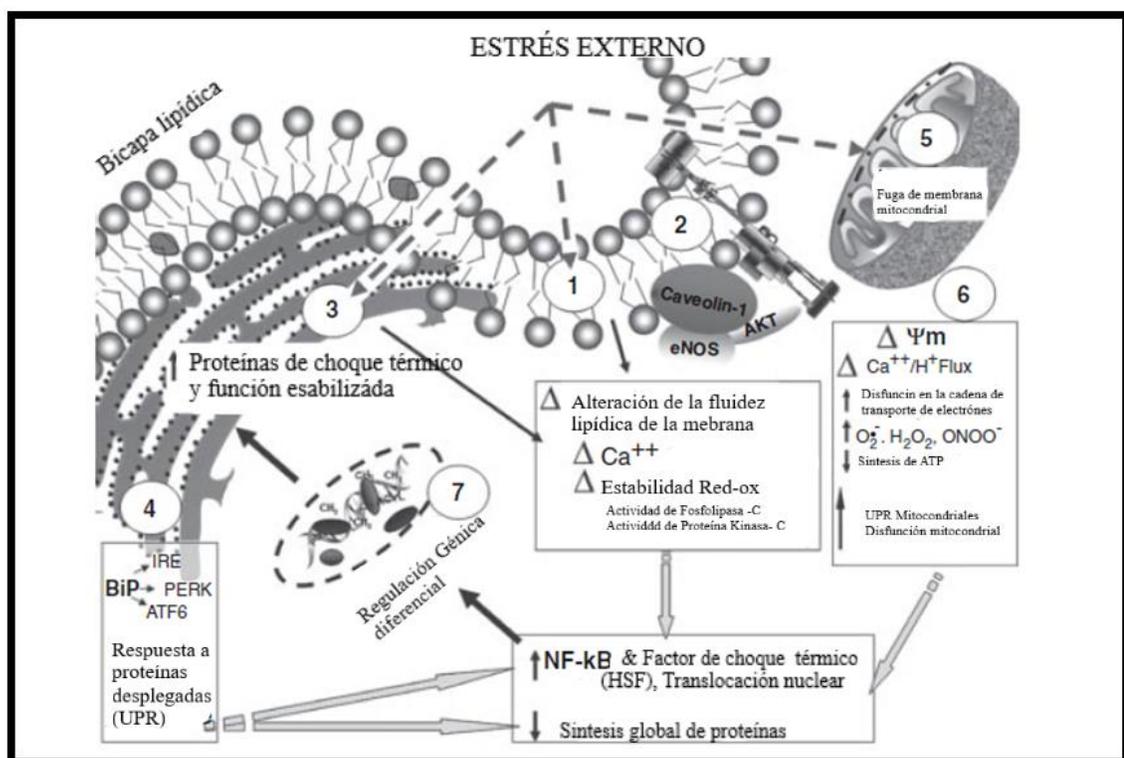


Figura 4. Respuesta celular al estrés (adaptado de Hansen, 2012).

Cuando un bovino lechero es expuesto a un ITH mayor a 68 unidades se considera en EC (Collier *et al.* 2011), presentando una sobre expresión de genes asociados a la respuesta al estrés y a la reparación de proteínas; por el contrario, se observa una sub expresión de genes relacionados al metabolismo celular, morfogénesis y funciones específicas como la biosíntesis en tejido mamario (Collier *et al.*, 2006). En el Cuadro 5 se muestra una lista de genes implicados en la respuesta al EC.

El mayor grupo de genes relacionados con la respuesta al EC es el grupo de los factores de transcripción de estrés calórico (HSF), que está asociado a la región promotora de las proteínas de shock térmico (HSP) (Li *et al.*, 2010), estudiados por su efecto como chaperonas moleculares que se producen ante la presencia de factores estresantes (Lindquist, 1986) expresándose a nivel local (Hu *et al.*, 2016) o periférico (Gaughan *et al.*, 2014).

Cuadro 5. Principales vías metabólicas y/o genes identificados en estudios como posibles candidatos para la regulación de la temperatura corporal.

Vía/Función	Gene(s)	Publicación
Respuesta celular al estrés	STAC, WRNIP1, MLH1, RIPK1, SMC6, GEM1, STAC	Howard <i>et al.</i> , 2014
Respuesta al calor	STAC	Howard <i>et al.</i> , 2014
Unión Gap	TUBB2A, TUBB2B	Howard <i>et al.</i> , 2014
Respuesta celular al estrés	CCNG, TNRC6A	Howard <i>et al.</i> , 2014
Apoptosis	FGD3, G2E3, RASA1, CSTB, DAPK1, MLH1, RIPK1,	Howard <i>et al.</i> , 2014
Transportador de iones	CACNG3, CLCN4, PRKCB, TRPC5, KCNS3, SLC22A23, DIO2	Howard <i>et al.</i> , 2014
Regulación de la hormona tiroidea		Howard <i>et al.</i> , 2014
Peso corporal y consumo de alimento	NBEA	Howard <i>et al.</i> , 2014
Proteínas de Shock térmico	HSPH1, TRAP1	Howard <i>et al.</i> , 2014
Respiración	ITGA9	Howard <i>et al.</i> , 2014
Proteína ligada al ion calcio	NCAD	Dikmen <i>et al.</i> , 2012
Ubiquitinización	RFWD12, KBTBD2	Dikmen <i>et al.</i> , 2012
Regulación de la hormona tiroidea	SLCO1C1	Dikmen <i>et al.</i> , 2012
Señalización de insulina	PDE3A	Dikmen <i>et al.</i> , 2012
Metabolismo de ARN	LSM5, SNORD14, SNORA19, U1, SCARNA3	Dikmen <i>et al.</i> , 2012
Actividad de transaminasa	GOT1	Dikmen <i>et al.</i> , 2012
Apoptosis y señalización	FGF4	Hayes <i>et al.</i> , 2009

Adaptado de Rolf (2015)

Collier *et al.* (2008) reportan algunas hormonas que se han identificado como reguladores homeorréticos que también están relacionadas con las respuestas de aclimatación al estrés calórico. Estas hormonas incluyen somatotropina, prolactina, hormonas tiroideas, glucocorticoides y mineralocorticoides, las cuales tienen una influencia positiva en la expresión de HSP.

Las identificaciones de polimorfismo de nucleótido simple (SNP) y biomarcadores HS específicos (es decir, proteína de choque térmico, familia HSP) (Basirico *et al.*, 2011) asociado con rasgos fisiológicos conducirá a una mejor comprensión de la termotolerancia celular y el mecanismo de los efectos del EC sobre la productividad de los animales.

#### 2.4.2 Estrés calórico y reproducción en ganado bovino

El estrés calórico reduce la fertilidad de las vacas explicándose por una disminución en la calidad de los ovocitos, una tasa de fertilización reducida, y elevada mortalidad embrionaria (Hansen, 2004), presentándose a la par desbalances hormonales. Tatcher *et al.* (2010) observaron concentraciones inferiores de esteroides en el fluido folicular obtenido de folículos grandes durante la temporada de calor asociado con la reducción de la viabilidad de las células de la granulosa y la alteración de la actividad de la aromatasa. Las alteraciones de la capacidad esteroidogénica inducidas por el estrés térmico del verano se trasladan a la etapa final del desarrollo folicular, como lo demuestra la reducción de la producción de androstenediona por las células y las bajas concentraciones de estradiol en el fluido folicular recogido de los folículos dominantes en otoño (Wolfenson *et al.*, 1997).

La sensibilidad de la esteroidogénesis al estrés térmico se refleja en la disminución de la producción de estradiol y androstenediona a partir de las células granulosas y celulares obtenidas de los folículos 3 a 4 semanas después del estrés por calor agudo (Roth *et al.*, 2004). De manera similar, el contenido de estradiol en el fluido folicular aspirado de las vacas fue relativamente bajo a finales del verano y aumentó a lo largo del otoño (Roth *et al.*, 2004). Por lo tanto, que podemos inferir que la extensión de los efectos del EC sobre la función folicular es transitoria, como también se refleja en la mejora espontánea de la fertilidad durante el otoño y el invierno temprano (Tatcher *et al.*, 2010).

Por su parte, De Rensis *et al.* (2015) proponen las siguientes vías por las cuales el EC puede afectar la fertilidad en vacas lecheras lactantes. A) La hipertermia conduce a un aumento del letargo y un ambiente uterino comprometido, ambos conducen a una baja fertilidad a través de una baja detección de celo e incremento de pérdidas embrionarias. B) Pérdida de apetito, que conduce a un menor consumo de materia seca, exacerbando así los efectos del balance energético negativo en la lactancia temprana.

El balance energético negativo produce concentraciones sanguíneas más bajas de insulina e IGF-I y concentraciones sanguíneas más altas de GH y NEFAs y este perfil metabólico alterado que actúa a través del sistema hipotálamo-pituitario reduce la secreción de GnRH y LH, conduciendo a la secreción reducida de estradiol por el folículo dominante. Las consecuencias de la reducción de la secreción de estradiol del folículo dominante son la detección de celo pobre, la calidad comprometida del ovocito, y en situaciones extremas, la falla ovulatoria (De Rensis *et al.*, 2015).

Hansen y Fuquay (2011) mencionan tres períodos en el ciclo reproductivo de las hembras en los que el estrés calórico ocasiona reducción en el porcentaje de preñez. El primero cuando el estrés calórico se presenta entre 90 y 110 días antes de la ovulación, fase de crecimiento del ovocito lo cual puede reducir su competencia y desarrollo. El segundo es el período periovulatorio, en el que, en condiciones experimentales, el estrés calórico no disminuyó la tasa de fertilización, pero si la capacidad de los embriones para desarrollarse normalmente. El tercer período corresponde al desarrollo embrionario temprano, en el cual se puede ver comprometido el reconocimiento materno.

El ganado *Bos taurus* (como el Holstein y Jersey) y la cruce de *Bos taurus* x *Bos indicus*, se comporta mejor que el *Bos indicus* en condiciones climáticas y nutricionales ideales. Sartory *et al.* (2016) en un estudio en producción *in vitro* encontraron que la visualización de folículos en las donadoras, así como la

recuperación de estructuras totales, fue mayor en ganado Nellore comparado al Holstein en condiciones de estrés calórico, y de las estructuras recuperadas, la tasa de fertilización y desarrollo del embrión a blastocito también fue superior en el ganado cebú ( $P<0.05$ ).

Silva *et al.* (2013) en un estudio en producción *in vitro* de embriones de ganado Jersey vs Nellore sujetos a estrés térmico, observaron una reducción ( $P<0.05$ ) en el porcentaje de ovocitos Jersey que desarrollaron a blastocitos en comparación con los provenientes de ganado Nellore (25 vs 35%). También se observó que la expresión de mRNA de CDX2 (factor transcripcional que juega un rol importante en el desarrollo placentar, estimulando la actividad de IFNT2) y de PLAC8 (es importante en la comunicación feto-madre) se redujo de manera significativa ( $P<0.05$ ) en los embriones Jersey comparados a los Nellore. Sin embargo, los autores observaron que la expresión de mRNA de HSF1, se incrementó en los embriones provenientes de ganado Jersey. Resultados similares observaron Camargo *et al.* (2007) al comparar la producción relativa de HSP 70.1 en embriones procedentes de ganado Gyr vs Holstein observando una mayor producción de HSP 70.1 en el ganado Holstein.

De los anteriores estudios de embriones *in vitro*, podemos inferir que el ganado *Bos indicus* presenta una mayor adaptación al estrés calórico desde la fecundación e implantación, en donde se producen una mayor cantidad de factores transcripcionales que podrían ayudar en la comunicación embrión-madre incrementando la posibilidad del reconocimiento materno y por ende la probabilidad de la gestación; el incremento tanto en HSF1 como HSP 70.1 nos podría indicar una mayor susceptibilidad al EC o un umbral más bajo de tolerancia al estrés térmico en el ganado *Bos taurus*.

## 2.5 IMPACTO DEL ESTRÉS DE CALOR EN EL BALANCE ANIÓN-CATIÓN

La respuesta fisiológica inicial para aumentar la pérdida de calor redirige la sangre hacia la periferia, mediante la vasodilatación de los vasos de la piel y la vasoconstricción de los vasos que suministran los órganos internos. Incrementando la tasa de sudoración, se incrementa la pérdida de calor de la piel, ocurriendo a la par una pérdida de electrolitos por el sudor, el cual en bovinos contiene principalmente potasio ( $K^+$ ), sodio ( $Na^+$ ) y cloro ( $Cl^-$ ) (Barnes *et al.*, 2004).

Los siguientes mecanismos fisiológicos en la defensa contra el estrés calórico son el incremento en la tasa respiratoria y el jadeo, los cuales en exceso pueden causar disturbios en el balance ácido-base del ganado, resultando del aumento de la pérdida de  $CO_2$  a través de los pulmones, se reduce por ende el contenido de ácido carbónico en la sangre y puede dar lugar a una alcalosis respiratoria (West *et al.*, 1992). La vaca compensa este aumento en el pH sanguíneo al incrementar la excreción urinaria de  $HCO_3^-$  y  $Na^+$ , promoviendo una conservación renal de  $K^+$  y un incremento en la retención de  $Cl^-$  (Collier *et al.*, 2012). Un efecto agravado del jadeo podría causar un efecto inverso de la hipocapnia en la respiración durante el EC, al haber una sobreacumulación de  $H^+$  y  $Cl^-$  contribuyendo a propiciar una acidosis. A la par, la sobreexcreción de  $HCO_3^-$  en orina, reduce su cantidad en saliva, reduciendo también su actividad de buffer en el rumen, aumentando el riesgo de una acidosis ruminal (Staples, 2007).

Hay cuatro trastornos primarios en el sistema ácido-base que conducen a alteraciones en la sangre atribuidos a  $CO_2$  y  $HCO_3^-$ : 1) acidosis respiratoria, cuando hay un aumento de  $H^+$  y disminución del pH sanguíneo incrementando la presión parcial de  $CO_2$  ( $pCO_2$ ); 2) acidosis metabólica, cuando hay aumento de  $H^+$  y una disminución del pH sanguíneo, disminuyendo  $HCO_3^-$ ; 3) alcalosis metabólica, cuando hay una disminución de  $H^+$  y disminución del pH sanguíneo,

causando una disminución de  $p\text{CO}_2$ ; y 4) alcalosis metabólica, cuando hay una disminución de  $\text{H}^+$  y un aumento del pH sanguíneo, aumentando el  $\text{HCO}_3^-$  (Kahh, 2005).

El diferencial catión-anión en la ración (DCAD por sus siglas en inglés) es expresado como  $\text{meq} [(\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{S})] 100\text{g MS}$  (Sanchez *et al.*, 1999). En raciones típicas para ganado lechero, los cationes superan a los aniones por varios miliequivalentes (meq) por día. Podemos considerar que dietas con exceso de cationes con respecto a los aniones producen un efecto alcalinizante y una dieta con aniones en exceso con relación a los cationes es acidogénica. Otra forma de considerarlo es que una dieta con un DCAD negativo (aumentando la cantidad de aniones en la dieta y/o reduciendo la cantidad de cationes) tiene un efecto acidificante, caso contrario cuando presenta un valor positivo alto.

En relación a la tasa respiratoria, Martins *et al.* (2015) al evaluar 4 dietas (-75 a 290 mEq/kg MS) observaron en vacas Holstein bajo estrés calórico que la presión parcial de  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ) de sangre y, la tensión parcial de  $\text{CO}_2$  ( $t\text{CO}_2$ ) se redujeron ( $P < 0.05$ ) con la reducción del DCAD, lo que indicaría que también hubo respuestas respiratorias a la reducción de DCAD. Resultados similares fueron reportados por Salles *et al.* (2012) en becerras, que observaron que  $p\text{CO}_2$  se redujo linealmente cuando el DCAD cambió de 400 a -100 mEq/kg de MS. La reducción de  $p\text{CO}_2$  sugiere que un aumento en la frecuencia respiratoria que puede ocurrir para compensar la acidosis metabólica,  $\text{CO}_2$  es un gas que cuando se disuelve en agua forma ácido carbónico, que se disocia en  $\text{H}^+$  y  $\text{HCO}_3^-$  contribuyendo a la acidificación de fluidos biológicos. Por lo tanto, cuando se reduce el pH de la sangre, las vacas lecheras pueden aumentar su frecuencia respiratoria para aumentar la eliminación de  $\text{CO}_2$  (West, 1992; Martins *et al.*, 2015).

En cuanto al uso general del DCAD, Oetzel *et al.* (1991) observaron que las sales aniónicas no tienen una buena palatabilidad, sobre todo en su forma de sulfatos

de magnesio y sulfato de amonio o cloruro de amonio cuando se adicionan directamente en un núcleo concentrado de granos. Sin embargo, empleándolas en cantidades adecuadas y mezclándolas con fuentes de forraje como el ensilado de maíz, no tienen efecto en la disminución del consumo de materia seca (CMS) o producción de leche.

Se utilizan valores bajos (negativos o uso de sales aniónicas) en etapas de reto, debido a que se ha reportado que ayudan a prevenir la fiebre de leche en vacas Holstein (Wu *et al.*, 2014), y a mantener un mejor estatus de Ca en becerras (Salles *et al.*, 2012). La implicación de estos estudios es que la acidificación de la sangre hace más disponible el Ca y ayuda a evitar dichos trastornos.

Delaquis y Block (1995) mostraron que la DCAD óptima para las vacas lactantes puede cambiar con la etapa de lactancia. En el inicio y media lactancia, el CMS aumentó con el DCAD ( $P < 0.05$ ), pero no hubo efecto en la fase final de la lactancia. DeGroot *et al.* (2010) observaron que la disminución de la DCAD de la dieta durante el período de reto puede aumentar el CMS postparto y la producción de leche de vacas múltiparas sin afectar negativamente el rendimiento de las vacas primíparas.

