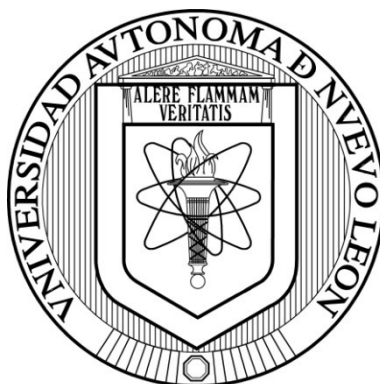


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**EFFECTO DEL NIVEL DE MELAZA EN RACIONES PARA CORDEROS EN LA  
CONCENTRACIÓN DE ENZIMAS EN SANGRE, MINERALES EN HÍGADO Y  
LESIONES HEPÁTICAS.**

**Por**

**JUAN CARLOS MICHEL GALLEGOS**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRÍA EN CIENCIAS PECUARIAS**

**Diciembre, 2009**

**EFFECTO DEL NIVEL DE MELAZA EN RACIONES PARA CORDEROS EN LA  
CONCENTRACIÓN DE ENZIMAS EN SANGRE, MINERALES EN HÍGADO Y  
LESIONES HEPÁTICAS.**

**Aprobación de la Tesis:**



**Ph. D. Jorge R. Kawas Garza  
Asesor Principal**



**Ph. D. Humberto Ibarra Gil  
Co-asesor**



**Dr. Fernando Garza Cázarez  
Co-asesor**



**Dr. Héctor Fimbres Durazo  
Co-asesor**

**Dr. Francisco Zavala  
Subdirector de Postgrado de la Facultad de Agronomía**

## AGRADECIMIENTOS

Mi más grato agradecimiento y reconocimiento al Ph. D. Jorge R. Kawas Garza por su voluntad como asesor, gran profesor e incansable mentor, durante la realización de mis estudios, así como la preparación de esta investigación. Gracias doctor, y espero nuevamente tenerlo como asesor.

Así mismo mi agradecimiento al Dr. Héctor Fimbres Durazo por sus comentarios, sugerencias, críticas y sobre todo su gran paciencia, ya que fueron muy importantes para el desarrollo, estructura y planeación de este estudio, al igual que su amistad y apoyo incondicional desde el inicio de mis estudios.

Al Dr. Herminio Fuentes ya que sin su ayuda y colaboración no se hubiera podido realizar este estudio gracias por todo su tiempo y dedicación para la realización de los análisis de esta investigación.

Al Dr. Francisco Picón Rubio por su ayuda para revisar este trabajo y por amistad incondicional desde el inicio de mi carrera.

Al M.C. Eduardo Belarmino Pérez por su ayuda en los análisis de esta tesis y colaboración para lograr mis objetivos.

A la Biol. Myrella Solís Pérez MEC, al Ing. Jaime Cesar Vallejo Salinas y al Lic Martin Calvillo Murgia por todo su apoyo incondicional, por sus consejos y la amistad que me han brindado desde mis estudios de bachillerato, licenciatura y maestría, así como en mi desarrollo profesional y docente de mi persona.

## **DEDICATORIA**

A mi hijo Carlos Alessandro Michel, gracias por ser esa motivación que guía a seguir adelante.

A Manuel Michel y Juana M<sup>a</sup> Gallegos quienes me han apoyado en todo y enseñado el buen andar en este camino de la vida, Gracias papas!

# TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
<b>INTRODUCCION</b> .....	1
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
2.1 Producción de ganado ovino en México .....	4
2.2 Engorda de ovinos en corral .....	4
2.3 Nutrición y alimentación de ovinos .....	6
2.3.1 Forrajes.....	6
2.3.2 Fuentes de energía.....	7
2.3.3 Ganancia compensatoria .....	8
2.3.4 Requerimientos de energía.....	8
2.4. Grano.....	9
2.5. Melaza .....	11
2.5.1 Melaza: un subproducto de la industria azucarera .....	11
2.5.2 Propiedades físicas y químicas .....	13
2.5.3 Almacenamiento y transporte de la melaza .....	14
2.5.4 Composición química de la melaza .....	15
2.5.5 Minerales en la Melaza .....	16
2.6 Uso de la melaza en sistemas de producción animal .....	19
2.6.1 Pastoreo .....	19
2.7 Polioencefalomalacia .....	22
2.8. Efecto del tipo de carbohidratos sobre la función ruminal.....	23
2.9 Minerales .....	24
2.9.1. Azufre .....	24
2.9.2. Hierro.....	28
2.9.3. Cobre .....	32
2.9.3.1 Interacción cobre – molibdeno .....	43
2.9.3.2 Interacción cobre – hierro .....	46
2.9.4. Manganeso .....	47
2.9.5 Zinc .....	51
2.9.6 Molibdeno .....	58
2.9.7 Magnesio .....	58
2.10. Sangre .....	62
2.11. Hígado .....	63
2.12. Enfermedades hepáticas .....	65
2.13. Análisis de laboratorio. ....	65
2.14. Concentración de enzimas séricas. ....	66
2.15. Objetivo.....	69
2.16. Hipótesis .....	69
2.17. Metas .....	69
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	70
3.1. Animales y tratamientos.....	70
3.2. Instalaciones .....	70

3.3.	Manejo de los corderos.....	70
3.4.	Alimentación de los Corderos .....	71
3.5.	Análisis de muestras.....	73
3.6.	Colección y análisis del plasma .....	73
3.7.	Concentración de minerales en hígado .....	74
3.8.	Histopatología .....	74
3.9.	Análisis estadístico.....	75
<b>RESULTADOS</b>	.....	<b>76</b>
4.1.	Consumo de MS, ganancia de peso y eficiencia alimenticia.....	76
4.2.	Concentración de Minerales en hígado.....	78
4.3.	Concentración de enzimas en hígado.....	82
4.4.	Histopatología del hígado .....	84
<b>DISCUSIÓN</b>	.....	<b>91</b>
5.1.	Consumo de MS, ganancia de peso y eficiencia alimenticia.....	91
5.2.	Concentración de Minerales en hígado.....	92
5.3.	Concentración de enzimas en hígado.....	95
5.4.	Histopatología del hígado .....	97
<b>CONCLUSIONES</b>	.....	<b>102</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	.....	<b>103</b>

## Lista de Cuadros

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1. Producción de melaza en México .....	12
Cuadro 2. Composición química de la melaza .....	17
Cuadro 3. Composición de las raciones de finalización para corderos con varios niveles de melaza.....	72
Cuadro 4. Consumo, ganancia de peso y eficiencia alimenticia de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza	77
Cuadro 5. Macro-minerales en hígado de corderos consumiendo varios niveles de melaza.....	79
Cuadro 6. Minerales traza en hígado de corderos .....consumiendo varios niveles de melaza.....	80
Cuadro 7. Concentración de enzimas hepáticas (u/L) de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza.....	83
Cuadro 8. Cambios histopatológicos en hígados de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza .....	86
Cuadro 9. Cambios histopatológicos en hígados de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza .....	87
Cuadro 10. Química sanguínea de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza. ....	89
Cuadro 11. Rangos hematológicos de la química sanguínea de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza. ....	90

## Lista de Figuras

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Concentraciones de hierro, zinc y cobre en hígado de corderos consumiendo raciones con cuatro niveles de melaza. ....	81
2. Histopatología de hígado con 0% de melaza .....	88
3. Histopatología de hígado con 6% de melaza .....	88
4. Histopatología de hígado con 12% de melaza .....	88
5. Histopatología de hígado con 14% de melaza .....	88



## NOMENCLATURA

AGV's	Ácidos Grasos Volátiles
BSP	Bromsulfaleina
CA	Conversión alimenticia
CK	Creatinina quinasa
CMS	Consumo de Materia Seca
CNF	Carbohidratos no fibrosos
Cu	Cobre
DMS	Digestibilidad de la materia seca
ED	Energía digestible
EE	Error estándar
EM	Energía metabolizable
FA	Fosfatasa alcalina
FC	Fibra Cruda
FDN	Fibra Detergente Neutro
Fe	Hierro
g	Gramos
GDP	Ganancia Diaria de Peso
GGT	Sorbitoldeshidrogenasa
kg	Kilogramos
kg <sup>0.75</sup>	Kilogramos ajustados por peso metabólico
LDH	Lactato deshidrogenasa

Mcal	Mega calorías
Mg	Magnesio
mg/dL	Miligramos por decilitro
mg/L	Miligramos por litro
ml	Mililitro
Mmol	milimoles
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
OCT	Omitina carbamiltransferasa
P <sup>1</sup>	Efecto lineal
PC	Proteína cruda
pH	Potencial Hidrogeno
ppm	Partes por millón
RPC	Grasa de Riñón, pelvis y corazón
S	Azufre
SDH	G-glutamintransferasasérica
TGO/AST	Aspartato aminotransferasa
TGP/ALT	Alanina aminotransferasa
u/L	Unidades internacionales por litro
Zn	Zinc

## RESUMEN

Juan Carlos Michel Gallegos

Fecha de Graduación: Diciembre, 2008

Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Agronomía

**Título del Estudio:** EFECTO DEL NIVEL DE MELAZA EN RACIONES PARA CORDEROS EN LA CONCENTRACIÓN DE ENZIMAS EN SANGRE, MINERALES EN HÍGADO Y LESIONES HEPÁTICAS.

Candidato para el grado de Maestría  
en Ciencias Pecuarias con  
especialidad en Nutrición de  
Rumiantes

**Área de estudio:** rumiantes, ovinos

**Propósito y Método del Estudio:** Determinar el efecto del incremento en el nivel de melaza en la ración de corderos, en las concentraciones de enzimas y otras variables hematológicas, así como las concentraciones de minerales y lesiones histopatológicas en hígado.

**Contribuciones y Conclusiones:** En el presente estudio, 20 corderos machos enteros, con peso aproximado de 22.4 kg, fueron distribuidos aleatoriamente en 4 dietas con 0, 8, 12 y 18% de melaza. Los diferentes niveles de melaza no influyeron en el consumo de MS, ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia, ni en las concentraciones de Mn o Cu. Aunque la concentración de Fe tendió a aumentar de 427 a 572 ppm, este incremento no fue significativo ( $P > 0.05$ ). La concentración de Zn en hígado se redujo ( $P < 0.01$ ) de 189 a 116 ppm con un aumento de melaza en la ración (Cuadrático;  $P < 0.05$ ). Un aumento en el nivel de melaza tendió a reducir linealmente las concentraciones de TGP/ALT ( $P < 0.07$ ) y de LDH ( $P < 0.10$ ). Otras enzimas cuya actividad se redujo significativamente con un aumento en el contenido de melaza en la ración fueron TGO/AST ( $P < 0.01$ ), FA ( $P < 0.01$ ) y CK ( $P < 0.03$ ). Con la inclusión de melaza, la TGO disminuyó (98.8-121.9 u/L) en relación con los controles (227.8 u/L). En hígado, todos los tratamientos presentaron diferentes lesiones hepáticas como fueron, focos de agregados de neutrófilos, hepatocitos con diferentes estadios de cambios degenerativos (inflamación y cambios grasos), y ocasionalmente, evidencias de necrosis (pícnosis, Cariolisis, y Cariorrhexis).

**FIRMA DEL ASESOR:**

Dr. Jorge R. Kavas Garza



## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

En la engorda de ganado en corral, altas cantidades de melaza son incluidas en la ración, en sustitución del grano, para disminuir los costos de las raciones. Cuando se planea emplear esquilmos y subproductos agrícolas para alimentar a borregos deben tomarse en cuenta los hábitos alimenticios de tales animales para prevenir problemas, los borregos son bastantes selectivos y prefieren consumir hojas y tallos delgados desperdiciando cantidades considerables de las porciones leñosas de los esquilmos. Este problema puede resolverse con un buen picado del forraje, cuidado que no sea demasiado fino (seco y polvoso) porque entonces disminuye el consumo. El empleo de melaza ayuda a aumentar la ingestión de los esquilmos.

Además se sugiere que los componentes de la melaza disminuyen las concentraciones de cobre en hígado, efecto debido tanto por las altas concentraciones de azufre generalmente encontradas en la melaza como por la adición de azufre en las dietas formuladas a base de maíz, estos suplementos dan por resultado una reducción en la tasa de acumulación del Cu. En raciones de finalización se tienen problemas de exceso de algunos minerales en las raciones debido a ingredientes como la melaza que contiene altos concentraciones de sulfatos.

El azufre es un elemento esencial para los rumiantes por lo que los sulfitos que es la forma reducida del azufre son necesarios para la síntesis de cistina y metionina, por lo tanto las dietas deficientes en azufre dan como resultado una disminución en la síntesis de proteína bacteriana, número de bacterias, digestibilidad de la MO y la utilización de lactato.

En raciones de finalización se tienen problemas de exceso de algunos minerales en las raciones debido a ingredientes como la melaza que contiene altas concentraciones de sulfatos.

Las enfermedades hepáticas son frecuentes en las grandes especies, la elevación de enzimas hepáticas en el suero y de la concentración de ácidos biliares totales pueden ser indicativos de difusión, lesión, enfermedad o insuficiencia hepática.

## **CAPITULO II**

### **REVISION BIBLIOGRAFICA**

#### **2.1. Producción de ganado ovino en México**

En México, la producción de carne de ovinos para consumo humano ha continuado aumentando a través de los años, y existen perspectivas de que represente uno de los principales productos de la industria de la comercialización de carne en nuestro país, con una población ovina de 7,305,578 cabezas en el año 2007, de las cuales 193,908 son del censo en el estado de Nuevo León (INEGI, 2007). Los sistemas de producción para ovinos en México han ido cambiando de los sistemas tradicionales a unos más eficientes y redituables, lo que ha aumentado el interés de los productores a nivel nacional.

#### **2.2. Engorda de ovinos en corral**

El objetivo principal de la engorda de corderos en corral es mejorar la calidad de la carne. Hasta hace poco, la engorda de corderos en corral no era una práctica común de los ovinocultores. Los sistemas de alimentación en corrales (confinamiento) están diseñados para un rápido crecimiento de los corderos. Los corderos son generalmente puestos en los corrales de engorda

los últimos 60-90 días antes del sacrificio. El tiempo de estancia en los corrales pueden reducirse si se quiere canales mas magras. Varias raciones pueden ofrecerse, entre ellas de iniciación y transición, y por ultimo una para engorda o finalización (Kawas, 2002).

En corral, los ovinos deben consumir raciones energéticamente densas que contengan altos niveles de grano como sorgo o maíz, para satisfacer los requerimientos de energía para finalización. Los granos pueden ofrecerse enteros o molidos, sin embargo, cuando se incluyen en una mezcla con otros ingredientes (fuentes de energía, proteínas, minerales y vitaminas), es mejor se muelan parcialmente como en el caso del sorgo, o estén quebrados como con el maíz. Otra fuente de energía es la melaza de caña que normalmente se usa en cantidades de 5 a 7% en raciones de ovinos en corral (Kawas, 2002).

El periodo para adaptar los corderos a las raciones de engorda en corral es de 2 a 3 semanas. Después de recibir a los corderos en los corrales con forraje, preferentemente de buena calidad, se debe aumentar gradualmente la cantidad de alimento ofrecido durante el período de adaptación. El forraje se puede ofrecer a libre acceso durante 1 o 2 días. Generalmente, los programas de alimentación consideran 3 raciones (iniciación, transición y finalización). El cambio de una ración a otra debe ser gradual. Una alternativa es la de ofrecer la ración actual en la mañana y la siguiente ración (con mas grano) en la tarde, durante 3 días, hasta que solamente se ofrezca la ración nueva a libre acceso (Kawas, 2002).

