



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO

*INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS Y FORESTALES*

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAestrÍA

**EFFECTO DEL ACETATO DE MELENGESTROL
(MGA) SOBRE EL PERFIL METABÓLICO EN
VAQUILLAS**

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

ISIDORO MARTÍNEZ BETANCOURT

MORELIA, MICHOACÁN, MARZO DE 2012



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS Y FORESTALES

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA

EFFECTO DEL ACETATO DE MELEGESTROL
(MGA) SOBRE EL PERFIL METABÓLICO EN
VAQUILLAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Área Temática: Producción y Salud Animal

PRESENTA:

MVZ. ISIDORO MARTÍNEZ BETANCOURT

Director de tesis: Dr. Guillermo Salas Razo

Morelia, Michoacán, marzo de 2012

DEDICATORIA

A **Dios** por brindarme la oportunidad y la dicha de la vida, al brindarme los medios necesarios para continuar con mi formación, y siendo un apoyo incondicional para lograrlo, ya que sin él no hubiera sido posible.

† **A mi abuelita Elisa:** Que con tu grandeza, me enseñaste a ser humilde de corazón y me enseñaste la importancia del amor a la familia, virtud que lograste en vida y continúa en tu ausencia.

A mi abuelito Lolo: Porque me enseñaste lo que es el trabajo de campo y el amor a la naturaleza.

† **A mi Ama Eva:** Que siempre mostraste ser una mujer fuerte, aun en tus momentos de tristeza. Por tu disciplina y tu amor tan grande hacia mí.

† **A mi abuelo Elías:** Porque tus enseñanzas fueron más profundas de lo que imagine.

A mi madre Esperanza: Porque nunca me faltó un consejo ni una palabra de aliento, por tu apoyo incondicional y la confianza que depositaste en mí. Porque me enseñaste a encarar las adversidades sin perder la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi padre Rafael: Porque me enseñaste a convertirme en un hombre y a darle el valor a las cosas que importan. Por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad. Porque ustedes me han dado todo como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nada a cambio. Los amo!

A mis hermanos Rafael y Antonio: Por su cariño incondicional, su apoyo, su confianza, su alegría, su amistad y todos los momentos que hemos pasado juntos.

A mi esposa Claudia: Por tu paciencia, comprensión, por tu empeño, por tu fuerza, por tu amor y por ser como eres... porque te amo. Porque siempre has estado en mis momentos más difíciles, apoyándome, impulsándome y llenando mi vida de emociones. Por la vida que crece dentro de ti e iniciar la aventura más grande de nuestras vidas.

A mi familia: Por depositar su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar un solo momento en mi capacidad. Me resulta muy difícil nombrarlos en tan poco espacio, pero ustedes saben quiénes son.

A mis amigos: Que en todo momento me demostraron su cariño y confianza. Porque aunque pasen muchos años, sé que siempre estarán conmigo.

A mis profesores: Que me han acompañado durante el largo camino, brindándome siempre su orientación con profesionalismo ético en la adquisición de conocimientos y afianzando mi formación.

AGRADECIMIENTOS

Primero y más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi director de tesis, Dr Guillermo Salas Razo, su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación como investigador. Él ha inculcado en mí un sentido de seriedad y responsabilidad académica, sin los cuales no podría tener una formación completa como investigador. A su manera ha sido capaz de ganarse mi lealtad y mi admiración, así como sentirme en deuda con él por todo lo recibido durante el período que ha durado esta tesis de Maestría.

También me gustaría agradecer los consejos recibidos a lo largo de esta Maestría por mis demás asesores y profesores del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y de la Universidad Autónoma de Baja California Sur. Destacar a la Dra. Ernestina Gutiérrez Vázquez, Dr. Aureliano Juárez Caratachea, Rogelio Piña Garcidueñas y al Dr. José Luis Espinoza Villavicencio.

De igual manera agradecer a profesores que con su trato humano, visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, que ayudaron a formarme como persona e investigador. Destaca el Dr. Antonio García Valladares, MC Nayda Luz Bravo Hernández, MC Isidoro Martínez Beiza, Dr. Daniel Val Arreola, MC Juan Pablo Flores Padilla y el MC Mauricio Perea Peña.

Un agradecimiento especial al Sr. Santiago Salazar y familia, por el apoyo y sus atenciones en mi trabajo de campo, fue una experiencia enriquecedora e inolvidable.

A mis compañeros de clase Gloria, Juan Carlos, Fernando y Everardo quienes me acompañaron en esta trayectoria de aprendizaje y conocimientos.

Al CONACYT, ya que sin su apoyo económico esto no hubiera sido posible.

Y por último, pero no menos importante, a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y en especial al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales que me dieron la oportunidad de formar parte de ellas.

Por todos ustedes, soy un hombre muy afortunado...

Muchas gracias por todo!!!

Isidoro Martínez Betancourt

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
PERFIL METABÓLICO	3
Perfil metabólico para la hembra bovina	4
Colesterol.....	4
Triglicéridos	5
Lipoproteínas	6
Proteínas totales.....	7
Urea	7
Glucosa.....	8
ANABÓLICOS	10
ACETATO DE MELENGESTROL (MGA).....	13
HIPOTESIS	15
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS PARTICULARES.....	15
MATERIAL Y METODOS	16
Área de estudio.....	16
Animales y alimentación	16
Concentración de metabolitos	19
Análisis estadístico	19
RESULTADOS Y DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES.....	35
LITERATURA CITADA	36

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Anabólicos esteroides.	12
Tabla 2. Anabólicos no esteroides.	12
Tabla 3. Clasificación de los anabólicos según sus modos de acción.	12
Tabla 4. Análisis proximal del concentrado.	17
Tabla 5. Aporte de energía y proteína de la dieta proporcionada a las vaquillas durante el estudio.	18
Tabla 6. Altura, condición corporal (CC), peso inicial y final y ganancias de pesos de los grupos MGA y testigo.	20

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Aporte y requerimientos de energía metabolizable con una ganancia de peso diaria de 500 g.	21
Figura 2. Aporte y requerimientos de proteína cruda con una ganancia de peso diaria de 500 g.	21
Figura 3. Altura de los animales suplementados con MGA y testigo durante el estudio.	22
Figura 4. Peso de los animales suplementados con MGA y testigo durante el estudio.	23
Figura 5. Aporte y requerimientos de energía metabolizable para	24

una ganancia de peso de 500 g/día y un ajuste metabólico a 250 g/día.

Figura 6. Concentraciones plasmáticas de colesterol en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 25

Figura 7. Concentraciones plasmáticas de triglicéridos en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 26

Figura 8. Concentraciones plasmáticas de HDLc en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 28

Figura 9. Concentraciones plasmáticas de LDLc en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 29

Figura 10. Concentraciones plasmáticas de las proteínas totales en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 30

Figura 11. Concentraciones plasmáticas de urea en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 31

Figura 12. Concentraciones plasmáticas de glucosa en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo. 33

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto del acetato de melengestrol (MGA) sobre el perfil metabólico en vaquillas Cebú-Suizo, se utilizaron 21 animales sanos, en desarrollo, de $235.55 \pm 17,81$ kg de peso vivo, 118.62 ± 3.97 cm de altura y 2.58 ± 0.35 de condición corporal utilizando la escala de 1-5 (Wildman *et al*, 1982). Se dividieron en dos grupos: grupo MGA (n= 10), alimentado con una dieta a base de concentrado y paja de sorgo (6.13 kg/día de materia seca) conteniendo MGA para un consumo de 0.5 mg/día y el grupo control (n = 11) recibió el mismo alimento sin MGA. El alimento se proporcionó durante 55 días a ambos grupos (incluyendo 15 días de adaptación). Desde el inicio del estudio se colectaron muestras de sangre cada 5 días mediante punción de la vena coccígea. Las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDLc), lipoproteínas de baja densidad (LDLc), urea, proteína total y glucosa, se midieron por espectrofotometría utilizando la técnica enzimática-colorimétrica. La ganancia diaria de peso vivo se equilibró el día 20 de 580 a 266 g y el crecimiento se detuvo a partir del día 25. La condición corporal no presentó cambios significativos ($P < 0.01$). La concentración media de colesterol plasmático fue de 107.59 ± 13.38 vs. 109.61 ± 11.72 mg/dl (MGA y control, respectivamente) con una tendencia a la baja más pronunciada a partir del día 25. La concentración de triglicéridos fue de 12.61 ± 6.91 vs. 16.19 ± 8.86 mg/dl (MGA y control), con una tendencia a la normalidad, en los primeros 20 días, y desde el día 25 hubo un aumento en comparación con el promedio de los días anteriores. Las concentraciones de HDLc 63.73 ± 3.26 vs. 63.79 ± 10.27 mg/dl (MGA y control) y LDLc 43.56 ± 6.24 vs. 46.54 ± 14.89 mg/dl (MGA y control) fueron irregulares, pero dentro de rangos normales, con una relación de LDLc más bajo después del día 25. Los valores de proteínas totales fueron 5.70 ± 0.40 vs. 5.22 ± 0.31 mg/dl (MGA y control), sin cambios durante el experimento y una tendencia a la normalidad los primeros 15 días y a partir del día 20 aumentaron en su concentración en comparación con los muestreos anteriores. Los niveles de urea fueron 14.79 ± 5.22 vs. 14.13 ± 4.8 mg/dl (MGA y control) con una tendencia a aumentar. Los niveles de glucosa

fueron 60.06 ± 7.62 vs. 58.24 ± 5.43 mg/dl (MGA y control), con un comportamiento irregular en el rango normal. El consumo de 0.5 mg/dl de MGA durante 40 días, incrementó las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y proteínas totales, pero no afectó las concentraciones de colesterol, HDLc y LDLc, urea y glucosa.

Palabras clave: Acetato de melengestrol, perfil metabólico, vaquillas, metabolitos.

INTRODUCCIÓN

La ganadería bovina en México representa una de las principales actividades del sector agropecuario del país. Es tal vez la actividad productiva más diseminada en el medio rural. Hay más de un millón y medio de unidades de producción y ranchos ganaderos en todas las regiones del país, estos se caracterizan por la multiplicidad de los sistemas de producción (Osuna, 2002).

La Comisión Forestal del Estado (2008) indica que en Michoacán, la ganadería es la segunda actividad de importancia económica, ocupando 43% del territorio estatal. Esta se ubica en diferentes contextos ecológicos, tecnológicos, de sistemas de manejo y objetivos de producción, lo que resulta en diferentes especies, razas y genotipos bien definidos, adaptados a las condiciones de producción y de mercado (SAGARPA, 2009).

La eficiencia reproductiva de las vacas ha sido considerada como un reflejo del manejo general y es determinante en la rentabilidad de los sistemas de producción bovina. Para lograrla se espera que una vaca produzca una cría por año y que vuelva a quedar gestante entre 60 y 90 días posparto (Salas, 2007; Molina *et al.*, 2008).