En condiciones de estrés calórico, se reportó un mayor CMS y porcentaje de grasa en leche ( $P < 0.05$ ) con 32 meq/100 g de MS de DCAD durante una época cálida en comparación con -19 y 17 meq/100 g de MS (Escobosa y Coppock, 1984) en vacas Jersey y Holstein. Los autores propusieron que el mayor porcentaje de grasa láctea con DCAD mayor se debió a un aumento del tamponamiento ruminal, en comparación con el tampón sanguíneo. West *et al.* (1992) reportaron un aumento lineal en el CMS cuando el DCAD aumentó de 12 a 46 meq/100 g de MS durante el estrés calórico en vacas Holstein. Sin embargo, una reducción del CMS y producción de leche en vacas bajo EC fue reportado por Sanchez *et al.* (1994) cuando se incluyeron altas concentraciones de cloruro y sulfato en el agua de bebida. El cloruro y el sulfato disminuyen la DCAD, lo que

implica que una DCAD “más” positivo es mejor para actuar en vacas bajo desafío térmico.

Wildman *et al.* (2007), al evaluar dos niveles de proteína (15 vs 17%) y dos niveles de DCAD (25 vs 50 de meq/100 g de MS) en vacas Holstein multíparas bajo estrés calórico observaron incrementos en el CMS o porcentaje de proteína en la leche al incrementar el DCAD como otros estudios lo reportan. Sin embargo, observaron una interacción entre el contenido de proteína en dieta con la DCAD en la que a mayor DCAD disminuye la producción de leche. También observaron una tendencia a disminuir la tasa respiratoria con la DCAD 50, así como un incremento ( $P < 0.05$ ) en la concentración de aminoácidos (AA) esenciales, lo que dio cabida a que los autores infirieran que es posible que un DCAD más alto, por su efecto buffer, reduzca la necesidad de excreción del  $\text{CO}_2$ , así como ayudar a reducir la necesidad de degradación de los AA para mantener el equilibrio ácido-base, ahorrando AA para otros fines.

## 2.6 EFECTO DE LOS MICROMINERALES SOBRE LA FERTILIDAD DE LAS VACAS LECHERAS

Harrison y Conrad (1984) informaron que animales suplementados con selenio no tenían casos de retención de placenta, mientras que los animales control tenían una incidencia de 17.4 %. Una revisión de 13 estudios también mostró que cuando el selenio se administró o se alimentó, sólo el 10% de las vacas tenían RP frente a un 32% de los animales de control y 28% de los animales que recibieron un suplemento de vitamina E (Harrison y Hancock, 1999). En el Cuadro 6 se presentan la función asociada a la reproducción y la consecuencia de la deficiencia sobre parámetros reproductivos de ganado bovino.

Cuadro 6. Función asociada a reproducción y consecuencia de la deficiencia de minerales.

Mineral	Mecanismo/función	Consecuencia de la deficiencia
Se	Componente de GSH Px	Reduce motilidad espermática, y contracciones uterinas, quistes ováricos con baja fertilidad, retención de membranas fetales
Cu	Componente enzimático y catalítico, involucrado en esteroidogénesis y síntesis de prostaglandina	Baja fertilidad, retraso y disminución del estro, abortos, reabsorción embrionaria
Zn	Constituyente de muchas metaloenzimas, esteroidogénesis, metabolismo de carbohidratos y proteínas	Desbalances en espermatogénesis y el desarrollo de órganos sexuales secundarios en machos, reducción de fertilidad y tamaño de camada en las especies multíparas

Suttle (2010)

Machado *et al.* (2013) al evaluar una suplementación subcutánea multimineral (Cu, Zn, Mn y Se) observaron diferencias ( $P < 0.05$ ) en la reducción del conteo de células somáticas, menor incidencia de mastitis subclínica y endometritis en el grupo suplementado sin reportar diferencias en parámetros reproductivos. De manera similar, Bicalho *et al.* (2014) aplicando dos inyecciones de complejos microminerales, previas al parto, observando una reducción en los casos de endometritis ( $P < 0.05$ ) sin encontrar diferencias para membranas retenidas.

Rutiglianon *et al.* (2008) en un estudio en el que compararon la adición de diferentes fuentes de Se en la dieta sobre la eficiencia de un programa de sincronización de celos y porcentajes de gestación, no observaron diferencias ( $P > 0.05$ ) en los porcentajes de gestación de las vacas, posiblemente atribuido a la dosis de selenio que suministraron. La cantidad de Se suplementado en la dieta superó las recomendaciones de NRC (2001), a la par de considerar que se adicionó desde aproximadamente 25 días previos al parto y 80 d después (Rutigliano *et al.*, 2008).

Una reflexión e inferencia sobre los resultados contradictorios en las investigaciones relacionadas con la suplementación mineral vía dieta o vía parenteral focalizada, es que la respuesta se encuentra influenciada por el estatus del perfil mineral previo al inicio del experimento, un diagnóstico o análisis previo para asociarlo con el posible estatus metabólico del animal, debería ser una condición previa al establecimiento de una investigación en esta área, de lo contrario el investigador puede quedar expuesto a no encontrar diferencias en sus resultados, posiblemente debido a la falta de control del estatus mineral de su dieta.

## 2.7 LITERATURA CITADA

- Barnes, A., Beatty, D., Taylor, E. Stockman, C. Maloney, S. and McCarthy, M. (2004). Physiology of heat stress in cattle and sheep. The efficacy of electrolyte replacement therapy. LIVE.209 Final Report. Meat and Livestock Australia Ltd. ISBN 1 74036 524 0.
- Basirico, L., Morera, P., Primi, V., Lacetera, N., Nardone, A., & Bernabucci, U. (2011). Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows. *Cell Stress and Chaperones*, 16(4), 441-448.
- Bicalho, M. L. S., Lima, F. S., Ganda, E. K., Foditsch, C., Meira, E. B. S., Machado, V. S., & Bicalho, R. C. (2014). Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97 (7), 4281-4295.
- Burfeind, O., Suthar, V. S., & Heuwieser, W. (2012). Effect of heat stress on body temperature in healthy early postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 78(9), 2031-2038.
- Camargo, L. S. A., Viana, J. H. M., Ramos, A. D. A., Serapião, R. V., De Sa, W. F., Ferreira, A. D. M., & do Vale Filho, V. R. (2007). Developmental competence and expression of the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* dairy cows in a tropical environment. *Theriogenology*, 68(4), 626-632.
- César-Razquin, A., Snijder, B., Frappier-Brinton, T., Isserlin, R., Gyimesi, G., Bai, X., & Superti-Furga, G. (2015). A call for systematic research on solute carriers. *Cell*, 162(3), 478-487.
- Collier, R. J., Eley, R. M., Sharma, A. K., Pereira, R. M., & Buffington, D. E. (1981). Shade management in subtropical environment for milk yield and

- composition in Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 64(5), 844-849.
- Collier, R. J., Stiening, C. M., Pollard, B. C., VanBaale, M. J., Baumgard, L. H., Gentry, P. C., & Coussens, P. M. (2006). Use of gene expression microarrays for evaluating environmental stress tolerance at the cellular level in cattle. *Journal of Animal Science*, 84(13\_suppl), E1-E13.
- Collier, R. J., Collier, J. L., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2008). Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. *Journal of Dairy Science*, 91(2), 445-454.
- Collier, R. J., Zimbelman, R. B., Rhoads, R. P., Rhoads, M. L., & Baumgard, L. H. (2011). A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. In *Western Dairy Management Conf. Reno, NV. USA* (pp. 113-125).
- Collier, R. J., & Collier, J. L. (Eds.). (2012). *Environmental Physiology of Livestock*. Wiley-Blackwell.
- De Rensis, F., Garcia-Ispierto, I., & López-Gatius, F. (2015). Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology*, 84(5), 659-666.
- Delaquis, A. M. and E. Block. (1995). Dietary cation-anion difference, acid-base status, mineral metabolism, renal function, and milk production of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 225- 2284.
- DeGroot, M. A., Block, E., & French, P. D. (2010). Effect of prepartum anionic supplementation on periparturient feed intake, health, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 93 (11), 5268-5279.
- Dikmen, S., Cole, J. B., Null, D. J., & Hansen, P. J. (2013). Genome-wide association mapping for identification of quantitative trait loci for rectal temperature during heat stress in Holstein cattle. *PLoS One*, 8(7), e69202.
- Dussert L., and Piron A. 2012. Live yeast could help reduce the impact of heat stress on dairy production. *International Dairy Topics*, 2 (3), 7-11.
- Escobosa, A., Coppock, C. E., Rowe, L. D., Jenkins, W. L., & Gates, C. E. (1984). Effects of dietary sodium bicarbonate and calcium chloride on physiological responses of lactating dairy cows in hot weather. *Journal of Dairy Science*, 67 (3), 574-584.
- Gaughan, J. B., Bonner, S. L., Loxton, I., & Mader, T. L. (2013). Effects of chronic heat stress on plasma concentration of secreted heat shock protein 70 in growing feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 91(1), 120-129.
- Hansen, P. J. (2004). Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science*, 82, 349-360.
- Hansen P. J and Fuquay J. W. (2011). Stress in Dairy Animals, Heat Stress: Effects on Reproduction. In: Fuquay, J. W., Fox, P. F., and McSweeney (Eds.) *Encyclopedia of Dairy Science* pp.567-574.

- Harris E D. (2014). Minerals in Food: Nutrition, Metabolism, Bioactivity. Destech Publications Incorporated. Lancaster, PA, U.S.A. P.361.
- Harrison, J. H., Hancock, D. D., Pierre, N. S., Conrad, H. R., & Harvey, W. R. (1986). Effect of prepartum selenium treatment on uterine involution in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 69(5), 1421-1425.
- Hu, H., Zhang, Y., Zheng, N., Cheng, J., & Wang, J. (2016). The effect of heat stress on gene expression and synthesis of heat-shock and milk proteins in bovine mammary epithelial cells. *Animal Science Journal*, 87(1), 84-91.
- Hu, W., L. Kung Jr., and M. R. Murphy. 2007a. Relationships between dry matter intake and acid-base status of lactating dairy cows as manipulated by dietary cation-anion difference. *Animal Feed Science and Technology*, 136,216-225.
- Kahh C. M.. The Merck Veterinary Manual. (2015). Merck Sharp & Dohme Corp, Kenilworth N.J. pp 2712.
- Ledoux, D. R., & Shannon, M. C. (2005). Bioavailability and antagonists of trace minerals in ruminant metabolism. In Proc. 16th Ann. Meeting, Florida Ruminant Nutr. Symp., Gainesville, Florida (pp. 23-37).
- Li, Q., Han, J., Du, F., Ju, Z., Huang, J., Wang, J., & Zhong, J. (2011). Novel SNPs in HSP70A1A gene and the association of polymorphisms with thermo tolerance traits and tissue specific expression in Chinese Holstein cattle. *Molecular Biology Reports*, 38(4), 2657-2663.
- Lindquist, S. (1986). The heat-shock response. *Annual Review of Biochemistry*, 55(1), 1151-1191.
- Long, S., & Romani, A. M. (2014). Role of cellular magnesium in human diseases. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(10), 1051.
- Machado, V. S., Bicalho, M. L. S., Pereira, R. V., Caixeta, L. S., Knauer, W. A., Oikonomou, G., & Bicalho, R. C. (2013). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *The Veterinary Journal*, 197(2), 451-456.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, y C. A. Morgan. 2006. *Nutrición Animal*. Sexta edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 587 p.
- McDowell, L. R., and J. D. Arthington. (2005). Minerals for grazing ruminants in tropical regimes. Fourth Edition. University of Florida. Gainesville, Florida. USA. 94 p.
- Martins, C. M. M. R., Arcari, M. A., Welter, K. C., Netto, A. S., Oliveira, C. A. F., & Santos, M. V. (2015). Effect of dietary cation-anion difference on performance of lactating dairy cows and stability of milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2650-2661.
- Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fifth Ed. Macmillan. Pp1100.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7ma Ed, pp 381.

- NRC (National Research Council). (2005). Mineral Tolerance of Animals: 2005. National Academies Press. pp 496.
- Oetzel, G. R., Feitman, M. J., Hamar, D. W. y Olson, J. D., 1991. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 74, 965-971.
- Ominski, K. H., Kennedy, A. D., Wittenberg, K. M., & Nia, S. M. (2002). Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy cows exposed to short-term, moderate heat stress. *Journal of Dairy Science*, 85(4), 730-737.
- Rhoads, M. L., Kim, J. W., Collier, R. J., Crooker, B. A., Boisclair, Y. R., Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2010). Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II. Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. *Journal of Dairy Science*, 93, 170-179.
- Rogers, P. A., & Gately, T. F. (1999). Control of mineral imbalances in cattle and sheep: a reference manual for advisers and vets. Teagasc. Consultado el 05 de Marzo en <http://homepage.eircom.net/~progers/3control.htm#backg>.
- Rolf, M. M. 2015. Genetic Selection for Heat Tolerance in Cattle. Cab Insider 1-20. Consultado el 15 de mayo de 2017 en <http://www.cabpartners.com/articles/news/2909/HeatToleranceCattle.pdf>
- Roth, Z., Bor, A., Braw-Tal, R., & Wolfenson, D. (2004). Carry-over effect of summer thermal stress on characteristics of the preovulatory follicle of lactating cows. *Journal of Thermal Biology*, 29(7), 681-685.
- Rutigliano, H. M., Lima, F. S., Cerri, R. L. A., Greco, L. F., Vilela, J. M., Magalhães, V., & Santos, J. E. P. (2008). Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(9), 3323-3336.
- Salles, M. S. V., Zanetti, M. A., Negrão, J. A., Salles, F. A., Ribeiro, T. M. C., Saran Netto, A., & Del Claro, G. R. (2012). Metabolic changes in ruminant calves fed cation-anion diets with different proportions of roughage and concentrate. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 414-420.
- Sanchez, W. K. (1999). Another new look at DCAD for the prepartum dairy cow. In: Proceedings of the Mid-South Ruminant Nutrition Conference (pp. 70-78).
- Sartori, R., Gimenes, L. U., Monteiro, P. L., Melo, L. F., Baruselli, P. S., & Bastos, M. R. (2016). Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology*, 86(1), 32-40.
- Silva, C. F., Sartorelli, E. S., Castilho, A. C. S., Satrapa, R. A., Puelker, R. Z., Razza, E. M., & Barros, C. M. (2013). Effects of heat stress on development, quality and survival of *Bos indicus* and *Bos taurus* embryos produced in vitro. *Theriogenology*, 79(2), 351-357.
- Spiers, D. E., Spain, J. N., Sampson, J. D., & Rhoads, R. P. (2004). Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. *Journal of Thermal Biology*, 29(7), 759-764.

- Staples, C. R. (2007). Nutrient and feeding strategies to enable cows to cope with heat stress conditions. In Proceedings of the Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, Arizona, pp. 22-23.
- Suttle, N. F. (2010). Mineral Nutrition of Livestock. CABI.p.579.
- Thatcher, W. W., Flamenbaum, I., Block, J., & Bilby, T. R. (2010). Interrelationships of heat stress and reproduction in lactating dairy cows. In *High Plains Dairy Conference* pp. 45-60.
- Tuma, P. L., & Hubbard, A. L. (2003). Transcytosis: crossing cellular barriers. *Physiological reviews*, 83(3), 871-932.
- Urban, C. F., Ermert, D., Schmid, M., Abu-Abed, U., Goosmann, C., Nacken, W., & Zychlinsky, A. (2009). Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathogens*, 5(10), 1-10.
- West, J. W., Haydon, K. D., Mullinix, B. G., & Sandifer, T. G. (1992). Dietary cation-anion balance and cation source effects on production and acid-base status of heat-stressed cows. *Journal of Dairy Science*, 75(10), 2776-2786.
- Wildman, C. D., West, J. W., & Bernard, J. K. (2007). Effect of dietary cation-anion difference and dietary crude protein on performance of lactating dairy cows during hot weather. *Journal of Dairy Science*, 90, 1842-1850.
- Wolfenson, D., Lew, B. J., Thatcher, W. W., Graber, Y., & Meidan, R. (1997). Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Animal Reproduction Science*, 47(1-2), 9-19.
- Wu, Z., Bernard, J. K., Zanzalari, K. P., & Chapman, J. D. (2014). Effect of feeding a negative dietary cation-anion difference diet for an extended time prepartum on postpartum serum and urine metabolites and performance. *Journal of Dairy Science*, 97, 7133-7143.

## **CAPÍTULO 3**

### 3 ESTATUS MINERAL DE SUERO SANGUÍNEO, INCIDENCIA DE EVENTOS SANITARIOS Y TASA DE CONCEPCIÓN AL PRIMER SERVICIO EN VACAS HOLSTEIN

(Formato de revisión de Agrociencia)

Pedro Meda Alducin<sup>1</sup>, \*Maximino Huerta Bravo<sup>1</sup>, Baldomero Alarcón Zúñiga<sup>1</sup>,  
Raymundo Rangel Santos<sup>1</sup> e Ignacio Arturo Domínguez Vara<sup>2</sup>

#### 3.1 RESUMEN

El objetivo fue determinar durante épocas cálida (EC, ITH=72) y fría (EF, ITH=56) las concentraciones séricas de Cu, Fe, Zn, Ca, Mg y K en vacas lactantes (30-60 DEL) y su asociación con producción de leche (pL) al muestreo, incidencia de diarreas, trastornos uterinos (TU) y mastitis en los primeros 100 DEL y los días al primer servicio (DPS) y tasa de concepción (TC) al primer servicio. Se incluyeron vacas Holstein (n=153) de dos a seis lactancias y entre 30 a 60 DEL, ordeñadas 3 veces por día, procedentes de dos establos comerciales (G1 y G2) en una región semiárida de México. El diseño experimental fue completamente al azar y los datos se analizaron con el modelo lineal general, regresión lineal múltiple y análisis de máxima verosimilitud. Se analizaron las concentraciones minerales entre épocas, establos y su interacción, la relación de las concentraciones minerales y su asociación con incidentes sanitarios y reproductivos. La producción de leche, y las concentraciones de Fe y K fueron mayores ( $p \leq 0.05$ ) durante EF, y lo contrario fue observado para Zn y Ca ( $p \leq 0.05$ ) durante la EC ( $p > 0.05$ ); Cu y Mg no presentaron diferencias ( $p > 0.8$ ) entre las épocas. El efecto de establo afectó ( $p \leq 0.05$ ) todas las variables analizadas excepto Ca y Mg. La interacción época por establo afectó ( $p \leq 0.05$ ) la PL y todos los minerales, excepto Cu y K. Se presentaron severas deficiencias de Cu, Zn y Mg en ambas épocas; así como Fe y K solo durante la EC. Se observó una asociación entre diarrea y Cu y Mg en la época cálida, así como entre Zn con TC. Durante la época fría se observó una asociación entre TU y Zn y entre K y mastitis.