## **2.3. Nutrición y alimentación de ovinos**

De los factores que afectan el crecimiento, los nutricionales son los más importantes (Forbes et al., 1981). La nutrición es el factor principal que afecta la eficiencia de producción. Programas de suplementación se han implementado en condiciones de pastoreo, o en confinamiento, ofreciendo alimentos de alta densidad energética para la finalización de los ovinos en corral (Kawas, 2002).

### **2.3.1. Forrajes**

Cuando se planea emplear esquilmos u otros subproductos agrícolas para alimentar a corderos, deben tomarse en cuenta los hábitos alimenticios de los animales para prevenir problemas digestivos. Los borregos son bastante selectivos y prefieren consumir hojas y tallos delgados desperdiciando cantidades considerables de las porciones leñosas de los esquilmos. Este problema puede resolverse con un buen picado del forraje, y cuidado debe tomarse para que no sea demasiado fino (seco y polvoso) debido a que el consumo puede disminuir. El empleo de melaza ayuda a aumentar la ingestión de los esquilmos (Smith, 1998).



### **2.3.2. Fuentes de energía.**

Desordenes metabólicos y problemas por enfermedades infecciosas se presentan en cualquier etapa del ciclo de producción de carne, los animales en corral de engorda tienen considerablemente más desordenes metabólicos debido principalmente a que las dietas contienen un alto nivel de grano para maximizar la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia (Smith, 1998).

Preston (1982) y Kawas et al. (1991b) reportaron un efecto adverso del consumo de altos niveles de melaza en raciones a base de forraje para ovinos, en la utilización de la fibra y la eficiencia alimenticia. Una reducción del consumo se debió a una reducción de la digestibilidad de la materia seca y pared celular del alimento, y un aumento en las actividades de rumia y masticación total (Kawas et al., 1991a)

Con novillos Holstein, Preston (1982) reportó menores ganancias de peso y peor eficiencia alimenticia con la suplementación de melaza (1% del peso corporal) en comparación maíz, al mismo nivel en el suplemento. Las reducciones en el consumo de forraje parecen estar relacionadas principalmente a la forma y fuente de los suplementos energéticos como granos enteros comparados con granos molidos, y fibra comparada con azúcares o almidones rápidamente digestible.

### **2.3.3. Ganancia compensatoria**

Se ha visto que después de un tiempo de restricción alimenticia, cuando los animales comen normalmente, estos exhiben una velocidad de crecimiento mayor que sus contemporáneos que no recibieron restricciones. A esto se le llama crecimiento compensatorio. El crecimiento está en función de los niveles de alimentación del animal y la eficiencia con que el alimento se convierte en tejido animal. Aquellos corderos desnutridos desarrollan lentamente sus huesos y músculos. El efecto del crecimiento compensatorio es importante en el desarrollo de los corderos, principalmente en los sistemas extensivos sujetos a grandes variaciones estacionales en calidad y cantidad de forraje. Esto se debe a un aumento de la ganancia de peso y de la eficiencia alimenticia. Una mayor ganancia de peso es debida en parte a un mayor consumo de MS. La baja condición corporal de los animales permite que estos acumulen mas tejido muscular y consecuentemente utilicen mejor la energía consumida (Forbes et al., 1981).

### **2.3.4. Requerimiento de energía**

Fimbres (2000) concluyo que los requerimientos de energía para mantenimiento, son la cantidad de energía de la dieta que el ovino consume diariamente, condición en la cual no gana ni pierde peso. Experimentalmente es la cantidad de EM que resulta de cero cambios en energía corporal o perdida de

energía corporal. O sea que la EM no es independiente del tipo o calidad de la dieta (NRC, 2007). Conforme se incrementa el consumo de MS se mejora la ganancia de peso (Fimbres, 2000). Por lo tanto, la eficiencia de utilización de la energía va a variar con la calidad de la dieta. La eficiencia alimenticia con la cual la EM es utilizada para mantenimiento y ganancia de peso, usualmente se incrementa conforme se aumentan los niveles de EM en la dieta (NRC, 2007).

#### **2.4. Grano**

La producción de sorgo en México es muy variable, con un promedio nacional de aproximadamente 2.5 Toneladas de grano por hectárea. El principal uso es como alimento para ganado y aves, dependiendo de la zona de abastecimiento. El contenido de proteínas de las variedades cultivadas en México varía de 8.5 a 9% (Robles, 1985).

Por más de 40 años, gran parte de la producción de granos en los Estados Unidos ha sido utilizada para la producción animal. Los granos se suministran principalmente en la ración con el fin de incrementar el consumo energético o la densidad energética de la ración. (Huntington, 1997).

En la actualidad, el costo por unidad de energía es menor en raciones altas en grano que en raciones altas en forraje, debido a que los granos incrementan la densidad energética de la ración, lo cual optimiza la producción en los sistemas intensivos bien manejados (Huntington, 1997). Para incrementar la eficiencia en corral, los ovinos deben consumir raciones

energéticamente densas que contengan altos niveles de grano como sorgo o maíz, y así satisfacer los requerimientos necesarios de energía para finalizar o engordar.

El almidón es la mayor fuente de energía de los granos. Una alimentación alta en almidón, con raciones altas en grano (80 a 95% del concentrado), puede causar problemas digestivos relacionados con la acidosis ruminal en corderos. La acidosis ha sido definida como el estrés bioquímico y fisiológico causado por la rápida producción y absorción de ácidos orgánicos en el rumen, la cual puede causar daños severos en las papilas del rumen. En casos severos ocurre ulceración de la pared ruminal. Usualmente se presenta diarrea si el animal sobrevive (Britton y Stock, 1987).

En esta clase se incluyen los diversos granos de cereales, algunos subproductos de su molienda y subproductos líquidos, principalmente la melaza, las grasas y los aceites. Los alimentos con alta densidad energética tienen generalmente niveles de proteína que van de moderado a bajo. Sin embargo, varios de los alimentos con alto contenido de proteína podrían incluirse de acuerdo a su energía disponible en la ración. La energía de los alimentos altamente energéticos es principalmente de carbohidratos (azúcares o almidones, o ambos), los cuales se encuentran en mayor cantidad y en menor proporción que los lípidos (Church y Pond, 2004).

## **2.5. Melaza**

### **2.5.1. Subproducto de la industria azucarera**

En México la producción de melaza es muy constante, como se muestra en el (Cuadro 1), sin embargo en la actualidad los índices de producción de melaza se han reducido a la producción que se obtuvo en los años 90 debido a los problemas en los ingenios del país (INEGI, 2006).

La mayoría de los ingenios están localizados en los estados de, Veracruz, Jalisco, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Morelos, Oaxaca, Tamaulipas y Chiapas (UNC, 2007)

La melaza de caña contabiliza de 70 a 80 por ciento del suministro disponible de la industria de la melaza. Todos los tipos de melaza son subproductos; por lo tanto su composición no es necesariamente consistente. Por ello una considerable variación puede ser esperada en color, sabor, viscosidad, contenido de azúcar y gravedad específica (cuadro 2). Tomando en cuenta las características físicas de la melaza es importante usar equipos diseñados específicamente para almacenar melaza, para su manejo, y su mezclado. Sus características más importantes son viscosidad, densidad y calor específico (Moorhead, 1994).

La cosecha de azúcar es estacional, cortándose entre los meses de mayo y junio, en regiones subtropicales y tropicales. La melaza, como es un subproducto de la producción de azúcar, tiene su precio más bajo durante la cosecha de la caña. Los precios son menores a los de granos como el sorgo

**Cuadro 1. Producción de melaza en México.**

<b>Año</b>	<b>Toneladas</b>
1994	1,225,892
1995	1,574,733
1996	1,264,740
1997	1,111,410
1998	1,338,065
1999	1,396,555
2000	1,203,744
2001	1,427,796
2002	1,329,654
2003	1,465,612
2006	1,164,901

Fuente: Anuario estadístico de producción pecuaria de los Estados Unidos Mexicanos (INEGI, 2007).

o maíz, que se usan como principal fuente de energía en raciones para corderos de engorda en corral (UNC, 2004).

### **2.5.2. Propiedades físicas y químicas**

El termino Brix es usado para indicar la gravedad específica. El uso principal de la melaza es en la alimentación de rumiantes (AFIA, 1994). Las lecturas en Brix se usan en la comercialización. Cuando las lecturas en Brix son usadas en soluciones puras de azúcar, estas indican el porcentaje de azúcares por peso. Sin embargo, la melaza contiene, además de azúcar, ciertos minerales, gomas y otros materiales extraños por lo que las lecturas en Brix, no es un indicador verdadero del total de azúcar o sólidos totales (AFIA, 1994).

A medida que la temperatura de la melaza es aumentada, la viscosidad disminuye grandemente. Por consiguiente, la melaza caliente es más fácil de bombear, se mezcla más rápidamente con otros ingredientes. La melaza es tan viscosa que sin dilución, sería difícil obtener una lectura precisa con el hidrómetro. Consecuentemente, la Asociación Americana de Control Oficial de Alimentos (AAFCO) especifica que un estándar mínimo de 39.75 Brix, en base a la dilución con un peso igual de agua, equivale a una fuerza completa de 79.5 grados Brix. La melaza tiene una gravedad específica verdadera de 1.41089 y un peso por galón de 5.32 kg. La viscosidad de la melaza puede cambiar con el manejo o bombeo, por lo que no es inusual que las medidas volumétricas les falte una precisión de hasta un 5% (AFIA, 1994).

La melaza de 79.5 brix es de 11.7 libras por galón (USA) a 68°F (20°C). La densidad también es afectada ligeramente por la temperatura, pero el efecto es tan pequeño que esto no es importante considerarlo en la fabricación de alimentos (AFIA, 1994). El calor específico de la melaza de 79.5 brix es casi 0.5 BTU por libra por grado Fahrenheit (AFIA, 1994).

### **2.5.3. Almacenamiento y transporte de melaza**

La melaza puede ser almacenada en recipientes de concreto o tanques de acero, los tanques de acero son preferiblemente usados para el almacenamiento, se deben usar tanques probados hidrostáticamente contra goteras o filtraciones, y deberán ser reparados y minuciosamente lavados. Los tanques que han sido usados en gasolineras, nunca deberán ser utilizados para almacenar melaza (AFIA, 1994).

La melaza debe tener un pH menor a 5.5, por lo que es ligeramente corrosivo para el acero. Sin embargo, la humedad que se acumula en la parte superior del tanque podría causar corrosión. Los tanques pueden ser contruidos de concreto y ser reforzados con barras de acero. El interior del tanque puede ser plastificado con una mezcla superficial hecha de cemento, arena y agua. Una superficie lisa se puede obtener mediante la aplicación de dos cubiertas de silicato de sodio acuoso, una línea plástica, o sellada con concreto (AFIA, 1994).



Cuando se plantea facilitar el almacenamiento, la capacidad mínima a considerar es de 8,000 galones o sea aproximadamente 45 toneladas, si en la entrega se usa camión. Si el tanque estacionario es usado, el tamaño podría ser de una capacidad de 18,000 galones o 100 toneladas. Para el almacenamiento de melaza en climas fríos, se deberá contar con un local para aislar el tanque del ambiente. Un adecuado aislamiento puede ser proporcionado mediante el uso de fibra de vidrio de 2 pulgadas y cubierto con papel. El calentamiento de la melaza a una temperatura mayor a 115°F puede causar caramelización o aspecto carbonizado de la melaza, que la hace inapropiada para usarse, y puede que ocasione un daño al equipo de mezclado. Por lo tanto nunca, la melaza debe calentarse a temperaturas menores de 100°F. La melaza puede ser mezclada con pequeñas dificultades a 70°F (Moorhead, 1994).

#### **2.5.4. Composición química de la melaza**

La melaza contiene 75 a 83% de materia seca, 30 a 40% de sacarosa, 2.5 a 4.5% de compuestos nitrogenados (predominado aspartato y glutamato) y aproximadamente 0.4 a 1.5% de nitrógeno (Chen, 1993). En el Cuadro 2, se muestra la composición química de la melaza. En las tablas de requerimientos para ovinos (NRC, 1985), también se enlista la composición química de la melaza. Información sobre la melaza, también puede ser encontrada en la guía de ingredientes Alimenticios para Animales de la AAFCO. La melaza es

fundamentalmente una fuente de energía y sus componentes principales son azúcares.

La melaza contiene de 26 a 40% de sacarosa y de 12 a 25% de azúcares reductores, con un contenido total de azúcar de más de 50 a 60%. El contenido de proteína cruda normalmente es bastante bajo (cerca del 3%) y variable, el contenido de ceniza varía de 8-10%, constituido principalmente por K, Mg, Ca, Cl y sales de azufre (AIFA, 1990). Uno de los problemas en la alimentación a base de la melaza es que dichos productos (excepto la melaza de maíz) tiene una composición bastante variable. La composición de la melaza depende de la madurez, tipo y calidad de la caña, de la fertilidad del suelo y del sistema de cosecha y preparación. Como un ejemplo, el contenido de calcio (Ca) en once muestras de melaza de caña varió de 0.3 a 1.68% (Pond y Maner, 1974).

#### **2.5.5. Minerales en la melaza**

Arthington y Pate (2002) concluyeron que los minerales en los suplementos a base de melaza disminuyen la acumulación de Cu en el hígado de las vaquillas de carne, aun cuando la melaza contiene un alto nivel de Cu. Esto se debe a que, tanto el S como Mo, se encuentran en altas concentraciones en la melaza, y parecen ser los responsables, o al menos en parte, por su antagonismo.

**Cuadro 2. Composición química de la melaza**

Ítem	Composición
Grados Brix	79.5
Gravedad específica (g/l)	1.41
Sólidos totales (%)	75.0
Proteína cruda (%)	3.0
Grasa total (%)	0.0
Fibra total (%)	0.0
ELN (%)	63.0
Cenizas (%)	8.5
Ca (%)	0.8
P (%)	0.08
K (%)	3.60
Na (%)	0.20
Cl (%)	1.60
Azufre (%)	0.30
Hierro, ppm	263
Cobre, ppm	66
Manganeso, ppm	59
Zinc, ppm	21
Gomas Solubles (Xilanos, Arabanos, y Pectina) (%)	3.00
Acido Láctico (%)	1.50
Vitaminas (mg/lb)	
Riboflavina	1.50
Niacina	16.00
Acido Pantoténico	17.00
Colina	400
Nutrientes Digestibles Totales (%)	57.00

Moorhead (1994).

Arthington et al. (2003) evaluaron la disponibilidad del cobre de una dieta ofrecida a becerros en crecimiento consumiendo suplementos a base de melaza. Los resultados indican que las fuentes de Cu orgánico e inorgánico usadas en el estudio tuvieron una disponibilidad similar cuando se ofrecieron suplementos a base de melaza. También concluyeron que una mayor concentración de Cu es requerida para asegurar la absorción requerida por el ganado de carne.

La importancia del azufre como nutriente en las plantas ha sido ampliamente revisada por varios autores (Coleman, 1966; Martín y Walter, 1966). Deficiencias de azufre en zacate Bahía en Florida (*Paspalum notatum*), que es el zacate predominante que pastorea el ganado en Florida, se han reportado (Rechcigl, 1989). Rechcigl (1991) realizó investigaciones durante tres años con respecto al efecto del sulfato de amonio en la fertilización del zacate Bahía, en la región centro-sur de Florida. En este estudio, la aplicación de azufre vía sulfato de amonio, dio como resultado altas concentraciones de azufre en el forraje (0.23 y 0.30% para aplicaciones de 86 y 174 kg de azufre por hectárea, respectivamente), comparado con el zacate Bahía fertilizado con nitrato de amonio (0.10% de azufre).