En los animales manejados en sistemas extensivos o semi-intensivos, el desempeño productivo y reproductivo se relaciona con el manejo nutricional durante la época de sequía, ya que es uno de periodos más críticos para los animales y afecta su estado metabólico (Roldán *et al.*, 2005).

En las vacas, el final de la gestación y el principio de la lactancia coinciden con un dramático incremento en las necesidades de nutrientes y una disminución en el consumo de materia seca. En una situación de déficit energético, los animales sufren alteraciones metabólicas, consisten básicamente en la activación de la

gluconeogénesis y la movilización de las reservas lipídicas para mantener su homeostasis; en esta fase, el catabolismo puede alcanzar magnitudes exageradas (Kaneko *et al.*, 1997; Campos *et al.*, 2004; Galvis *et al.*, 2007).

En las vaquillas, la aparición precoz de la pubertad es importante a nivel económico (Patterson *et al.*, 1992), ya que se ha demostrado que las vaquillas que tienen su primer becerro alrededor de los dos años de edad, producen más becerros en su vida que aquellas que tienen su primera cría a los tres o más años de edad (Lesmeister *et al.*, 1973; Padilla, 1978).

El reemplazo de vaquillas representa el futuro productivo del hato. Aproximadamente un 30% de los vientres deben ser reemplazados anualmente, por tal motivo es necesario un adecuado manejo y nutrición para proveer un mayor número de vaquillas sanas. Una mala alimentación trae como consecuencia una pubertad y edad al primer servicio tardías (Castagnola, 2008).

Las vaquillas deben consumir el 2.6% de su peso vivo en materia seca (Fernández, 2008), además, un aporte proteico entre 16 y 18% para un crecimiento y desarrollo adecuado. El tamaño y el peso son más importantes que la edad. En algunas razas, a los 18 meses, las vaquillas alcanzan pesos de 340 kg, pudiendo ser cubiertas e iniciar una gestación. Sin embargo, debe considerarse que durante la gestación su peso debe incrementarse entre 180 y 230 kg, de los cuales 60 kg corresponden al ternero, fluidos y membranas, con pérdida de hasta un punto de condición corporal (Castagnola, 2008).

La variación de las concentraciones sanguíneas de carbohidratos, lípidos y proteínas, es el reflejo de cambios metabólicos experimentados por el animal en respuesta a diferentes causas; como son el estado fisiológico y la nutrición, que en

el rumiante presenta particularidades derivadas de su naturaleza poligástrica (Annison y Bryden, 1998).

Algunos autores (Salas *et al.*, 2003; Coppo y Mussar, 2006; López *et al.*, 2008) afirman que para valorar el estado nutricional de los animales es importante considerar el monitoreo de algunos metabolitos sanguíneos que indiquen la dinámica del estado nutricional. Por esto, es importante buscar estrategias que permitan mejorar la condición metabólica y esta se refleje en una respuesta productiva o reproductiva más eficiente.

PERFIL METABÓLICO

Para evaluar el grado de movilización grasa y la magnitud del desequilibrio energético se han empleado los perfiles metabólicos. Esto se dio a conocer desde 1970, como un método diagnóstico paraclínico, para detectar en los bovinos alteraciones metabólicas consecuentes a desequilibrios en el ingreso, circulación o egreso de los nutrientes al organismo. De ahí, que es necesario contar con la evaluación de los indicadores más relevantes para llegar a un análisis integral de la situación de la hembra bovina (Ceballos *et al.*, 2002).

Ramírez *et al.* (2006) mencionan que las variaciones de los valores hematológicos y algunos metabolitos sanguíneos de los bovinos se han atribuido a distintos factores (estado fisiológico, sexo, edad, época del año, raza, nivel de producción).

El perfil metabólico sanguíneo del bovino es un reflejo de la dinámica funcional del animal, influenciada por el manejo nutricional, estado reproductivo y medio ambiente (López *et al.*, 2008).

Las concentraciones de metabolitos sanguíneos representan un índice integrado del aporte adecuado de nutrientes con relación a la utilización de los mismos, la

cual es independiente del estado fisiológico y permite un diagnóstico inmediato del estado nutricional puntual en el tiempo (Razz y Clavero, 2006).

El análisis de química sanguínea para determinar metabolitos como lípidos, proteínas, glucosa, enzimas hepáticas, urea, minerales, así como la determinación de parámetros sanguíneos como hematocrito, hemoglobina, entre otros; forman parte de la prueba de perfil metabólico usado en medicina para monitorear el estado metabólico y de salud de animales y humanos (Ferraro *et al.*, 2002).

Perfil metabólico para la hembra bovina

El colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad (LDLc), lipoproteínas de alta densidad (HDLc), proteínas totales, urea y glucosa, son indicadores relevantes de la dinámica del perfil metabólico de la hembra bovina (Ceballos, *et al.*, 2002).

Colesterol

Las concentraciones de colesterol sanguíneo y de las lipoproteínas han sido asociadas con el desempeño reproductivo, debido a que el colesterol es el precursor para la esteroidogénesis en todos los tejidos que segregan este tipo de hormonas, además de ser un indicador adecuado para establecer el consumo de energía, y de alguna manera el estado productivo del animal (Williams y Stanko, 2000; Galvis *et al.*, 2007; López *et al.*, 2008).

El colesterol es el esteroide más abundante en los tejidos animales, tanto libre como esterificado (Aranda *et al.*, 2002), proviene de los lípidos alimentarios, pero también existe una activa biosíntesis, principalmente hepática; su eliminación se efectúa por excreción biliar y láctea. En la sangre, el colesterol existe en forma libre o esterificada con ácidos grasos, siendo esta última la predominante. Para

ser transportado en plasma o linfa, se une a lipoproteínas que lo solubilizan en el agua intravascular. Los valores normales de colesterol en bovinos es de 80 hasta 240 mg/dl (Kaneko, 1989), esta variación se considera normal debido a que el colesterol tiene un amplio rango de variación, influenciado por la etapa productiva y por el estado energético en que se encuentra el animal (Coppo *et al.*, 2003; Galvis *et al.*, 2007).

Triglicéridos

Los triglicéridos son el tipo más común de lípidos transportados en la sangre, depositados en las células. Se encuentran presentes en los alimentos o de la síntesis del hígado a partir de otros nutrientes. La unión de 3 ácidos grasos mediante una esterificación produce un triglicérido, que se almacena en músculos y tejido adiposo (como fuente de energía) y son gradualmente liberados de acuerdo con las necesidades de energía del organismo (Martínez, 2006).

En el rumiante, el incremento de energía en la dieta y un déficit energético es capaz de causar aumento de triglicéridos en sangre. Los triglicéridos, componentes importantes de los quilomicrones, se hidrolizan a glicerol y ácidos grasos. Estos componentes pueden utilizarse para la síntesis de nuevos triglicéridos y fosfolípidos u oxidarse a CO₂ para liberar energía (Coppo y Mussart, 2006).

La cantidad de triglicéridos en sangre determina el grado de movilización de grasas en un mediano plazo, con lo cual es posible identificar si el animal se encuentra en un balance energético positivo o negativo. Los valores normales de triglicéridos en sangre de bovinos son de 3.6 a 9 mg/dl (López *et al.*, 2008).

Lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos proteico-lipídicos esféricos que poseen un núcleo de lípidos neutros que acarrean triglicéridos, colesterol, ésteres de colesterol y fosfolípidos en el plasma (Coppo y Mussart, 2006).

Con base a su densidad, las lipoproteínas se clasifican en lipoproteínas de alta densidad (HDLc), lipoproteínas de baja densidad (LDLc) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLc) (Coppo y Mussart, 2006).

En el bovino la mayor parte del colesterol se transporta en forma de HDLc (Grummer y Carrol, 1988). Las HDLc se forman en el intestino delgado e hígado; son las más pequeñas y densas; su función es el transporte del colesterol desde los tejidos hacia el emuntorio biliar, por lo que son consideradas como factor de protección del riesgo aterogénico y se encuentran en un rango de 58.4 a 175.2 mg/dl en sangre (Ceballos *et al.*, 2002). Las LDLc son los productos finales de las VLDLc (sintetizadas por enterocitos y hepatocitos); electroforéticamente corren con las β globulinas y están involucradas en el denominado transporte directo del colesterol, que lo distribuye y deposita en los tejidos, incluyendo las paredes vasculares y con un rango en plasma de 20.8 a 52.4 mg/dl. Por tanto, las HDLc y LDLc determinan si las grasas están en utilización o en reserva (Ceballos *et al.*, 2002; Coppo *et al.*, 2003).

En el perfil lipoprotéico del bovino las lipoproteínas predominantes (73% del total) son las HDLc, que constituyen la principal vía de transporte del colesterol en esta especie (López *et al.*, 2008).

Proteínas totales

Las proteínas totales han sido usadas como indicadores sanguíneos del metabolismo nitrogenado. Estos indicadores muestran relaciones con el metabolismo energético (Campos *et al.*, 2004).

El déficit de proteína en la dieta reduce las reservas en sangre, hígado y músculos y predisponen a los animales a padecer una variedad de enfermedades graves o incluso fatales (Castañeda, 2010).

Las proteínas tienen diferentes funciones como transporte de sustancias, estructural, mantenimiento de la presión oncótica, inmunidad humoral, entre otras; lo que contribuye al mantenimiento de la homeostasis. Las características químicas y pesos moleculares de estas proteínas, han permitido clasificarlas en: albúmina (A) y globulinas (G) (Matheus *et al.*, 2000).

Las proteínas totales se separan unas de otras por medios químicos sencillos y determinando la cantidad de cada grupo se obtiene la relación A-G. La albúmina de la sangre y las globulinas con excepción de algunas globulinas gamma, son sintetizadas en el hígado. Por lo tanto, cualquier proceso que afecte la síntesis de albúmina disminuirá la relación A-G. Las proteínas totales que se encuentran en el rango de 6.2 a 8.2 mg/dl se consideran normales en el perfil bovino (Zapata y Fajardo, 1992).

Urea

La urea es uno de los constituyentes nitrogenados no proteicos (NNP) más abundantes en el cuerpo. Esta es sintetizada en el hígado en cantidades proporcionales a la concentración del amoníaco producido en el rumen, su

concentración sanguínea esta en directa relación con el aporte proteico en la ración (Wittwer *et al.*, 1993).

La urea plasmática es un indicador sensible de la ingesta de proteína cruda y su sincronismo con la liberación de energía en el rumen, ya que sus concentraciones son dependientes de la producción y absorción del amonio ruminal (Noro *et al.*, 2006).

El aumento en la actividad ureogénica conlleva al incremento en las necesidades de ciertos aminoácidos, como la metionina, para la formación del aspartato. De esta manera, la producción de urea puede ser el resultado de la movilización de proteínas corporales para suplir las necesidades de glucosa y/o de la absorción elevada de amonio proveniente del rumen (Correa y Cuellar, 2004).