**Palabras clave:** Perfil mineral estacional, trastornos sanitarios, vacas Holstein.

<sup>1</sup>Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, Chapingo, Estado de México, CP 56230, tel: (595) 9521621.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo”, Toluca, Estado de México. 50090, tel. 722 2965542.

\*mhuertab@taurus.chapingo.mx, \*maxhuerta@prodigy.net.mx

# MINERAL STATUS OF BLOOD SERUM, INCIDENCE OF HEALTH EVENTS AND CONCEPTION RATE TO THE FIRST SERVICE IN HOLSTEIN COWS

Pedro Meda Alducin<sup>1</sup>, \*Maximino Huerta Bravo<sup>1</sup>, Baldomero Alarcón Zúñiga<sup>1</sup>,  
Raymundo Rangel Santos<sup>1</sup> e Ignacio Arturo Domínguez Vara<sup>2</sup>

## ABSTRACT

The objective was to determine serum concentrations of Cu, Fe, Zn, Ca, Mg and K in warm (WS, ITH = 72) and cold (CS, ITH = 56) Its association with milk production (MP) to sampling, incidence of diarrhea, uterine disorders (UD) and mastitis in the first 100 AD and days at first service (DFS) and conception rate (CR) at the first service. Holstein cows (n = 153) from two to six lactations and between 30 and 60 DEL, milked 3 times per day, were collected from two commercial dairy farms (F1 and F2) in a semi-arid region of Mexico. The experimental design was completely randomized and the data were analyzed with the general linear model, multiple linear regression and maximum likelihood analysis. Mineral concentrations between seasons, farms and their interaction, the relationship of mineral concentrations and their association with sanitary and reproductive incidents were analyzed. Milk, Fe and K production were higher ( $p < 0.05$ ) during CS, and the opposite was observed for Zn and Ca ( $p < 0.05$ ) during WS ( $p < 0.05$ ); Cu and Mg did not present differences ( $p > 0.8$ ) between the seasons. The farm effect affected ( $p < 0.05$ ) all mentioned variables except Ca and Mg. The season-farms interaction affected ( $p < 0.05$ ) MP and all minerals evaluated except Cu and K. Severe Cu, Zn and Mg deficiencies were present in both seasons; As well as Fe and K alone during EC. An association between diarrhea and Cu and Mg was observed in WS, as well as between Zn and CR. During the cold period an association between UD and Zn and between K and mastitis were observed.

**Key words:** Seasonal mineral profile, health disorders, Holstein cows.

<sup>1</sup>Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, Chapingo, Estado de México, CP 56230, tel: (595) 9521621.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo”, Toluca, Estado de México. 50090, tel. 722 2965542.

\*mhuertab@taurus.chapingo.mx, \*maxhuerta@prodigy.net.mx

### 3.2 INTRODUCCIÓN

El ganado lechero se ve sometido a diversos tipos de estrés que afectan su producción, reproducción y salud. Está bien documentado el efecto negativo del estrés calórico sobre el desempeño productivo y reproductivo de las vacas lecheras (De Rensis y Scaramuzzi, 2003; Bohmanova *et al.*, 2007). Una forma de medir el grado de estrés calórico es evaluando los índices de temperatura y humedad (ITH), derivados de la temperatura ambiente y la humedad relativa (NRC, 1971), demostrando que el ambiente adverso afecta el desempeño de vacas altas productoras a partir de un ITH mayor a 68 (Collier *et al.*, 2011), causando desbalances metabólicos y hormonales (Bernabucci *et al.*, 2010; Baumgard *et al.*, 2013) y un desequilibrio metabolismo mineral (Schneider *et al.*, 1988, Sánchez *et al.*, 1994). La razón más común para evaluar el estado mineral, diagnóstico de deficiencias y/o excesos, en animales pecuarios, es porque los parámetros de producción o reproducción están por debajo de las expectativas (Kincaid, 2000). En el ganado bovino, los factores asociados al animal o al ambiente tales como raza, sexo, edad, estado nutricional, salud, variaciones estacionales y fisiológicas (*i.e.*, el tiempo de preñez y la lactancia) pueden afectar las concentraciones de minerales (Wildeus *et al.*, 1992; Kincaid, 2000; Yokus y Cakir, 2006). El contenido mineral también puede variar debido a la incidencia de trastornos sanitarios (*i.e.*, mastitis, metritis, etc.) (Ersikine *et al.*, 1993; El Zubei *et al.*, 2005; Bicalho *et al.*, 2014) y por efecto de las etapas fisiológicas de las vacas (Yokus y Cakir, 2006; Naoman *et al.*, 2014), pero los resultados son controversiales. El objetivo fue determinar, en las épocas cálida y fría, las concentraciones de Cu, Fe, Zn Ca,

Mg y K en suero de vacas Holstein de 30-60 DEL, y su correlación con la producción de leche, los trastornos sanitarios antes y posterior al muestreo, y la tasa de concepción al primer servicio.

### 3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.3.1 Ubicación y animales en el estudio

Durante los meses de agosto de 2013 (época cálida) y febrero de 2014 (época fría), se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena coccígea, de cada una de 149 vacas de la raza Holstein en dos establos lecheros comerciales en la Comarca Lagunera de Durango, Estado de México (latitud 25° 67' 74' N y 103° 43' 92" O). Las vacas tenían de 2 a 6 lactancias y de 30 a 60 DEL, se ordeñaban 3 veces por día y fueron seleccionadas aleatoriamente de dos establos lecheros (G1 y G2). Las vacas fueron alimentadas de manera similar en ambas épocas y en ambas granjas, con raciones completamente mezcladas (TMR) a base de ensilado de maíz, maíz roado, pasta de soya, salvado de trigo, heno de alfalfa y de trigo, melaza, vitaminas y minerales), acorde a los requerimientos del NRC (2001).

#### 3.3.2 Información sobre producción, sanidad y reproducción

La información de fecha de parto (FP), producción de leche (pL) del día de muestreo, la incidencia de eventos sanitarios de cada vaca durante los primeros 100 días en leche, el número de días y la tasa de concepción al primer servicio de las vacas muestreadas, fue colectada de los registros capturados en las computadoras (Establo 1: Afifarm, Afimilk

Ltd., Israel; Establo 2: DairyLive, Living Software Inc., WI USA) y exportada a una hoja de cálculo para su depuración inicial. Los eventos evaluados fueron incidencia de mastitis, retención de membranas fetales e infecciones uterinas, diarreas, los días al primer servicio y su tasa de concepción. La mastitis fue considerada como la inflamación de la ubre con cambios visibles en la leche. La retención de membranas fetales fue considerada como el fallo en la expulsión de las membranas fetales 24h posteriores al parto y las infecciones uterinas fueron consideradas con la presencia de descargas vaginales con olor fétido, coloración café-rojiza, purulenta o no traslúcida. Ambos eventos fueron conjuntados en uno solo denominado en adelante como trastornos uterinos. Las diarreas fueron analizadas sin considerar su agente causal o etiología. La tasa de concepción fue considerada como el número de vacas preñadas a primer servicio/número de total de vacas×100. La preñez fue diagnosticada por palpación rectal a los 45 d, y confirmada a los 60 d posteriores a la inseminación artificial.

### 3.3.3 Análisis de suero sanguíneo

De cada vaca, en cada época, en cada establo, después de la primera ordeña del día (6:00 a.m), se obtuvo sangre (10 mL), por punción de la vena coccígea, con tubos al vacío (Vacutainer®, Becton Dickinson) sin anticoagulante; el suero fue separado por centrifugación a 300 rpm a 4°C durante 15 minutos y conservado a -20°C hasta su análisis. Las determinaciones de Cu, Fe y Zn fueron realizadas en el suero diluido con agua desionizada (Elix 10, USA). Las determinaciones de Ca, Mg y K fueron realizadas en muestras desproteinizadas con ácido tricloroacético grado reactivo (Sigma-Aldrich, USA) acorde a la metodología de Fick *et al.* (1979). La dilución final de calcio fue analizada en

1% de  $\text{LaCl}_3$  (Sigma-Aldrich, USA) para controlar posibles ionizaciones. Las determinaciones fueron realizadas con un espectrofotómetro de absorción atómica (AAAnalyst 700, PerkinElmer, USA) siguiendo los métodos de Perkin Elmer (1996). Muestras blanco fueron analizadas en cada 10 muestras para ajustar posibles inestabilidades en las lecturas.

#### 3.3.4 Variación climática

Para caracterizar la variación térmica entre épocas, las temperaturas máximas y mínimas, y la humedad relativa, fueron registradas diario, 30 días previos al día del muestreo, para calcular el Índice de Temperatura y Humedad (ITH), usando la temperatura media (TM) y la humedad relativa (HR) en la siguiente ecuación:  $\text{ITH} = (1.8 \times \text{TM} + 32) - (0.55 - (0.0055 \times \text{HR})) \times (1.8 \times \text{TM} - 26.8)$  (National Research Council, 1971). El ITH observado fue de 72 en la época cálida y de 54 en la época fría.

#### 3.3.5 Análisis estadístico

Se realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnov (PROC UNIVARIATE, SAS 9.4, SAS Institute Inc.) para verificar la normalidad de los datos. La información de DEL, de la concentración de Cu, Fe y Ca fueron transformados (transformación de Jhonson, Minitab v17, Minitab Inc, PN, USA) para cumplir con los criterios de homogeneidad de varianza. En el análisis de minerales, los datos perdidos fueron imputados usando un modelo basado en imputación múltiple (PROC MI, SAS).

El efecto de la época y de establo sobre la concentración mineral fue analizado usando un modelo lineal con arreglo factorial  $2 \times 2$  de tratamientos (PROC GLM, SAS). El modelo estadístico usado fue:  $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$ ; donde  $Y_{ijk}$  = concentración del mineral evaluado,  $\alpha_i$  = efecto de época (cálida o fría),  $\beta_j$  = efecto de establo (G1-G2),  $(\alpha\beta)_{ij}$  = efecto de la interacción época x establo y  $e_{ijk}$  = error experimental. Un modelo similar fue utilizado para analizar el efecto de los incidentes sanitarios sobre las concentraciones minerales. Regresiones lineales múltiples (PROC REG, con selección de STEPWISE, SAS) fueron realizadas para determinar la asociación entre producción de leche el día del muestreo, día en leche, y minerales séricos, se consideró  $P \leq 0.10$  para la inclusión de los coeficientes en las ecuaciones. La incidencia de problemas sanitarios en los primeros 100 DEL y la tasa de concepción al primer servicio fueron asociadas entre épocas y establos mediante un análisis de varianza de máxima verosimilitud (PROC CATMOD).

### 3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción de leche y el contenido de Fe y K fueron mayores ( $p < 0.05$ ) en la EF en las vacas de los dos establos, en contraste, el de Zn y Ca ( $p < 0.05$ ) fue menor en la EC ( $p < 0.05$ ); las concentraciones de Cu y Mg fueron similares ( $p > 0.8$ ) entre épocas (Cuadro 7). La concentración de Cu en ambas épocas coincide con lo descrito en la literatura para ganado lechero (Erdogan *et al.*, 2004; Yokus y Cakir, 2005; Noaman., 2014); la concentración media de Cu observado por época fue óptimos ( $> 0.8 \text{ mg L}^{-1}$ ), sin embargo, más del 50% de las vacas evaluadas tuvieron concentraciones por abajo del rango normal (Cuadro 8). En ganado bovino en pastoreo, Wildeus *et al.* (1992) indicaron que el 54% de

Cuadro 7. Medias de mínimos cuadrados de minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein con 30-60 DEL en dos épocas, 2 establos y sus interacciones.

Ítem	N	PL <sup>†</sup> (L d <sup>-1</sup> )	DEL <sup>‡</sup>	Cu	Zn	Fe	Ca	Mg	K
-----mg L <sup>-1</sup> -----									
Época									
Cálida	80	42.89	43.27	0.81	0.89	1.57	109.39	19.22	161.90
Fría	73	48.25	42.99	0.80	0.80	2.25	92.53	19.17	228.44
EEM		0.89	0.97	0.02	0.02	0.06	1.23	0.21	3.29
Prob > F		≤ 0.001	0.45	0.96	0.002	≤ 0.001	≤ 0.001	0.86	≤ 0.001
Establo									
G1	71	42.76	46.96	0.88	0.80	1.77	100.37	19.18	205.42
G2	78	48.37	39.30	0.73	0.89	2.05	101.54	19.21	185.91
EEM		0.89	0.97	0.02	0.02	0.06	1.23	0.21	3.29
Prob > F		≤ 0.001	≤ 0.01	≤ 0.001	0.005	0.003	0.76	0.90	≤ 0.001
Época*Establo									
Cálida*G1	42	38.69 <sup>b</sup>	47.23	0.90	0.90 <sup>a</sup>	1.55 <sup>b</sup>	105.93 <sup>b</sup>	18.22 <sup>b</sup>	174.46
Cálida*G2	37	47.08 <sup>a</sup>	39.32	0.71	0.88 <sup>a</sup>	1.59 <sup>b</sup>	112.86 <sup>a</sup>	20.22 <sup>a</sup>	149.34
Fría*G1	29	46.83 <sup>a</sup>	46.69	0.85	0.70 <sup>b</sup>	1.99 <sup>c</sup>	94.81 <sup>c</sup>	20.14 <sup>a</sup>	236.38
Fría*G2	41	49.67 <sup>a</sup>	39.29	0.75	0.90 <sup>a</sup>	2.50 <sup>a</sup>	90.24 <sup>c</sup>	18.21 <sup>b</sup>	220.50
EEM		1.27	1.38	0.02	0.03	0.08	1.76	0.30	4.70
Prob > F		0.032	0.84	0.06	≤ 0.001	0.01	≤ 0.001	≤ 0.001	0.32
RN <sup>§</sup>				0.8-1.5	0.8-1.4	1.3-2.5	80-110	18-30	160-215

DEL, Cu, Fe y Ca fueron analizados con datos transformados y se reportaron las medias de mínimos cuadrados de los datos no transformados. Medias con una literal diferente en una columna son diferentes ( $p \leq 0.05$ ). <sup>†</sup> PL= Producción de leche; <sup>‡</sup> DEL= Días en Leche; <sup>§</sup> NR = Rango normal (Puls, 1988).

las vacas fue deficiente en Cu en la época seca, y Pereira *et al.* (1997) observaron que el 43% de las vacas mostró deficiencia de Cu en la época húmeda. Yokus y Cakir (2006) indicaron, en vacas no empadradas, similar ( $p > 0.05$ ) contenido de Cu sérico en las épocas cálida (agosto) y fría (febrero), pero con valores medios menores al rango normal (0.67 y

Cuadro 8. Estadísticos descriptivos de minerales en suero sanguíneo en vacas Holstein con 30-60 DEL en dos épocas.

Item	Época	Inferior al RA <sup>†</sup> (%)	Mayor al RA (%)	Percentiles de las concentraciones minerales (mg L <sup>-1</sup> )					RA (mg L <sup>-1</sup> )
				5 <sup>th</sup>	25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup>	75 <sup>th</sup>	95 <sup>th</sup>	
Cu	Cálida	53.7	-	0.56	0.69	0.77	0.94	1.10	0.8-1.5
	Fría	53.4	-	0.56	0.68	0.77	0.89	1.04	
Zn	Cálida	28.7	-	0.62	0.77	0.89	1.01	1.17	0.8-1.4
	Fría	53.4	1.4	0.53	0.68	0.77	0.92	1.32	
Fe	Cálida	27.5	2.5	0.90	1.26	1.62	1.77	2.28	1.3-2.5
	Fría	4.1	34.3	1.40	1.84	2.15	2.78	3.38	
Ca	Cálida	0.0	40.0	92.4	98.48	106.48	117.10	134.02	80-110
	Fría	4.2	-	83.70	87.00	91.95	97.45	103.00	
Mg	Cálida	35.0	1.4	16.28	17.66	19.01	20.52	22.68	18-30
	Fría	28.8	-	15.50	17.65	19.160	20.23	22.47	
K	Cálida	40.0	11.25	104.25	143.23	165.25	180.00	215.45	160-200
	Fría	1.3	87.7	188.50	208.08	226.50	247.50	274.53	

<sup>†</sup> RA= Rango adecuado (Puls 1988)

0.64 mg L<sup>-1</sup>). Noaman (2014) tampoco observó diferencias ( $p>0.05$ ) en el contenido de Cu de vacas Holstein en las épocas de verano e invierno (0.55 y 0.54 mg L<sup>-1</sup>).

La concentración de Zn fue mayor en EC ( $p<0.05$ ), en contraste la de Fe fue mayor en la EF ( $p<0.05$ ). Algunos estudios del perfil mineral en ganado Holstein estabulado o suplementado (Naoman *et al.*, 2014; Kume *et al.*, 1998) o cruza (Yokus y Cakir, 2006) en las épocas cálida y fría describieron diferencia pequeñas en el contenido sérico de Zn y Fe en vacas Holstein pero sin significancia ( $p>0.05$ ).

Por su parte, Salts *et al.* (2007), encontraron que en terneros Holstein en ambiente cálido durante 38 días, el contenido sérico de Zn fue menor que el de terneros bajo condiciones termoneutrales (1.31 vs 1.81 mg L<sup>-1</sup>). Vignjevic *et al.* (2014) observaron, en

ratones estresados crónicamente (2 h de estrés consecutivo por 14 días), menor concentración ( $p < 0.05$ ) de Fe en plasma comparado con el control (33.06 vs 49.60  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Altas concentraciones de Ca en la época cálida y de K en la época fría ( $p \leq 0.01$ ) fueron observados en el presente estudio, Ca fue el único mineral donde se observaron concentraciones consideradas altas-tóxico (Puls, 1988) en el 33% de las vacas muestreadas en la EC, mientras que para el K el 87% de las vacas tuvo concentraciones arriba del rango normal en la EF. También hubo concentraciones bajas de Cu, Zn, Fe y Mg en porcentajes de vacas que variaron de 28 a 58, dependiendo del mineral y la época.