El contenido de molibdeno en el forraje es generalmente reconocido como contribuyente de una deficiencia de cobre en el ganado, pero se requiere suficiente azufre en la dieta para contribuir a este antagonismo. El molibdeno, combinado con el azufre forma un complejo de tiomolibdato. El tiomolibdato se une con el cobre para formar un complejo insoluble, por lo que impide la absorción del cobre (Mason, 1990; Suttle, 1991).

## **2.6. Uso de la melaza en sistemas de producción animal**

### **2.6.1. Pastoreo**

Aunque los carbohidratos estructurales como la celulosa y la hemicelulosa son la principal fuente de energía de los microorganismos del rumen (Bauman, 1977), y los esquilmos agrícolas contiene aproximadamente 65 a 80% de pared celular (Goering and Van Soest, 1970; NRC , 1985), la digestibilidad de su energía es solamente de 40 a 50 % (NRC, 1985).

La inclusión de fuentes de energía como grano (almidón) o melaza (carbohidratos solubles en agua), para suplementar al ganado en pastoreo o aumentar la densidad energética de raciones altas en forraje, puede reducir la digestibilidad de la fibra. Además de la baja disponibilidad de energía de estos forrajes, el consumo de alimentos se reduce por los residuos indigestibles en el rumen. La calidad de forraje fue el factor que más afecto el consumo y la digestibilidad de materia seca de forrajes físicamente procesados (Kawas et al., 1990; Osbourne et al., 1981).

Osbourne et al. (1981) reportaron que una reducción en la pared celular potencialmente digestible de forrajes consumidos por corderos fue relacionado con el contenido de carbohidratos solubles en agua, la capacidad amortiguadora de los forrajes, la fineza de la molienda, y el nivel de alimentación.

Kawas et al. (1991b) asigno aleatoriamente 8 borregos pelibuey, con un peso promedio de 26 kg a cuatro tratamientos, en un diseño cross-over con cuatro periodos. La adición de 4 a 8% de melaza aumento la digestibilidad de la

MS de las raciones que contenían 70% de rastrojo de sorgo. Más de 8% de melaza en la ración redujo el consumo y la digestibilidad de la MS y la FDN. La reducción en la digestibilidad de MS y fibra estuvieron acompañados de mayores tiempos de rumia y masticación. El menor consumo de MS puede deberse a la falta de espacio al acumularse residuos fibrosos en el rumen. El pH de rumen, tendió a aumentar con un incremento del contenido de melaza en la ración. Este aumento en el pH fue aparentemente en respuesta a una mayor rumia requerida para remover los residuos fibrosos del rumen. Por otro lado, Preston (1982) observó que la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia de novillos Holstein fueron menores con un suplemento (1% del peso corporal) a base de mezclas que con otro a base de maíz.

Algunos minerales como el hierro, el azufre y el molibdeno en la melaza pueden disminuir la concentración hepática de cobre. Los requerimientos de cobre en ovinos varía entre 8 y 11 ppm (NRC, 1985). Sin embargo, si los niveles de molibdeno o azufre son extremadamente bajos, estos niveles recomendados, pueden llegar a ser tóxicos (NRC, 1985). No obstante, Arthington y Pate (2002) utilizaron aproximadamente dos veces esta cantidad de cobre. La acumulación hepática en las vaquillas suplementadas con melaza fue mayor que las alimentadas con alimento seco. Esta concentración es posiblemente el resultado de una disminución en la absorción del cobre debido a la formación de teomolibdatos en el rumen que puede impactar en la absorción del cobre en rumiantes, de dos maneras: (1) La unión irreversible del cobre en el intestino y de este modo se previene la absorción; o (2) Un agotamiento del sistema de post-absorción del cobre de los tejidos (Mason,

1990). La formación de tiomolibdatos está directamente relacionada con la disponibilidad de azufre que es el principal factor que influye en los rumiantes para la formación del complejo con molibdeno (Mason, 1981).

Arthington y Pate (2002) concluyeron que la inclusión de azufre a las dietas de rumiantes, da como resultado una reducción parcial en la acumulación de cobre hepático como lo notaron en las vaquillas alimentadas con un suplemento a base de melaza. Esta reducción parcial del cobre hepático puede ser el resultado de la incapacidad de la población microbiana del rumen para reducir por completo el azufre del suplemento que contenía melaza. El azufre consumido primero debe reducirse a sulfitos antes de que pueda interactuar con Mo para formar tiomolibdatos. Otra explicación es que pudiera estar relacionado con una cantidad insuficiente de Mo en el suplemento a base de maíz para participar por completo con el azufre en la formación de tiomolibdatos. (Mason, 1986).

El azufre también puede disminuir la disponibilidad del Cu independientemente de Mo. Suttle (1974) reportó que la adicción tanto de azufre inorgánico como orgánico a las dietas para borregos, las que eran deficientes en cobre disminuyeron la tasa de acumulación de Cu. Esta respuesta puede ser atribuida a la formación de complejos insolubles de cobre en el intestino.

Las deficiencias de cobre del ganado en pastoreo están relacionados con una disminución en su capacidad inmunitaria, alteraciones en el color de la capa de pelo, anormalidades del esqueleto, disminución en la tasa de crecimiento, y en casos extremos, anemia (Mills, 1987). Sin embargo,

Ammerman (1969) concluyó que los signos clínicos de pérdidas de la producción no estaban asociados con deficiencias de cobre. Sin embargo, los animales en este estudio se consideraron que no eran deficientes en cobre.

## **2.7. Polioencephalomalacia**

Gould (1998) realizó una revisión de literatura con respecto a las causas de la polioencephalomalacia (PEM). En rumiantes, la PEM ha sido asociada con el consumo de agua con altos niveles de sulfatos, o con dietas a base de melaza, con azufre elemental, o con la inclusión de sulfato de amonio a raciones altas en grano (NRC, 1996). Gould (1998) utilizó raciones a base de urea y melaza en bovinos de engorda en corral. El alto contenido de S de la melaza fue asociado con este padecimiento, concluyendo que la alteración se debe a una disminución en el estatus corporal de tiamina.

La PEM observada comúnmente en ganado de engorda consumiendo raciones con altos niveles de melaza, parece estar asociada con un exceso de azufre en este subproducto. Sager et al. (1990) no observaron una reducción significativa en la concentración de tiamina o sus ésteres mono- o di-fosfato en plasma, sangre completa, rumen, cerebro, fluido cerebroespinal o hígado, que indicaran una deficiencia de tiamina, antes y durante la presentación de la PEM inducida mediante el consumo de una ración para provocarla. En estos estudios, se reconoció que el olor eructado del ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) estaba



asociado con la presentación de la PEM en novillos que consumieron la ración inductora.

## **2.8. Efecto del tipo de carbohidratos en la función ruminal**

Los carbohidratos componen entre 50 a 70% de la materia seca de los forrajes. En los granos de cereal, hasta más del 80% de la materia seca son carbohidratos. Los carbohidratos son la principal fuente de energía para el rumiante. La cantidad y composición de los carbohidratos en la dieta son variables que afectan la digestión, la tasa de paso del alimento por el tracto gastrointestinal, y consecuentemente la tasa de retorno del contenido ruminal (porcentaje de digesta ruminal que desaparece del rumen en un lapso determinado de tiempo). Los carbohidratos pueden ser no-estructurales (azúcares, almidón y pectina) y estructurales (hemicelulosa y celulosa). Mientras que la pectina es soluble, la celulosa y la hemicelulosa son los componentes de la fibra insoluble. Estos dos carbohidratos estructurales, se encuentran en asociación con la lignina, un compuesto polimérico de las plantas (NRC, 1985; Van Soest, 1994).

La fermentación de los carbohidratos en el rumen resulta en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). Los principales AGV ruminales son el ácido acético ( $C_2H_4O_2$ ), propiónico ( $C_3H_6O_2$ ) y ácido butírico ( $C_4H_8O_2$ ). El ácido propiónico es el precursor de la glucosa en el rumiante en pastoreo. La suplementación con granos de cereal y otras fuentes de carbohidratos no

estructurales aumentan la producción del ácido propiónico. Sin embargo, un exceso puede afectar adversamente la fermentación ruminal, reduciendo la digestión de fibra y la síntesis de proteína microbiana, la cual es la principal fuente de proteína para el rumiante (Van Soest, 1994). La fermentación de la melaza por otro lado, la cual es muy soluble y degradable en el rumen, aumenta el por ciento molar butirato, dando lugar a una fermentación típicamente butírica (FEDNA, 1999).

## **2.9. Minerales**

### **2.9.1. Azufre (S)**

La presencia de este elemento a nivel corporal es casi totalmente en forma de compuestos orgánicos, en especial los aminoácidos metionina y cistina, así como la glutatona e insulina. El azufre inorgánico está presente principalmente como condroitin sulfato, que es un constituyente de los cartílagos (NRC, 2007).

Los animales no rumiantes requieren azufre alimenticio de origen orgánico en forma de aminoácidos azufrados para su metabolismo. En el caso de los rumiantes, el azufre puede provenir de fuentes inorgánicas principalmente sulfatos, el azufre elemental es menos soluble en el rumen, por lo tanto, menos asimilable (Church y Pond, 2004).

Las bacterias más no los protozoarios del rumen incorporan el azufre a partir de sulfatos a la proteína microbiana en forma de cistina, cisteína y

metionina. Posteriormente, el animal emplea dichos aminoácidos para la síntesis de sus proteínas séricas y de la leche. Los sulfatos que se ingieren son reducidos en el rumen de tres a cinco horas después de comer, aunque no solo se reducen los sulfatos que no se necesitan para satisfacer el requerimiento de azufre, sino también un exceso que se acumula como sulfuro; la reducción de sulfato interfiere con la absorción del cobre que se precipita como sulfuro de cobre. Los sulfuros acumulados como  $H_2S$  se difunden a través de la pared ruminal al torrente sanguíneo y posteriormente al hígado, donde se detoxifican. La otra posibilidad es que el  $H_2S$  se eructe, pasa a los pulmones se absorben por las venas pulmonares y llega al cerebro sin síntomas aparentes de intoxicación. El azufre se utiliza en rumiantes cuando se emplean fuentes de nitrógeno no proteico en el ligamento ya que los microorganismos que utilizan urea requieren más azufre. En general se recomienda que los alimentos para ovinos y bovinos tengan relaciones nitrógeno: azufre de 10:1 y de 12 a 15:1 respectivamente. El borrego, que tiene un mayor requerimiento de azufre debido a que este se deposita como aminoácido en la lana, puede producir 12 g diarios de sulfuro en el rumen (Underwood y Suttle, 2001)

El azufre se requiere por los animales como un componente de compuestos orgánicos, entre ellos los aminoácidos metionina, cistina y cisteina, las vitaminas biotina y tiamina, ciertos mucopolisacáridos, entre otros condroitina sulfato y mucoitin sulfatos; heparina, el glutatión y la coenzima A, puesto que las proteínas están presentes en todo el cuerpo y los aminoácidos azufrados son componentes de prácticamente todas las proteínas. El S esta

distribuido por todo el cuerpo y en cada una de las células, constituyendo alrededor del 0.15% del peso corporal (Church y Pond, 2004).

El S realiza sus funciones mediante su presencia en metabolitos orgánicos, en los sulfatos inorgánicos provenientes de fuentes exógenas en la dieta, y de la liberación endógena a partir de aminoácidos azufrados que se utilizan para sintetizar la matriz de condroitina del cartílago, en la biosíntesis de taurina, heparina, cistina y otros constituyentes orgánicos del cuerpo. (Baker, 1977)

El  $\text{SO}_4$  inorgánico desempeña su función en el equilibrio ácido-básico como un constituyente de los fluidos intracelulares y en menor grado de los fluidos extracelulares, como un componente de los aminoácidos azufrados. El Azufre es un componente de la ergotioneína de los eritrocitos y del glutatión, un constituyente universal de las células, así como hormonas que contienen aminoácidos azufrados. (Ammerman, 1977)

**Metabolismo.** La absorción del sulfato inorgánico en el conducto gastrointestinal es ineficiente. El transporte activo del  $\text{SO}_4$  tiene lugar en el intestino delgado superior. Para la sulfatación de los mucopolisacáridos del cartílago se utilizan formas inorgánicas y orgánicas de S (Church y Pond, 2004).

El azufre inorgánico se excreta en el excremento y en la orina. El S no absorbido se reduce probablemente en la porción inferior del conducto gastrointestinal y se excreta en forma de sulfato. El azufre fecal endógeno entra al conducto gastrointestinal de manera predominante por medio de la bilis como un componente del ácido taurocólico. El azufre urinario se presenta principalmente como  $\text{SO}_4$  inorgánico pero también como un componente del

tiosulfato, la taurina, la cistina y otros compuestos orgánicos. Puesto que la mayor parte de S del cuerpo se encuentra en los aminoácidos, no resulta sorprendente que la excreción urinaria de S tienda a marchar paralela a la excreción urinaria de nitrógeno (Underwood y Suttle, 2001).

**Deficiencia.** No se ha demostrado que el S sea esencial para el mantenimiento normal o las funciones productivas de los animales. Claro está, la deficiencia de cualquiera de los metabolitos orgánicos que contiene el S producen lesiones funcionales y morfológicas. La falta de S inorgánico proveniente de la dieta puede incrementar la necesidad de aminoácidos azufrados, lo que significa que el azufre proveniente de estas fuentes se utiliza para la síntesis de otras formas orgánicas de S en ausencia de S inorgánico (NRC, 2007).

**Toxicidad.** Puesto que la absorción intestinal de S inorgánico es baja, la toxicidad del S no es un problema práctico. Los excesos de aminoácidos azufrados causan anorexia y disminución del crecimiento, pero estos efectos se observan con los excesos de aminoácidos en general. La toxicidad del S la determinan, en gran medida, los sistemas enzimáticos del animal expuesto, y si el animal tiene la capacidad de formar  $H_2S$  a partir de fuentes de sulfato inorgánico (Church y Pond, 2004).

En los rumiantes la formación de un complejo de tiorbidoato compuesto de Azufre y Molibdeno produce un efecto sobre la absorción del Cobre (Ammerman y Goodrich, 1983).

### **2.9.2. Hierro (Fe)**

Su función más conocida es ser parte de la molécula de hemoglobina y otras proteínas sanguíneas, siendo la anemia el síntoma característico de su deficiencia. Sin embargo se le asocia también con el metabolismo de los lípidos, ya que se produce hiperlipemia e hígado graso. Algunos de los otros compuestos orgánicos de los cuales forman parte el hierro son las llamadas hemoenzimas (citocromo oxidasa, citocromo C, catalasas, oxidasas) y otras enzimas como la deshidrogenasa succinica, la xantina-oxidasa y la NADH-deshidrogenasa (Underwood y Suttle, 2001).

La transferrina formada después de la absorción de fierro tiene tres posibles destinos: el sistema retículoendotelial para la síntesis de hemoglobina, los tejidos corporales, o el almacenaje una vez que se transforma en hemosiderina o nuevamente en ferritina (Ammerman y Goodrich, 1983).

Por más de 100 años el hierro se ha reconocido como nutrimento necesario para los animales, a pesar de este hecho, la deficiencia de Fe continua siendo una enfermedad común que afecta casi la mitad de la población humana en algunas regiones del mundo y persiste como un problema importante en la producción ganadera (NRC, 2007).