Los niveles de urea en sangre son normalmente bajos y relativamente constantes (7.8 a 24.6 mg/dl) (Zapata y Fajardo, 1992), ya que la principal vía de excreción de la urea son los riñones. Por otro lado, existen factores metabólicos que reducen la síntesis de la urea, como es el caso de la excesiva acumulación de grasas en el hígado, producto de la movilización de tejido adiposo (Castañeda, 2010).

Glucosa

La glucosa es el único azúcar que se encuentra en la sangre, fuente de energía de todas las células del organismo. Las concentraciones de glucosa en sangre se mantienen en un rango relativamente estrecho (42.1 a 74.5 mg/dl) (Zapata y Fajardo, 1992), debido a factores como: la toma y expulsión hepática y renal, eliminación por tejidos periféricos, influencia de las hormonas, entre otras. La glucosa constituye la fuente primordial de energía que se encuentra en la sangre circulante de todos los mamíferos (Castañeda, 2010).

La glucosa es un metabolito esencial en el metabolismo energético del sistema nervioso. Debido a esto y, en especial, por la baja absorción intestinal, los rumiantes se consideran animales eminentemente gluconeogénicos (Correa y Cuellar, 2004). La absorción de glucosa en éstos es muy baja debido a que la fermentación ruminal condiciona su disponibilidad. El principal precursor glucogénico en los rumiantes es el propionato, cerca del 90% del cual es removido de la sangre por el hígado. La utilización de propionato por el hígado y los patrones fermentativos pueden alterar la cantidad total de propionato disponible para gluconeogénesis (Madsen, 1983).

En rumiantes alimentados para suplir solo las necesidades de mantenimiento, los aminoácidos, principalmente alanina y glutamina, suministran cerca del 15 al 32% de los sustratos para gluconeogénesis (Madsen, 1983).

Aunque los rumiantes toleran largos períodos de hipoglucemia sin que se comprometa su funcionamiento cerebral, estos tienen mecanismos de control necesarios para el mantenimiento de la glucemia normal (40 a 60 mg/dl) (Madsen, 1983).

Después de la ingesta, gran cantidad de glucosa presente en la sangre se absorbe en el intestino delgado (como producto final de la digestión de los carbohidratos) y se traslada para almacenarse como glicógeno en el hígado y músculos. Algunas veces la glucosa se libera de los tejidos para mantener una concentración plasmática suficiente (Castañeda, 2010).

Dado que la glándula mamaria es capaz de utilizar glucosa en presencia de bajas concentraciones de insulina, y debido a las altas demandas por glucosa para la producción lechera, esta afecta la glicemia, la cual debe estabilizarse por incremento en la tasa de gluconeogénesis y por disminución en las tasas de

oxidación de la glucosa. El nivel de la glucosa sanguínea refleja las condiciones nutricional, emocional y endocrina de la hembra bovina. (Galvis y Correa, 2002; Castañeda, 2010).

El perfil metabólico determina el estado nutricional de los animales y se han implementado estrategias para mejorarlo, una de ellas es la utilización de anabólicos.

ANABÓLICOS

Los promotores del crecimiento se han utilizado por más de 30 años para mejorar la eficiencia de la alimentación y la ganancia diaria de peso (Kreikemeier y Mader, 2004).

Los anabólicos son compuestos que tienen la propiedad de retener nitrógeno, elemento indispensable en la síntesis proteica, además favorecen la eritropoyesis (formación de glóbulos rojos), la retención de calcio y fósforo, factores que contribuyen a un aumento de peso (Cardona y Sanclemente, 1986).

Lowy *et al.* (1983), mencionan las hormonas anabólicas como aquellas que afectan las funciones metabólicas para incrementar la producción de proteína.

Los efectos anabólicos son procesos metabólicos (bioquímicos) que aumentan las reservas de energía disponible, llevan a la producción de moléculas de mayor tamaño a partir de moléculas de menor tamaño y disminuyen el uso de energía disponible.

Algunos ejemplos de las funciones o mecanismos de los anabólicos son:

Aumento en la síntesis proteica: los anabólicos aumentan la retención de nitrógeno para la síntesis de aminoácidos.

Aumento en la síntesis de glucógeno: todos los carbohidratos ingeridos en la dieta, ya sean polisacáridos, oligosacáridos o monosacáridos deben ser transformados a monosacáridos para poder absorberse en el intestino. Los anabólicos estimulan la síntesis de glucógeno a partir de los monosacáridos, principalmente glucosa, ingeridos en la dieta. El glucógeno por otro lado es un polisacárido que sirve de reserva de energía para el organismo y se encuentra principalmente en el hígado y los músculos.

Aumento de la acumulación de tejido adiposo: los ácidos grasos que llegan a la sangre a partir de las grasas de la dieta son transformados a triglicéridos y almacenados en el tejido adiposo aumentando la reserva de este último (Barrientos, 2001).

Las hormonas sintéticas son productos que normalmente no se encuentran en el organismo, pero que imitan la actividad de las hormonas naturales. En el organismo existen sistemas enzimáticos que metabolizan y degradan las hormonas naturales; las hormonas sintéticas no tienen esos sistemas enzimáticos, por lo tanto las hormonas artificiales parecen ser más activas y persistentes que las naturales, debido a que son metabolizadas más lentamente (Bravera *et al.*, 2002).

Las hormonas anabólicas más usadas en producción animal, son las hormonas gonadales (esteroides), masculinas (andrógenos); femeninas (estrógenos) y aquellas con actividad progestacional (Correa, 2009).

Los anabólicos en producción pecuaria, pertenecen a varios grupos químicos y no son únicamente derivados de la testosterona. Pueden clasificarse como hormonales o esteroides (Tabla 1), no hormonales o no esteroides (Tabla 2); y por su modo de acción (Tabla 3).

Tabla 1. Anabólicos esteroides

Estrogénicos	*17 β estradiol *Benzoato de estradiol
Gestágenos	*Progesterona *Acetato de melengestrol
Androgénicos	*Testosterona *Trembolona

(Cardona y Sanclemente, 1986)

Tabla 2. Anabólicos no esteroides

Estrogénicos	*Zeranol *Hexestrol *Dietilestilbestrol (DES)
--------------	---

(Cardona y Sanclemente, 1986)

Tabla 3. Clasificación de los anabólicos según sus modos de acción

Efecto en el organismo de rumiantes	Sustancia química
Microflora del tracto gastrointestinal	*Antibióticos *Quimioterapéuticos
Fermentación del rumen	*Ionóforos
Metabolismo	*Agentes anabólicos

(Cardona y Sanclemente, 1986)

La aplicación de agentes anabólicos en bovinos, incrementa significativamente las ganancias de peso de los animales tratados (Adams *et al.*, 1990; Araujo y Pietrosevoli, 1991; Kreikemeier y Mader, 2004).

Diversos autores (Bloss *et al.*, 1966; Adams *et al.*, 1990; Imwalle *et al.*, 2002; Wilson *et al.*, 2002; Kreikemeier y Mader, 2004; Salas, 2007;) mencionan que un anabólico que ha demostrado eficacia, mayormente en la engorda y en la

reproducción de las hembras bovinas, ha sido el acetato de melengestrol (MGA), sin embargo no existen suficientes trabajos que centren la investigación en su efecto anabólico y su funcionamiento.

ACETATO DE MELENGESTROL (MGA)

El acetato de melengestrol es un progestágeno sintético de administración oral, que se utiliza para aumentar la ganancia de peso y también para suprimir el estro; más específicamente en las vaquillas de engorda por su efecto anabólico (Quezada *et al.*, 2004). Corrigan *et al.* (2007) y Chung y Johnson (2009), mencionan que el MGA añadido a la dieta durante 35 días mejora la tasa de crecimiento.

El MGA, en el ganado de engorda, se utiliza sobre todo en vacas de desecho para inhibir la acción reproductiva evitando que pierdan tiempo en la manifestación de celo y se dediquen a comer, además del efecto anabólico (Adams *et al.*, 1990).

Los mecanismos neuroendocrinos que controlan la oleada preovulatoria de la hormona luteinizante (LH), aparentemente pueden ser mucho más sensibles al MGA que los reguladores de su secreción pulsátil; es por ello que la administración oral de 0.5 mg de MGA es suficiente para inhibir la oleada preovulatoria de LH, requiriéndose concentraciones de 1.5 a 5.0 mg para suprimir su secreción pulsátil. Es importante mencionar que los progestágenos no suprimen la secreción de FSH, por tanto, las oleadas foliculares siguen emergiendo en presencia de un cuerpo lúteo (Imwalle *et al.*, 2002; Bleach *et al.*, 2004).

Sin embargo, los trabajos descritos hasta ahora se centran en la ganancia de peso, respuesta ovárica, manifestación de celo, sincronización de estro y porcentaje de fertilidad postratamiento con MGA, sin tomar en cuenta el

funcionamiento de este y el efecto que puede tener sobre el perfil metabólico. Por lo que es necesario investigar los efectos de MGA sobre el perfil metabólico de las vaquillas y su acción para lograr una respuesta favorable productiva y/o reproductiva, ya que con este conocimiento se podrían diseñar estrategias que contribuyan a mejorar la respuesta productiva en las vaquillas y dar solución a los problemas de la ganadería.

HIPOTESIS

El MGA modifica las concentraciones plasmáticas de los metabolitos lipídicos, proteicos y glucosa en vaquillas.

OBJETIVO GENERAL

Comparar las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDLc), lipoproteínas de baja densidad (LDLc), proteínas totales, urea y glucosa en vaquillas Cebú-Suizo con inclusión o no de acetato de melengestrol (MGA).

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los cambios metabólicos lipídicos (colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de alta y baja densidad) por efecto del MGA.
- Establecer los cambios metabólicos proteicos (proteínas totales) producidos por el MGA.
- Precisar los cambios que se producen en los niveles de glucosa en plasma por efecto del MGA.
- Señalar los cambios que se producen en los niveles de la urea en plasma ocasionados por el MGA.

MATERIAL Y METODOS

Área de estudio

El trabajo de campo se realizó durante el periodo de mayo a junio del 2011 en el rancho "El Limoncito del Torbellino", ubicado en la localidad de Tafetán, municipio de Tzitzio, Michoacán, México. El sitio se localiza en los 19°20'57.70" N y 100°56'18.86" O, a 811 msnm, el clima es tropical y templado con lluvias en verano, precipitación pluvial de 1,397.3 mm y temperaturas que oscilan entre 13.1 y 27.2 °C (INEGI, 2011).

Animales y alimentación

Se utilizaron 21 vaquillas Criollas Cebú-Suizo vacías, en buen estado de salud, con un peso vivo inicial de 231.6 ± 16.31 kg, una talla de 118.3 ± 3.79 cm de altura y una condición corporal (CC) de $2.58 \pm 0,35$ en la escala 1-5 de acuerdo con Wildman *et al.* (1982).