Al respecto, el NRC (2005) indica que las dietas con alto contenido de Ca y K pueden reducir la absorción de los minerales Zn, P y Mg. Además, según Puls (1988), en el ganado bovino, el contenido de Ca en suero aumenta por el estrés crónico. Un aumento del consumo de agua, debido al estrés calórico, podría explicar, en parte, el mayor contenido sérico de Ca; lo anterior dado que García-Muñiz *et al.* (2013) reportaron concentraciones altas de Ca, así como de sulfatos y As, en el agua de bebida que consume el ganado bovino lechero en la región de estudio. Theng (2008) indicó que, ratones crónicamente estresados, tuvieron mayores concentraciones ( $p < 0.01$ ) de Ca en plasma sanguíneo comparados con los testigo.

En contraste con lo observado en el presente trabajo, Srikandakumar *et al.* (2004) observaron valores mayores de K y menores de Ca durante la época cálida, sin embargo, estos autores indicaron que la época fría tuvo un ITH de 72 (similar al presente valor medio observado en la época cálida), y un valor ITH de 92 para la época cálida, los cuales

Collier *et al.* (2011) los catalogan como de estrés calórico moderado y severo, respectivamente. Sanchez *et al.* (1994) indicaron que un alto contenido de K reduce la absorción de Mg pero no la de Ca, pero que el K si puede interferir con el uso del Ca, repercutiendo con menor contenido de Ca en la leche y la orina.

Hubo efecto del establo ( $p < 0.05$ ) sobre todas las variables evaluadas, excepto en el contenido de Ca y Mg. El Establo 1 tuvo valores más altos ( $p < 0.05$ ) para DEL, y contenidos de Cu y K, y el Establo 2 para PL, y contenidos de Zn y Fe (Cuadro 7). La interacción época con establo afectó ( $p < 0.05$ ) la PL y el contenido de todos los minerales evaluados, excepto el de Cu y K (Cuadro 7). Por lo tanto, la PL en el Establo 2 en ambas épocas (47.06 y 49.37 L) y en el Establo 1 en la EF (47.05 L) fue similar, pero mayor ( $p < 0.05$ ) en el Establo 2 durante la época de estrés calórico (38.8 L). Las concentraciones de Zn en EC y EF (0.90 y 0.93 mg L<sup>-1</sup>) y en el Establo 2 en EF (38.8 mg L<sup>-1</sup>) fueron mayores que en el establo 1 durante la EF. (0.71 mg L<sup>-1</sup>). Mg fue menor en G2 durante la EF (18.6 mg L<sup>-1</sup>) comparado con G1 (20.18 mg L<sup>-1</sup>); lo contrario fue observado en la EC (20.09 vs 18.09 mg L<sup>-1</sup>).

Hubo efecto de la interacción época con establo en el contenido sérico de Fe y Ca, con variación entre las época en el mismo establo. Las interacciones de épocas con sitios de muestro (establos, praderas, ubicaciones dentro de áreas de estudio, etc.) son factores comunes que podrían acarrear problemas con la interpretación de resultados en estudios minerales. Wildeus *et al.* (1992) reportan efecto de la interacción ( $p < 0.05$ ) época (seca vs lluvia) con región de muestreo (8 sitios) en las concentraciones séricas de Cu, Fe y Mo en ganado Senepol de las Islas Vírgenes. En México, el efecto de la interacción época con

sitio de muestreo sobre el perfil mineral de ganado bovino han sido reportadas por Morales *et al.* (2007) con ganado lechero en la región del valle de Toluca, y por Vieyra *et al.* (2013) con ganado *Bos taurus x Bos indicus*, en la Huasteca Potosina; observando significancia de la interacción en el contenido de Cu, Zn, Se, Ca, K y P en el primer caso, y sobre la concentración de Cu, Ca, Mg, K, P y Na en el segundo. En el caso de los estudios en sistemas extensivos, factores como el valor nutritivo del forraje, la falta de suplementación alimenticia y de minerales, así como diferencias geológicas e incluso geográficas, son un común denominador para la posible observación de este tipo de interacciones. En el caso de estudios bajo condiciones intensivas de producción, donde las instalaciones, el sistema de alimentación y el sistema de manejo son parecidos, la concentración y la fuente de suplementación mineral, el aporte mineral del agua y de los alimentos, así como decisiones de manejo particulares, pueden ser causa de la variación del contenido de minerales y su interacción entre hatos o unidades de producción (Lee *et al.*, 1978; Wildeus *et al.*, 1992; Castillo *et al.*, 2013; Bicalho *et al.*, 2014).

El análisis de regresión realizado para cada época permitió generar ecuaciones para predecir la concentración mineral en suero sanguíneo y la producción de leche, sin embargo el máximo  $R^2$  obtenido ( $p < 0.01$ ) fue de 0.29 (Cuadro 9).

Para la época cálida, la producción de leche fue explicada parcialmente ( $R^2 = 0.20$ ,  $p \leq 0.0002$ ) por las variables DEL y el contenido sérico de Cu; en México, las concentraciones de Cu en tejidos y fluidos de ganado lechero no se han estudiado ampliamente para evaluar su efecto en la producción calidad de la leche. Engle *et al.* (2001) no observaron

Cuadro 9. Ecuaciones de predicción de minerales en suero sanguíneo y producción de leche en vacas Holstein de 30-60 DEL en dos épocas.

Item	Ecuación General: $Y = + \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n$	R <sup>2</sup>	Pr > F
E. Cálida			
PL	64.83 - 0.26(DEL) - 13.06(Cu)	0.20	≤ 0.0002
Cu	1.10 - 0.005(PL) + 0.24(Zn) - 0.08(Fe) - 0.004(Ca) + 0.002(K)	0.29	≤ 0.001
Ca	64.80 - 20.20(Cu) + 2.35(Mg) - 0.10 (K)	0.25	0.001
Mg	16.34 - 0.07(DEL) + 0.05(Ca)	0.27	0.001
E. Fría			
Mg	11.92 - 0.62 (Fe) - 0.04(K)	0.29	0.001
K	38.68 + 0.82(Ca) + 5.92(Mg)	0.30	0.001

DEL, Cu, Fe, y Ca son presentados como datos no transformados.

diferencias ( $p > 0.05$ ), por efecto del nivel de suplementación con Cu, en la producción de leche. Sin embargo, Pechova *et al.* (2008) indicaron una correlación negativa ( $-0.3$ ,  $p < 0.05$ ) entre la concentración de Cu la producción de leche en la misma época. La concentración de cobre fue explicada ( $R^2 = 0.30$ ,  $p < 0.001$ ) por las variables PL y contenidos séricos de Zn, Fe, Ca y K; de forma atípica, las concentraciones de Zn y K, estuvieron relacionados positivamente con la concentración de Cu. En la publicación del NRC (2001) se indica que el Zn y el Fe pueden interferir la absorción del Cu, así como la de Ca y K (Kies y Harms, 1989); el Ca estuvo asociado ( $R^2 = 0.25$ ,  $p < 0.001$ ) con el contenido de Cu, Mg y K; y el contenido de Mg con los DEL y la concentración de Ca ( $R^2 = 0.27$ ,  $p < 0.001$ ). El Mg es un cofactor de la hormona paratiroidea, y se ha indicado que complementar K, cuando el Ca está bajo, aumenta el contenido de este, aún sin la complementación adicional de Ca (Goff, 2008). El K es uno de los principales antagonistas del Mg, lo cual puede causar una disminución indirecta del Ca (Sanchez *et*

*al.*, 1994; NRC, 2005). En la época fría, el contenido de Mg estuvo asociado ( $R^2= 0.29$ ,  $P= 0.001$ ) con el de Fe y K; y la concentración de K con Ca y Mg ( $R^2= 0.30$ ,  $P= 0.01$ ).

En el Cuadro 10 se presenta la probabilidad de incidencia de eventos (%) sanitarios en los primeros 100 DEL, el porcentaje de vacas gestantes a primer servicio, así como los días a primer servicio. Para los eventos sanitarios, solamente los casos de diarrea difirieron ( $p<0.01$ ) entre establos (7.0 vs 32.1 %), los demás eventos sanitarios no difirieron entre épocas o establos. El promedio de días a primer servicio fue menor ( $p<0.01$ ) en la época cálida (59.7 vs 67.8) y en el Establo 1 (57.2 vs 69.8). El porcentaje de vacas gest antes a primer servicio varió solamente entre épocas ( $p<0.05$ ), fue menor en la EC (11.4 vs 25.8).

Cuadro 10. . Incidencias (%) y probabilidades de eventos sanitarios en los primeros 100 DEL y porcentaje de gestación a primer servicio de vacas Holstein en dos épocas y dos granjas.

Item	Época		Pr <sup>†</sup>	Establo		Pr
	Cálida	Fría		G1	G2	
Diarrea (%)	21.3	19.2	0.84	7.00	32.1	≤ 0.01
Desórdenes uterinos (%)	35.0	28.8	0.71	36.1	28.4	0.14
Mastitis (%)	10.0	12.3	0.83	8.3	13.6	0.41
DPS <sup>¶</sup> (d <sup>-1</sup> )	59.7	67.8	≤ 0.01	57.2	69.8	≤ 0.01
TC <sup>§</sup> (%)	11.4	25.7	0.03	15.5	21.0	0.21

<sup>†</sup>Pr = probabilidad de las variables evaluadas. <sup>¶</sup>DPS=Días a primer servicio. <sup>§</sup>TC=Tasa de concepción a primer servicio.

Respecto a la variable de días al primer servicio, las vacas del establo 1 en la EC entraron en celo en menos tiempo; esto puede estar relacionado con el periodo de espera voluntario para el primer servicio (PEV). Miller *et al.* (2007) observaron una mediana del PEV de 55.5 días en establos lecheros de UU. EE. Al respecto, Hansen y Fuquay (2011) indican que bajo estrés calórico una estrategia para mejorar la reproducción del hato es

reducir el PEV, esto mejora la proporción de vacas gestantes a tiempos específicos posparto (ej. a los 90 d posparto), pero la tasa de preñez por inseminación artificial (IA), generalmente no mejora.

La tasa de concepción a primer servicio fue afectada por la época ( $p < 0.05$ ). Algunos estudios en la misma región (Cruz *et al.*, 2009) reportan tasas de concepción de vacas Holstein en el verano (ITH  $> 72$ ) de 11.8 a 14.7% con IA a tiempo fijo, lo cual fue similar a lo reportado en el presente estudio (11.4%). Al-Katanani *et al.* (2002) sugieren que el estrés calórico puede dañar al ovocito durante el periodo que precede a la formación del folículo antral, por lo tanto hay una reducción en la fertilidad durante el verano en climas cálidos.

Morton *et al.* (2007) en el meta análisis realizado concluyen que las vacas lecheras expuestas a un ITH  $> 72$  durante 6 días después de la IA pueden reducir su probabilidad de quedar gestantes, de forma similar, la exposición 1, 3 o 5 semanas, previo a la IA, pueden reducir la tasa de concepción.

En la Figura 1 se muestran las diferencias ( $p < 0.05$ ) en las concentraciones de minerales séricos de las vacas evaluadas en relación con los eventos sanitarios y reproductivos. Considerando ambas épocas, se observaron menores concentraciones séricas de Cu en las vacas con diarrea (0.71 vs 0.81 mg L<sup>-1</sup>), mientras que el Zn fue mayor en las vacas con trastornos uterinos (0.93 vs 0.83 mg L<sup>-1</sup>). Durante la época fría se observó el mismo patrón descrito para Zn (0.90 vs 0.79 mg L<sup>-1</sup>) y una reducción de la concentración sérica de K en vacas con mastitis (206.5 vs 229.7 mg L<sup>-1</sup>). En la época cálida, las vacas

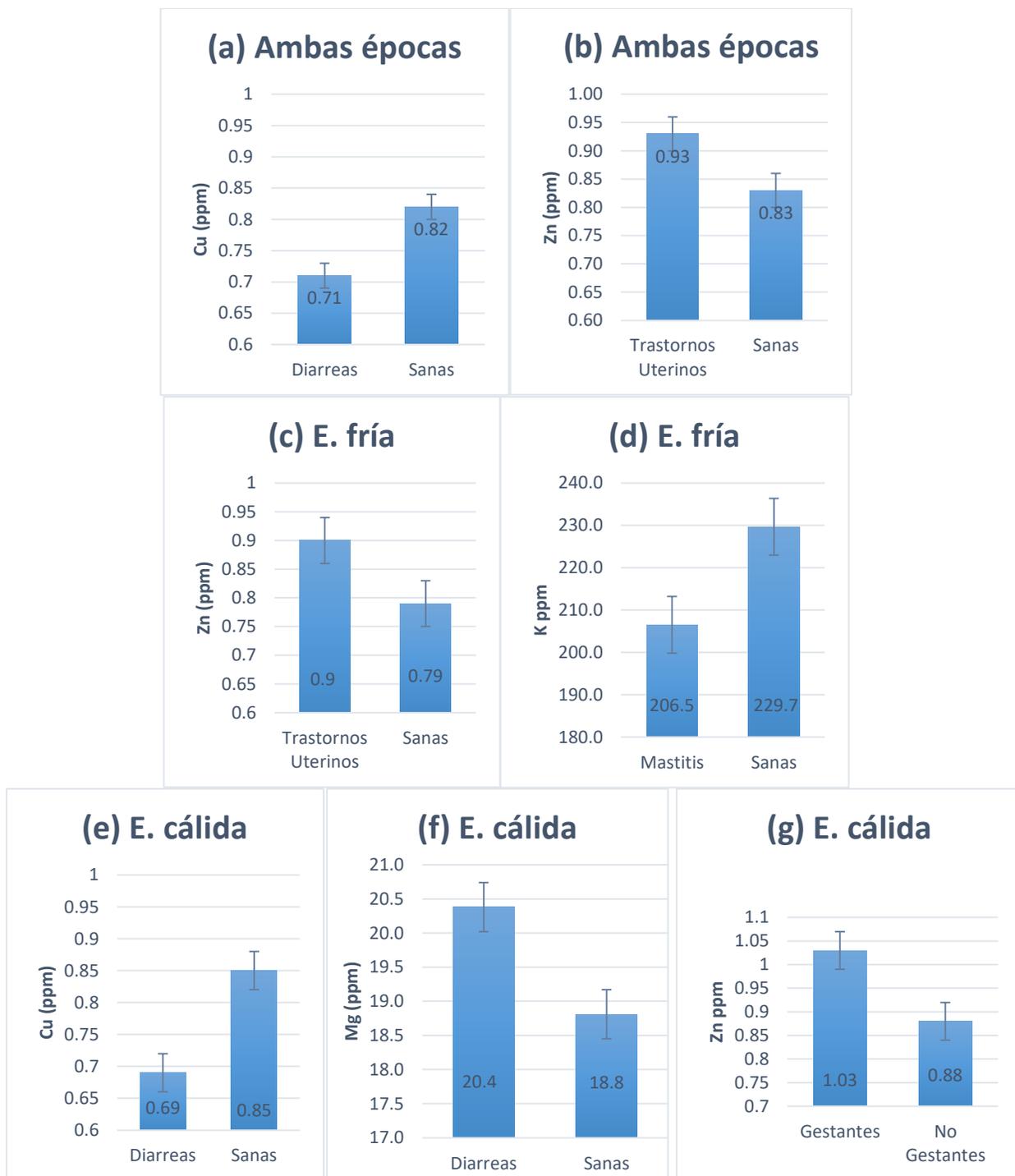


Figura 5. . Concentraciones minerales de vacas Holstein tomadas entre los 30-60 DEL en relación a eventos sanitarios reproductivos dentro de los primeros 100 DEL. a y b durante las 2 épocas; c y d durante época fría, e, f y g durante la época cálida.

con diarrea tuvieron menos Cu (0.69 vs 0.85 mg L<sup>-1</sup>), en el mismo grupo se observó un incremento de Mg (20.4 vs 18.8 mg L<sup>-1</sup>). En esta misma época, las vacas gestantes a primer servicio, tuvieron concentraciones mayores de Zn, respecto a las no gestantes (1.03 vs 0.88 mg L<sup>-1</sup>).

Suttle (2010) menciona que en el ganado bovino la deficiencia de algunos minerales está asociada con la presencia de diarreas; en el caso del Cu, ya sea por un bajo aporte en la ración, o por su interacción con el Mo. La alta concentración de Fe (> 250 ppm) y Mg (>25g Kg<sup>-1</sup>) en la ración puede causar diarreas. Mills *et al.* (1976) al inducir deficiencias de Cu en ganado bovino, vía bajas concentraciones de Cu en dieta (1 y 8 mg Kg<sup>-1</sup>) observaron diarreas severas en ganado Holstein alimentado por más de 200 d con esa dieta, las cuales solo cesaron con la aplicación oral del elemento. Suttle *et al.* (1976) reportaron un comportamiento similar al observar diarreas intermitentes en becerros consumiendo raciones semipurificadas deficientes en Cu.

Bicalho *et al.* (2014) reportaron en vacas Holstein con endometritis, concentraciones séricas de Ca, Mo y Zn más bajas (p<0.01) a las del grupo control, y concentraciones similares (p≥0.26) de Cu Fe, K y Mg. Estos autores también indicaron concentraciones más bajas (p<0.01) de Ca, Mo y Zn en vacas con retenciones de placenta, y menor concentración de Ca, Mo, P y Zn en casos de metritis.

Por otro lado, Ersikine *et al.* (1993) en vacas observaron menor concentración de Cu, Fe y Zn en las primeras 24 h después de un desafío intramamario con *E. coli* en 52, 28 y 35% respectivamente, comparado con las concentraciones previas al desafío. De manera

similar, Middleton *et al.* (2004) observaron una reducción de 89, 83 y 81% en los mismos microelementos, en una infección controlada con *Staphylococcus aureus*.