Del 60 al 70 % de hierro corporal se halla en la hemoglobina de los eritrocitos y en la mioglobina de los músculos; el 20% se almacena en formas lábiles en el hígado, bazo y otros tejidos, también se encuentra disponible para la formación de hemoglobina, el restante de 10 a 20 % se encuentra fijado firmemente en formas no aprovechables en los tejidos como componente de la

miosina y la actiomiosina musculares así como constituyente de algunas enzimas y asociado con metaloenzimas (Underwood y Suttle, 2001).

El Fe del plasma sanguíneo está combinado en el estado ferrico con una proteína específica, la transferrina una B1-globulina que transporta el FE en la sangre y normalmente solo está saturada en una proporción de 30-60% de su capacidad total de combinarse con el oxígeno. El Fe se almacena en el hígado, bazo y médula ósea en forma de complejo de Fe-proteína, la ferritina y como un componente de la hemosiderina. El Fe constituye el 20% del complejo de la ferritina-Fe y está presente en el estado ferrico. Está presente en los tejidos como un pigmento café en forma de gránulos. La ferritina puede considerarse como la forma soluble de almacenamiento de Fe, el FESE almacena en dos formas en cantidades aproximadamente iguales, pero en exceso de Fe, predomina el Fe en forma de hemosiderina (Ammerman y Goodrich, 1983).

**Metabolismo.** Se absorbe solo en el duodeno en el estado ferroso y por lo general únicamente en una porción de 5 al 10%. El cuerpo retiene con tenacidad el Fe absorbido para volver a utilizarlo, si el Fe que se libera de la descomposición de la hemoglobina relacionada con la destrucción de los eritrocitos se recicla para volver a sintetizar hemoglobina. La absorción es más eficiente en condiciones ácidas de esta manera la cantidad de Fe que se absorbe en el estómago y el duodeno, donde el HCL de la secreción estomacal resulta de un pH bajo, es mayor que la que se absorbe en el íleon (Church y Pond, 2004).

Los niveles altos de otros microminerales, entre otros Zn, Mn, Cu y Cd, también reduce la absorción de Fe. El Fe corporal es retenido con tenacidad, el

fe fecal en su mayor parte Fe dietético no absorbido, pero una pequeña cantidad se pierde por medio de la bilis y las células de la mucosa intestinal que se descaman (Underwood y Suttle, 2001).

El Fe se almacena en el interior de las células del hígado, bazo, la medula ósea y otros tejidos en forma de ferritina y hemosiderina en cantidades aproximadamente iguales. La incorporación del Fe plasmático (transferrinas) a la ferritina de los hepatocitos es un proceso que requiere energía (ATP) y esta relacionado con la reducción del Fe<sup>+3</sup> de la transferrina a Fe<sup>+2</sup>, lo que hace posible para la formación de ferritina. La liberación del Fe<sup>+2</sup> de la ferritina hepática en el plasma es catalizada por la xantinoxidasa (Ammerman y Goodrich, 1983).

**Deficiencia.** El signo más común de deficiencia de Fe es una anemia microcitica hipocromica, que se caracteriza por eritrocitos más pequeños que los normales y con una cantidad de hemoglobina inferior a lo normal. La anemia por deficiencia de Fe es un problema de lo común en los animales recién nacidos a causa de las transferencias placentarias y mamarias insuficientes. Las crías en lactación de ovejas y vacas también se vuelven anémicas si se alimentan exclusivamente de leche. Las terneras y terneros para carne tienen músculos pálidos a causa del bajo contenido de mioglobina y hemoglobina sanguínea (Church y Pond, 2004).

El Fe participa en varios pasos de síntesis y de la degradación de aminos biogénicas, las cuales tienen relación con el comportamiento. La relación entre anemia por deficiencia de hierro y los cambios conductuales que podrían



acompañarla resulta de interés en los seres humanos, y es posible que tenga consecuencias en los animales (Underwood y Suttle, 2001).

Las exigencias dietéticas de hierro en ovejas fue puesto en 30mg. Fe/kg materia seca en la edición previa (NRC, 1985). NRC (2001). La dosificación que empleamos es de 300 miligramos en animales grandes y 100 en pequeños. (NRC, 2007).

**Toxicidad.** En los animales se produce una sobrecarga de Fe por inyección en periodos largos de ingestión excesiva. La intoxicación crónica por Fe causa diarrea y reducción del crecimiento y de la eficiencia de la utilización del alimento y puede producir signos de deficiencia de P. La intoxicación aguda incluye congestión vascular de tejidos y órganos, acidosis metabólica y muerte, se produce en cerdos y conejos a los que se le administra dosis orales de citrato amonio ferroso. El Fe en exceso se encuentra en los tejidos como hemosiderina. La concentración de transferrina es normal y el Fe plasmático solo hasta que la transferrina se satura. La fibrosis del hígado, es común en algunos casos de intoxicación humana por Fe a causa de un defecto genético en control de la absorción y la excreción de Fe a causa de un defecto genético en control con la absorción y secreción de Fe (hemocromatosis idiopática) pero los animales normalmente no está relacionada con la intoxicación por Fe . (Ammerman y Goodrich, 1983).

La toxicidad del Fe puede reducirse mediante la administración de Cu, P y vitamina E en la dieta, en tanto que algunos aminoácidos (valina e histidina), el ácido ascórbico los carbohidratos simples y varios ácidos orgánicos (láctico, pirúvico, cítrico) incrementan la absorción de Fe. El acrecentamiento de

la absorción del Fe se piensa que es causada por la formación de complejos con Fe que lo hacen soluble durante su paso por el conducto gastrointestinal. De lo anterior, se deduce que la precipitación en forma de hidróxido insoluble disminuirá la toxicidad de Fe, este es el principio en que se basa la utilización de la leche de magnesia para el tratamiento de la toxicosis debida al Fe (Ammerman y Goodrich, 1983).

### **2.9.3. Cobre (Cu)**

El Cobre (Cu) es un mineral traza esencial requerido como parte funcional de varias metaloenzimas, entre ellas el citocromo oxidasa, superóxido dismutasa, tiroxinasa, dopamina hidroxilaza, y Lysyl oxidasa entre los más relevantes (Sykes y Russel, 2000; Suttle y Jones, 2000). Además de su papel como cofactor, el cobre puede regular el importante cargo de traducción, tales como la fosforilación de proteínas para regular su propio metabolismo (Vanderwerf et al., 2001). Las enzimas con Cu realizan muy diferentes funciones, entre ellas, el metabolismo normal del hierro, los glóbulos rojos de producción, la síntesis de elastina y colágeno, la producción de melanina, la integridad de la mielina, y la producción de queratina. Más recientemente, se ha demostrado que el cobre es uno de los principales minerales traza necesarios para una efectiva respuesta inmune (Suttle y Jones, 2000). En ovejas, lana y filamentosos "swayback" son comunes en Cu-deficiente adultos y animales recién nacidos, respectivamente (Suttle y Jones, 2000). En cabras, la

deficiencia de Cu se refiere como ataxia enzoótica en los cabritos (Rodríguez-Tovar et al., 1998; Ramírez et al., 1992). El noreste de México, es conocido por ser una primaria y secundaria (debido a los elevados sulfatos relacionados con los compuestos y / o alta de molibdeno (Mo) contenido en el agua o el suelo) zona con deficiencia de cobre (Kawas, 1996; Armienta, 1995). Se han reconocido los casos de ataxia enzoótica en cabritos (Rodríguez-Tovar et al., 1998; Ramírez et al., 1992), y el bajo desempeño productivo con inmunosupresión y anemia en bovinos (Ramírez et al., 1995).

Los ovinos son altamente susceptibles a intoxicación por Cu. Los niveles necesarios para las vacas y los cerdos son suficientes para producir intoxicación en el ganado ovino. El metabolismo del Cu en el ganado ovino es compleja debido a la estrecho rango entre nivel requerido de este elemento y el nivel en que la toxicidad puede ocurrir. Por otra parte, hay una amplia diferencia en tolerancia entre razas, y un pobre entendimiento de las interacciones entre Cu y Mo, y Cu y S, con compuestos relacionados (sulfatos,  $SO_4$ ) (Murawsky et al., 2006; Angus, 2000). En general, las ovejas requieren alrededor de 5 mg Cu/kg MS en la dieta total. La toxicidad puede ocurrir a niveles superiores a 25 ppm. Sin embargo, un nivel tan bajo como 12 ppm ha causado toxicidad de Cu (NRC, 2007). Sin embargo, el molibdeno (Mo) también afectan los niveles de cobre, al formarse complejos insolubles de Mo con Cu, reduciéndose la absorción de cobre. Si el nivel de molibdeno es bajo (<1 ppm), los ovinos son más susceptibles a una intoxicación con Cu. Si el consumo de Mo es superior a 10 ppm, un deficiencia de Cu puede ocurrir en dietas que normalmente serían adecuadas. El Azufre (S) complica aún más la relación Cu:Mo, al unirse con el

Mo, formando tiomolidatos (Murawsky et al., 2001). Sin embargo, independiente de su función en la interacción cobre-molibdeno, se cree la biodisponibilidad del cobre se reduce a través de la formación de sulfuro de cobre insoluble en el intestino (Spears, 2003). La toxicidad de cobre en los ovinos es el resultado de la acumulación de exceso de Cu en el hígado durante un período que varía de pocas semanas a más de un año en ausencia de signos clínicos (fase prehemolítica), seguido por una repentina liberación de Cu del hígado que causa hemólisis. En estas situaciones, la intoxicación crónica de cobre puede resultar del consumo excesivo de Cu o de un bajo consumo de Mo, S, Fe, Zn, Ca, o después del daño hepático. Condiciones estresantes, tales como cambios climáticos bruscos, mala alimentación, el estrés por transporte y el manejo, también pueden inducir a que los hepatocitos liberen el cobre almacenado en la corriente sanguínea (Angus, 2000). Los bovinos presentan una diferencia de Cu relacionados con el metabolismo del hígado en comparación con las ovinos (Angus, 2000), el Cu-basada en compuestos orgánicos han demostrado un mejor dominio en comparación con los productos químicos compuestos de Cu-, y por otra parte, S-compuestos relacionados en melaza es útil en la disminución de la cantidad disponible de los niveles elevados de Cu (Arthington y Spears, 2007; Arthington et al., 2003). En ovinos, 30 ppm de proteinato de Cu ofrecido durante un período de 73 días no causó intoxicación, probablemente por los altos niveles de Mo y S en la dieta (Eckert et al., 1999).

En la mayoría de las especies, el hígado, el cerebro, los riñones, el corazón, la porción pigmentada del ojo y el pelo o lana contienen concentraciones altas en cobre, el páncreas, el bazo, los músculos, la piel y el

hueso contienen cantidades intermedias, la tiroides, la hipófisis, la próstata y el timo contienen las cantidades más bajas (Church y Pond, 2004).

La concentración de Cu en los tejidos es muy variable dentro y entre las especies. Los animales jóvenes tienen mayores concentraciones de Cu en sus tejidos que los adultos y la ingestión dietética tiene un efecto importante en el contenido de Cu en el hígado y la sangre. El 90% del Cu de la sangre está combinado con la alfa 2-globulina, ceruloplasmina y el 10% en los eritrocitos en forma de eritrocitocuprenia (Ammerman y Goodrich, 1983).

El cobre es necesario para la actividad de las enzimas relacionadas con el metabolismo del Fe, la formación de elastina y colágeno, la producción de melanina y la integridad del sistema nervioso central. Se necesita Cu para la formación normal de eritrocitos (hematopoyesis), al parecer porque permite la absorción normal de Fe en el tracto gastrointestinal, y la liberación de Fe del sistema retículoendotelial y las células parenquimáticas del hígado al plasma sanguíneo. Esta función está relacionada con la necesaria oxidación del Fe del estado ferroso al estado férrico para la transferencia de los tejidos al plasma. La ceruloplasmina es la enzima que contiene Cu, la cual es necesaria para esta oxidación. El Cu es requerido para la formación normal de los huesos, ya que promueve la integridad estructural del colágeno del hueso y la formación normal de elastina en la aorta y el resto del aparato cardiovascular. Lo anterior tiene relación con la presencia de Cu en la lisiloxidasa, la enzima necesaria para la eliminación del grupo amino de la lisina en la formación normal de la desmosina y la isodesmosina, grupos de enlace transversal esenciales en la elastina. El Cu se requiere para la melanización normal de las células del cerebro y la medula

espinal como componente de la enzima citocromoxidasa, que es esencial para la formación de mielina. Numerosas enzimas, entre otras la lisiloxidasa, la citocromo C oxidasa, la ferroxidasa y la tirosinasa dependen del Cu. El Cu se necesita para la pigmentación normal del pelo y la lana, probablemente como componente de las polifeniloxidasas, que catalizan la conversión de tirosina en melanina, y para que se incorporen grupos bisulfuro a la queratina del pelo y la lana (Underwood y Suttle, 2001).

**Metabolismo.** El sitio de absorción del Cu en el conducto gastrointestinal varía entre las especies. En el perro, el Cu se absorbe principalmente en el yeyuno, en los seres humanos, en el duodeno, y la rata, en el intestino delgado y el colon. El grado de absorción también es variable, en humanos es mayor de 30% pero menor en otras especies estudiadas. En las células del epitelio duodenal de los polluelos, se ha encontrado una proteína fijadora de Cu que se cree interviene en la absorción de Cu. El pH del contenido intestinal afecta la absorción; las sales de Ca reducen la absorción de Cu al aumentar el pH. Asimismo, la absorción es afectada por otros elementos; el sulfato ferroso reduce la absorción de Cu al formar complejos Cu-S insolubles; el Hg, el Mo, el Cd y el Zn reducen la absorción. Con respecto a los últimos dos, se ha demostrado que desplazan Cu de una proteína fijadora de Cu de la mucosa intestinal de los polluelos; el modo de obrar del Mg y el Mo no están claros, aunque se ha sugerido la formación de  $\text{CuMoO}_4$  como la explicación de los efectos del Mo (Ammerman y Goodrich, 1983).

Algunas formas de Cu se absorben con más facilidad que otras. El sulfato cuprico se absorbe más fácilmente que el sulfato de cobre; el nitrato, el

cloruro y el carbonato de cobre se absorben con más facilidad que el óxido de cobre. El cobre metálico se absorbe en cantidades insignificantes (Church y Pond, 2004).

En el transporte y la utilización en los tejidos, el Cu absorbido está unido de manera laxa a la albúmina plasmática y se distribuye a los tejidos y es captado por la médula ósea durante la formación de glóbulos rojos, en los que está presente en forma parcial como eritrocupreína. El Cu que llega al hígado es captado por las células parenquimáticas y se almacena o libera en el plasma como Cu-albúmina y en mayores cantidades como componentes de la ceruloplasmina, o es utilizado para la síntesis de un gran número de enzimas que contienen Cu y otras proteínas que llevan Cu (Underwood y Suttle, 2001).

Excreción, La bilis es la vía principal de excreción del Cu. El Cu excretado por la bilis aparece en el excremento, cantidades más pequeñas se pierden en el excremento como secreciones de las células intestinales y pancreáticas, así como en la orina; en el sudor se pierden cantidades insignificantes. Los estudios con cobre radiactivo indican que la fuente principal de Cu urinario es el que se halla unido de manera laxa a la albúmina del plasma (Church y Pond, 2004).