Las vaquillas recibieron un régimen de alimentación constante durante 55 días, incluyendo un periodo de adaptación de 15 días. El alimento se ofreció dos veces al día (08:00 y 16:00 h). La dieta consistió en 2.8 kg (MS) concentrado a base de maíz, salvado de trigo y pollinaza. A esta mezcla se le adicionó 0.033 g de melaza (MS) para darle palatabilidad. Al terminar el concentrado, las vaquillas recibieron 3.29 kg de paja de sorgo (MS).

El contenido nutricional del concentrado se determinó a partir de un análisis proximal (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis proximal del concentrado.

Composición		
	Base húmeda	Base seca
Humedad (%)	6.60	
Materia seca (%)		93.40
Cenizas (%)	11.84	12.68
Proteína cruda (%)	14.52	15.55
Grasa (%)	2.88	3.08
Fibra cruda (%)	8.62	9.23
E.L.N. (%)	55.54	59.46
P.D. (%)		10.96
E.N.L. (Mcal/kg de MS)		1.57
T.N.D. (%)		68.95

E.L.N. = Elementos libres de nitrógeno.

P.D. = Proteína digestible.

E.N.L. = Energía neta de lactancia.

T.N.D. = Total de nutrientes digestibles.

Análisis proximal (FOGASA, Laboratorio de referencia nacional).

El aporte de energía metabolizable (Mcal) del concentrado se calculó a partir la ecuación de McDowell *et al.* (1974).

El aporte proteico de la dieta fue de 599.1 g/día y el aporte energético de 12.181 Mcal/ día, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Aporte de energía y proteína de la dieta proporcionada a las vaquillas durante el estudio.

Alimento	PC (g)	EM (Mcal)
Concentrado	435.711	6.982584
Paja de sorgo	161.406	5.1057
Melaza	1.9575	0.09315
Total	599.075	12.181

PC = Proteína cruda.

EM = Energía metabolizable.

Las vaquillas se distribuyeron en dos grupos de forma aleatoria, representativa en cuanto a peso y CC. El grupo experimental (n = 10) fue tratado con 0.5 mg de acetato de melengestrol (MGA) oral, mezclado con el alimento de la mañana. Al grupo testigo (n = 11) se le dio el mismo alimento sin la inclusión de MGA.

Las vaquillas se pesaron en una báscula digital, dietadas, al iniciar el periodo de adaptación a la dieta (PI) y 3 veces durante el experimento (P1, P2 y P3) con un intervalo de 15 días para registrar la ganancia de peso. La condición corporal se registro al inicio y al final del estudio mediante la escala subjetiva de 1 a 5 (Wildman *et al.*, 1982). El registro de talla y muestreo sanguíneo se realizó cada 5 días desde el inicio del experimento, se tomaron muestras de sangre (5 ml) mediante punción de la vena coccígea, utilizando tubos vacutainer con EDTA (10%). Las muestras fueron mantenidas en refrigeración por menos de dos horas y se centrifugaran por 10 minutos a 3500 rpm, el plasma fue separado del coagulo sanguíneo por medio de una pipeta Pasteur de 3 ml y colocado en viales individuales, se conservaron a -4°C hasta su análisis. Al finalizar el trabajo de campo, las muestras fueron transportadas a 4°C al Laboratorio de Desarrollo Rural del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Concentración de metabolitos

Se determinó la concentración plasmática de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDLc), lipoproteínas de baja densidad (LDLc), urea, proteínas totales y glucosa mediante la utilización de equipos comerciales de reacción enzimática, por medio de espectrofotometría y con técnicas colorimétricas (Spinreact, Spinlab).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la determinación de metabolitos se analizaron mediante una comparación de medias para medidas repetidas, donde el efecto fijo fue el tratamiento, el efecto aleatorio fue cada una de las vacas en el estudio, y la medida repetida cada una de las muestras colectadas cada 5 días. El modelo incluyó los efectos del tratamiento, muestreo y la interacción tratamiento x muestreo. En análisis de los datos se realizó utilizando en paquete estadístico STADISTICA (STADISTICA, 2006). El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + e_{ij} + \delta_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = es la ijk -ésima observación.

μ = es la media general.

α_i = es el efecto del tratamiento.

e_{ij} = es el error experimental .

δ_{ijk} = es el error de submuestreo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Durante el estudio se observó la talla, condición corporal (CC), pesos inicial y final y ganancias de pesos. (Tabla 6).

Tabla 6. Altura, condición corporal (CC), peso inicial y final y ganancias de pesos de los grupos MGA y testigo.

Tratamiento	Grupo MGA	Grupo testigo
Altura inicial (cm)	118.7 ± 4.52	118.4 ± 3.29
Altura final (cm)	121.33 ± 3.39	121 ± 3.26
CC inicial	2.58 ± 0.4	2.41 ± 0.3
CC final	2.85 ± 0.1	2.86 ± 0.1
Peso inicial (kg)	236.7 ± 16.7	234.53 ± 20
Peso final (kg)	247.5 ± 17.8	248.8 ± 22
Ganancia diaria (kg)	0.352 ± 0.198	0.510 ± 0.220

Las variables no tuvieron diferencias significativas entre tratamientos ($P>0.05$)

La dieta se mantuvo constante durante todo el estudio y los requerimientos de energía de los animales se fueron incrementando debido a que las vaquillas se encontraban en una fase de crecimiento y desarrollo; sin embargo, los aportes de proteína siempre estuvieron por encima de los requerimientos de las vaquillas.

Del día 15 al 30 del estudio, las vaquillas del grupo MGA tuvieron una ganancia diaria de peso de 535 g y las del grupo testigo 672 g, sin embargo, las necesidades de energía fueron cada vez mayores, por lo que tuvieron que hacer un ajuste metabólico a partir del día 30 hasta el final del experimento que las obligó a disminuir su ganancia de peso a 188 y 277 g respectivamente.

En la Figura 1 se observa que el aporte energético no cubrió las necesidades requeridas por los animales al inicio del experimento (0.4 Mcal de energía diario).

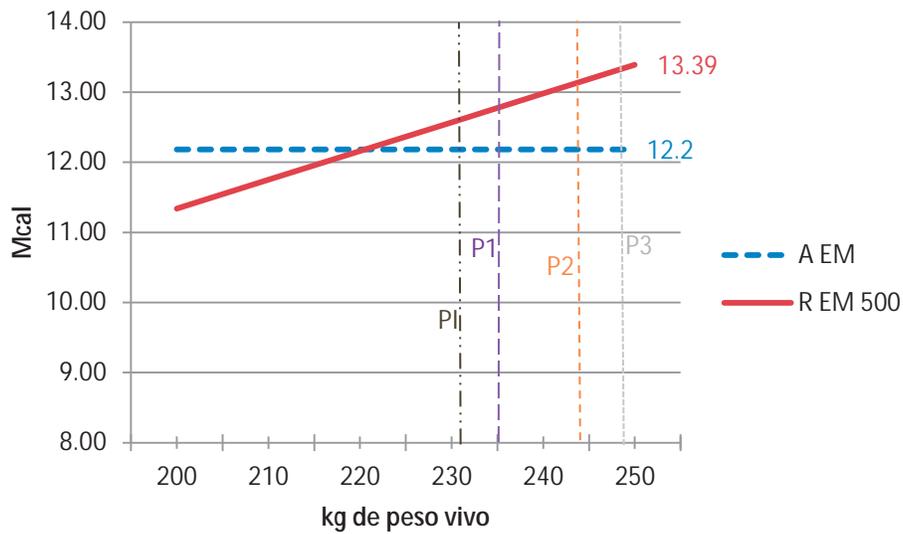


Figura 1. Aporte y requerimientos de energía metabolizable con una ganancia de peso diaria de 500 g.

A EM = Aporte de energía metabolizable.

R EM 500 = Requerimientos de energía metabolizable para una ganancia de 500 g diarios (NRC, 2000).

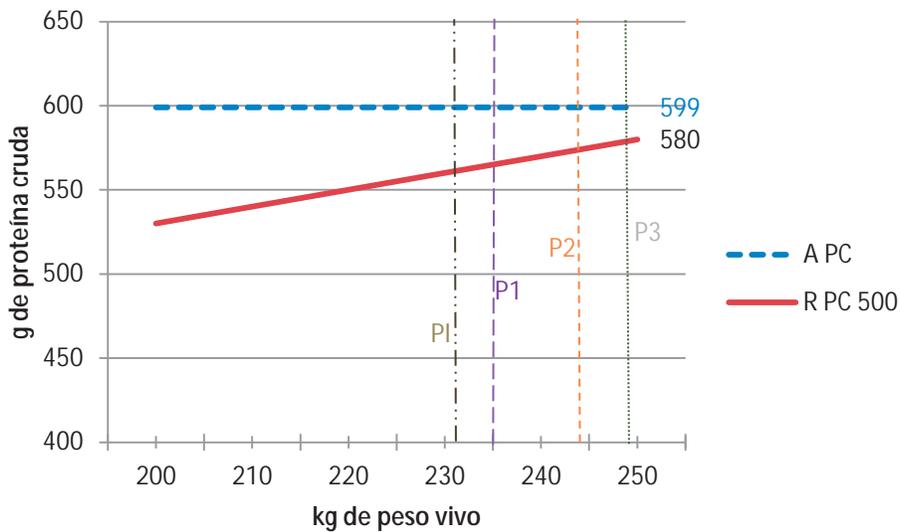


Figura 2. Aporte y requerimientos de proteína cruda con una ganancia de peso diaria de 500 g.

A PC = Aporte de proteína cruda.

R PC 500 = Requerimientos de proteína cruda para una ganancia de 500 g diarios (NRC, 2000).

En la figura 2 se observa que el aporte proteico fue superior a los requerimientos de los animales al inicio del experimento (38 g) y estos requerimientos fueron cada vez menores durante el experimento.

La figura 3 indica el registro de talla de ambos grupos; no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$). A partir del día 25 las vaquillas dejaron de crecer, por lo que el MGA no tuvo un efecto directo sobre el crecimiento de las vaquillas.