Al evaluar las concentraciones de macrominerales en vacas con mastitis, y tres semanas después de presentar el evento, El Zubei *et al.* (2005) observaron menor concentración de K en suero sanguíneo ( $p < 0.05$ ) en casos de mastitis subclínica, y de Ca y P ( $p < 0.01$ ) en vacas con mastitis clínica. Similarmente, Wegner *et al.* (1978) observaron menor concentración de K en el suero sanguíneo ( $p < 0.05$ ) de vacas con mastitis, así como un aumento de la concentración de Ca, Na y Cl.

En vacas multíparas alimentadas con forraje henificado, Small *et al.* (1997) no observaron influencia ( $p > 0.05$ ) del Cu, Zn, Ca, Mg, K, Na o S en la tasa de concepción, pero reportaron que las vacas que se preñaron 21 d después del estro, presentaron mayor contenido de P y B ( $p < 0.05$ ). En el presente estudio observamos una amplia serie de deficiencias minerales, pero solo las concentraciones séricas de Zn se relacionaron con la gestación a primer servicio en la época cálida. Las concentraciones séricas de Zn son casi dos veces más altas que las concentraciones foliculares, aunque la alta expresión de los genes transportadores de Zn en el ovocito sugieren un transporte activo de Zn durante las primeras etapas del desarrollo previo a la implantación (Menezo *et al.*, 2011). Tian y Días (2013), en un estudio con ratas de laboratorio, reportaron que la deficiencia aguda de Zn durante 3 y 5 días previos a la ovulación, puede ocasionar una dramática alteración en la metilación de la cromatina de los ovocitos y en el desarrollo pre implantacional. Smith y Akinbamijo (2000) mencionan que una de las características de la deficiencia de Zinc es la reducción de la fertilidad en la hembra, así como la reducción del tamaño de camada en

especies multíparas, mientras que la suplementación previo al empadre, y continuanda hasta el parto y destete, puede mejorar la fertilidad, el peso al nacimiento y peso al destete de la cría.

### 3.5 CONCLUSIONES

Las vacas lecheras estudiadas presentaron severos problemas minerales que dependieron más de la interacción época con establo. La época afecta los días a primer servicio y la tasa de concepción a primer servicio. Los establos evaluados tienen un efecto sobre la incidencia de diarreas y días a primer servicio. Las incidencias de mastitis, diarreas y trastornos uterinos en los primeros 100 DEL, así como las gestaciones a primer servicio fueron asociados por la época con las concentraciones de minerales en suero sanguíneo de las vacas entre los 30 y 60 DEL. Durante la época cálida, se observó una asociación entre los incidentes de diarrea y las concentraciones séricas de Cu y Mg, así mismo de la tasa de concepción a primer servicio y de Zn. Durante la época fría se observó una asociación de las concentraciones séricas de Zn con la incidencia de trastornos uterinos, así como de K con incidentes de mastitis.

#### **Agradecimientos**

Se le agradece al Ing. José Jaimes Jaimes, Gerente General de la Unidad de Producción 18 de Julio de la UACH, y al Ing. Vicente Hernández de PROBIOSER SA. de CV., por su valiosa colaboración en la fase de campo del estudio.

### 3.6 LITERATURA CITADA

- Al-Katanani Y. M., F. F Paula-Lopes, and P. J. Hansen. 2002. Effect of Season and Exposure to Heat Stress on Oocyte Competence in Holstein Cows<sup>1</sup>. *J. Dairy Sci.*, 85(2), 390-396.
- Baumgard L. H., and P. Rhoads. 2013. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *An. Rev. Anim. Biosc.* 1: 311-337.
- Baydar E., and M. Dabak. 2014. Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle. *J. Dairy Sci.* 9(71): 222-228.
- Bernabucci U., N. Lacetera, L. H. Baumgard, P. P. Rhoads, B. Ronchi, and A. Nardone. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal* 4: 1167-1183.
- Bicalho M. L. S., F. S. Lima, E. K. Ganda, C. Foditsch, E. B. S. Meira, V. S. Machado, and R. C. Bicalho. 2014. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97(7): 4281-4295.
- Bohmanova J., I. Misztal, and J. B. Cole. 2007. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 90(4): 1947-1956.
- Castillo A. R., N. R. St-Pierre, N. S. del Rio, and W. P. Weiss. 2013. Mineral concentrations in diets, water, and milk and their value in estimating on-farm excretion of manure minerals in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96(5): 3388-3398.

- Collier R. J., R. B. Zimbelman, R. P. Rhoads, M. L. Rhoads, and L. H. Baumgard. 2011. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. *In: Western Dairy Management Conf. Reno, NV. USA. pp: 113-125.*
- Cruz-Velazques J. E., C. A. Elizondo Vázquez, R. Ulloa-Arvizu, and I. G. Fernandez-Garcia. 2009 Holstein cows under heat stress conditions. *Rev. Mex. Cienc. Pec. 47: 107-115.*
- De Rensis F., and R. J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. *Theriogenology 60(6): 1139-1151.*
- El Zubeir I. E. M., ElOwni, O. A. O., and G. E. Mohamed. 2005. Effect of mastitis on macro-minerals of bovine milk and blood serum in Sudan. *J. South Afr. Vet. Assoc. 76: 22-25.*
- Engle T. E., V. Fellner, and J. W. Spears. 2001. Copper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in Holstein cows fed varying concentrations of copper. *J. Dairy Sci. 84(10): 2308-2313.*
- Erdogan S., S. Celik, and Z. Erdogan. 2004. Seasonal and locational effects on serum, milk, liver and kidney chromium, manganese, copper, zinc, and iron concentrations of dairy cows. *Biol. Trace Elem. Res. 98(1): 51-61.*
- Erskine R. J., and P. C. Bartlett. 1993. Serum concentrations of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli*-induced mastitis. *J. Dairy Sci. 76(2): 408-413.*

- Fick K. R, L. R. McDowell, P. H. Miles, N. S. Wilkinson, J. D. Funk, and J. H. Conrad. 1979. Method of mineral analysis for plants and animal tissues. 2nd ed., Department of Animal Science, University of Florida, Gainesville. Pg.?
- Garcia-Muñiz J.G., C. D. Herrera-Monsalvo, A. Lara-Bueno, R. López-Ordaz, J. Jaimes-Jaimes, and R. Ramírez-Valverde. 2015. Effects of drinking water desalination on several traits of dairy cows in a Mexican semiarid environment. *Life Science Journal* 12(2): 83-97.
- Goff J. P. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.* 176(1): 50-57.
- Hansen P. J and Fuquay J. W. 2011. Stress in Dairy Animals, Heat Stress: Effects on Reproduction. *In: Fuquay, J. W., Fox, P. F., and McSweeney (Eds.) Encyclopedia of Dairy Science* pp.567-574.
- Horst R. L., J. P. Goff, and T. A. Reinhardt. 1994. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 77(7): 1936-1951.
- Kies C., and J. M. Harms. 1989. Copper absorption as affected by supplemental calcium, magnesium, manganese, selenium and potassium. *In: Copper Bioavailability and Metabolism.* Springer. US. pp: 45-58.
- Kincaid, R. L. 2000. Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. *J. Animal Sci.* 77(E-Suppl): 1-10.
- Kume, S., T. Toharmat, and N. Kobayashi. 1998. Effect of restricted feed intake of dams and heat stress on mineral status of newborn calves. *J. Dairy Sci.* 81(6): 1581-1590.

- Lee A. J., A. R. Twardock, R. H. Bubar, J. E. Hall, and C. L. Davis. 1978. Blood metabolic profiles: their use and relation to nutritional status of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 61(11): 1652-1670.
- Ménézo Y., L. Pluntz, J. Chouteau, T. Gurgan, A. Demiroglu, A. Dalleac, and M. Benkhalifa. 2011. Zinc concentrations in serum and follicular fluid during ovarian stimulation and expression of Zn<sup>2+</sup> transporters in human oocytes and cumulus cells. *Reprod. Biomedic.* 22(6): 647-652.
- Middleton J. R., C. D. Luby, L. Viera, J. W. Tyler, and S. Casteel. 2004. Short communication: influence of *Staphylococcus aureus* intramammary infection on serum copper, zinc, and iron concentrations. *J. Dairy Sci* 87(4): 976-979.
- Mills C. F., Dalgarno, A. C., and Wenham, G. 1976. Biochemical and pathological changes in tissues of Friesian cattle during the experimental induction of copper deficiency. *Brit. J. Nutr.* 35(3): 309-331.
- Miller R. H., H. D. Norman, M. T. Kuhn, J. S. Clay, and J. L. Hutchison. 2007. Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. *J. Dairy Sci.* 90(3): 1594-1606.
- Morales-Almaráz E., I. Domínguez-Vara, M. González-Ronquillo., G. Jaramillo-Escutia, O. Castelán-Ortega, N. Pescador-Sálas y M. Huerta Bravo. 2007. Diagnóstico mineral en forraje y suero sanguíneo de bovinos lecheros en dos épocas en el valle central de México. *Técnica Pecuaria en México*, 45: 329-344.

- Morton J. M., W. P. Tranter, D. G. Mayer, and N. Jonsson. 2007. Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: critical periods of exposure. *J. Dairy Sci.* 90(5): 2271-2278.
- National Research Council. 1971. *A Guide to Environmental Research on Animals*. National Academy of Sciences, Washington, D. C. 374 p.
- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: 2001*. National Academy Press, Washington, D. C. pp 105-161.
- National Research Council. 2005. *Mineral Tolerance of Animals: 2005*. National Academies Press. pp 496.
- Noaman V. 2014. Serum copper, zinc, and iron concentrations of Holstein dairy cows in different seasonal and physiological states. *Comparat. Clin. Path.* 23(4): 1059-1062.
- Pechova A., L. Pavlata, R. Dvořák, and E. Lokajová. 2008. Contents of Zn, Cu, Mn and Se in milk in relation to their concentrations in blood, milk yield and stage of lactation in dairy cattle. *Acta Vet. Brno.* 77(4): 523-531.
- Pereira, J. V., L. R. McDowel, J. Conrad, N. Wilkinson, and F. Martin. 1997. Mineral status of soils, forages and cattle in Nicaragua. I. Microminerals. *Rev. Fac. Agronom.* 14: 73-89.
- PerkinElmer 1996. *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy*. The Perkin-Elmer Corporation. USA. p: 297.
- Puls R. 1988. *Mineral Levels in Animal Health. Diagnostic data*. Sherpa International, Clearbrook, B. C. p: 153.

- Salles M. S. V., M. A. Zanetti, F. A. Salles, E. A. Titto, and R. C. Conti. 2010. Changes in ruminal fermentation and mineral serum level in animals kept in high temperature environments. *Rev. Brasil. Zoot.* 39(4): 883-890.
- Sanchez W. K., M. A. McGuire, and D. K. Beede. 1994. Macromineral nutrition by heat stress interactions in dairy cattle: review and original research. *J. Dairy Sci.* 77(7): 2051-2079.
- Schneider P. L., D. K. Beede, C. J. and Wilcox. 1988. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J. Animal Sci.* 66: 112-125.
- Small J. A., Charmley, E., Rodd, A. V., and Fredeen, A. H. 1997. Serum mineral concentrations in relation to estrus and conception in beef heifers and cows fed conserved forage. *Canadian Journal of Animal Science* 77(1): 55-62.
- Smith O. B., and O. O. Akinbamijo. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal Reproduction Science* 60: 549-560.
- Srikandakumar A., and E. H. Johnson. 2004. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu cows. *Trop. Animal Health Prod.* 36(7): 685-692.
- Suttle N. F., and , K. W. Angus. 1976. Experimental copper deficiency in the calf. *Journal of Comparative Pathology* 86(4): 595-608.
- Suttle N. F. 2010. *Mineral Nutrition of Livestock*. 4th Edition. CABI. P.579.

- Teng W. F., W. M. Sun, L. F. Shi, D. D. Hou, and H. Liu. 2008. Effects of restraint stress on iron, zinc, calcium, and magnesium whole blood levels in mice. *Biol. Trace Elem. Res.* 121(3): 243-248.
- Tian X., and F. J. Diaz. 2013. Acute dietary zinc deficiency before conception compromises oocyte epigenetic programming and disrupts embryonic development. *Dev. Biol.* 376(1): 51-61.
- Vieyra-Alberto R., I. Domínguez-Vara, G. Olmos-Oropeza, J. F. Martínez-Montoya, J. L. Borquez-Gastelum, J. Palacio-Nuñez, and E. Morales-Almaráz. 2013. Perfil e interrelación mineral en agua, forraje y suero sanguíneo de bovinos durante dos épocas en la Huasteca Potosina, México. *Agrociencia* 47(2): 121-133.
- Vignjević S., M. Budeč, D. Marković, D. Đikić, O. Mitrović, S. Mojsilović, and G. Jovčić. 2014. Chronic psychological stress activates BMP4-dependent extramedullary erythropoiesis. *J. Cell. Mol. Med.* 18: 91-103.
- Wegner T. N., and Stull, J. W. 1978. Relation between mastitis test score, mineral composition of milk, and blood electrolyte profiles in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 61(12): 1755-1759.
- Wildeus, S., L. R. McDowell, and J. R. Fugle. 1992. Season and location effects on serum and liver mineral concentrations of Senepol cattle on St Croix, Virgin Islands. *Trop. Animal Health Prod.* 24(4): 223-230.
- Yokus B., and U. D., Cakir. 2006. Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. *Biol. Trace Element Res.* 109(3): 255-266.

## CAPÍTULO 4

## 4 SUPLEMENTACIÓN SUPRANUTRICIONAL DE MICROMINERALES SOBRE ESTATUS MINERAL DE SUERO SANGUÍNEO Y PARÁMETROS SANITARIOS Y PRODUCTIVOS EN VACAS HOLSTEIN

(Formato de revisión de Agrociencia)

Pedro Meda Alducin<sup>1</sup>, \*Maximino Huerta Bravo<sup>1</sup>, Baldomero Alarcón Zúñiga<sup>1</sup>, Raymundo Rangel Santos<sup>1</sup>, e Ignacio Arturo Domínguez Vara<sup>2</sup>

### 4.1 RESUMEN

Vacas Holstein en dos estudios fueron utilizadas para evaluar el efecto de un suplemento supranutricional de Se, Cu, Cr y I, suministrado durante 60 d, sobre concentraciones de minerales séricos y parámetros productivos y sanitarios de vacas Holstein. En el estudio 1 (E1), vacas entre 20-60 DEL ordeñadas 3 veces al día fueron asignadas a un grupo de suplementación (T1, n=80) o a un grupo testigo (T2, n=80). En el estudio 2 (E2) vacas Holstein entre 10 y 40 DEL ordeñadas 2 veces al día fueron asignadas a un grupo de suplementación (T1, n=26) o a un grupo testigo (T2, n=26). Muestras de sangre fueron tomadas por venopunción coccígea (E1 a los 30 y 60d posteriores al inicio de la suplementación, y E2 al inicio y a los 60 d) para determinar las concentraciones séricas de Cu, Zn, Fe, Ca, Mg, Na, K y P. La producción de leche diaria (30 d), incidencias de mastitis e infecciones uterinas fueron registrados en el E1, y la producción semanal de leche para el E2. Se observó una interacción tratamiento por tiempo de suplementación en el E1 para todos los minerales evaluados ( $p<0.05$ ), mientras que en el E2 solo Zn y K presentaron diferencias ( $p<0.05$ ) en los grupos a los 60 d vs el diagnóstico inicial. Se observaron concentraciones menores ( $p<0.05$ ) de Zn y Mg en vacas que presentaron mastitis, mientras que las vacas con infecciones uterinas presentaron valores más altos de Zn y Fe en comparación a vacas sanas ( $p<0.05$ ). No se observaron diferencias en la producción total de leche en el E1 y en el E2 ( $p>0.05$ ). La suplementación supranutricional de Se, Cu, Cr y I no afectó el desempeño productivo ni sanitario de vacas las Holstein evaluadas.

**Palabras clave:** Suplementación mineral supranutricional, selenio, vacas Holstein.

<sup>1</sup>Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, Chapingo, Estado de México, CP 56230, tel: (595) 9521621.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo”, Toluca, Estado de México. 50090, tel. 722 2965542.  
\*mhuertab@taurus.chapingo.mx, [\\*maxhuerta@prodigy.net.mx](mailto:*maxhuerta@prodigy.net.mx)

# SUPRANUTRITIONAL SUPPLEMENTATION OF MICROMINERALS ON BLOOD SERUM MINERAL STATUS AND SANITARY AND PRODUCTIVE PARAMETERS IN HOLSTEIN COWS

Pedro Meda Alducin<sup>1</sup>, \*Maximino Huerta Bravo<sup>1</sup>, Baldomero Alarcón Zúñiga<sup>1</sup>,  
Raymundo Rangel Santos<sup>1</sup>, e Ignacio Arturo Domínguez Vara<sup>2</sup>

## ABSTRACT

Holstein cows in two studies were used to evaluate the effect of a supranutritional supplement of Se, Cu, Cr and I, supplied during 60 d, on concentrations of serum minerals and productive and health parameters of Holstein cows. In study 1 (S1), cows between 20-60 DIM milked 3 times a day were assigned to a supplementation group (T1, n = 80) or a control group (T2, n = 80). In study 2 (S2) Holstein cows between 10 and 40 DIM milked twice daily were assigned to a supplementation group (T1, n = 26) or a control group (T2, n = 26). Blood samples were taken by coccygeal venopuncture (S1 at 30 and 60 d after start of supplementation, and at start and at 60 d) to determine concentrations of Cu, Zn, Fe, Ca, Mg, Na, K and P. Daily milk production (30 days), incidences of mastitis and uterine infections were recorded in S1 and weekly milk production for S2. It was observed a treatment interaction by the time of supplementation in the S1 for all the evaluated minerals ( $p < 0.05$ ), whereas in the S2 only Zn and K presented differences ( $p < 0.05$ ) in the groups to 60 d. Zn and Mg lower concentrations ( $p < 0.05$ ) were observed in cows with mastitis, whereas cows with uterine infections presented higher values of Zn and Fe compared to healthy cows ( $p < 0.05$ ). There were no differences in total milk production in S1 or S2 ( $p > 0.05$ ). Supranutritional supplementation of Se, Cu, Cr and I did not affect the productive or health performance of the Holstein cows evaluated.