**Deficiencia.** La deficiencia de Cu dietético está relacionada con una disminución gradual de las concentraciones tisular y sanguínea del Cu. Los niveles de Cu sanguíneo inferiores a 0.2 mcg/ml resultan en obstrucción de la hematopoyesis normal y anemia. La anemia es del tipo microcítica hipocromica en algunas especies (ratas, conejos, cerdos), pero en otras es macrocítica hipocrómica (bovinos, ovejas) o monocromica (polluelos, perros). La deficiencia

de Cu acorta el tiempo de vida de los eritrocitos y reduce la absorción y la utilización del Fe. Así, la anemia está relacionada en parte con un efecto directo en la formación de eritrocitos, resultado de la necesidad de Cu como componente de los glóbulos rojos y en parte con un efecto indirecto relacionado con la concentración de ceruplasmina del plasma que de esta manera reduce la absorción y la utilización del Fe (NRC, 2007).

Un problema muy extendido en las crías de ovejas que tiene sus raíces en una deficiencia de Cu resulta en falta de coordinación y ataxia. Las bajas concentraciones de Cu de los pastos que consumen los animales en el campo, junto con consumos altos de Mo y S, precipitan la condición conocida como ataxia enzoótica. Los corderos recién nacidos con mucha frecuencia son afectados, pero una condición similar también se produce en los individuos jóvenes de cabras, cobayos, cerdos y ratas. La degeneración y la falta de mielinización de las células nerviosas del cerebro y la medula espinal son la causa del desorden nervioso observado. El contenido de Cu del cerebro se reduce, lo que origina una reducción de la actividad de la citocromoxidasa, que es necesaria para la síntesis de fosfolípidos. La inyección intramuscular de complejos Cu-glicina, Cu-EDTA o Cu-metionina en ovejas preñadas ha dado buenos resultados para prevenir la ataxia enzoótica en las crías. Por otra parte, se han descrito enfermedades genéticas de los ratones y los niños que tienen que ver con el metabolismo anormal de Cu y se asemejan a la deficiencia de Cu dietético (Ammerman y Goodrich, 1983).

La deficiencia de Cu resulta en anormalidades de los huesos en muchas especies (cerdos, pollos, perros, caballos y conejos). Se observa una marcada



falta de mineralización de la matriz cartilaginosa. El córtex de los huesos largos es delgado, aunque las concentraciones de Cu, P y Mg de la ceniza permanecen normales. El defecto al parecer está relacionado con un cambio en la estructura de enlaces transversales del colágeno, que hace a este más soluble que el colágeno de huesos normales. La actividad de la lisiloxidasa de huesos de polluelos deficientes en Cu se reduce en un 30 a 40%. El pelo y la lana de animales con deficiencia de Cu no se desarrollan de manera normal, lo que resulta en alopecia y crecimiento lento de las fibras. El crecimiento de la lana en las ovejas es escaso y se impide el ondulamiento normal, lo que origina fibras rectas, semejantes al pelo, que se conocen como lana acerada (Church y Pond, 2004).

El cambio de la textura de la lana está relacionado con una disminución de los grupos bisulfuro y un aumento de los grupos sulfhidridos, así como la obstrucción del arreglo de las cadenas polipeptídicas. El proceso de pigmentación es en extremo sensible al Cu. Los niveles de Cu dietético que no son suficientes para producir anemia, daño nervioso o cambios en el hueso producen falta de pigmentación de la lana de ovejas negras o del pelo de bovinos pigmentados. La acromotiquia (pérdida de la pigmentación del pelo) se produce en la lana en forma de bandas alternantes administrando a ovejas una dieta deficiente o una dieta adecuada en Cu a intervalos alterados. La obstrucción de proceso de pigmentación se logra a los dos días de administrar a ovejas Mo y sulfato inorgánico en presencia de Cu cerca de la concentración mínima aceptable (Church y Pond, 2004).

Se piensa que el efecto de la privación de Cu en la pigmentación esta relacionado con su participación en la conversión de tirosina en melanina. Los pollos, cerdos, y bovinos deficientes en Cu presentan lesiones y hemorragias cardiovasculares. La deficiencia de Cu causa ruptura de la aorta en los pavipollos. Hace más de 30 años en Australia se encontró que la epilepsia del ganado bovino guarda relación con una degeneración progresiva del miocardio de animales que pastaban en plantas deficientes en Cu. Más tarde, se encontró que los cambios histológicos en los vasos sanguíneos de pollos y cerdos tenían relación con un desarreglo de los tejidos elásticos de la aorta y otros vasos sanguíneos. En los seres humanos, existen indicios de que el Cu interviene en la cardiopatía coronaria; en los animales, no hay pruebas de que las enfermedades cardiovasculares tengan relación con la ingestión por debajo de los niveles mínimos necesarios de Cu (Church y Pond, 2004).

Por otra parte, se ha demostrado que la muerte y la reabsorción fetales en ratas y la reducción de la producción de huevo y las hemorragias y la muerte en aves de corral son producidas por una deficiencia de Cu. Asimismo, hay informes sobre la falta de reproducción en localidades deficientes en Cu, pero no se ha establecido un efecto específico de Cu que contribuya al síndrome. En las aves de corral, la lesión primaria es un defecto en la formación de los eritrocitos y el tejido conectivo en el embrión, inducido posiblemente por una reducción en la actividad de la oxidasa (Church y Pond, 2004).

En rumiantes, a nivel mundial, el problema es más deficiencia de Cu que de toxicidad del mismo. Hay una amplia variación en cuanto al contenido de Cu de las plantas (las legumbres tienen concentraciones mayores que los pastos) y

en cuanto al grado de que tan aprovechable sea su contenido de Cu para el metabolismo de los animales. Por tanto, la concentración de Cu sola podría ser de poca importancia nutricional (NRC, 2007).

**Toxicidad.** Las ovejas y las crías de vacas son más susceptibles a la toxicidad del Cu que otras especies. En terneras alimentadas con sustitutos de la leche, con un contenido de Cu de 115 ppm, se observaron hemoglobinuria, ictericia y necrosis de los tejidos. Hay informes de muerte de ovejas, con la hemoglobinuria acompañante provocada por el exceso de Cu, en los pastos donde pacen estas a causa de un consumo continuo por libre elección de una mezcla de sales de oligoelementos que contiene el nivel recomendado de Cu. La intoxicación con Cu ocurre en las ovejas cuando el contenido de Cu del suelo y los pastos es alto, cuando el Mo de la planta es bajo, o cuando el daño hepático causado por el consumo de algunas plantas venenosas predispone al envenenamiento por Cu al disminuir la capacidad del hígado para eliminar el Cu. Las plantas como el altramuz o lupino y *Heliotropium europium*, que contienen alcaloides tóxicos, producen intoxicación por Cu en los rumiantes al deteriorar la capacidad hepática para metabolizar el Cu ingerido (Ammerman y Goodrich, 1983).

El incremento en la ganancia diaria de peso de lechones a los que se les adicionaba 250 ppm de Cu en sus dietas se ha hecho mayor investigación sobre la suplementación con niveles altos de Cu para incrementar la tasa de crecimiento. El modo de acción del Cu para producir esta respuesta del crecimiento se desconoce todavía, y la intoxicación ocasional asociada con el uso de dicho elemento en esta cantidad ha despertado el interés acerca del uso

de niveles mayores a 150 ppm. Los signos de intoxicación varían desde una ligera disminución del crecimiento y anemia leve a muerte súbita acompañada de daño hepático y hemorragias. Los niveles mayores de 425 ppm de Cu producen anemia marcada, ictericia y daño hepático. Cuando un nivel de 250 ppm de Cu ha resultado en una disminución de la ganancia de peso, hay una anemia microcítica hipocromica asociada con ella, pero de ordinario no hay daño hepático. (Gipp et al, 1997). Informaron de una reducción de Fe hepático y del volumen corpuscular y la concentración de hemoglobina medios en cerdos en crecimiento alimentados con una dieta semipurificada con un contenido de 250 ppm de Cu.

Estos cambios se evitaron administrando Fe adicional en la alimentación, lo que es indicio de deficiencia inducida de Fe. La fuente de proteína es un factor importante a la respuesta del Cu añadido; en los cerdos y las aves del corral, las proteínas de la leche están relacionadas con una anemia y una disminución del crecimiento más agudas que con las relacionadas con la proteína de la soya ((Baker, 1977). Se piensa que la interacción entre Cu y Fe y el efecto de la fuente de proteínas en la toxicidad del Cu están relacionados con los efectos en la absorción del Cu y el Fe en el conducto gastrointestinal. Las variaciones entre los animales en cuanto a toxicidad del Cu probablemente se relacionan en parte con las diferencias en los niveles dietéticos de S, Mo, Fe, Se y Zn (Ammerman y Goodrich, 1983).

La toxicidad del Cu en humanos es al parecer poco probable, salvo por contaminación accidental de los alimentos, ya que no hay informes sobre casos de desordenes crónicos atribuibles a la ingestión excesiva de Cu. Sin embargo,

la intoxicación metabólica por Cu genéticamente inducida en los seres humanos es una condición patológica bien conocida a la que se le bautizo como enfermedad de Wilson. El defecto principal se piensa que es la incapacidad del hígado de eliminar del plasma el Cu unido a la albúmina por la incorporación de este a la ceruloplasmina a causa de una ausencia genéticamente controlada del sistema enzimático en el hígado. El resultado es la acumulación en grandes cantidades de Cu hepático, cirrosis hepática, cirrosis, daño renal, reducción de la ceruloplasmina plasmática y concentraciones elevadas de Cu en el cerebro y el riñón. La administración de agentes quelantes para inducir excreción urinaria de Cu se ha empleado como un medio de reducir al mínimo el daño tisular. Los niveles altos de Zn dietético están estudiándose como una medida terapéutica para los pacientes con la enfermedad de Wilson (Underwood y Suttle, 2001).

### **2.9.3.1 Interacción Cobre-Molibdeno**

La interferencia del molibdeno en el metabolismo del cobre es de tipo molecular. El molibdeno reduce la absorción del cobre mediante una acción quelante en el rumen, favorecida por el pH neutro del pre-estomago (Matrone, 1970). A nivel sistémico, el molibdeno cambia la distribución del cobre plasmático, reduce su disponibilidad, disminuye su concentración en el hígado e incrementa su excreción en las heces y orina (Mason et al., 1978; Gooneratne et al., 1989; Xin et al., 1991; Ward y Spears, 1997).

La acción del molibdeno en la absorción del cobre está altamente relacionada con los niveles de azufre. La secuencia de eventos que envuelven a estos tres elementos a nivel ruminal, según Underwood y Suttle, (1999) y Whitehead, (2000) son los siguientes:

- El azufre presente en la dieta, ya sea que se encuentre en forma orgánica, como componente de la proteína, o en forma inorgánica, como sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), es utilizado para la síntesis de proteína microbiana, siempre y cuando exista disponibilidad de energía fermentable, nitrógeno y fósforo en el rumen.
- Cuando esta condición no ocurre o cuando existen excesos de azufre en la dieta, éste es rápidamente degradado a sulfito ( $\text{S}^{2-}$ ) por los protozoarios y algunas bacterias ruminales. Los altos niveles de molibdeno y proteína en la ración, estimulan la capacidad de los microorganismos para formar sulfitos (Matrone, 1970).
- El  $\text{S}^{2-}$  formado puede: a) ser absorbido a través de las paredes del rumen; b) unirse con el cobre liberado durante la digestión en el rumen y formar sulfuro de cobre ( $\text{CuS}$ ), el cual es un compuesto inabsorbible, y c) en presencia de iones de molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ), desplazar el oxígeno de este para formar tri o tetramolibdato. El tri y/o tetramolibdato reacciona con el cobre y forma un compuesto con éste que lo hace fisiológicamente no disponible. (Underwood y Suttle, 2001).

Adicionalmente, los molibdatos formados en el rumen pueden ser absorbidos a través del tracto gastrointestinal y actuar como inhibidores de

enzimas dependientes de cobre y/o formar complejos con éstas, que hacen además no disponible al cobre plasmático. La cantidad de tiomolibdato en el plasma puede cuantificarse indirectamente en la fracción de cobre plasmático insoluble en ácido tricloroacético (ITCA). La suplementación con molibdeno incrementa la fracción de cobre ITCA en el plasma a partir del séptimo día de suplementación y a los 20 días cuando la suplementación de azufre es realizada con sulfato de sodio (Lamand, 1989).

En general, la suplementación con molibdeno reduce las concentraciones de cobre plasmático y hepático (Humphries et al., 1983; Phillippo et al., 1987a; Xin et al., 1991; Gengelbach et al., 1994; Ward y Spears, 1997). En el hígado, el cobre puede reducirse a valores tan bajos como 3 mg kgMS<sup>-1</sup> luego de 112 días de suplementación con 5 mg de molibdeno kgMS<sup>-1</sup> en la dieta (Phillippo et al., 1987a; Humphries et al., 1983). Respecto a la ceruloplasmina, las reducciones se observan sólo cuando los niveles de cobre hepáticos son inferiores a los 20 mg kgMS<sup>-1</sup> (Humphries et al., 1983; Mills, 1987; Ward y Spears, 1997).

La incorporación de altos niveles de molibdeno en la dieta (10 mg kgMS<sup>-1</sup>) produce aumentos en su concentración hepática (16 mg kgMS<sup>-1</sup>) y favorece la acumulación de hierro en el hígado, posiblemente, por reducir los niveles de cobre en este tejido (Phillippo et al., 1987a; Xin et al., 1991).

### 2.9.3.2. Interacción Cobre-Hierro

Bajo condiciones prácticas, el hierro es determinante en la disponibilidad del cobre en los rumiantes. Similar al antagonismo cobre-molibdeno, la relación del cobre y del hierro está influenciada por los niveles de azufre. El hierro inhibe la absorción del cobre porque en el rumen forma un complejo con el sulfuro (FeS). En el abomaso, el azufre es liberado, quedando disponible para formar complejos con el cobre presente a ese nivel, unión que, como ya se ha mencionado, no es absorbible a nivel intestinal (Suttle et al., 1984).

Las evidencias de esta interacción fueron probadas por Suttle et al. (1984), en un experimento con ovejas. Ellos observaron que el consumo de suelo con altos niveles de hierro afecta la absorción de cobre de las ovejas de forma similar a cuando estas consumían dietas con altos niveles de sales de hierro. El efecto deletéreo del hierro ingerido del suelo o de la dieta dependió del contenido de azufre presente; de esta forma, en dietas con bajos niveles de azufre, la solubilidad del hierro a nivel ruminal fue menor.

En Venezuela, Chicco y Godoy (2002) encontraron una correlación lineal negativa ( $r = -0,61$ ;  $P = 0,06$ ) entre la concentración de hierro y de cobre hepático en vacas mestizas Brahman al sur del estado Apure (Cuadro 1). Humphries et al. (1983) y Phillippo et al. (1987a) reportaron efectos similares del hierro y el molibdeno sobre el estatus de cobre en plasma e hígado en vacunos y, señalan que éste es dependiente del nivel de azufre. Sin embargo, los animales suplementados con molibdeno presentan ciertos trastornos fisiológicos no reportados en el caso de la deficiencia de cobre causada por



altos niveles de hierro. La razón de ello es desconocida. Humphries et al. (1983) señalan que el molibdeno puede inducir a una deficiencia de cobre más severa que no es detectada con los métodos convencionales de diagnóstico. Alternativamente, el molibdeno puede estar alterando el metabolismo del cobre en sitios específicos del cuerpo donde el hierro no tiene efecto. Otra hipótesis es que el molibdeno per se pueda ejercer efectos sobre ciertos procesos metabólicos, independientemente del metabolismo del cobre, pero esto aún no está claro.

