

## **EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINAS Y MINERALES SOBRE LA CALIDAD OVOCITARIA EN VACAS LECHERAS**

**Ileana Battaglia<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Cátedra de Teriogenología – Universidad Nacional del Litoral*

*Director: Cattaneo, Luciano*

*Codirector: Grötter, Laura*

**Área:** Ciencias de la Salud

### **INTRODUCCIÓN**

La eficiencia reproductiva de los bovinos se encuentra intensamente influenciada por la dieta, en particular por el contenido de varios minerales, como Manganeseo (Mn), Zinc (Zn), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Selenio (Se) Cobalto (Co) entre otros y vitaminas como A,D,K y E (Hostetler CE y col., 2003; Grahan TW., 1991; Frye TM y col., 1991). Los minerales traza juegan un importante rol en varias enzimas y procesos metabólicos, se acumulan en el embrión y tejidos reproductivos indicando su especial papel en el desarrollo, crecimiento y supervivencia embrionaria. La inadecuada concentración de estos minerales se asocia a una mayor muerte embrionaria en el ganado (Hostetler CE y col., 2003). Los problemas que acarrea las vacas durante el periodo de periparto como por ejemplo hipocalcemia, retención embrionaria y mastitis tienen un impacto negativo en la fertilidad de la hembra. La correcta alimentación combinada con una adecuada suplementación de minerales traza están intensamente involucrados en la prevención de estas patologías (Wilde D., 2006). La administración sostenida en el tiempo de suplementos multivitamínicos y minerales traza han revertido favorablemente los síntomas ocasionados por déficit nutricionales, disminuyendo el intervalo parto primer servicio e incrementando las tasas de concepción en rodeos de vacas de cría (Ahola JK y col., 2004). Ensayos in vitro han puesto en evidencia el efecto local que pueden tener los mencionados minerales y vitaminas sobre la fertilidad, por modular directamente la integridad del DNA o el contenido de las defensas antioxidantes en ovocitos y células del cúmulus (Picco SJ y col., 2012). Para subsanar estas carencias nutricionales, se encuentran disponibles en el mercado varias formulaciones de adaptadores y suplementos. Muchas son las evidencias que respaldan que su incorporación a la dieta resulta beneficiosa por revertir algunos de los efectos reproductivos mencionados anteriormente. Pese a lo antedicho, pocos estudios vinculan la administración parenteral de suplementos nutricionales con su efecto local a nivel del ovocito y su fertilidad potencial.

### **OBJETIVOS**

Evaluar el efecto de la suplementación de vacas Holstein durante el periodo de transición con complejos vitamínico-mineral sobre el número y calidad de ovocitos obtenidos por punción folicular (OPU) al final del periodo de espera voluntaria.

### **METODOLOGÍA**

Para llevar a cabo este ensayo se seleccionaron veinte vacas de la raza Holstein, nacidas y residentes en el campo ROCA perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), que estaban transcurriendo el periodo de transición y que presentaban igual fecha probable de parto.

Título del proyecto: Efecto de la suplementación de vitaminas A, E y minerales traza sobre la calidad ovocitaria en vacas lecheras en período de transición.

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2017

Organismo financiador: Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Litoral.

Director: Julián Bartolomé

Se conformaron dos grupos de diez vacas cada uno. Un grupo control y un grupo Experimental. A los animales del grupo experimental se le inyectaron de forma subcutánea complejos vitamínicos minerales (Adaptador® MIN y Adaptador® VIT; Biogénesis Bagó®, Argentina) a la dosis y frecuencia sugeridas por el fabricante. Las otras diez vacas pertenecientes al grupo control fueron inyectadas con solución fisiológica a las mismas dosis y frecuencias que el grupo tratado.

Previo a la punción folicular (día 45 post parto), se realizó una sincronización de la onda folicular en los animales de ambos grupos. Para la punción folicular se utilizó un ecógrafo Chison 600 conectado a un sistema de guía de aspiración transvaginal. El contenido folicular fue recolectado en medio D-PBS con 2% de suero y 10 UI Heparina por ml a 36°C y a continuación, se filtró recuperándose los complejos COC en placas de Petri, donde fueron evaluados y recolectados en tubos de ependorf con medio de transporte para el traslado al laboratorio.

La rutina de laboratorio incluyó los siguientes procedimientos:

Maduración in vitro de los CoCs seleccionados. Los ovocitos se colocaron en placas de cultivo conteniendo medio de maduración y se incubaron a 38,5 °C por 22-24 h en atmósfera de 5% CO<sub>2</sub> en ambiente humidificado.

Fertilización de los COCs maduros (Día 0): Los ovocitos se transfirieron a placas de fertilización, conteniendo medio TALP-FERT. La fertilización se realizó con pipeta automática bajo lupa estereoscópica utilizando un pool de semen de toros de raza Holstein. Las placas se colocaron en la incubadora, manteniéndose durante 18 h, en las mismas condiciones descriptas para la maduración.