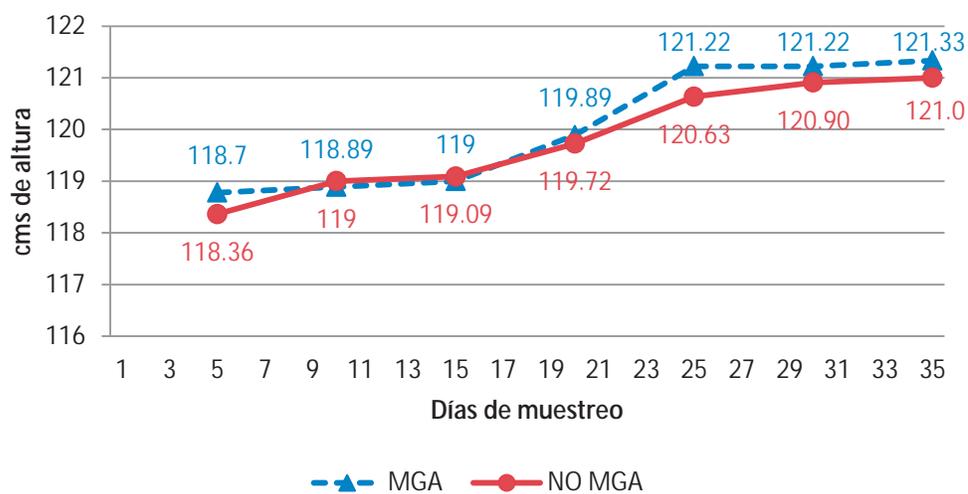


Figura 3. Altura de los animales suplementados con MGA y testigo durante el estudio.

En la figura 4 se observa el registro de ganancia de peso de ambos tratamientos durante el experimento; no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$). A partir del día 19 la ganancia diaria de peso es menor, debido al insuficiente aporte energético.

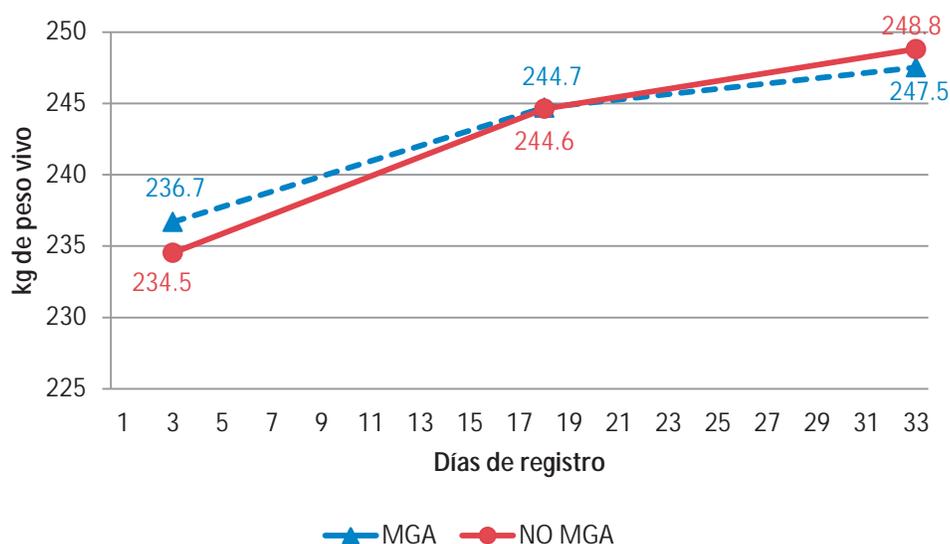


Figura 4. Peso de los animales suplementados con MGA y testigo durante el estudio.

Los resultados obtenidos contrastan con los de Corrigan *et al.* (2007) y Chung y Johnson (2009) los cuales mencionan que tratamientos de 35 días con MGA mejoran las tasas de crecimiento y aunque reduce la eficiencia alimenticia, aumenta la grasa en canal y espesor de grasa dorsal. Sulpizio *et al.* (2003) mencionan que las vacas alimentadas con MGA tienen una mayor ganancia diaria de peso durante los primeros 35 días contra un grupo control, sin embargo, en el consumo y la eficiencia alimenticia no existen diferencias entre tratamientos.

En este estudio la dieta constante fue restrictiva en el aporte de energía para las vaquillas, por lo que el efecto anabólico del MGA a una dosis de 0.5mg/día, pudo limitarse, ante la creciente demanda energética para el crecimiento y desarrollo de los animales, obligando a un ajuste en la ganancia diaria (figura 5).

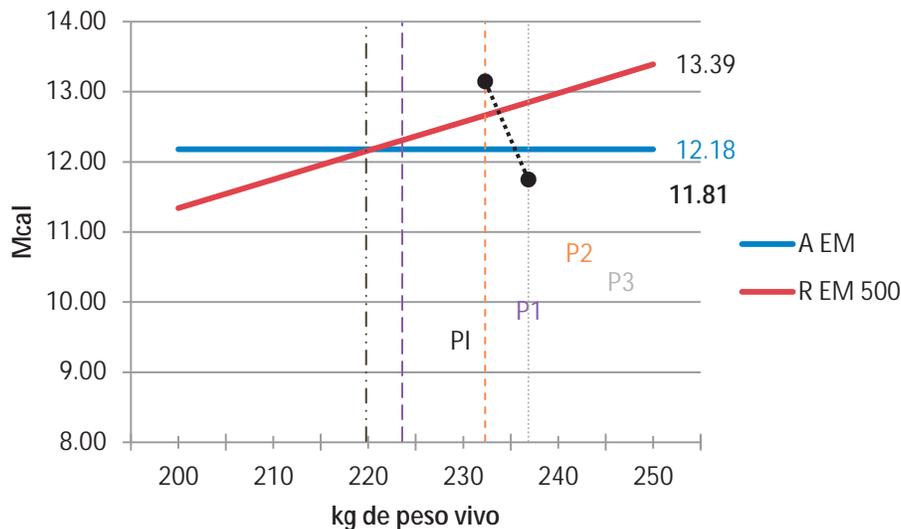


Figura 5. Aporte y requerimientos de energía metabolizable para una ganancia de peso de 500 g/día y un ajuste metabólico a 250 g/día.

A EM = Aporte de energía metabolizable.

R EM 500 = Requerimientos de energía metabolizable para una ganancia de 500 g diarios (NRC, 2000).

Las concentración de colesterol plasmático, no presentó diferencias significativas en función de los tratamientos ($P = 0.764$), ni entre muestreos, tampoco existió interacción tratamiento x muestreo. En la figura 6 se muestra que los valores plasmáticos disminuyeron en ambos grupos a través del tiempo con una tendencia a la baja más pronunciada a partir del día 25 en ambos grupos.

Los valores de colesterol estuvieron dentro de los límites normales (107.59 ± 13.38 MGA vs. 109.61 ± 11.72 testigo mg/dl) con valores aproximados a los mínimos cuyo rango normal es de 80 a 240 mg/dl (Kaneko, 1989) y una tendencia a la baja. Esta variación se considera normal debido a que el colesterol tiene un amplio rango de variación influenciado por la etapa reproductiva y el estado energético en que se encuentra el animal (Coppo *et al.*, 2003 y Galvis *et al.*, 2007).

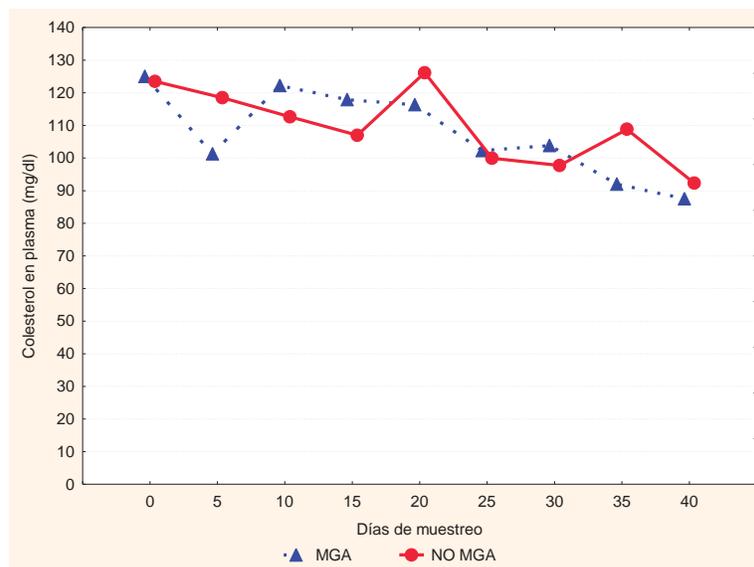


Figura 6. Concentraciones plasmáticas de colesterol en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

Grummer y Carrol (1988), Houghton *et al.* (1990) y Guédon *et al.* (1999) muestran mayores concentraciones plasmáticas de colesterol a las reportadas en vacas en producción, aumentos que Rossato (2000) atribuye a la movilización lipídica y al aumento en la síntesis de las lipoproteínas plasmáticas como consecuencia de un balance energético negativo en la lactancia temprana, situación similar a lo ocurrido en el estudio.

Campos *et al.* (2004) encontraron valores de colesterolemia de 45.18 ± 11.52 mg/dl en vaquillas nativas colombianas de diferentes razas, la cual se encuentra por debajo de los niveles obtenidos en el experimento.

El colesterol en vaquillas se encuentra en los límites mínimos de los rangos normales, quizá debido a que estos animales aun no se encuentran bajo un proceso reproductivo activo, que demande mayores concentraciones de colesterol para la síntesis de hormonas esteroides.

Con los resultados obtenidos, se observa que el MGA no tiene ningún efecto sobre la concentración plasmática del colesterol en vaquillas y que su disminución fue ocasionada por el déficit energético que sufrieron los animales.

Los valores de triglicéridos presentaron variación significativa entre tratamientos ($P = 0.009$) (12.61 ± 6.91 MGA vs. 16.19 ± 8.86 testigo mg/dl) durante el estudio; sin mostrar interacción tratamiento x muestreo. Al analizar la diferencia entre muestreos se encontraron diferencias significativas el día 25 ($P = 0.002$) y el día 30 ($P = 0.41$); comportándose iguales a partir del día 35 al 40 (Figura 7).

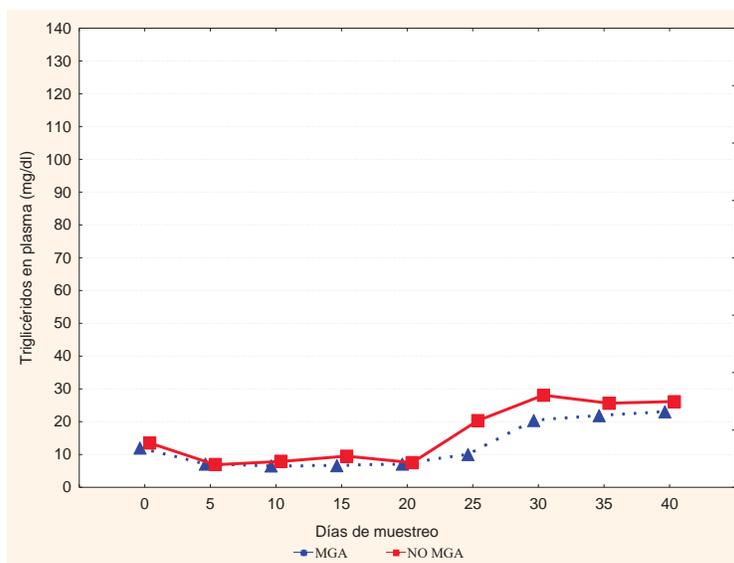


Figura 7. Concentraciones plasmáticas de triglicéridos en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

Durante los primeros 20 días las concentraciones de triglicéridos se mantuvieron dentro de los rangos normales (3 a 9 mg/dl); en el día 25 y hasta el día 30 se observó un incremento en la concentración de este metabolito. La deficiencia energética, pudo obligar a las vaquillas a realizar un ajuste metabólico (Figura 5), movilizandando sus reservas corporales para mantener las demandas de crecimiento y desarrollo, lo que debió ocasionar un incremento en los triglicéridos.