#### **2.9.4. Manganeso (Mn)**

El elemento es indispensable para la realización de funciones diversas, como lo indica la variedad de síntomas por deficiencia asociados con el. En los roedores de laboratorio se observa una reducción en su capacidad reproductiva. En aves se produce periosis o condodistrofia, una anomalía en la formación de tejido óseo que ocasiona defectos en el aparato locomotor. En este caso, el cuerpo de hueso se mineraliza en forma normal, pero la placa epifisial es más delgada y la capacidad de las células cartilaginosas para sintetizar proteoglicanos se reduce. El crecimiento longitudinal de los huesos también se afecta. Los huesos disminuyen su tolerancia a la glucosa (NRC, 2007).

La deficiencia también inhibe la coagulación sanguínea, dado que la protrombina y otras proteínas asociadas con el fenómeno son glicoproteínas y

requieren glicerol-transferasa (que contiene Mn) para su síntesis. Si la deficiencia de ratones se inicia durante su desarrollo embrionario, se observa ataxia en los animales. Este síntoma también se nota en los visones, por el color pastel del pelo, de aquí que se sospeche de una interrelación genético-nutricional (Underwood y Suttle, 2001).

La eficiencia de absorción se relaciona con la concentración de la dieta; sin embargo la presencia excesiva de calcio y fósforo en el intestino precipitan el Mn, lo que reduce su absorción. Parece ser que su paso a través de la mucosa intestinal comparte el transportador con el fierro; en la sangre portal se le asocia con la globulina o albúmina. En el hígado esta unido a la transferrina y el mineral se elimina entonces a través de la bilis. A nivel metabólico el manganeso es un quilato de las proteínas, por lo que las hace más estables (y por lo tanto, más resistentes a degradarse o desnaturalizarse). Existen pocas metaloenzimas que contienen el elemento, siendo las principales las carboxilasas piruvicas, la superoxido-dismutasa y la diamina-oxidasa. Algunas otras enzimas como la arginasa y la glicosil-transferasa forman un complejo con el manganeso (Ammerman y Goodrich, 1983).

No se sabe de problemas de toxicidad en pollos hasta con 1000 ppm; sin embargo, este nivel es toxico para rumiantes. Los principales síntomas de toxicidad en estos animales son reducción en el consumo de alimento, ganancia de peso, síntesis de hemoglobina y volumen celular empacado. El manganeso interfiere con el metabolismo del fierro y produce hipomagnesemia. El requerimiento mineral se estima en 50 ppm, así se toma en consideración del acido fítico, calcio y fósforo en el alimento (Church y Pond, 2004).

El suministro total de manganeso es menor que el de la mayor parte de los demás minerales esenciales. Está distribuido ampliamente en todo el cuerpo y no tiende a acumularse en concentraciones elevadas en el hígado y otros tejidos cuando se ingiere en grandes cantidades, a diferencia de oligoelementos. El hueso, el riñón, hígado, páncreas e hipófisis presentan las concentraciones más altas (Underwood y Suttle, 2001).

El Mn esencial para la formación de coindritinsulfato, un componente de los mucopolisacaridos de la matriz orgánica del hueso. Así, es esencial para la formación normal del hueso. El Mn se necesita para prevenir la ataxia y la falta de equilibrio en animales y aves recién nacidos. En lo que respecta a esto, no se cuentan con indicios bioquímicos e histológicos que permiten establecer cuál es la función del Mn en estos problemas, salvo la presencia de un efecto estructural del oído interno de los animales afectados. Al parecer dicha anomalía está relacionada con la formación defectuosa de mucopolisacáridos del cartílago (Underwood y Suttle, 2001).

**Metabolismo.** El modo y el control de la absorción de Mn en el conducto gastrointestinal no están bien entendidos. La cantidad absorbida al parecer es proporcional a la cantidad ingerida y la absorción de ordinario es menor del 10 %. El exceso de Ca o de P dietéticas reduce la absorción del Mn (Church y Pond, 2004).

El Mn se absorbe en el conducto gastrointestinal como  $Mn^{+2}$ , se oxida a  $Mn^{+3}$ , se transporta de manera rápida a todos los tejidos y finalmente, se concentra en los tejidos que contienen muchas mitocondrias del hígado, el páncreas y el cerebro acumulan Mn radiactivo. El Mn se transporta en la sangre

como  $Mn^{+3}$ , unido de manera laxa a una B1-globulina plasmática (menos la transferrina) y se elimina con rapidez de la sangre, apareciendo primero en las mitocondrias y luego en los núcleos de las células (Underwood y Suttle, 2001).

La función exacta del Mn es el metabolismo y el funcionamiento de las mitocondrias se desconoce, pero la deficiencia de Mn se relaciona con alteraciones en la estructura y metabolismo de dichos organelos. El contenido de Mn en la leche y fetos refleja de manera apropiada la ingestión de la dieta, lo que ilustra la diferencia entre Mn y los minerales como el Fe y el Cu en lo que se refiere al transporte a través de los tejidos mamarios. (Church y Pond, 2004).

**Excreción.** El medio principal de excreción de Mn es la bilis, con una pérdida de cantidades menores en las secreciones pancreáticas y las células de la mucosa intestinal que se desprenden en cantidades aun más pequeñas en la orina y sudor. Gran parte del Mn de la bilis se reabsorbe. Las concentraciones con semejantes a las de la sangre; esto podría explicar la incapacidad de los tejidos corporales de acumular concentraciones elevadas de Mn. Así, la excreción y no la absorción, es el mecanismo principal mediante el cual en condiciones normales se mantiene la homeóstasis del Mn del cuerpo (Ammerman y Goodrich, 1983).

**Deficiencia.** En varias especies de animales, muchas anormalidades diferentes del esqueleto guardan relación con la deficiencia de Mn. Estas anormalidades están sin duda relacionadas con el Mn en la síntesis de mucopolisacaridos en la matriz orgánica del hueso. Derrengadura, acortamiento y combadura de las patas y articulaciones agrandadas son comunes en los roedores, cerdos, bovinos, cabras y ovejas con deficiencia en Mn (NRC, 2007).

**Toxicidad.** Los altos niveles dietéticos de Mn, son tolerados bien por la mayoría de las especies; Al parecer los efectos tóxicos del Mn están mas relacionados con la obstrucción de usos de otros minerales que como efecto específico del Mn, mismo la disminución del ritmo de crecimiento relacionada con el exceso de Mn es un reflejo principalmente de un apetito reduce, el Mn en exceso afecta de manera adversa la utilización del Ca y P, en bovino, cerdos, conejos y ovejas alimentados con 1000 a 5000 ppm de Mn se produce una anemia por deficiencia de Fe. (Church y Pond, 2004).

#### **2.9.5. Zinc (Zn)**

Underwood y Suttle, 2001 aseguraron que la deficiencia de este elemento se asocia con los siguientes problemas en el hombre y los animales:

- Paraqueratosis, dermatitis que se presenta principalmente en los cerdos alimentados con niveles grandes de pasta de soya o de pastas de ajonjolí en la dieta; el ganado productor de leche presenta un problema similar.
- Enanismo e hipogonadismo en humanos, con disminución del apetito y una aparente reducción en el crecimiento y a la división celular en general.
- Falta de crecimiento del plumaje de aves.

- Inflamación de las articulaciones por efecto severo en las placas epifisiales.
- Retardo en la maduración de los órganos sexuales masculinos en humanos.
- Retardo en la velocidad de cicatrización de las heridas.
- Pérdida del sentido del gusto en los humanos.
- Baja en la tolerancia a la glucosa.
- Reducción en la capacidad para movilizar las reservas hepáticas de vitamina A.

**Metabolismo.** El metabolismo del elemento es una siguiente forma: a nivel del lumen intestinal, los excesos de calcio y fosforo precipitan el zinc; el ácido fítico forma un compuesto inaprovechable, por lo que es necesaria una relación amplia de zinc – fitato que permita superar el efecto del último (la fosfatasa alcalina es una enzima con zinc en la molécula y que tiene una actividad física moderada). La absorción y el transporte de zinc a la sangre se rigen por un mecanismo que consiste en aumentar la eficiencia del proceso en condiciones de escaso zinc en la dieta, si la ración es normal en su contenido mineral, la cantidad de zinc que se absorbe es directamente proporcional a la presente en el alimento (Church y Pond, 2004).

A nivel de la mucosa intestinal se forma un complejo de zinc – aminoácidos, los sobrantes del mineral se utilizan en la metalotionina, cuyo papel todavía no se comprende bien. No existe un mecanismo específico de transporte de zinc en la sangre portal, pero se sabe que lo lleva a cabo la

albúmina y la transferrina, esta última cuando el nivel de hierro sanguíneo, no es grande. Este hecho permite la unión del transportador con el zinc u otros elementos. El mineral forma parte de numerosas enzimas que se conocen como metaloenzimas, por ejemplo la anhidrasa carbónica, deshidrogenasa alcohólica, fosfatasa alcalina, deshidrogenasa láctica y carboxipeptidasa (Underwood y Suttle, 2001).

Se desconoce su vía de excreción, aunque se elimina parcialmente por las vías biliar y secreciones pancreáticas. Los requerimientos del elemento para aves y cerdos son de 10 a 15 ppm; sin embargo, al emplear soya o ajonjolí como fuente proteica, se recomienda complementar con 50 ppm. Los rumiantes requieren entre 40 y 80 ppm.

Desde el punto de vista práctico, se conoce que la mayoría de las reacciones balanceadas que se emplean especialmente para cerdos, tienen un exceso de calcio y ácido fólico, por lo que la paraqueratosis y el retardo en el crecimiento que la acompaña, puede prevenirse o curarse duplicando la cantidad de zinc que se proporciona en la dieta de estos animales. En el caso de los rumiantes, un exceso de zinc (500 a 1000 ppm en animales jóvenes y adultos, respectivamente) ocasiona síntomas como los que se observan en ovinos, a saber, extensión de miembros, convulsiones, opistótono y muerte. Aunque el zinc protege a los animales contra la intoxicación por cobre, un exceso de él provoca problemas de deficiencia de cobre y hierro. (NRC, 2007).

En animales adultos que se alimentan con dietas con niveles adecuados de cobre, hierro y calcio, el nivel de tolerancia del zinc es 600 ppm. Es un nutrimento esencial para los animales, en cuanto a la nutrición de los animales

domésticos más tarde se probó que la enfermedad del cerdo conocida como ceratosis resulta de la deficiencia de Zn (Tucker y Salmon) posteriormente se producido de manera experimental la deficiencia de Zn en otros animales domésticos, y los informes señalan que la deficiencia de Zn en humanos como problema práctico. La nutrición, los aspectos fisiológicos y el metabolismo relacionados con el Zn, se han analizado con detalle (NRC, 2007).

El Zn está ampliamente distribuido en los tejidos del cuerpo, pero se halla en mayor concentración en el hígado, hueso, riñón, músculo, páncreas, ojo, próstata, piel, pelo, y lana. El Zn es un constituyente de un gran número de enzimas y la distribución de Zn en los tejidos está relacionada más o menos con la de los sistemas enzimáticos en los cuales interviene. Las cantidades de Zn en el corazón, riñón. Hígado y el músculo de bovinos, pollos, ovejas y cerdos normales se han reducido (Underwood y Suttle, 2001).

El Zn es un constituyente de la numerosas metaloenzimas, entre otras las anhidrasa carbónica, las carboxipeptidasas a y b, varias dexihidrogenasas, la fosfatasa alcalina, la ribonucleasa y DNA polimerasa. El Zn activa algunas enzimas e interviene en la configuración del ADN y ARN. Sus funciones bioquímicas se han analizado (Chester). Las funciones bioquímicas del Zn se relacionan con las funciones de las enzimas de las que forma parte. El Zn es también un activador de varios sistemas metaloenzimaticos y probablemente comparte con otros iones metálicos, a lo que puede remplazar, la función de unir reactantes al sitio activo de la enzima. El Zn es necesario parta la síntesis y el metabolismo normal de las proteínas y es un componente de la insulina, de



esta manera, interviene en el metabolismo de los carbohidratos (Ammerman y Goodrich, 1983).

La absorción del Zn en el conducto gastrointestinal tiene lugar en todo el intestino delgado y suma del 5 al 40 % de la ingestión. La regulación de la absorción de Zn se efectúa en las células intestinales. La transferencia de Zn de las células de la mucosa intestinal al plasma la controla la metalotioneína, una proteína combinante de bajo peso molecular que se sintetiza como respuesta a un aumento de la concentración de Zn plasmático. De esta manera, el proceso total de absorción de Zn es regulado por la compartimentación intracelular, así como la secreción endógena de Zn en exceso para satisfacer las necesidades metabólicas inmediatas de las células intestinales a la luz del conducto intestinal (Church y Pond, 2004).

La absorción de Zn es afectada de manera adversa por la alta concentración de Ca dietético, y la presencia de fitato lo hace más grave todavía. La combinación entre el Zn y el fitato hace que se forme un compuesto insoluble inabsorbible, y este es de un mecanismo que hace que se reduzca la habilidad del Zn para los animales. La transferencia placentaria de Zn está relacionada de manera directa con la ingestión dietética materna (Church y Pond, 2004).

En los animales que sudan con profusión, la pérdida de Zn por esta vía es muy grande en ambientes calurosos. El Zn que se halla en una cantidad mayor que la necesaria para satisfacer las necesidades del momento se combina en el hígado con la metalotionina la que en las células intestinales

se sintetiza como respuesta a un aumento del Zn del plasma (Ammerman y Goodrich, 1983).

Los glucocorticoides hacen que el hígado acumule Zn con una disminución concomitante del Zn plasmático, se ha sugerido que en cualquier situación de estrés que signifique un aumento de la actividad de los glucocorticoides podrían originar un aumento de la síntesis de la metalotioneína hepática (Cousins, 1979).

**Deficiencia.** El signo más sobresaliente de esta deficiencia es el retardo del crecimiento y anorexia en todas las especies que se han estudiado y una reducción del nivel del Zn plasmático y de la actividad de la fosfatasa alcalina del plasma. El engrosamiento o hiperqueratinización de las células epiteliales es común como lo ejemplifica la paraqueratosis en cerdos. Las ovejas presentan cambios anormales de la lana y los cuernos, en las aves de corral se observan dermatitis y emplume defectuoso.

La deficiencia de Zn retarda la formación del hueso y se le relaciona con una división y proliferación reducidas de las células cartilaginosas de la placa de crecimiento epifisiaria. La fosfatasa alcalina del hueso disminuye, la densidad ósea disminuye y el contenido de Zn del hueso y del hígado se reduce.

La deficiencia de Zn tiene efectos extremos en los órganos reproductores masculinos. En los machos con deficiencia de Zn de todas las especies estudiadas se observa hipogonadismo (Prasad et al 1963).

La cicatrización de las heridas en animales con deficiencia de Zn se retrasa considerablemente. El modo preciso de cómo actúan el Zn en la

reparación de tejidos se desconoce, pero la intervención del Zn en la síntesis de proteínas probablemente tiene algo que ver (Church y Pond, 2004).

En el caso de los cerdos con deficiencia de Zn, se ha notado disminución de la actividad de las enzimas hepáticas, leucinaminopeptidasa y ornitina transcarbamilasa. Una característica sorprendente de la deficiencia de Zn es la notable remisión de los signos clínicos cuando se administra Zn. Lo anterior se observa en la paraqueratosis de cerdos deficiente en Zn. La piel de animales con lesiones agudas mejora de manera notable después de pocos días de alimentación con Zn y las lesiones desaparecen en dos a tres semanas. El consumo del alimento aumenta inmediatamente después de que se agrega Zn en la dieta (Underwood and Suttle, 2001).