**Key words:** Supranutritional mineral supplementation, selenium, Holstein cows.

<sup>1</sup>Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco, Km 38.5, Chapingo, Estado de México, CP 56230, tel: (595) 9521621.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo”, Toluca, Estado de México. 50090, tel. 722 2965542.

\*[mhuertab@taurus.chapingo.mx](mailto:mhuertab@taurus.chapingo.mx), \*[maxhuerta@prodigy.net.mx](mailto:maxhuerta@prodigy.net.mx)

## 4.2 INTRODUCCIÓN

La recomendación del NRC (2001) sobre el contenido de micro minerales en raciones de ganado lechero es formular con base de una dieta completa. Las deficiencias de micro minerales podrían afectar considerablemente la síntesis de hormonas, la función reproductiva normal, la síntesis de vitaminas, la formación de enzimas y la integridad del sistema inmunológico (Suttle, 2010), lo cual podría afectar la producción de leche, la sanidad y fertilidad del hato. Dichos trastornos pueden prevenirse o resolverse si se corrigen las deficiencias (NRC, 2001). Una amplia variedad de estudios en ganado lechero, han indicado los beneficios de la complementación de microminerales, mayor producción de leche, mejoría de parámetros sanitarios y reproductivos, sobre todo cuando el complemento mineral es de fuentes orgánicas (mineral-metionina, mineral levadura) (Ballentine *et al.*, 2002; Nocek *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2005; Hackbart *et al.*, 2010), aunque otros casos solo reportan efectos sobre las concentraciones de los minerales evaluados (Uchida *et al.*, 2001). Enjalbert *et al.* (2006) reportan que las deficiencias más comunes en ganado lechero, tanto reemplazos como vacas en producción, son de los micro minerales Se, Cu y Zn. Lo anterior permite inferir que la respuesta a la complementación mineral está relacionada directamente con las deficiencias previas, y que los requerimientos minerales indicados por el (NRC 2001) pueden requerir una reevaluación acorde a los actuales parámetros productivos y situaciones específicas de la industria lechera.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de un complemento supramineral de Se, Cu, Cr y I, en dos establos lecheros con diferente manejo y nivel productivo sobre el estado

mineral en suero sanguíneo, algunos parámetros sanitarios y productivos de vacas Holstein en lactancia temprana y media.

### 4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.3.1 Ubicación y animales en el estudio

Entre octubre y diciembre de 2015, dos establos lecheros comerciales, ubicados en la región de la Comarca Lagunera de Durango, México (Latitud 25° 67' 74' N y 103° 43' 92" O) fueron involucrados en la evaluación de un complemento mineral supranutricional. Debido a las diferencias en el número de observaciones, nivel de tecnificación, manejo del hato, producción de leche, origen y tipos de ingredientes en las raciones, la evaluación de los establos se realizó en estudios independientes.

##### Estudio 1

El primer estudio se realizó en un establo altamente tecnificado (cuenta con abanicos y aspersores automáticos en ordeña y naves de descanso, cambio de cama entre ordeñas, constante oferta de alimento durante el día, cuenta con más de 2000 vacas en línea, con una producción de leche media diaria de 41.7 L vaca<sup>-1</sup> al inicio del estudio, periodo de espera voluntario a IA de 90 d. Se usaron un total de 160 vacas, de entre 2 y 4 lactancias, clínicamente sanas, ordeñadas 3 veces al día, entre 20 y 60 DEL, las cuales fueron asignadas a uno de 2 tratamientos, T1 (n=80): grupo de vacas bajo una suplementación mineral supranutricional y T2 (n=80): grupo testigo. La producción de leche media diaria por grupo fue similar (T1=46.8 vs T2=47.3L,  $p>0.05$ ) al inicio del estudio. Todas las vacas en el estudio compartían corrales y recibían la misma ración totalmente mezclada

(TMR), solo las vacas asignadas al T1 fueron suplementadas hasta por 2 meses. En ambos tratamientos, un grupo representativo (entre 40-50%) fue muestreado para analizar minerales a los 30 y 60 días posteriores al inicio del estudio. Vacas Frescas (2-15 DEL) fueron muestreadas al inicio del estudio para generar los valores iniciales de comparación entre tratamientos. El suplemento se preparó diariamente mezclando concentraciones conocidas de la mezcla mineral FE263 (BIOTECAP, México) con maíz molido y melaza y se suministró (18 g de mezcla vaca<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) a las vacas del T1 a la hora de la primera alimentación matutina sobre la ración totalmente mezclada. El suplemento contenía selenio, cromo, cobre y yodo en levadura (BIOWAYS, BIOTECAP, México). La información sobre composición mineral de la dieta, el aporte del suplemento y la relación del aporte total de la ración respecto al requerimiento del NRC (2001) se muestran en los Cuadros 11 y 12. La incidencia individual de eventos sanitarios durante el periodo de suplementación, así como la producción diaria de leche en el primer mes del estudio, fue adquirida de los registros de la computadora central del establo (Afifarm, Afimilk Ltd., Israel) y exportados a una hoja de cálculo para su depuración inicial.

Los eventos evaluados en cada vaca fueron mastitis, infecciones uterinas, diarreas y sobrealimentación “empachos”. La mastitis fue considerada como la inflamación de la ubre con cambios visibles en las características físicas de la leche. Las infecciones uterinas fueron consideradas con la presencia de descargas vaginales con olor fétido, coloración café-rojiza, purulenta o no traslúcida. Las diarreas fueron analizadas sin considerar su agente causal o etiología. El empacho se consideró a la presentación de heces no líquidas

con olor fétido y/o texturas y coloraciones anormales, sin identificarse otro problema sanitario o agente etiológico.

## Estudio 2

Con el objetivo de probar una suplementación mineral adicional en un establo con características productivas y de manejo promedio (naves sin regulación climática, cambio de cama una vez al día, ofrecido de alimento 3 veces al día, 300 vacas en línea con una producción de leche media diaria de 37.0 L vaca<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> al inicio del estudio y periodo de espera voluntario de 60 d para la primera IA). Un total de 52 vacas entre 10 y 40 DEL, 2 a 6 lactancias, clínicamente sanas, que compartían el mismo corral, fueron asignadas a uno de dos tratamientos, T1= suplementación mineral supranutricional por 60 d, y T2= grupo testigo. Se consideró una producción de leche similar entre tratamiento para la asignación aleatoria de las vacas (T1=38.9 vs T2=39.2 L). El suplemento suministrado fue preparado de manera similar al realizar el ofrecido de alimento vespertino de manera individual. La composición mineral estimada de la dieta, así como el aporte del suplemento se muestran en los Cuadros 11 y 12. Las vacas fueron ordeñadas dos veces por día, en una sala de ordeño doble nueve en paralelo. La producción de leche por vaca por día se obtuvo con mediciones individuales de leche representativas de la semana del experimento. La producción de leche se cuantificó utilizando lactómetros tipo Waikato MK V (Waikato NZ).

Cuadro 11. Composición nutricional de dietas en los Estudios 1 y 2, y requerimientos de NRC 2001.

Ítem	Estudio 1		Estudio 2	NRC	
	Frescas	Producción	Producción	Frescas <sup>†</sup>	Producción <sup>‡</sup>
Consumo (Kg Ms)	-	-	-	15.6	25
ENL Mcal kg <sup>-1</sup> MS	-	1.75	1.7	2.23	1.55
PC (%)	-	17.37	16.6	19.5	16.00
Calcio (%)	0.88	0.87	0.79	0.79	0.60
Fósforo (%)	0.37	0.36	0.28	0.49	0.38
Magnesio (%)	0.30	0.40	0.20	0.29	0.21
Potasio (%)	1.53	1.31	1.46	1.24	1.07
Azufre (%)	0.23	0.22	0.28	0.20	0.20
Sodio (%)	0.29	0.54	0.21	0.34	0.22
Cloro (%)	0.31	0.51	0.28	0.40	0.29
Hierro (ppm)	181.53	189.07	139.47	22.00	18.00
Zinc (ppm)	53.04	62.07	70.88	73.00	55.00
Cobre (ppm)	18.16	19.32	22.79	16.00	11.00
Manganeso (ppm)	48.25	61.87	52.63	21.00	13.00
Selenio (ppm)	0.13	0.35	0.30	0.30	0.30
Cobalto (ppm)	4.04	4.04	430.18	0.11	0.11
Yodo (ppm)	0.16	0.48	0.63	0.77	0.40

<sup>†</sup> Requerimientos de vacas frescas con 11 días de lactancia, con una producción de 35 L (NRC 2001). <sup>‡</sup> Requerimientos de vacas a media lactancia con 90 días en leche una producción de 45 L (NRC 2001). <sup>§</sup>

#### 4.3.2 Muestreo y análisis de suero sanguíneo

En el estudio 1, las vacas de ambos tratamientos fueron muestreadas los días 30 y 60 posteriores al inicio del mismo. Adicionalmente se obtuvieron muestras de vacas en etapas

Cuadro 12. Aporte del suplemento, estimación del aporte total de microminerales (vaca d-1) en vacas suplementadas, y porcentaje de aporte al requerimiento del NRC (2001) de Estudios 1 y 2.

Mineral	Aporte del suplemento	Estudio 1		Aporte del suplemento	Estudio 2	
		†Total de aporte mineral /Vaca d <sup>-1</sup>	‡Aporte al requerimiento NRC, Vaca d <sup>-1</sup> (%)		Total de aporte mineral /Vaca d <sup>-1</sup>	Aporte al requerimiento NRC, Vaca d <sup>-1</sup> (%)
Hierro (ppm)	-	4726.7	1050.4	-	139.5	31.0
Zinc (ppm)	-	1551.7	112.9	-	1772.0	128.9
Cobre (ppm)	133.40	616.4	224.1	163.0	732.8	266.5
Manganeso (ppm)	-	1546.7	475.9	-	1315.7	404.8
Selenio (ppm)	3.80	12.5	167.3	4.6	12.1	161.9
Yodo (ppm)	13.0	25.0	250.0	15.9	31.6	316.4
Cromo (ppm)	7.0	7.0	-	8.6	8.6	-

† Aporte teórico (se consideró el aporte de la formulación para vacas en producción del estudio con un CMS de 25 Kg). ‡ Considera el aporte del suplemento más el de la formulación comparada con los requerimientos de vacas con 90 días en leche, producción de 45 L y consumo de 25Kg Ms (NRC 2001) en porcentaje.

de reto y frescas, en un periodo que coincidió con el inicio del estudio. Los muestreos se realizaron después de la primera ordeña del día (6 a.m.) en ambos establos. La sangre fue extraída por punción coccígea en tubos al vacío (Vacutainer®, Becton Dickinson) sin anticoagulante, el suero fue separado por centrifugación a 3000 rpm, a 4°C, durante 15 minutos y conservado a -20°C hasta su análisis. Las determinaciones de Cu, Fe y Zn fueron realizadas con suero diluido en agua desionizada (Elix 10, USA). Las muestras de

suero para la determinación de Ca, Mg, Na, K y P fueron desproteinizadas con ácido tricloroacético grado reactivo (Sigma-Aldrich, USA) acorde a la metodología de Fick *et al.* (1979). La dilución final de calcio fue analizada en 1% de LaCl<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, USA) para controlar posibles ionizaciones. Las determinaciones fueron realizadas con un espectrofotómetro de absorción atómica (AAAnalyst 700, PerkinElmer, USA) siguiendo los métodos de PerkinElmer (1996). El P inorgánico fue determinado en un espectrofotómetro a 400 nm mediante la técnica de vana-molibdato amarillo. Blancos fueron analizados cada 10 muestras para ajustar posibles inestabilidades en las lecturas.

#### 4.3.3 Análisis estadístico

Se realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnov (pROC UNIVARIATE, SAS 9.4, SAS Institute Inc.) para verificar la normalidad de los datos. Todos los minerales fueron transformados utilizando un método de arcoseno para cumplir con los criterios de homogeneidad de varianza. En el estudio 1, el efecto del suplemento sobre la concentración mineral fue analizado usando el modelo lineal general (PROC GLM, SAS). El modelo estadístico usado fue  $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$ ; donde  $Y_{ijk}$  = concentración del mineral evaluado,  $\alpha_i$  = efecto del tratamiento (suplementación o testigo),  $\beta_j$  = tiempo de suplementación (0-2 meses) y,  $\alpha\beta_{ij}$  = efecto de la interacción tratamiento x tiempo y  $e_{ijk}$  = error experimental.

En el Estudio 2 se consideró al diagnóstico inicial como un tratamiento para compararlo contra las concentraciones minerales a los 60 d en ambos tratamientos. Regresiones lineales múltiples (PROC REG, con selección de STEPWISE, SAS) fueron realizadas

para determinar la asociación entre los minerales séricos, se consideró  $p \leq 0.10$  para la inclusión de los coeficientes en las ecuaciones, se consideró la siguiente ecuación general:  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n$ , donde Y es el valor predicho,  $\beta_0$  es el intercepto,  $\beta$  es el coeficiente de regresión que indica el cambio neto por cambio unitario en X, siendo X la variable independiente (concentración de minerales en suero sanguíneo). En el Estudio 1, la diferencia en la concentración mineral de vacas sanas y que presentaron incidentes sanitarios se evaluó independientemente de si la vaca fue o no suplementada y se comparó mediante una prueba de medias (PROC GLM, SAS). Se realizó una prueba de contrastes de medias (PROC GLM, SAS) para evaluar el efecto de los tratamientos en la producción de leche por semana, así como para determinar el efecto de los tratamientos sobre la producción promedio de leche en el total del periodo evaluado en cada estudio.

#### 4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 11 se muestra el aporte mineral de las raciones usadas en los estudios 1 y 2, las cuales prevén un aporte ligeramente mayor de Se en el E2, y de Cu y I en el E1. En el Cuadro 12 se presentan los aportes teóricos de vaca  $d^{-1}$  de las raciones considerando la suplementación mineral supranutricional, donde se observa que los aportes de Se son similares en ambos grupos suplementados, mientras que los de Cu, I y Cr son mayores en E2, variando en ambos casos entre un 160-310% el aporte de los minerales evaluados. La FDA establece que la concentración máxima de inclusión de selenio en USA es de  $0.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$  (NRC, 2001).

Castillo *et al.* (2013) indica que en establos lecheros de California EE. UU., el aporte mineral en dietas de hatos lechero muestra un uso generalizado de raciones que aportan minerales en mayor contenido al indicado en los requerimientos del NRC (2001).

Los estudios que evaluaron una suplementación independiente de Se, Cu, I o Cr, o en conjunto con otros minerales, han sido reportados en ganado bovino y diversas especies (Ballantine *et al.*, 2002; Fernandez *et al.*, 2008; Lamb *et al.*, 2008; Bicalho *et al.*, 2014), los cuales han tenido diversos efectos en la salud, producción y reproducción del ganado evaluado; sin embargo, el efecto se ha atribuido al suplemento en específico y no a alguno de los minerales suministrados.

En el Estudio 1 la interacción tratamiento por tiempo afectó a todas las variables (Cuadro 13); se consideró al grupo de vacas frescas como tiempo 0). Los minerales Cu, Zn y Fe en vacas frescas presentaron concentraciones mayores ( $p < 0.05$ ) comparadas con las vacas muestreadas a los 30 (M1) y 60 d (M2) posteriores al inicio del estudio.

Las concentraciones de Cu y Zn no presentaron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre tiempo, ni entre tratamientos; el Fe presentó la concentración más baja ( $p < 0.05$ ) en el grupo testigo a los 60 d de evaluación (T2M2). El nivel de Ca en T1M2 y T2M2 presentó las concentraciones más altas, ( $p < 0.05$ ), sin embargo, este último no fue diferente ( $p > 0.05$ ) a T2M1 o vacas frescas, y a su vez las vacas frescas fueron similares a T1M1. La concentración de Mg en las vacas frescas y T2M2 fue las más alta ( $p < 0.05$ ). El nivel de Na presentó los valores más altos ( $p < 0.05$ ) a los 60 d de evaluación, seguido de las vacas frescas y T1M1, mientras que T2M1 presentó el valor más bajo ( $p < 0.05$ ). Potasio por el contrario presentó los valores más altos a los 30 d de evaluación en ambos tratamientos

Cuadro 13. Medias de mínimos cuadrados de concentraciones minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein bajo una suplementación mineral supranutricional por 2 meses y grupos testigo (Estudio 1).

Ítem	N	Cu	Zn	Fe	Ca	Mg	Na	K	P
Frescas	24	0.71 <sup>a</sup>	1.04 <sup>a</sup>	2.99 <sup>a</sup>	109.10 <sup>bc</sup>	29.06 <sup>a</sup>	3330.73 <sup>bc</sup>	206.32 <sup>b</sup>	79.64 <sup>a</sup>
T <sup>†</sup> 1M <sup>¶</sup> 1	44	0.64 <sup>ab</sup>	0.91 <sup>b</sup>	2.51 <sup>b</sup>	123.84 <sup>a</sup>	26.47 <sup>b</sup>	3172.61 <sup>bc</sup>	240.07 <sup>a</sup>	64.95 <sup>b</sup>
T2M1	36	0.62 <sup>b</sup>	0.84 <sup>b</sup>	2.25 <sup>bc</sup>	114.74 <sup>b</sup>	26.11 <sup>b</sup>	2988.74 <sup>c</sup>	214.56 <sup>ab</sup>	76.80 <sup>a</sup>
T1M2	46	0.67 <sup>ab</sup>	0.89 <sup>b</sup>	2.25 <sup>bc</sup>	99.05 <sup>c</sup>	26.30 <sup>b</sup>	3809.80 <sup>a</sup>	211.04 <sup>b</sup>	63.16 <sup>b</sup>
T2M2	36	0.69 <sup>ab</sup>	0.93 <sup>ab</sup>	2.15 <sup>c</sup>	112.56 <sup>ab</sup>	30.53 <sup>a</sup>	3491.96 <sup>ab</sup>	213.49 <sup>b</sup>	65.85 <sup>b</sup>
EE		0.07	0.04	0.10	3.61	0.71	136.09	7.80	2.46
Prob>F		0.01	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.004	<0.001
NR <sup>§</sup>		0.8-1.5	0.8-1.4	1.3-2.5	80-110	18-30	3100-3450	160-215	60-90

Solo se compararon los tratamientos de vacas en producción. ). Medias con una literal diferente en la misma columna son diferentes. <sup>†</sup>T=Tratamiento: 1= Suplementación. 2= Testigo. <sup>¶</sup>M= tiempo de evaluación: 1= 30 d. 2=60 d. <sup>§</sup>NR= Niveles óptimos (Puls, 1988)

( $p < 0.05$ ), sin embargo, solo T1M1 difirió ( $p < 0.05$ ) de los demás ítems evaluados. En el caso de las concentraciones de P, solo las vacas frescas y T2M2 difirieron de las demás ( $p < 0.05$ ) y presentaron los valores más altos.