En la presente investigación no se encontró información de triglicéridos en el perfil metabólico en vaquillas con un balance energético negativo; sin embargo, en estudios en vacas en lactancia temprana se ha observado la necesidad de movilizar sus reservas grasas durante un periodo crítico de producción de leche, para suplir sus requerimientos (Galvis, *et al.*, 2007), situación que puede ser observada de forma similar a la registrada en el estudio.

Galvis *et al.* (2007) mencionan valores de 19.32 y 25.35 mg/dl de triglicéridos en vacas en lactancia temprana y se observó una tendencia al incremento debido al requerimiento de nutrientes por el aumento de producción de leche. Sevinc *et al.* (1998) refieren que para vacas Holstein en lactancia temprana valores que oscilaron entre 13.3 y 13.5 mg/dl. Basoglu *et al.* (1998) encontraron que los valores de los triglicéridos son más altos en el periodo seco que en la lactancia temprana (un mes posparto) y la lactancia tardía (cuatro meses posparto).

Guédon *et al.* (1999) mencionan que los animales que pasan por un déficit energético presentan elevada la concentración de lípidos en sangre y en leche; además, indica que las concentraciones de triglicéridos en sangre permanecen constantes, a menos que ocurran cambios severos en el estado fisiológico o en la dieta.

El grupo NO MGA, presentó una mayor concentración de triglicéridos en plasma que el grupo tratado con 0.5 mg/día con MGA. Se interpreta que el MGA pudo disminuir el uso de las reservas disponible hasta 30 días, haciendo más eficiente el uso de los triglicéridos en una situación de restricción alimenticia.

Los valores de HDLc y LDLc no presentaron diferencia significativa entre tratamientos ($P=0.866$ y $P=0.640$), tampoco hubo diferencia entre muestreos ni interacción tratamiento x muestreo, como puede observarse en la figura 8 y 9.

Ambos metabolitos se mantuvieron irregulares, pero dentro de los rangos normales (58.4 a 175.2 y 20.8 a 62.4 mg/dl) con una media de 63.73 ± 3.26 MGA vs. 63.79 ± 10.27 testigo mg/dl de HDLc y 43.56 ± 6.24 MGA. vs. 46.54 ± 14.89 testigo mg/dl de LDLc.

Se encontraron diferencia entre muestreos; en HDLc y LDLc en el día 25 ($P = 0.004$ y $P = 0.010$ respectivamente).

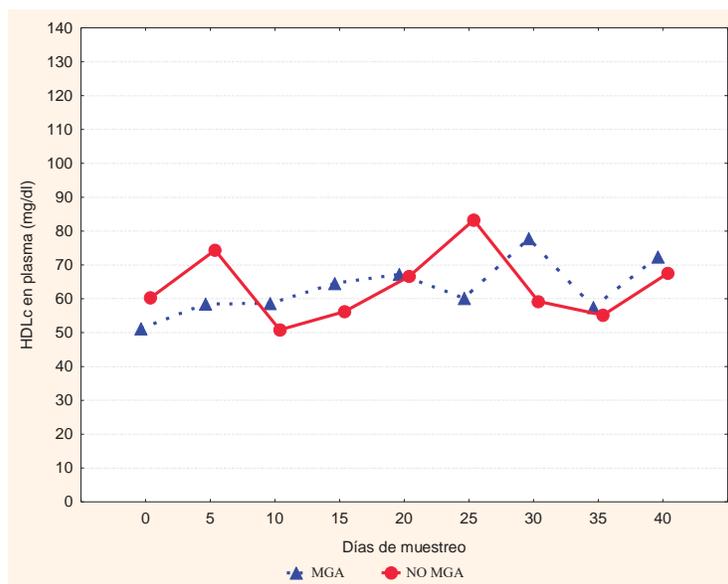


Figura 8. Concentraciones plasmáticas de HDLc en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

Las HDLc y LDLc se encuentran en un proporción 70:29 en bovinos (Ceballos *et al.*, 2002) y son los encargados del transporte del colesterol; en el estudio tuvieron una relación 55:45, con una relación más bajo después del día 25.

Rayssiguier *et al.* (1988) mencionan que la disminución de HDLc y LDLc se debe a una deficiencia de energía, relacionada con una disminución en la movilización de lípidos desde el hígado hacia otros lados.

Los valores de HDLc y LDLc se mantuvieron dentro de los rangos normales. HDLc se mantuvo y LDLc a la baja, con una relación de LDLc más bajo después del día 25.

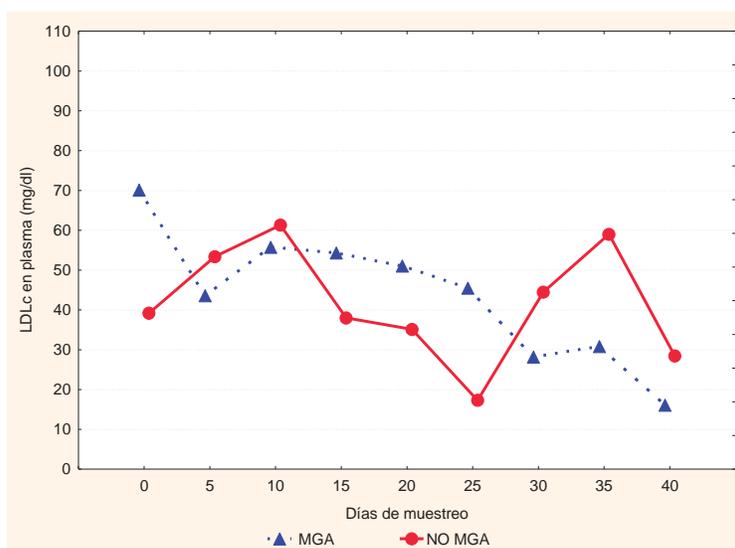


Figura 9. Concentraciones plasmáticas de LDLc en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

Los valores de proteínas totales presentaron diferencias significativas estadísticamente entre tratamientos ($P = 0.0001$), y su valor (5.70 ± 0.40 MGA vs. 5.22 ± 0.31 testigo mg/dl) está por debajo de los niveles reportados internacionalmente (6.2 a 8.2 mg/dl) (Zapata y Fajardo, 1992).

Algunos autores (Putnam, 1960; Rothschild *et al.*, 1988; Matheus *et al.*, 2000) mencionan que la síntesis de proteínas plasmáticas puede ser afectada por factores ambientales, nutricionales, enfermedades agudas, crónicas, factores fisiológicos como preñez, lactación, edad, cambios hormonales y estrés y época del año.

En los primeros 10 días, las concentraciones de proteínas totales se mantuvieron iguales en ambos grupos, sin embargo, a partir del día 15 se observó un

incremento gradual hasta el día 35 en el grupo tratado con 0.5 mg/día de MGA; al día 40 las concentraciones disminuyen en ambos grupos sin encontrarse diferencias significativas.

En la figura 10 se observa una diferencia altamente significativa en los tratamientos a partir del día de muestreo 25 ($P = 0.0007$), 30 ($P = 0.008$) y 35 ($P = 0.47$).

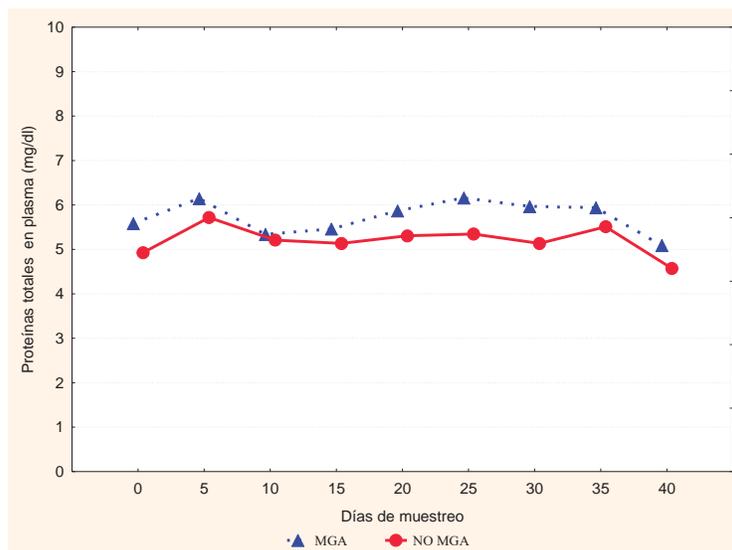


Figura 10. Concentraciones plasmáticas de las proteínas totales en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

Campos *et al.* (2004)] menciona que los valores promedios de proteínas totales en vaquillas nativas de Colombia, fueron de 7.25 mg/dl, esto debido a que las vaquillas requieren mayor gasto proteico para crecimiento.

Las proteínas plasmáticas se encuentran disminuidas en los procesos de subnutrición o mala absorción, así como en las hepatopatías (Coppo y Mussart, 2006). El hígado sintetiza la totalidad de las albúminas y fibrinógeno circulante, así como el 50% de las globulinas, para lo cual requiere el aporte de nitrógeno alimentario (Kaneko, 1989).

El MGA pudo ejercer una influencia sobre la concentración de las proteínas totales, con una mayor disposición de ellas en el metabolismo, debido a que los requerimientos de estas en las vaquillas son mayores a las de un animal adulto. Por tanto, el MGA quizá incrementó la concentración de proteínas totales en plasma de vaquillas, para aportar un mayor insumo para la formación de tejido (músculo). Esta ventaja se observó hasta 30 días con de administración de MGA, a pesar de una situación adversa, como una deficiencia nutricional.

Los valores de urea en plasma no presentaron variación significativa en función de los tratamientos ($P = 0.106$), ni entre muestreos con un promedio de 14.79 ± 5.22 MGA vs. 14.13 ± 4.8 testigo mg/dl, como se muestra en la Figura 11. Las concentraciones de urea plasmática se mantuvieron dentro del rango normal (7.8 a 24.6 mg/dl) (Zapata y Fajardo, 1992), con tendencia al alta en ambos grupos y este aumento fue mayor al día 25.

A partir del día 25 se observa un mayor incremento en la concentración de urea de ambos grupos, debido probablemente al exceso de proteína aportados en la dieta.