**Toxicidad.** El Zn administrado en una proporción de 1 gr/k (0.1 % de la dieta) no provoca efectos dañinos en los cerdos, pero los niveles de 4 y 8 gr/k pueden producir disminución del crecimiento, rigidez, hemorragias alrededor de las articulaciones de los huesos y excesiva reabsorción ósea. Las aves son similares a los cerdos en cuanto a su tolerancia Zn, pero las ovejas y los bovinos son menos tolerantes. Los niveles de 0.9 a 1.7 g/k de Zn disminuyen el apetito e inducen el apetito depravado que se manifiesta por la masticación de madera y el consumo excesivo de suplementos minerales por las ovejas. (NRC, 2007).

### 2.9.6. Molibdeno (Mo)

Es componente de algunas enzimas como la Xantina, La sulfito-oxidasa y la aldehído-oxidasa. El metabolismo del Mo se relaciona con el del cobre y sulfato, un exceso de este ultimo en el rumen se combina con el cobre para formar CuS o con el molibdeno para formar tiomolibdato, que a su vez interacciona con el cobre, en ambos casos hay poca disposición de cobre, y si existe deficiencia celular de cobre se toma muy poco molibdeno (6 a 50ppm) para causar una intoxicación por molibdeno (Richert and Westerfeld, 1953).

La mayoría de los forrajes contienen una cantidad mayor de Mo. Su presencia en los forrajes a niveles tóxicos es mayor en intereses prácticos (NRC, 2007).

La toxicidad del Mo se reconoció por vez primera en Inglaterra cuando se informó que el ganado que pastorea en ciertos pastos ricos en Mo presentaban diarrea. El síndrome se hizo conocido como *Peat scouts* o *teart* y más tarde se encontró que se prevenía con la suplementación de la dieta con Cu. Las manifestaciones de la toxicidad del Mo en las ovejas incluyen reducción del Cu del hígado y plasma, disminución del ondulamiento y la pigmentación de la lana, anemia y alopecia. Los corderos recién nacidos de madres afectadas presentan ataxia enzootica que resulta de la desmielización de los nervios. La actividad de la fosfatasa alcalina del hígado disminuye en el riñón y el intestino grueso así como la actividad de la sulfuroxidasa hepática disminuye (Underwood and Suttle, 2001)

Esta obstrucción del metabolismo del S se ha sugerido como un factor del mecanismo de toxicidad con Mo. Las interrelaciones Mo y Cu sulfato han sido analizadas con detalle por Suttle. La forma química en la que existe el Mo en la sangre no se conoce, aunque está presente en los eritrocitos y el plasma y es un constituyente de la enzima xantidoxidasa. La proporción en los eritrocitos varia del 70 % a una ingestión baja de Mo dietético. La presencia de una concentración alta de sulfato dietético reduce de modo considerable la absorción de Mo en el conducto gastrointestinal esto a su vez afecta a las concentraciones sanguínea y tisular de Mo (Underwood and Suttle, 2001).

### **2.9.7. Magnesio (Mg)**

El Mg se distribuye ampliamente en el cuerpo, con excepción del Ca y P como se le halla en el cuerpo en mayor cantidad que cualquier otro mineral. Alrededor de la mitad del Mg corporal se halla en el hueso a una concentración del 0.5 al 0.7 % de la ceniza ósea. En los tejidos blandos se concentra dentro de las células; la mayor concentración se encuentra en el hígado y músculo esquelético (NRC, 2007).

El Mg sanguíneo se distribuye así, alrededor del 75 % en los glóbulos rojos (6 meq/l) y 25 % en el suero (1.1 a 2.0 meq/l). La concentración en el suero varía entre las especies, del mg del suero, alrededor del 75 % se halla ligado en proteínas en los mamíferos y aves, aunque cuando el Mg total es variable entre las especies. El Mg es necesario para el desarrollo normal del esqueleto

como un constituyente del hueso, las mitocondrias del músculo cardiaco y probablemente las de otros tejidos lo necesitan para efectuar la fosforilación oxidativa. El Mg se requiere para la activación de las enzimas que rompen y transfiere fosfatasas y las muchas enzimas que participan en las reacciones en las que intervine el ATP (Ammerman y Goodrich, 1983).

**Metabolismo.** El examen de las funciones del Mg demuestra con claridad que su metabolismo es complejo y variado. La absorción en el conducto gastrointestinal ocurre en su mayor parte en el íleon. No se conoce ningún transportador para la absorción del Mg ni se ha demostrado que la vitamina D aumente su absorción (NRC, 2007).

La excreción del Mg se hace por medio del excremento y la orina. Alrededor del 55 al 60 % del Mg que se ingiere que se absorbe y la cantidad absoluta absorbida es proporcional a la ingestión dietética (Underwood and Suttle, 2001).

**Deficiencia.** En los animales deficientes en Mg hay una disminución de K tisular y aumento de Ca y el Na tisulares, las actividades de varias enzimas dependientes del Mg, entre otras la musculoenolasa y la piruvatofosfocinasa, se reduce en la deficiencia de Mg. Las mitocondrias de las células de los túbulos renales están hinchadas en la deficiencia de Mg. El hinchamiento de las mitocondrias y la pérdida de iones de Mg y de PO<sub>4</sub> intramitocondriales también ocurren en el hígado de ratas intoxicadas con amoníaco. Se ha propuesto (head y rock) que una concentración alta en amoníaco interfiere con la absorción de Mg al formarse el fosfato amoníaco de Mg (estruvita) que es insoluble de pH alcalino. Un problema común del ganado bovino que padece es un síndrome

conocido como tetania de los pastos o pratense o por Mg. Se presenta con más frecuencia en el ganado bovino que consume cereales o pastos nativos en periodos de crecimiento exuberante, pero en ocasiones también constituye un problema en el ganado alimentado con raciones comunes de invierno. Los síntomas de la tetania, que también se le atribuyen a la hipomagnesimia (Bajo mg sanguíneo), se describieron por vez primera en la década de 1930. La causa de la tetania por Mg no se conoce muy bien, aunque por lo general se acepta que la hipomagnesimia, cualquiera que sea su causa fundamental, es el factor desencadenante. Los altos niveles de K y proteína de ordinario presentes en los pastos jugosos, han sugerido la posibilidad de un antagonismo en el Mg (Newton et al., 1972).

Encontraron que las ovejas alimentadas con K tendían a excretar Mg en la orina y excremento, y que el K interfería con la absorción del Mg, pero no en re excreción al conducto gastrointestinal. Existen informes de una elevada excreción urinaria de Mg en ovejas alimentadas con dietas ricas en N (urea). En los forrajes de principio de temporada se han observado concentraciones altas de trans-aconitato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, y se ha sugerido que tienen relación con la tetania por Mg (Bureau y Stout, 1965).

**Toxicidad.** La toxicosis por Mg en los animales incluye baja ingestión de alimento, diarrea, pérdida de reflejo y restricción cardiorrespiratoria. En terneros alimentados con dietas que contienen más de 2.3 % de Mg se han observado diarrea aguda, disminución del consumo de alimento y reducción del crecimiento, y la administración accidental de dietas ricas en Mg a ovejas resulta en diarrea y anorexia (NRC, 2007).

El Mg induce a una disminución de la tensión arterial y las concentraciones altas en suero (mayores de 5 meq/l) afectan el electrocardiograma y pueden hacer que el corazón se detenga en la diástole (Underwood and Suttle, 2001)

### **2.10. Sangre.**

La sangre es el medio líquido por el cual la mayoría de los nutrientes absorbidos se conducen al hígado y a otros órganos para metabolizarse, también transporta las hormonas, lleva el oxígeno de los pulmones a los tejidos y el dióxido de carbono en dirección contraria recolecta las sustancias de desecho de los órganos para su concentración y posterior eliminación a través de los riñones la sangre puede dividirse en dos porciones de volumen similar, la celular y la no celular, la primera está formada por los eritrocitos que se encargan de transportar el oxígeno; los leucocitos que son parte del sistema de defensa del organismo y las plaquetas que son necesarias para la coagulación. La porción no celular se conoce como plasma sanguíneo que lleva como solución la glucosa y las proteínas plasmáticas. Esta sirve para el transporte de lípidos, aminoácidos, hormonas, vitaminas y otros compuestos orgánicos (Church, 1998).

Debido a que los periodos de ingestión y ayuno son intermitentes diversos mecanismos hormonales y enzimáticos se encargan de mantener una



composición más o menos estable del plasma sanguíneo con ello evitar cambios drásticos en el flujo de nutrimentos – metabolitos que puedan originar anomalías (Church, 1998).

### **2.11. Hígado.**

El hígado es considerado como la glándula más grande del organismo. Representa una extensión del intestino, ya que embriológicamente se desarrolla a partir del endodermo de donde también se deriva el epitelio que recubre internamente al intestino. Los hepatocitos o células hepáticas se agrupan en cordones orientados radicalmente, de la vena central a los espacios portales.

La célula hepática es poligonal con un gran núcleo redondo y nucleolo prominente. El hígado participa en gran cantidad de funciones metabólicas como la formación y secreción de bilis, formación y almacenamiento de glucógeno, desaminación de aminoácidos y formación de urea, síntesis de ácidos grasos, oxidación y fosforilación de grasas, almacenamiento de vitaminas y minerales. Muchos nutrimentos que absorben los órganos digestivos se conducen a través de la circulación portal del hígado, que actúa como punto de contracción, procesamiento y distribución de nutrimentos a los diversos tejidos extrahepáticos. (Church, 1998).

El Hepatocito, es La célula hepática poligonal con un gran núcleo redondo y prominente. La envoltura nuclear es una continuación del retículo

endoplasmático rugoso y presenta abundantes ribosomas y poros (Smith et al, 1983).

Debido a su gran actividad metabólica, el hepatocito tiene en su citoplasma una gran cantidad de orgánulos, abundan los túbulos de retículo endoplasmático liso conteniendo gránulos de glucógeno, El aparato de Golgi se orienta hacia el canalículo biliar y alrededor del núcleo. Las mitocondrias y los lisosomas son abundantes y se orientan hacia el sinusoides y el canalículo biliar (Smith et al, 1983).

Otras estructuras son los microcuerpos que contienen gran cantidad de enzimas y gránulos con bordes celulares que colindan hacia el canalículo biliar, y hacia el sinusoides se forman vellosidades y vesículas pinocitóticas (Smith et al, 1983).

El hígado participa en gran cantidad de funciones metabólicas en las que destacan:

- Formación y secreción de bilis
- Formación y almacenamiento de glicógeno
- Desaminación de aminoácidos y formación de urea
- Síntesis de ácidos grasos
- Oxidación y fosforilación de grasas
- Almacenamiento de vitaminas y minerales
- Destoxificación de purinas, porfirinas y amoníaco
- Destrucción de eritrocitos viejos o defectuosos
- Síntesis de proteínas plasmáticas
- Destrucción de esteroides

## **2.12. Enfermedades Hepáticas**

Las enfermedades hepáticas son frecuentes en las grandes especies, la elevación de enzimas hepáticas en el suero y de la concentración de ácidos biliares totales pueden ser indicativos de difusión, lesión, enfermedad o insuficiencia hepática. En rumiantes la enfermedad hepatobiliar esta asociada con lipidosis hepática, abscesos hepáticos, endotoxemia, alcaloides pirrolicidinicos y otras intoxicaciones vegetales, ciertas clostridiosis y a toxicidad por minerales (cobre, hierro, zinc) o a déficit de los mismos (cobalto). El déficit de vitamina E o selenio (hepatitis dietética).

El hígado puede responder a la agresión solo en un número limitado de formas. La presencia de gotas de grasa en el hígado puede ser un cambio temprano y a menudo reversible. La hiperplasia biliar también es reversible si el agente nocivo el eliminado pronto. La necrosis de los hepatocitos indica un daño mas reciente. Las células muertas son eliminadas en un proceso inflamatorio y remplazadas por nuevos hepatocitos o por fibrosis (Merck, 2000).

## **2.13. Análisis de laboratorio**

Las pruebas bioquímicas y rutinarias, como la concentración serica de enzimas son indicadores sensibles del daño hepático, pero no evalúan la función hepática, las pruebas bioquímicas dinámicas que evalúan el aclaramiento hepático proporcionan información cuantitativa a cerca de la

función hepática. Las pruebas de funcionalismo hepático son un instrumento útil para el diagnóstico y pronóstico así como guías para la modificación de la aplicación de dosificación de fármaco (Merck, 2000).

#### **2.14. Concentración de enzimas séricas**

Las concentraciones séricas de las enzimas hepatoespecíficas, están generalmente más elevadas en la enfermedad hepática aguda que en la crónica. Estas enzimas pueden estar dentro de los límites normales en las últimas fases de la enfermedad hepática, subaguda o crónica. Es esencial un cuidado a interpretación de los valores de laboratorio junto con los hallazgos clínicos (Merck, 2000).

Para evaluar la disfunción y la enfermedad hepática en grandes animales se usa comúnmente la medición secuencial de la G-glutamíntransferasa sérica (GGT), Sorbitoldeshidrogenasa (SDH), la AST, la bilirrubina y los ácidos biliares.

La GGT sérica, la bilirrubina, las concentraciones totales de ácidos biliares y el aclaramiento de la bromsulftaleína (BSP), no son indicadores sensibles de enfermedad hepática en terneros jóvenes. Aunque la GGT puede estar presente en el páncreas, riñón y ubres, así como en la superficie canalicular de los hepatocitos y el epitelio de los conductos biliares, es la prueba individual con mayor sensibilidad para detectar enfermedad hepática en los grandes animales adultos. La fibrosis hepática crónica es la única

enfermedad hepática donde pueden que no se produzcan una elevación anormal de la GGT. El incremento de la GGT es más pronunciado en la enfermedad biliar obstructiva (Merck, 2000).

Los valores séricos de las enzimas hepáticas también varían en cabras según la edad, raza y sexo. Los límites de referencia deben estar adecuados a la especie y a la edad de los animales evaluados. También se usan para evaluar la disfunción y enfermedad hepática la SDH, La arquinasa, La omitina carbamiltransferasa (OCT), la AST, la isoenzima 5 de la lactato-deshidrogenasa (LDH-5), la glutamato – deshidrogenada (GLDH) y fosfatasa alcalina (FA). La arginasa sérica, SDH y OCT son enzimas hepatoespecíficas de los caballos, la mayoría de los rumiantes y los cerdos. La SDH es la que mejor puede predecir la presencia de enfermedad hepatocelular activa (Merck, 2000).

La SDH también se incrementa cuando existen lesiones gastrointestinales, obstructivas, endotoxemias, anoxia debida a shock, anemia aguda y en la anestesia. La SDH y LDH-5 vuelven a sus valores normales a los cuatro días de producido el daño hepático y se pueden utilizar para monitorear la mejoría de la enfermedad hepática (Merck, 2000).

La SDH y LDH, debido a su corta vida media, a menudo no están incrementadas en presencia de enfermedad hepática crónica. LA AST es muy sensible para detectar enfermedad hepática, pero carece de especificidad por que procede tanto el hígado como del músculo. Cuando la CK se mide simultáneamente para descartar enfermedad muscular y el suero no esta hemolizado, los incrementos de la AST y la LDH-5 están causados por enfermedad hepatocelular (Merck, 2000).

La AST permanece elevada de 7 a 10 días después de producido el daño transitorio agudo al hígado. La SDH y la AST pueden estar marcadamente elevadas en caso de colestasis intrahepática y ligeramente elevados si la colestasis es extrahepática. Los incrementos de la FA y la GGT están asociados con la irritación o destrucción del epitelio biliar y con obstrucción biliar (Merck, 2000).