Cultivo embrionario (Día 1): Los cigotos fueron denudados por acción mecánica mediante pipeteo vigoroso y posteriormente trasladados a placas de cultivo conteniendo medio SOF-BSA. Se colocó un total de cincuenta embriones, veinte correspondientes al grupo tratado y treinta al control. La temperatura de cultivo fue de 38,5°C en un ambiente con 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> y balance con N<sub>2</sub> en aire con alta humedad. El día 3 de cultivo se evaluó el clivaje en ambos grupos. El día 6 de cultivo se observó el desarrollo de los embriones en el estadio de mórula. El día 8 de cultivo se evaluó el desarrollo embrionario en los estadios de blastocisto y blastocisto eclosionado.

El total de embriones obtenidos (en ambos grupos) y la mitad del total de ovocitos seleccionados para cada grupo, se fijaron con Tri Reagent (SIGMA) y preparados para su remisión al Instituto de Investigaciones Biotecnológicas- Universidad Nacional de San Martín (Buenos Aires), para estudios de expresión génica.

Se empleó la prueba de Wilcoxon para muestras independientes para el análisis de las variables continuas.

## RESULTADOS

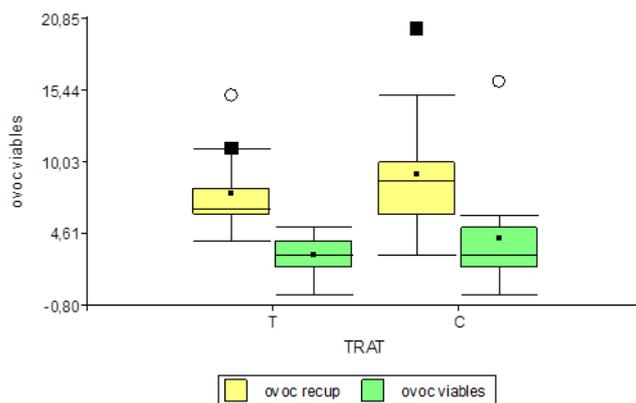
Se obtuvieron un total de 72 ovocitos clasificados como viables, (grupo control= 42; grupo tratado= 30).

La proporción de ovocitos recuperados y la viabilidad de los mismos, en ambos grupos, se puede apreciar en la tabla 1. En relación a este parámetro, la recuperación de ovocitos viables fue de 46.2 y 39.5% para el grupo control y tratados respectivamente, similar en ambos tratamientos. En el gráfico 1 se puede observar la cantidad de ovocitos viables

obtenidos en ambos grupos. Se pudo constatar una importante variación individual en la respuesta y recuperación de ovocitos entre las vacas incluidas en el estudio.

**Tabla 1. Relación entre el número de ovocitos recuperados y la viabilidad de los mismos en vacas tratadas con suplemento vitamínico-mineral y controles.**

Variable	Grupo 1	Grupo 2	n(1)	n(2)	Media(1)	Media(2)	DE(1)	DE(2)	W	p(2 colas)
Ovocitos recuperados	C	T	10	10	9,10	7,60	5,26	3,17	113,50	0,5148
Ovocitos viables	C	T	10	10	4,20	3,00	4,54	1,63	107,50	0,8484



**Gráfico 1. Cantidad de ovocitos viables obtenidos por punción folicular de vacas suplementadas con un complejo vitamínico-mineral (T) y vacas controles (C).**

Del total de embriones cultivados in vitro se evaluó el clivaje el día 3 de cultivo, obteniéndose un total de 40 embriones clivados, 16 correspondientes al grupo tratado y 24 al grupo control. El día 6 de cultivo se constató el desarrollo embrionario, lográndose un total de 5 embriones viables en el grupo tratado y 6 en el grupo control ( $p > 0,05$ ).

## CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos puede afirmarse que la suplementación parenteral de las vacas durante el periodo de transición no incrementó la cantidad ni la viabilidad de ovocitos obtenidos por punción folicular al final del periodo de espera voluntario. Tampoco se observó un efecto sobre la cantidad y estadio de desarrollo de los embriones obtenidos a partir de los ovocitos obtenidos.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

**Ahola JK, Baker DS, Burns PD, Mortimer RG, Enns RM, Whittier JC, et al.**, 2004. Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over a two-year period. *J Anim Sci*, 82, 2375–83.

**Hostetler CE, Kincaid RL, Miranda MA.**, 2003. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *The veterinary Journal*, 166, 125-139.

**Wilde D.**, 2006. Alltech (UK) Ltd., Alltech House, Ryhall Road, Stamford, Lincolnshire P E9 1TZ, UK. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 240-249.

**Frye TM, Willians SN, Graham TW.**, 1991. Vitamin deficiencies in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 7, 217-75.

**Graham TW.**, 1991. Trace element deficiencies in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 7, 153-215.

**Picco SJ, Rosa DE, Anchordoquy JP, Anchordoquy JM, Seoane A, Mattioli GA, et al.**, 2012. Effects of copper sulphate concentrations during in vitro maturation of bovine oocytes. *Theriogenology*, 77, 373–81. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.08.009.