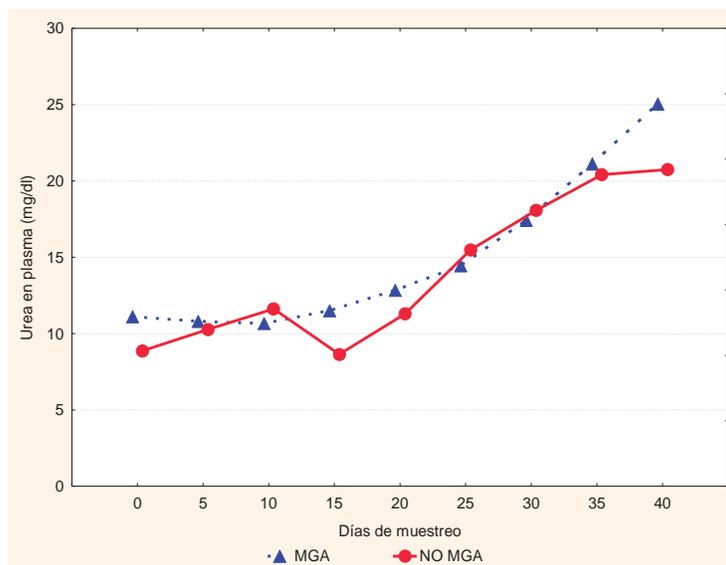


Figura 11. Concentraciones plasmáticas de urea en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

La concentración de urea plasmática ha sido empleada como un indicador de la actividad metabólica proteica del animal (Payne *et al.*, 1970; Wittwer y Contreras, 1980; Noro, *et al.*, 2006). Ello se basa en que la urea es sintetizada en el hígado en cantidades proporcionales a la concentración de amoniaco producido en el rumen (Oltner, 1983), y su concentración sanguínea esta en directa relación con el aporte proteico en la ración (Manston *et al.*, 1975; Treacher 1978; Kirchgessner y Kreuser 1986; Galvis y Correa, 2002; Correa y Cuellar, 2004).

Reynolds *et al.* (1994) ha propuesto que el gasto de aminoácidos para regenerar el aspartato que participa en el ciclo de la urea, podría incrementar los requerimientos de aminoácidos por el animal y, en consecuencia, reducir la eficiencia en la utilización de la proteína.

Campos y Cuellar (2004) mencionan que animales alimentados con dietas altas en proteína degradable en rumen y nitrógeno no proteico, como lo es la pollinaza, resulta en altos niveles de amonio en rumen que después es convertido a urea.

Los trabajos citados señalan que valores bajos de urea en sangre se encuentran en animales con dietas deficitarias de proteínas y valores altos en aquellos que utilizan dietas con excesivo aporte proteico o déficit de energía.

Las concentraciones plasmáticas de urea mantuvieron una tendencia al alta. No existieron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los dos grupos, ni entre tratamientos, ni entre muestreos. Lo que indica que los factores metabólicos que determinan la concentración sanguínea de urea, no están influenciados por el MGA.

Las concentraciones plasmáticas de la glucosa no presentaron significancia estadística entre tratamientos ($P = 0.51$), ni entre muestreos, con un promedio de

60.06 ± 7.62 vs 58.24 ± 5.43, estas concentraciones se mantuvieron dentro del rango normal (42.1 a 74.5 mg/dl) (Zapata y Fajardo, 1992). Al inicio del experimento la glicemia presentó una tendencia a disminuir para luego aumentar a partir del día 25 hasta el día 35 (Figura 12).

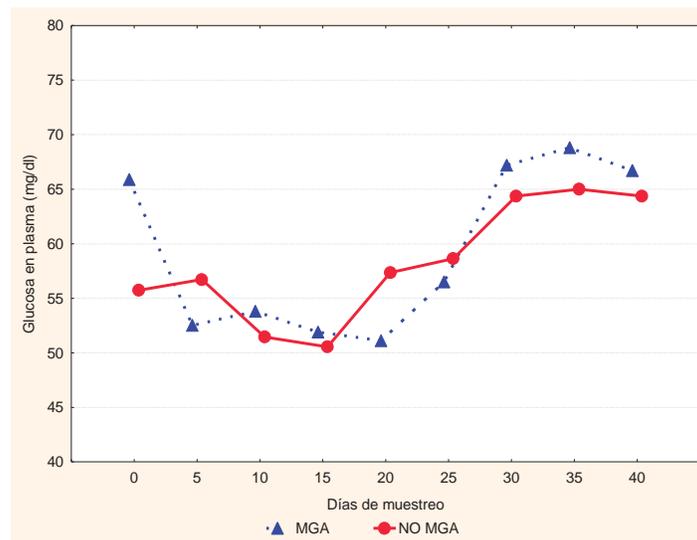


Figura 12. Concentraciones plasmáticas de glucosa en vaquillas suplementadas con MGA y grupo testigo.

Miettinen (1995) menciona que el balance energético negativo provoca cambios en las concentraciones de glucosa y de las hormonas relacionadas con el metabolismo intermediario de la energía.

Otros autores han reportado resultados similares, señalando que la glicemia por estar bajo regulación hormonal estricta no presenta grandes variaciones según el nivel de alimentación (Harrison *et al.*, 1990; Bertics *et al.*, 1992; Ceballos, 2002), además, la glucosa no es tan sensible a los cambios en el balance energético como otros indicadores (Whitaker y Kelly, 1994).

Galvis y Correa (2002) sugiere que la acelerada movilización lipídica y los excesos de amoniaco posiblemente reducen significativamente la tasa de gluconeogénesis y por ende la glicemia.

En el estudio no se observaron diferencias significativas entre el grupo tratado con MGA y el grupo testigo, pese a que el MGA, al ser un progestágenos sintético, aumenta la gluconeogénesis y glicogenólisis.

CONCLUSIONES.

La dosis a 0.5 mg/dl de MGA durante 40 días, genera cambios en las concentraciones plasmáticas de los triglicéridos y las proteínas totales; sin embargo, no interviene en las concentraciones plasmáticas de colesterol, HDLc y LDLc, urea y glucosa.

LITERATURA CITADA

Adams, T. E., Dunbar, J. R., Berry, S. L., Garrett, W. N., Famula, T. R. y Lee, Y. B. (1990). Feedlot performance of beef heifers implanted with Synovex-H: effect of melengestrol acetate, ovariectomy or active immunization against GnRH. *J. Anim. Sci.* 68(10):3079-3085.

Annison, E. F. y Bryden, W. L. (1998). Perspectives on ruminal nutrition and metabolism. *Nutr. Res. Rev.* 11(2):73-198.

Aranda, M. V., Brave, N. y Casagrande, R. (2002). Colesterol en bovinos [en línea] <http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/26-colesterol_en_bovinos.pdf>. *INTA*. Consulta: 04 de agosto de 2010.

Araujo, O. y Pietrosevoli, E. (1991). Estudio comparativo de implantes hormonales vs. no hormonales en novillos comerciales a pastoreo con suplementación. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 8(3): 209-217.

Barrientos, M. (2001). Uso de anabólicos por atletas adolescentes. *Rev. de Endoc. y Nutr.* 9(3):133-140.

Basoglu, A., Sevinc, M., Gokcen, M. (1998). Peri and postparturient concentrations of lipid lipoprotein insulin and glucose in normal dairy cows. *Turk. J. Vet. And Anim. Sci.* 22:141-144

Bertics, S., Grummer, R. R., Cadorniga, C. y Stoddart, E. E. (1992). Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75(7):1914-1922.

Bleach, E.C.L, Glencross, R.G., Knight, P.G. (2004). Association between ovarian follicle development and pregnancy rate in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction.* 127: 621-629.

Bloss, R. E., Northam, J. I., Smith, L. W. y Zimbelman, R. G. (1966). Effects of oral melengestrol acetate on the performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 25(4):1048-1053.

Bravera, G., Bocco, O., Beguet, H. y Petrin, A. (2002). Promotores del crecimiento y modificadores del metabolismo. Cursos de producción bovina de carne. FAV. UNRC.

Campos, R., Carreño, E. S. y González, F. D. (2004). Perfil metabólico de vacas nativas. Orinoquia. Universidad de los Llanos Villavicencio, Colombia. 8(2): 32-41.

Cardona, I. y Sanclemente, L. (1986). Acción del undecilenato de boldenona (equipoise) más un implante de estradiol progesterona (Ganamax-m) en la ceba de novillos cebú comercial. Tesis Universidad Nacional sede Palmira.

Castañeda, A. (2010). Importancia de los metabolitos como: glucosa, proteínas totales, triglicéridos, urea y creatinina en dos tratamientos t1: ovejas gestantes y t2: paridas. [en línea] <http://www.engormix.com/MA-ovinos/articulos/importancia-metabolitos-como-glucosa-t3047/p0.htm>. Consulta: 1 de febrero de 2011.

Castagnola, M. (2008). Cría y recría de vaquillas y efectos en parámetros productivos futuros. Universidad de Chile. Facultad de ciencias agronómicas. Publicación del departamento de producción animal. Circular de Extensión Técnico Ganadera.

Ceballos, A., Gómez, P., Vélez, M., Villa, N. y López, L. (2002). Variación de los indicadores bioquímicos del balance de energía según el estado productivo en bovinos lecheros de Manizales, Colombia. *Rev. Col. Cien. Pec.* 19(4):350-355.

Chung, K. y Johnson, B. (2009). Melengestrol acetate enhances adipogenic gene expression in culture muscle-derived cells. *J. Anim. Sci.* 87(12):3897-3904.

Comisión Forestal del Estado, (2008). [en línea] <http://cofom.michoacan.gob.mx/actividades.htm>. Consulta: 05 de junio de 2010.

Coppo, J. A. y Mussart, N. B. (2006). Bagazo de *Citrus* como suplemento invernal en vacas de descarte. Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Coppo, N., Coppo, J. y Lazarte, M. (2003). Intervalos de confianza para colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad en suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. *Rev. Vet.* 14(1):3-10.

Correa, H. (2009). Uso de anabólicos en bovinos. *Med. Vet. Zoot.* Cundinamarca, Colombia.

Correa, H. y Cuéllar, A. (2004). Aspectos clave del ciclo de la urea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 17(1):29-38.

Corrigan, M. E., Drouillard, J. S., Spire, M. F., Mosier, D. A., Minton, J. E., Higgins, J. J., Loe, E. R., Dependbusch, B. E. y Fox, J. T. (2007). Effects of melengestrol acetate on the inflammatory response in heifers challenged with *Mannheimia haemolytica*. *J. Anim. Sci.* 85(7):1770-1779.

Fernandez, A. (2008). Cuadros de requerimientos energéticos-proteicos y algunas "dietas alternativas". EEA. Inta. Bordenave

Ferraro, M., Saballo, A., Márquez, A. y López, A. (2002). Determinación del perfil metabólico en cerdas adultas Landrace-Largerwhite en periodo de parto. Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales "Dr. Haity Moussatché" (UNIHM).