En el Cuadro 14 se presentan las concentraciones de minerales en suero sanguíneo de vacas en el Estudio 2, que considera un diagnóstico inicial (0 d) y los respectivos concentraciones minerales para el grupo suplementado (T1) en comparación al grupo testigo (T2) 60 d posteriores al inicio de la prueba. El contenido de Cu, Ca, Mg, Na y P no presentó diferencias ( $p > 0.05$ ) en entre tratamientos en el tiempo de suplementación. El contenido de Zn en el diagnóstico inicial (D0) presentó concentraciones más altas ( $p < 0.05$ ), mientras que K lo presentó en los tratamientos a los 60 d de la evaluación. El K presentó el valor más alto en T1.

Cuadro 14. Medias de mínimos cuadrados de concentraciones minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein bajo una suplementación mineral supranutricional por 2 meses y grupos testigo (Estudio 2).

Ítem	N	Cu	Zn	Fe	Ca	Mg	Na	K	P
D0 <sup>†</sup>	33	0.59	0.87 <sup>a</sup>	2.31	114.52	28.64	3519.50	199.63 <sup>b</sup>	75.56
T1 <sup>¶</sup>	25	0.56	0.76 <sup>b</sup>	2.31	110.70	29.23	3767.60	220.73 <sup>a</sup>	76.29
T2 <sup>§</sup>	26	0.56	0.75 <sup>b</sup>	2.17	110.82	30.29	3653.50	227.11 <sup>a</sup>	81.05
EE		0.02	0.03	0.11	3.92	0.83	117.24	5.08	2.52
Prob>F		0.36	0.005	0.61	0.72	0.35	0.30	<0.001	0.25
NR		0.3-1.2	0.8-1.4	1.3-2.5	80-110	18-30	3100-3450	160-215	60-90

<sup>†</sup>D0= Diagnóstico inicial. <sup>¶</sup> T1= Suplementación mineral durante 60 d. <sup>§</sup> T2= Testigo a los 60 d. <sup>P</sup> NR=Niveles óptimos (Puls, 1988). Medias con una literal diferente en la misma columna son diferentes.

Acorde a los Cuadros 15 y 16, el contenido de Cu y Zn fue, en los minerales que presentaron el mayor número de 91% en E1 y 88-100% en E2, mientras que el Zn se observó de 20 a 80%, en E1 y E2; esto podría deberse, en parte, a que la relación Zn/Cu fue menor a 3:1 en ambos casos, sugiriendo algunos autores que la relación óptima debe ser 5:1. El contenido de Fe, Ca, Mg y K, este último, excepto en el caso del T1M1; así como P en el Estudio 2, presentaron menos de 20% de casos de valores por debajo del rango adecuado. Sodio en ambos establos se observó en un rango de 18-55% de valores por debajo del rango óptimo, excepto T2M2 que se observó cerca de un 80%, y P en el Estudio 1 varió entre un 25-47%.

El alto grado de deficiencia, sobre todo en los microminerales en las vacas suplementadas y no suplementadas, podría indicar el efecto de un factor externo a los minerales evaluados que podría interferir con la absorción de dichos minerales.

Cuadro 15. Estadísticos descriptivos del porcentaje de muestras analizadas de suero sanguíneo de vacas Holstein que presentan valores inferiores (Def) o mayores (Alto) al rango (Estudio 1).

Mineral	Frescas		T <sup>†</sup> 1M <sup>¶</sup> 1		T2M1		T1M2		T2M2	
	Defic	Alto	Defic	Alto	Defic	Alto	Defic	Alto	Defic	Alto
Cu	85.0	0.0	89.9	0.0	91.43	0.0	89.13	0.0	81.3	0.0
Zn	9.5	0.0	31.71	0.0	62.9	0.0	26.57	0.0	21.1	0.0
Fe	0.0	75.3	6.7	51.1	0.0	29.7	2.1	31.3	5.4	18.9
Ca	0.0	43.4	0.0	61.0	0.0	58.8	0.0	16.6	0.0	50.3
Mg	0.0	26.1	0.0	8.9	6.1	21.2	2.13	8.5	0.0	50.0
Na	33.3	50.0	48.8	13.9	75.0	3.1	15.4	61.5	22.2	50.0
K	0.0	54.2	0.0	65.7	0.0	65.3	0.0	63.4	0.0	61.1
P	0.0	12.5	27.7	0.0	14.7	20.6	45.8	4.2	37.8	5.4

<sup>†</sup>T=Tratamiento: 1= Suplementación. 2= Testigo. M= tiempo de evaluación: 1= 30 d. 2=60 d. <sup>¶</sup>D0= Diagnóstico inicial. Medias con una literal diferente en la misma columna son diferentes.

Cuadro 16. Estadístico descriptivo del porcentaje de muestras analizadas de suero sanguíneo de vacas Holstein que presentan valores inferiores (Def) o mayores (Alto) al rango (Estudio2).

Mineral	D0 <sup>§</sup>		T1M2		T2M2	
	Inferior al RA*	Mayor al RA	Inferior al RA	Mayor al RA	Inferior al RA	Mayor al RA
Cu	95.5	0.0	100	0.0	100	0.0
Zn	41.2	0.0	76.9	0.0	75.9	0.0
Fe	0.0	40.6	0.0	20.8	10.7	25.0
Ca	0.0	18.8	0.0	52.0	0.0	48.2
Mg	0.0	21.2	0.0	41.6	3.7	50.0
Na	17.6	58.8	21.7	65.2	18.5	77.8
K	0.0	36.4	0.0	81.2	0.0	92.6
P	0.0	11.8	16.0	16.0	10.7	28.6

<sup>†</sup>T=Tratamiento: 1= Suplementación. 2= Testigo. M= tiempo de evaluación: 1= 30 d. 2=60 d. <sup>§</sup>D0= Diagnóstico inicial. Medias con una literal diferente en la misma columna son diferentes.

En la región de la Comarca lagunera varios estudios han reportado altas concentraciones de arsénico, flúor, molibdeno, plomo y sulfatos en suelo y agua (Ortiz *et al.*, 2009; Mejía *et al.*, 2014; García *et al.*, 2015; Sariñana *et al.*, 2017). Además, Mejía *et al.* (2014) en un estudio de la calidad de aguas subterráneas en la Región de la Comarca Lagunera

reportaron rangos de As entre 0.002-0.198 ppm, de sulfato de 44-529 ppm y de flúor de 0.11-3.5 ppm. La publicación de Puls (1988) indica valores recomendados máximos tolerables de 0.05, más de 500 y 1.2 ppm para As, sulfatos y F. Los autores Puls (1988) y Suttle (2010) reportan que el As es antagonista de Se, y que el I y F interfieren en el metabolismo de Cu, Zn, Fe, Mg, Mn y Mo; de manera similar el Pb puede interferir en el metabolismo de Se, Cu y Zn, y provocar bajas concentraciones de ellos.

Se debe considerar que el Cu, Zn y Fe, son antagonistas comunes entre los microminerales (Suttle, 2010), al igual que los sulfatos y molibdeno, son uno de los principales antagonistas del Cu al promover la formación de tiomolibdatos, compuesto muy poco absorbido en el tubo digestivo.

Las concentraciones altas de Se pueden causar almacenamiento de Cu en hígado (Suttle, 2010) al formar uniones con la ceruloplasmina, la principal proteína de transporte de Cu, lo que puede provocar bajas concentraciones séricas del mismo (Puls, 1988). Por otra parte, las altas concentraciones de Ca (16-65% de vacas en el Estudio 1 y 18 a 52% en el Estudio 2), K (54-65% en E1 y 36-92% en E2), y Mg (8-50% en E1 y 21 a 50% en E2), podrían afectar la absorción de Cu y Zn (Puls, 1988).

Mediante un análisis de regresión para los grupos de vacas frescas, suplementadas y testigo (a los 30 y 60 d de suplementación y testigos para E1, y a los 60 d y testigo para E2), se generaron ecuaciones para predecir la concentración mineral en suero sanguíneo. Se presentan las ecuaciones que reflejaron un  $R^2$  igual o mayor a 0.2 (Cuadro 17).

Cuadro 17. Ecuaciones de predicción de minerales en suero sanguíneo de vacas Holstein en grupos de vacas Frescas, Suplementadas y Testigo.

Item	Ecuación General: $Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \dots + \beta_nx_n$	R <sup>2</sup>	Pr>F
Estudio 1			
Frescas			
Ca	$69.23 - 3.18(\text{Fe}) + 1.69 (\text{Mg})$	0.42	<0.001
Mg	$3.88 + 0.22(\text{Ca})$	0.37	<0.001
T2M2			
Zn	$0.26 + 0.19 (\text{Fe}) + 0.0008(\text{Na})$	0.35	<0.003
Fe	$0.66 + 1.67(\text{Zn})$	0.28	<0.003
Ca	$32.56 + 1.82(\text{Mg}) + 0.10 (\text{K})$	0.43	<0.001
Mg	$18.09 - 7.02 (\text{Cu}) + 0.20(\text{Ca}) - 0.001(\text{Na})$	0.50	<0.001
T1M2			
Cu	$1.30 - 0.14(\text{Fe}) - 0.005(\text{p})$	0.38	<0.003
Fe	$3.16 - 1.47(\text{Cu})$	0.20	<0.02
Mg	$13.02 - 6.79 (\text{Zn}) + 2.35(\text{Fe}) + 0.0009(\text{Na}) + 0.17(\text{p})$	0.44	<0.02
P	$82.28 - 40.70(\text{Cu}) - 10.25 (\text{Fe}) + 1.24 (\text{Mg})$	0.25	0.015
Estudio 2			
D0			
Ca	$-39.94 + 4.12(\text{Mg}) + 0.010(\text{Na})$	0.32	0.004
Mg	$20.76 + 0.70(\text{Ca})$	0.32	0.004
E2T2			
Cu	$0.72 - 0.07(\text{Fe})$	0.22	0.026
Fe	$2.41 - 3.34(\text{Cu}) + 0.015(\text{Ca})$	0.38	0.009
Ca	$32.85 - 11.80(\text{Fe}) + 1.66(\text{Mg})$	0.31	0.027

Los datos en las ecuaciones son presentados como datos no transformados

En los muestreos iniciales de los grupos de vacas testigo, frescas en E1 y DO en E2 se observa que el Ca y Mg fueron los únicos predictores con  $R^2 > 0.2$ ; en el caso de las vacas frescas, el Ca es predicho ( $R^2 > 0.44$ ) por las concentraciones de Fe y Mg, mientras que en DO el Ca solo es predicho por Mg ( $R^2 > 0.32$ ), mientras que el Mg, en ambos casos, es predicho por el Ca. Ambos grupos tienen en común que presentan los menores DEL en el experimento al ser considerados grupos testigos.

En el grupo testigo T2M2, el Zn fue relacionado positivamente con el Fe y Na, así como el Fe con el Zn, y el Ca con el Mg y K, ( $R^2=0.53, 0.28$  y  $0.43$ ); sin embargo, en el Mg se presentó una asociación negativa con el Cu y positiva con el Ca y el Na ( $R^2= 0.50$ ). En T1M2 se observó que la concentración de Cu fue explicada parcialmente por ( $R^2> 0.38$ ) Fe y P, observándose en ambos una relación negativa con el Cu, similar a la relación observada en el Fe y Cu del mismo estable. El contenido de Mg fue explicado parcialmente ( $R^2>0.44$ ) por el Zn, Fe, Na y P, todos en relación positiva con dicho elemento. El nivel de P fue explicado parcialmente por ( $R^2>0.25$ ) el Cu y el Fe en relación negativa, y por el Mg en relación positiva. Para el grupo testigo del E2 (E2T2) el Cu fue predicho parcialmente por el Fe, a la vez que el Fe por el Cu y el Ca ( $R^2>0.20$ ). El Ca fue predicho por el Fe y el Mg ( $R^2=0.31$ ).

Morales *et al.* (2007) generaron ecuaciones de predicción de minerales en suero sanguíneo en ganado lechero en condiciones de pastoreo, y reportan un efecto negativo de las concentraciones séricas de Cu sobre Ca, y de Ca sobre Fe ( $p<0.05$ ), y un efecto positivo de K sobre Fe y Ca ( $p<0.05$ ).

Respecto a los altos porcentajes de deficiencias observados en la información de los Cuadros 5 y 6, y con las ecuaciones de predicción obtenidas, se puede inferir que el Cu puede estar siendo afectado por las concentraciones de Fe y P directamente, y por las de Zn, Ca, Mg y Na indirectamente, ya que estos últimos presentaron una relación positiva con alguno de sus antagonistas directos. El NRC (2001) reporta que el Zn y el Fe pueden interferir con la absorción de Cu, al igual que el Ca y el K (Kies y Harms, 1989). El Magnesio es un cofactor de la hormona paratiroidea y se ha reportado que al suplementarlo

en caso de bajos niveles de Ca, incrementa las concentraciones séricas de Ca sin la necesidad de una suplementación adicional de Ca (Goff, 2008); el K es uno de los principales antagonistas del Mg, lo cual puede causar un decremento indirecto del Ca (Sanchez *et al.*, 1994; NRC, 2005).

En la Figura 1 se presentan graficas de las concentraciones minerales encontradas en el estudio 1 las cuales muestran diferencias ( $p < 0.05$ ) en los eventos sanitarios evaluados (infecciones uterinas y mastitis). Al no observarse diferencias entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) se consideraron los eventos independientemente de tratamientos, y se tomó el valor del muestreo más cercano al evento.

Se observaron diferencias en las concentraciones séricas de Zn y Fe ( $p < 0.01$ ) en vacas que presentaron infecciones uterinas, manifestándose en concentraciones más altas de ambos minerales (1.14 vs 0.88 y 3.05 vs 2.36, respectivamente). De manera similar, el K presentó concentraciones más altas en vacas con incidentes de mastitis, respecto a las vacas sanas (296.18 vs 226.11).

En un estudio que evaluó la incidencia de la retención de placenta, metritis y endometritis en vacas Holstein (Bicalho *et al.*, 2014) observaron que las concentraciones séricas de Ca y Zn disminuyen ( $p < 0.01$ ) en los tres casos de incidentes sanitarios en comparación a las vacas sanas, y una disminución de P ( $p < 0.01$ ) solo en caso de presentar metritis. Dichos resultados contrastan con los obtenidos en el presente estudio.

En el caso de mastitis, los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por El Zubeir *et al.* (2005), quienes evaluaron el nivel de macro elementos en vacas con

mastitis y observaron un decremento en la concentración de Mg, Ca y P ( $p < 0.01$ ) en vacas con mastitis clínica y de K en suero sanguíneo ( $p < 0.05$ ) en casos de mastitis subclínica.

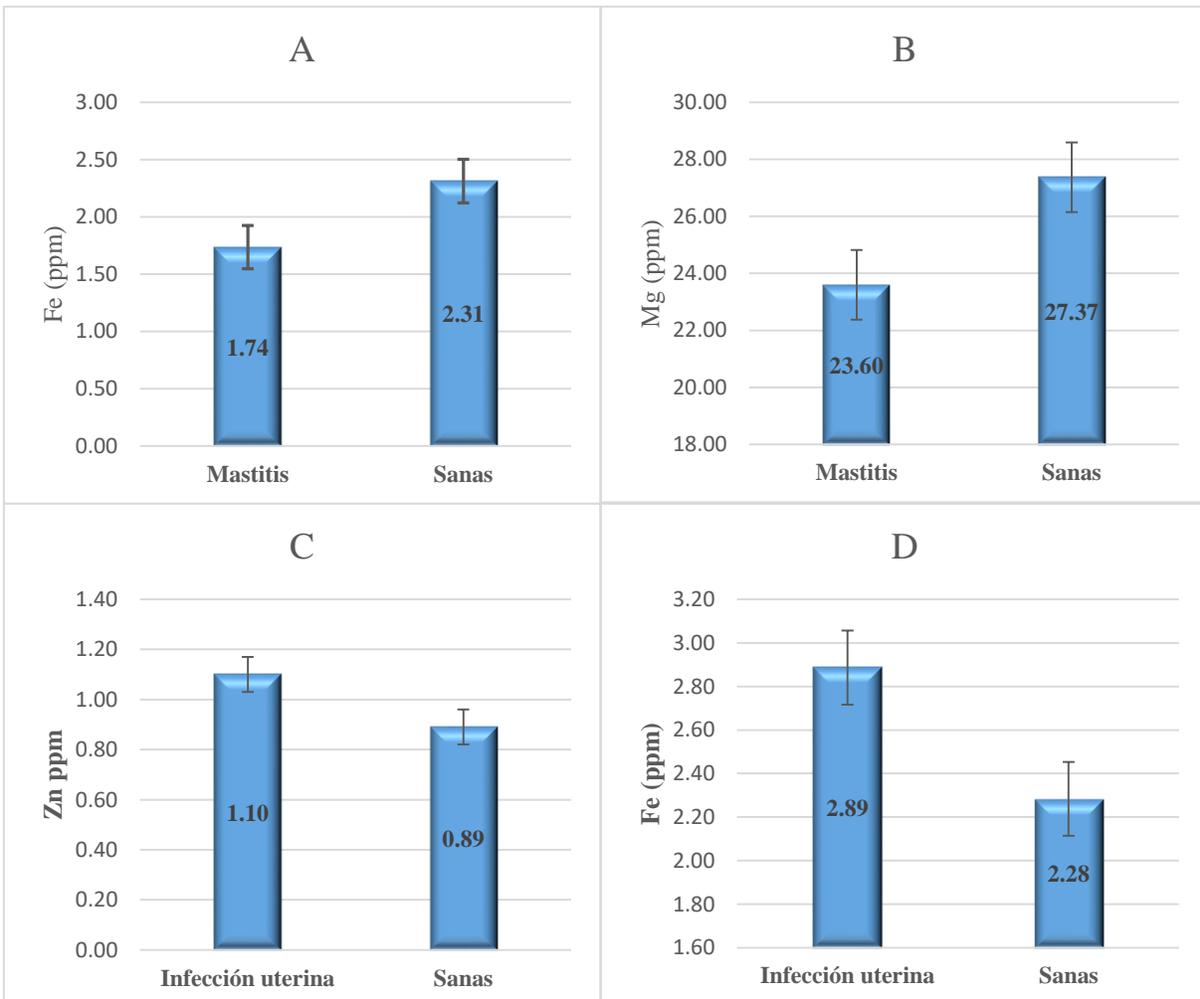


Figura 6. Diferencia ( $p < 0.05$ ) en concentraciones minerales de vacas Holstein en eventos sanitarios vs vacas sanas. A y B, concentraciones de Fe y Mg en incidentes de mastitis; C y D, concentraciones de Zn y Fe en incidentes de infección uterina.