Galvis, R. D., Agudelo, D. y Saffon, A. (2007). Condición corporal, perfil de lipoproteínas y actividad ovárica en vacas Holstein en lactancia temprana. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20(1):16-29.

Galvis, R. D. y Correa, H. (2002). Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido? *Rev. Col. Cienc. Pec.* 15(1):36-50.

Guédon, L., Saumande, J., Dupron, F., Couquet, C. y Desbals, B. (1999). Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cow and the relationship to the resumption of ovulation. *Theriogenology.* 51(7):1405-1415.

Grummer, R. y Carrol, D. (1988). A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.* 68:3160-3173

Harrison, R. O., Ford, S. P., Young, J. W., Conley, A. J. y Freeman, A. E. (1990). Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73(10):2749-2758.

Houghton, P. L., Lemenager, R. P., Hortsman, L. A., Hendrix, K. S. y Moss, G. E. (1990). Effects of body composition, pre- and postpartum energy level early weaning of reproductive performance of beef cow and preweaning calf gain. *J. Anim. Sci.* 68(5):1438-1446.

Imwalle, D. B., Fernández, D. L. y Schillo, K. K. (2002). Melengestrol acetate blocks the preovulatory surge of luteinizing hormone, the expression of behavioral estrus, and ovulation in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 80(5):1280-1284.

INEGI (2011). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [en línea] <http://gaia.inegi.org.mx/mdm5/viewer.html#>. Consulta: 21 de julio de 2011.

Kaneko, J. (1989). Clinical biochemistry of domestic animal. 4th ed. San Diego: Academic Press. pp 85-87.

Kaneko, K., Harvey, J. y Bruss, M. (1997). Clinical biochemistry of domestic animals. Academic press, San Diego. pp 932.

Kirchgessner, M. y Kreuser, M. (1986). Urea and allantoin in the milk of cows during and after feeding too much or too little protein. *An. Res. Develop.* 23:45-55.

Kreikemeier, W. M. y Mader, T. L. (2004). Effects of growth-promoting agents and season on yearling feedlot heifer performance. *J. Anim. Sci.* 82(2):2481-2488.

Lesmeister, J. L., Burfening, P. J. y Blackwell, R. L. (1973). Date of first calving in beef cows and subsequent calf production. *J. Anim. Sci.* 36:1-6.

López, A. A., Márquez, Y. C., Mendoza, C. A., Ferraro, S. R. y Márquez, A. A. (2008). Perfil lipídico en becerras mestizas Carora durante el primer año de vida, en época de lluvias y de sequía, en Venezuela. *Rev. Vet.* 19(1): 2-7.

Lowy, M., Fernandez, M. y Luna, M. (1983). Efecto del estradiol 17 β y zeranol en novillos de ceba confinados. Tesis. Universidad Nacional sede Palmira, Colombia.

Madsen, A. (1983). Metabolism in liver cells. *In: Riis PM. Dynm. Biochemistry Anim. Prod. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V.* pp 53-74

Manston, R., Russel, A. M., Dew, S. M. y Payne, J. M. (1975). The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet. Rec.* 96:497-502.

Martínez, M. D. (2006) ¿Qué significa triglicéridos y colesterol elevado? Vigilancia Epidemiológica. Médico Epidemiólogo de la Dirección de Información. DGE/Salud. [en línea] <<http://www.dgepisalud.gob.mx/boletín/2006/sem50/pdf/edit5006.pdf>> Consulta: 01 de agosto de 2010.

Matheus, N., Ramírez, F., Salazar C., Leonardi, F. y Bravo, H. (2000). Relación albumina: globulina plasmáticas en tres épocas del año en vacas de la raza Carora del estado Lara, Venezuela. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Ciencias Veterinarias. Cátedra Libre de Ganado Carora.

Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales Dr. "Haity Moussatché".
Venezuela.

McDowell, L. R., Conrad, J. H., Thomas, J. E. y Harris, E. L. (1974). Latin American of feed tables composition. University of Florida. Gainesville, Florida. pp 11-14

Miettinen, P. V. (1995). Prevention of bovine ketosis whit glucogenic substance and its effects on fertility in finish dairy cows. *Berl-Munch-Tierärztz-Wsch.* 108(1):14-19.

Molina, V., Gutiérrez, E., Herrera, J., Gómez, B., Ortiz, R. y Santos, J. (2008). Caracterización y modelación gráfica de los sistemas de producción bovina en Tierra Caliente, Michoacán: 1. Bovinos productores de carne. *Livestock Research for Rural Develepment.* 20(12).

Nacional Research Council. (2000). Nutrients requirements of beef cattle. Seventh revised edition. The National Academic Press. Washington, D. C. http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=11653.

Noro, M., Vargas, V., Pulido, R. y Wittwer, F. (2006). Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch. Med. Vet.* 38(3): 227-232.

Oltner, R. (1983). Factors affecting certain blood constituents and milk urea in Swedish dairy cattle. Department of Clinical Chemistry, Faculty of veterinary medicine, Swedish University of Agriculture Sciences, Uppsala, Sweden.

Osuna, S. O. (2002). La problemática de la ganadería en México. IX Encuentro Nacional de Legisladores del Sector Agropecuario (Memorias). Culiacán, Sinaloa México. Mayo 22, 23 y 24. 86-90.

Padilla, E. (1978). La aparición de la pubertad en vaquillas. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. SARH. Palo Alto, México, DF. *Cienc. Vet.* 2:293-324.

Patterson, D. J., Perry, R. C., Kiracofe, G. H., Bellows, R. A. Staigmiller, R. B. y Corah, L. R. (1992). Management considerations in heifer development and puberty. *J. Anim. Sci.* 70(12):4018-4035.

Payne, J. M., Dew, S. M., Manston, R. y Faulks, M. (1970). The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet. Rec.* 87(6):150-158.

Putnam, F. (1960). The plasma proteins. *Academic press, New York and London.* Volumen II. pp 53-55.

Quezada, C., Ramírez, G., Pérez, C., Avendaño, R. y Hallford, D. M. (2004). Comparación de dos protocolos de sincronización del estro en vaquillas de carne con distintas calificaciones de tracto reproductivo. Caracas, Venezuela. *INCI.* 29(11):638-642.

Ramírez, F., Pérez, R., Maldonado, M., Pavia, R. y Mancilla L. (2006) Relación entre pastoreo, metabolitos y reproducción en hembras bovinas en Portuguesa. X Seminario, Manejo y utilización de pastos y forrajes en sistemas de producción animal. Abril 20 a 22, 2006. Luz-FCV, Maracaibo Venezuela. 165-173.

Rayssiguier, Y., Mazur, A., Gueux, E., Reid, I. M. y Roberts, C. J. (1988). Plasma lipoprotein and fatty liver in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 45:389-393.

Razz, R y Clavero, T. (2006). Niveles de urea, fosforo, glucosa e insulina de vacas de ordeño suplementadas con concentrado en un sistema de *Panicum maximun* y *Leucaena leucocephala*. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. Facultad de agronomía. Universidad de Zulia. Maracaibo. Venezuela.

Reynolds, C. K., Harmon, D. L. y Cecava, M. J. (1994). Absorption and delivery of nutrients for milk proteins synthesis by portal drainer visceral. *J. Dairy. Sci.* 77:2787-2880.

Roldán, V., Gasparotti, M., Luna, M., Piérola, F., Sola, J., Papel, C. y Pinto, M. (2005). Estudios comparativos de perfiles metabólicos minerales de vacas lecheras gestantes pertenecientes a la región centro de Santa Fe. Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento Ciencias Básicas, Cátedra Bioquímica, Laboratorio de Físico-Química, Esperanza-Santa Fe. [en línea] <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121205/120503.pdf>. Consulta: 20 de agosto de 2010.

Rossato, W. (2000). Condicao metabolica pós-parto em vacas leiteras de um rebanho do Rio Grande do Sul. Universidad federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Mestrado em ciencias veterinarias dissertacao. pp 1-105.

Rothschild, M., Oratz, M. y Schreiber, S. (1988). Serum albumin. *Hepatology.* 8(2):385-401.

SAGARPA, (2009). Informe sobre la situación de los recursos genéticos pecuarios de México. [en línea] <
<http://sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Informe%20sobre%20la%20situacion%20de%20los%20Recursos%20Genticos/Attachments/1/infofao.pdf>>
Consulta: 18 de julio de 2010.

Salas, G. (2007). Efecto de la suplementación con grasa de By-Pass sobre el perfil lipídico, concentraciones plasmáticas de progesterona y el reinicio de la actividad ovárica posparto de vacas indobrasil en el trópico seco de Michoacán. (Tesis Doctoral). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Tarímbaro, Michoacán. 1-85.

Salas, G., Gutiérrez, E., Ortega, R. y Hernández, J. (2003). Ácidos grasos no esterificados y condición corporal posparto de vacas Holstein en sistemas de producción a pequeña escala. *Rev. Cub. de Cienc. Agríc.* 37(2):137-143.

Sevinc, M., Basoglu, A., Sandikci, M., Oztok, I. y Birdane, F. (1998). The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketonic cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 22:443-447

Sulpizio, M. J., Drouillard, J. S., Kessen, T. J., Loe, E. R., Montgomery, S. P., Pike, J. N. y Sindt, J. J. (2003). Effects of MGA in receiving diets of health, performance and carcass characteristics. *Cattlemen's Day*. pp 203 – 206.

Treacher, R. (1978). Dietary protein levels and blood composition and dairy cattle. En: The use of blood metabolites in animal production. British Society of Animal Production.

Whitaker, D. y Kelly, J. (1994). The use and interpretation of metabolic profiles in dairy cows. I Curso de divulgación en técnicas de RIA y evaluación de metabolitos sanguíneos y cinéticas digestivas relacionadas en la nutrición y reproducción en bovinos. Maracay, Venezuela

Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Troutt Jr., H. F. y Lesch, T. N. (1982). A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Anim. Sci.* 65(3):495-501.

Williams, G. L. y Stanko, R. L. (2000). Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 77:1-12.

Wilson, T. W., Neuendorff, D. A., Lewis A. W. y Randel, R. D. (2002). Effect of zeranol or melengestrol acetate (MGA) on testicular and antler development and aggression in farmed fallow bucks. *J. Anim. Sci.* 80(6):1433-1441.

Wittwer, F., Reyes, J. M., Opitz, H., Contreras, P. A. y Bohmwald, H. (1993). Determinación de urea en muestras de leche de rebaños para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.* 25(2):165-172.

Wittwer, F. y Contreras, P. (1980). Consideraciones sobre el empleo de los perfiles metabólicos en el ganado lechero. *Arch. Med. Vet.* 12:180-188

Zapata, W. y Fajardo, H. (1992). [en línea]
<<http://www.monografias.com/trabajos/quimsangvet/quimsangvet.shtml>>
Consultado el 15 de enero de 2011.