Sin embargo, otros estudios (Wegner *et al.*, 1978) no reportan diferencias ( $p > 0.05$ ) en las concentraciones séricas de Mg en casos de presencia de mastitis.

El Fe ha sido considerado como un indicador en casos de inflamación aguda en diversas especies (Baynar *et al.*, 2014). Ersikine *et al.* (1993) observaron una disminución en las concentraciones de Fe, Cu y Zn en las primeras 24 h después de un desafío intramamario con *E. coli* en 52, 28 y 35%, respectivamente, comparando con las concentraciones previas al desafío. De manera similar, Middleton *et al.* (2004) observaron un decremento de 89, 83 y 81% sobre los mismos microelementos en una infección controlada con *Staphylococcus aureus*. Mientras que Baynar *et al.* (2014) observaron un decremento de más de tres veces en la concentración de Fe de vacas con mastitis, y que presentaron reticuloperitonitis traumática vs el grupo control.

En la Figura 2 se presenta la gráfica de producción de leche semanal de las vacas en ambos estudios (E= estudio 1-2; S=Suplemento, T=Testigo). El Estudio 1 se evaluó solo por 4 semanas, mientras que el Estudio 2 por 8 semanas, teniendo el siguiente número de observaciones: E1-S: n=74; E1-T: n=80; E1-S n=19, E2-T: n=20. En el Estudio 1, no se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en la producción de leche inicial en las vacas suplementadas vs las testigo (46.7 vs 47.1 L d<sup>-1</sup>), como tampoco se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el promedio de producción de leche en el periodo evaluado (49.0 vs 48.7 L d<sup>-1</sup>). En el Estudio 2 solo se observaron diferencias ( $p<0.05$ ) entre tratamientos en la semana 4, siendo mayor en el grupo suplementado (47.4 vs 42.2 L d<sup>-1</sup>), sin embargo, no se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el promedio de producción de leche del periodo evaluado (44.5 vs 43.0 L d<sup>-1</sup>).

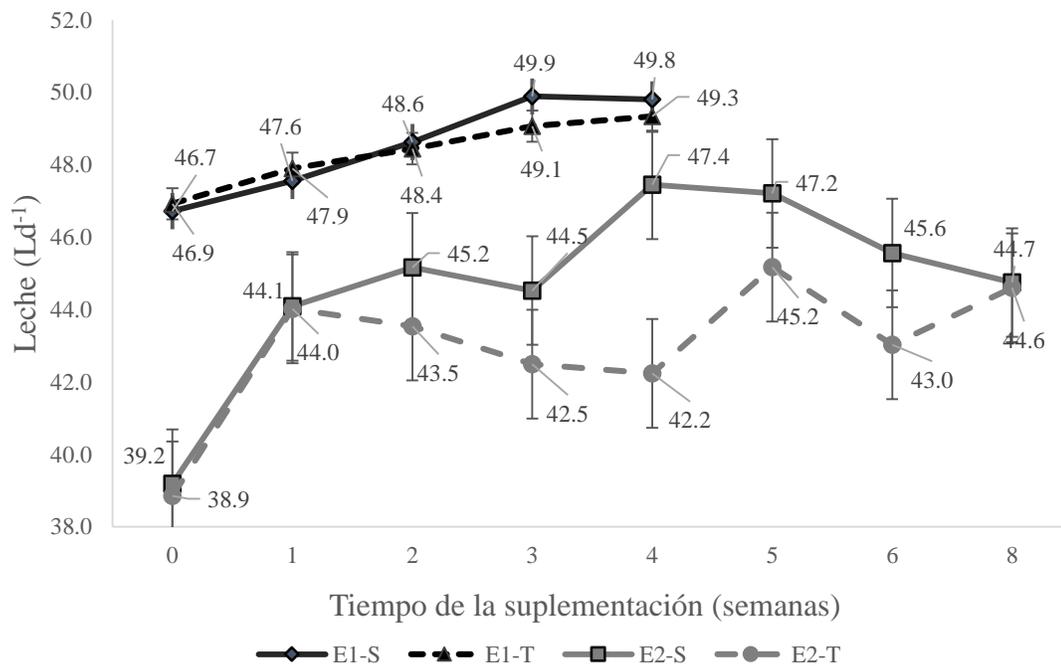


Figura 7. Producción promedio de leche semanal de los Estudios 1 y 2 (E1-E2) en grupos de suplementación mineral (S) y testigo (T).

Las mezclas de minerales comerciales con Cu, Zn, Mn y Co, han presentado resultados controversiales respecto al efecto en la producción de leche en ganado en pastoreo o estabulado (Uchida *et al.*, 2001; Kellog *et al.*, 2003; Nocek *et al.*, 2006). Algunos estudios (Ballantine *et al.*, 2002; Nocek *et al.*, 2006; Siciliano-Jones *et al.*, 2008) informaron un efecto positivo en la producción de la leche al suplementar a las vacas dichas premezclas minerales, mientras que otros autores (Uchida *et al.*, 2001, Hackbart *et al.*, 2014) informaron que no hubo efecto de los tratamientos.

Ganda *et al.* (2016) al evaluar un complemento de Cu, Se, Zn y Mn inyectado en vacas Holstein no observaron diferencias al inicio y a los 30 d en los grupos control y

complementado en cuanto a producción de leche, grasa y proteína en leche. La suplementación independiente de minerales ha tenido diversos efectos sobre los parámetros productivos, en el caso del Cr, el suministro ha mostrado un incremento en la producción de leche y en el consumo de alimento, aparentemente atribuido al efecto en el metabolismo de los lípidos (Smith *et al.*, 2005; Hayirli *et al.*, 2000; Pechova y Pavlata, 2007). En una prueba de suplementación de Cr, Leiva *et al.* (2016) no observaron diferencias en la producción de leche de vacas Holstein al adicionar 0, 2.5 ó 10 mg de Cr vaca<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Estudios en vacas lecheras que recibieron una concentración de 5 mg d<sup>-1</sup> de selenio en fuentes orgánica e inorgánica no mostraron diferencia en la producción de leche ( $p>0.05$ ) (Juniper *et al.*, 2006; Oltramari *et al.*, 2014). Un efecto sobre la producción de leche se ha informado cuando la suplementación se realiza con selenio asociado con yodo y cobalto en forma de bolo ruminal (Cook *et al.*, 2010).

Hay pocos estudios que hayan evaluado altas concentraciones de Se en la dieta, Heard *et al* (2007) al evaluar la inclusión de Se (0, 4, 8, 12 y 16 mg d<sup>1</sup>) en un concentrado para vacas en pastoreo, no observaron diferencia ( $p>0.05$ ) en la producción de leche, solo en la concentración de Se en suero sanguíneo y leche ( $p<0.05$ ). Hintze *et al.* (2002) reporta que niveles de inclusión de Se de hasta 12 mg kg<sup>-1</sup> MS no mostró efectos adversos ( $p>0.05$ ) en la ganancia de peso o el consumo de alimento en becerros en zonas seleníferas y no seleníferas.

## 4.5 CONCLUSIONES

Una suplementación mineral supranutricional continua de Se, Cu, Cr y I no afectó el desempeño productivo ni sanitario de vacas Holstein complementadas por 2 meses. Las concentraciones de Fe, Zn y Mg en suero sanguíneo pueden ser indicadores individuales de mastitis o infecciones uterinas. Las deficiencias más comunes de minerales en suero sanguíneo en vacas Holstein en sistema estabulado bajo suplementación mineral superior son para el Cu, Zn y Na, mientras que los minerales comúnmente encontrados en concentraciones altas son el Fe, Ca y K.

### **Agradecimientos**

Se agradece al Ing. Juan de Dios Roldan y al Grupo BIOTECAP, S.A. de C.V. por la donación de los minerales evaluados en ambos estudios. Se agradece al Ing. Vicente Hernández de PROBIOSER, S.A., por las facilidades para la realización de la fase de campo del Estudio 1. Se agradece al Ing. José Jaimes, Gerente General de la Unidad de Producción 18 de Julio y a Agronegocios Tzapin de la UACH por las facilidades para la realización de la fase de campo del Estudio 2.

## 4.6 LITERATURA CITADA

Ballantine H. T., M. T. Socha, D. A. D. Tomlinson, A. B. Johnson, A. S. Fielding, J. K. Shearer, and S. R. Van Amstel. 2002. Effects of feeding complexed zinc,

- manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. *Prof. Animal Scient.* 18(3): 211-218.
- Baydar E., and Dabak, M. 2014. Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle. *J. Dairy Sci.* 9(71): 222-228.
- Bicalho M. L. S., F. S. Lima, E. K. Ganda, C. Foditsch E. B. Meira, V. S. Machado, and Bicalho, R. C. 2014. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97(7): 4281-4295.
- Castillo A. R., N. R. St-Pierre, N. S. del Rio, and W. P. Weiss. 2013. Mineral concentrations in diets, water, and milk and their value in estimating on-farm excretion of manure minerals in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96(5): 3388-3398.
- Cook J. G., and M. J. Green. 2010. Milk production in early lactation in a dairy herd following supplementation with iodine, selenium and cobalt. *Vet. Record.* 167(20): 788-789.
- El Zubeir I. E. M., O. A. O. ElOwni, and G. E. Mohamed. 2005. Effect of mastitis on macro-minerals of bovine milk and blood serum in Sudan. *J. South African Vet. Assoc.* 76: 22-25.
- Enjalbert F., P. Lebreton, and O. Salat. 2006. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 90: 459-466.

- Erskine R. J., and P.C. Bartlett. 1993. Serum concentrations of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli*-induced mastitis. *J. Dairy Sci.* 76(2): 408-413.
- Fernandes J. I. M., A. E. Murakami, M. I. Sakamoto, L. M. G Souza, A. Malaguido, and E. N. Martins. 2008. Effects of organic mineral dietary supplementation on production performance and egg quality of white layers. *Rev. Brasileira Cienc. Avic.* 10: 59-65.
- Ganda E. K., R. S. Bisinotto, A. K. Vasquez, A. G. V. Teixeira, V. S. Machado, C. Foditsch, and J. M. Dias. 2016. Effects of injectable trace mineral supplementation in lactating dairy cows with elevated somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 99(9): 7319-7329.
- Garcia-Muñiz J. G., D. Herrera-Monsalvo, A. Lara-Bueno, R. López-Ordaz, J. Jaimes-Jaimes, and R. Ramírez-Valverde. 2015. Effects of drinking water desalination on several traits of dairy cows in a Mexican semiarid environment. *Life Sci. J.* 12(2): 83-97.
- Goff J. P. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Vet. J.* 176(1): 50-57.
- Hackbart K. S., R. M. Ferreira, A. A. Dietsche, M. T. Socha, R. D. Shaver, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2010. Effect of dietary organic zinc, manganese, copper, and cobalt supplementation on milk production, follicular growth, embryo quality, and tissue mineral concentrations in dairy cows. *J. of Animal Sci.* 88(12): 3856-3870.

- Hayirli A., D. R. Bremmer, S. J. Bertics, M. T. Socha and R. R. Grummer. 2000. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 1218-1230.
- Heard J. W., C. R. Stockdale, G. P. Walker, C. M. Leddin, F. R. Dunshea, G. H. McIntosh, and P. T. Doyle. 2007. Increasing selenium concentration in milk: effects of amount of selenium from yeast and cereal grain supplements. *J. Dairy Sci.* 90(9): 4117-4127.
- Hintze K. J., G. P. Lardy, M. J. Marchello, and J. W. Finley. 2002. Selenium accumulation in beef: Effect of dietary selenium and geographical area of animal origin. *J. Agric. Food Chem.* 50(14), 3938-3942.
- Juniper D. T., R. H. Phipps, A. K. Jones, and G. Bertin. 2006. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. *J. Dairy Sci.* 89(9): 3544-3551.
- Kellogg D. W., M. T. Socha, D. J. Tomlinson, and A. B. Johnson. 2003. Effects of feeding cobalt glucoheptonate and metal specific amino acid complexes of zinc, manganese, and copper on lactation and reproductive performance of dairy cows. *The Profess. Animal Scient.* 19: 1-9.
- Kies C., and J. M. Harms. 1989. Copper absorption as affected by supplemental calcium, magnesium, manganese, selenium and potassium. *In: Copper Bioavailability and Metabolism.* Springer. US. pp: 45-58.
- Lamb G. C., D. R. Brown, J. E. Larson, C. R. Dahlen, N. DiLorenzo, J. D. Arthington, and A. DiCostanzo. 2008. Effect of organic or inorganic trace mineral

supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. *Animal Rep. Sci.* 106(3): 221-231.

Leiva T., R. F. Cooke, A. P. Brandão, A. C. Aboin, J. Ranches, and J. L. M. Vasconcelos. 2015. Effects of excessive energy intake and supplementation with chromium propionate on insulin resistance parameters, milk production, and reproductive outcomes of lactating dairy cows. *Livest. Sci.* 180: 121-128.

Mejía-González M. Á., L. González-Hita, R. Briones-Gallardo, A. Cardona-Benavides, and P. Soto-Navarro, P. 2014. Mecanismos que liberan arsénico al agua subterránea de la Comarca Lagunera, estados de Coahuila y Durango, México. *Tecn Cienc. Agua* 5: 71-82.

Middleton J. R., C. D. Luby, L. Viera, J. W. Tyler, and S. Casteel. 2004. Short communication: influence of *Staphylococcus aureus* intramammary infection on serum copper, zinc, and iron concentrations. *J. Dairy Sci.* 87(4): 976-979.

Morales-Almaráz E., I. Domínguez-Vara, M. González-Ronquillo., G. Jaramillo-Escutia, O. Castelán-Ortega, N. Pescador-Sálas y M. Huerta Bravo. 2007. Diagnóstico mineral en forraje y suero sanguíneo de bovinos lecheros en dos épocas en el valle central de México. *Técnica Pecuaria en México*, 45: 329-344.

NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7ma Ed.*, pp 381.

NRC (National Research Council). (2005). *Mineral Tolerance of Animals: 2005.* National Academies Press. pp 496.

- Noaman V. 2014. Serum copper, zinc, and iron concentrations of Holstein dairy cows in different seasonal and physiological states. *Comparat. Clin. Path.* 23(4): 1059-1062.
- Nocek J. E., M. T. Socha, and D. J. Tomlinson. 2006. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89(7): 2679-2693.
- Oltramari, C. E., M. D. G. Pinheiro, M. S. DeMiranda, J. R. Arcaro, L. Castelani, L. M. Toledo, and I. A. Júnior. 2014. Selenium sources in the diet of dairy cows and their effects on milk production and quality, on udder health and on physiological indicators of heat stress. *Italian J. of Animal Sci.* 13(1): 2921.
- Ortiz-Cano H. G., R. Trejo-Calzada, R. Valdez-Cepeda, J. G. Arreola-Ávila, A. Flores-Hernández, and B. López-Ariza. 2009. Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y micorrizas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(2): 161-168.
- Pechova, A., and L. Pavlata. 2007. Chromium as an essential nutrient: a review. *Veterinarni Medicina-Praha-* 52: 1.
- Puls R. 1988. Mineral Levels in Animal Health. Diagnostic data. Sherpa International, Clearbrook, B. C. p: 153.
- Sariñana-Ruiz Y. A., J. Vazquez-Arenas, F. S. Sosa-Rodríguez, I. Labastida, M. A. Armienta, A. Aragón-Piña, and H. R. Lara. 2017. Assessment of arsenic and fluorine in surface soil to determine environmental and health risk factors in the Comarca Lagunera, Mexico. *Chemosphere* 178: 391-401.

- Sanchez W. K., M. A. McGuire, and D. K. Beede. 1994. Macromineral nutrition by heat stress interactions in dairy cattle: review and original research. *J. Dairy Sci.* 77(7): 2051-2079.
- Siciliano-Jones J. L., M. T. Socha, D. J. Tomlinson, and J. M. DeFrain. 2008. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw integrity, and fertility of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91(5): 1985-1995.
- Smith O. B., and O. O. Akinbamijo. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Anim. Rep. Sc.* 60: 549-560.
- Smith K. L., M. R. Waldron, J. K. Drackley, M. T. Socha and T. R. Overton. 2005. Performance of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the transition period. *J. Dairy Sci.* 88: 255-263.
- Suttle N. F. 2010. *Mineral Nutrition of Livestock*. 4th Edition. Cabi. P.579.
- Uchida K., P. Mandevu, C. S. Ballard, C. J. Sniffen, and M. P. Carter. 2001. Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows. *Animal Feed Sci. Tech.* 93(3): 193-203.
- Wegner T. N., and J. W. Stull. 1978. Relation between mastitis test score, mineral composition of milk, and blood electrolyte profiles in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 61(12): 1755-1759.