En vacas, cabras y ovejas, los niveles circulantes de bilirrubina pueden elevarse solo moderadamente. En presencia de enfermedad hepática generalizada grave. Los incrementos más llamativos de la bilirrubina sérica o plasmática se debe más a una crisis hemolítica que a difusión hepática (Merck, 2000).

### **2.15. Objetivo**

Determinar el efecto del incremento en el nivel de melaza en la ración de corderos, en las concentraciones de enzimas y otras variables hematológicas, así como las concentraciones de minerales y lesiones histopatológicas en hígado.

### **2.16. Hipótesis**

El alto consumo de algunos minerales (Fe, S y Mo) por corderos consumiendo raciones a base de melaza, reduce el riesgo de una intoxicación por cobre, que también se encuentra en alta concentración en la melaza, lo que se refleja en la actividad de enzimas, las concentraciones de minerales en hígado, las variables hematológicas en sangre y lesiones hepáticas.

### **2.17. Meta**

Se busca entender mejor la ausencia de signos clínicos de intoxicación con Cu en corderos que consumen altos niveles de melaza en su dieta, para definir la concentración de Cu en los suplementos. Además, se pretende determinar el nivel óptimo de melaza en las raciones de corderos en finalización, con el propósito de hacer recomendaciones a los productores para optimizar su uso.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. Animales y Tratamientos**

Veinte corderos Pelibuey machos enteros en crecimiento, con un peso promedio de 22.4 kg fueron asignados aleatoriamente a cuatro tratamientos en un diseño completamente al azar. Los tratamientos fueron: (1) 0%, (2) 6%, (3) 12% y (4) 18% de melaza.

### **3.2. Instalaciones**

Los corderos se confinaron individualmente en jaulas metabólicas (1.5 m<sup>2</sup>), durante 75 días, 15 de adaptación de los corderos a las jaulas y raciones, y 60 días de la fase experimental, durante la cual se colectaron muestras y datos.

### **3.3. Manejo de los corderos**

Después del periodo de adaptación, los corderos fueron pesados dos días consecutivos para obtener un peso inicial y la primera muestra de sangre.



Posteriormente, los fueron pesados los días 30 y 60 para obtener el peso intermedio y final. Los corderos fueron pesados en ayunas, antes de ofrecer la primer comida del día, para evitar variaciones en los pesos debido a cambios en el contenido del tracto gastrointestinal, lo que pudiera causar error en la determinación de la ganancia de peso. Muestras de sangre también fueron obtenidas cada 15 días para el análisis de variables hematológicas. Al final del estudio, los hígados fueron almacenados para determinar las concentraciones de minerales y enzimas en hígado.

Después del periodo de adaptación, muestras de sangre fueron obtenidas de los corderos en ayunas para obtener un valor hematológico inicial, posteriormente obteniendo muestras los días 15, 30 y 60 del estudio, para observar el efecto de la melaza en las variables hematológicos y hepáticas.

#### **3.4. Alimentación de los Corderos**

Los alimentos experimentales se presentan en el Cuadro 3. La cantidad total de alimento ofrecido, se dividió en tres porciones iguales durante el día (08:00, 13:00 y 18:00 horas), y se calculó considerando el consumo diario y un 10% adicional, para reducir la selección de los componentes de las raciones por los corderos. Todas las raciones se formularon para contener 16% proteína cruda.

**Cuadro 3. Composición de las raciones de finalización para corderos con varios niveles de melaza.**

Ingrediente	Nivel de melaza (%)			
	0	6	12	18
<b>Cascarilla de soya</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
Sorgo grano <sup>1</sup>	765	700	637	575
<b>Soya, harina</b>	<b>110</b>	<b>115</b>	<b>118</b>	<b>120</b>
<b>Melaza</b>	<b>0</b>	<b>60</b>	<b>120</b>	<b>180</b>
<b>Mezcla base <sup>2</sup></b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>
<b>Composición química</b>				
<b>ENm, Mcal/kg<sup>3</sup></b>	<b>1.917</b>	<b>1.906</b>	<b>1.894</b>	<b>1.881</b>
<b>ENg, Mcal/kg<sup>3</sup></b>	<b>1.228</b>	<b>1.278</b>	<b>1.268</b>	<b>1.257</b>
<b>Proteína cruda %</b>	<b>16.0</b>	<b>16.0</b>	<b>16.0</b>	<b>16.0</b>
<b>Calcio %</b>	<b>0.75</b>	<b>0.81</b>	<b>0.86</b>	<b>0.92</b>
<b>Fósforo %</b>	<b>0.39</b>	<b>0.38</b>	<b>0.37</b>	<b>0.36</b>
<b>Potasio %</b>	<b>0.69</b>	<b>0.88</b>	<b>1.06</b>	<b>1.25</b>
<b>Azufre %</b>	<b>0.36</b>	<b>0.53</b>	<b>0.71</b>	<b>0.90</b>
<b>Fibra cruda %</b>	<b>6.8</b>	<b>6.8</b>	<b>6.7</b>	<b>6.7</b>

<sup>1</sup>Sorgo: 50% entero y 50% molido.

<sup>2</sup>Mezcla base: Minerales traza, Vitaminas A y E, Lasalocid sódico (30 g/ton) y urea (20.9%).

<sup>3</sup>EN<sub>m</sub>, Energía neta para mantenimiento; EN<sub>g</sub>, Energía neta para ganancia de peso, calculadas usando valores reportados por el NRC (1985),

### **3.5 Análisis de muestras**

Muestras de las raciones ofrecidas y del alimento rechazado fueron secadas en una estufa de aire forzado a 60°C y molidas a través de una malla de 2 mm en un molino Wiley (Thomas-Willey #4, Philadelphia, Pennsylvania) antes de los análisis. Las muestras se analizaron para determinar materia seca (MS) a 105°C, humedad y extracto etéreo (AOAC, 1997). El contenido de cenizas se determinó después de la combustión de las muestras en una mufla a 550°C durante 3 horas.

### **3.6. Colección y análisis del plasma**

Muestras de sangre de cada cordero fueron obtenidas en ayunas, los días 0, 15, 30 y 60 de la fase experimental, mediante punción de la vena yugular usando tubos con vacío, sin coagulante. El coagulo se separó de las muestras de sangre, y se centrifugaron a 2,400 g durante 10 minutos, obteniendo el plasma para el análisis de las concentraciones de enzimas hepáticas. Posteriormente, las muestras fueron congelados a -20°C para su posterior análisis. Las variables hematológicas fueron analizadas mediante un analizador automático Synchron CX9 ACX.

### **3.7. Concentraciones de minerales en hígado**

Al final del experimento los borregos fueron llevados al rastro para su sacrificio en donde fueron colectadas muestras de hígado de los animales sacrificados. Después de su colección, las muestras de hígado fueron congeladas para evaluar el efecto del nivel de melaza en las concentraciones de minerales (Cu, Mo, Fe, Zn y S) en hígado. Estos elementos fueron determinados en hígado mediante el uso de un Espectrómetro de Emisión Óptica Inductiva Acoplada a Plasma (OES-ICP) Perkin Elmer Optima 200DV.

### **3.8. Histopatología**

Otras muestras de hígado, fueron obtenidas del lóbulo derecho de los corderos y fueron sometidas inmediatamente a la acción de un fijador para preservar la forma de las células y tejidos, para ser procesados para técnicas histopatológicas. El fijador empleado rutinariamente en patología es el formol al 10% neutral-solución de formalina tamponada (Fuerzas Armadas Instituto de Patología, 1973). Fijados en formol, los cortes de tejido fueron sistemáticamente procesados, deshidratados en alcoholes de diferentes concentraciones y embebidos en parafina; posteriormente, seccionaron a 5  $\mu\text{m}$ , colocados en portaobjetos de vidrio y teñidos con hematoxilina y eosina (HE), PAS, Ziehl Neelsen y Rhodanine manchas (Fuerzas Armadas, Instituto de Patología, 1973).

### **3.8. Análisis estadístico**

El consumo de materia seca, la ganancia de peso, eficiencia alimenticia, enzimas y minerales en hígado fueron analizados mediante un análisis de varianza por un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial 2 X 4 (dos periodos de alimentación y cuatro niveles de melaza en la ración) por procesos desequilibrados, tomando como covariable los pesos iniciales. Los cuales se resolvieron utilizando técnicas de modelos lineales generales (GLM) (Statistix 9, 2008).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### **4.1. Consumo de MS, ganancia de peso y eficiencia alimenticia**

El peso promedio de los corderos fue de 21.9, 23.3, 21.8 y 22.7 kg para los tratamientos con 0, 6, 12 y 18% de melaza, respectivamente. No se observó diferencia significativa entre tratamientos (EE = 1.32; efecto lineal,  $P = 0.86$ ; efecto cuadrático,  $P = 0.86$ ).

En la Figura 1 se presentan los consumos de MS, las ganancias diarias de peso y las eficiencias alimenticias de corderos consumiendo raciones con cuatro niveles de melaza, durante el período experimental que duró 60 días. El consumo de MS fue de 0.998, 1.004, 0.971 y 1.028 kg/día para 0, 6, 12 y 18% de melaza en la ración, no notándose efecto ( $P > 0.05$ ) del nivel de melaza en el consumo de MS.

La ganancia diaria de peso (GDP) no varió ( $P > 0.10$ ) con un aumento en la inclusión de melaza en el alimento. La GDP fue de 0.236, 0.247, 0.220 y 0.238 kg/día para corderos consumiendo raciones con 0, 6, 12 y 18% de melaza.

La eficiencia alimenticia (EA) no fue afectada ( $P > 0.10$ ) por el nivel de melaza en la ración. La EA fue de 4.236, 4.101, 4.611 y 4.385 kg/día para 0, 6, 12 y 18% de melaza en la ración.

**Cuadro 4. Consumo, ganancia de peso y eficiencia alimenticia de corderos  
consumiendo raciones con varios niveles de melaza.**

Enzima	Melaza (%)				EE	P1	
	0	6	12	18		L	C
Consumo de MS, kg/día	0.998	1.004	0.971	1.028	0.061	0.836	0.677
Ganancia diaria de peso, g/día	0.236	0.247	0.220	0.238	0.021	0.199	0.630
Eficiencia alimenticia, g/g	4.236	4.101	4.611	4.385	0.296	0.480	0.879

<sup>1</sup> Probabilidad P, Lineal, L; Cuadrático, Q.

## 4.2 Concentración de minerales en hígado

En el Cuadro 2 se presenta el efecto del nivel de melaza en la concentración de varios macro-minerales en hígado. No se observó un efecto del nivel de melaza en las concentraciones de azufre, magnesio, sodio, calcio y fósforo. Con un aumento en el contenido de melaza en la ración, se observó un efecto cuadrático ( $P < 0.05$ ) en la concentración de potasio en hígado.

Las concentraciones de minerales traza en hígado de corderos que consumieron las raciones con varios niveles de melaza se presentan en el Cuadro 3. No se obtuvo un efecto del nivel de melaza en las concentraciones de Mn o Cu. Aunque la concentración de Fe en hígado tendió a aumentar de 427 a 572 ppm, este incremento no fue significativo ( $P > 0.05$ ).

La concentración de Zn en hígado se redujo ( $P < 0.01$ ) de 199 a 116 ppm con un aumento en el nivel observándose un efecto cuadrático ( $P < 0.05$ ) en la concentración de este elemento con un aumento en el nivel de melaza en la ración (Figura 1).

La concentración de Cu en hígado tendió a ser afectada ( $P > 0.05$ ) con un aumento de melaza en la ración de los corderos. Las concentraciones se redujeron de 742 a 416 ppm conforme aumento el nivel de melaza de 0 a 18% en la dieta.



**Cuadro 5. Macro-minerales en hígado de corderos consumiendo varios niveles de melaza.**

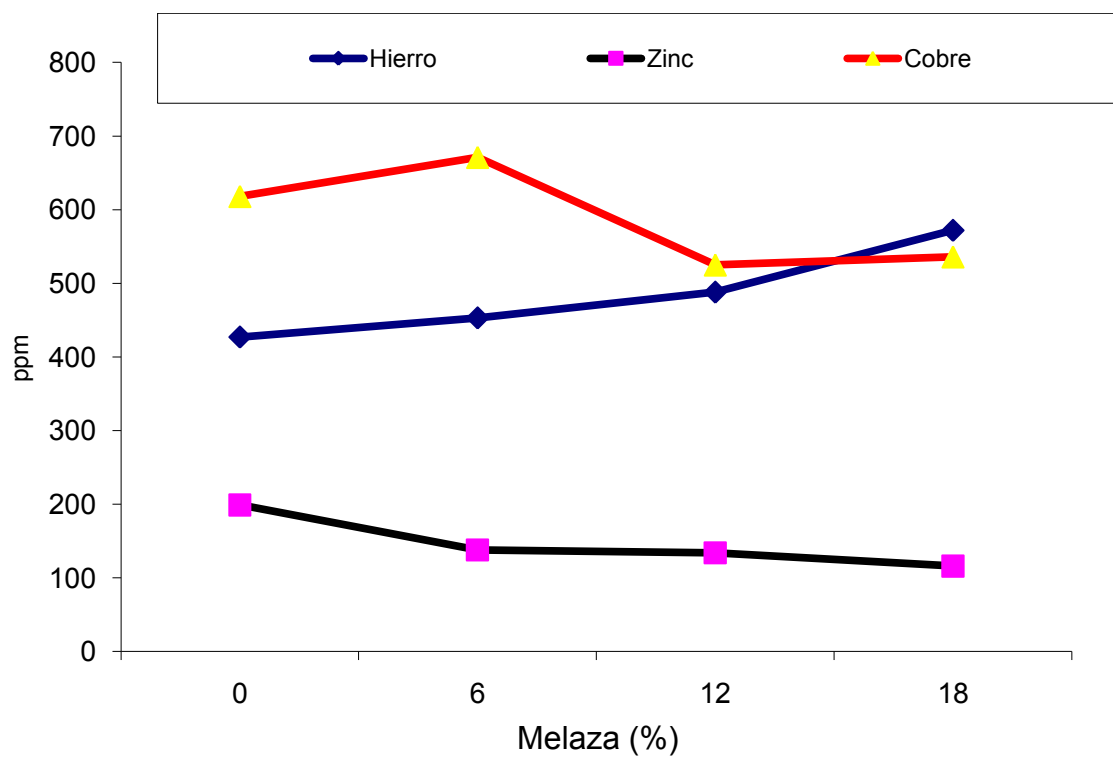
Elemento	Melaza (%)				EE	P <sup>1</sup>	
	0	6	12	18		L	Q
Azufre	4876	4247	4519	4552	240.3	0.525	0.187
Magnesio	454	414	416	401	25.9	0.199	0.630
Sodio	1986	1447	1760	1621	166.3	0.150	0.105
Potasio	6447	4858	6164	6444	366.1	0.440	0.021
Calcio	552	471	553	602	63.2	0.424	0.323
<b>Fósforo</b>	<b>8563</b>	<b>7782</b>	<b>7749</b>	<b>8120</b>	<b>556.6</b>	<b>0.592</b>	<b>0.316</b>

<sup>1</sup> Probabilidad P, Lineal, L; Cuadrático, Q.

**Cuadro 6. Minerales traza en hígado de corderos consumiendo varios niveles de melaza.**

Elemento	Melaza (%)				EE	P <sup>1</sup>	
	0	6	12	18		L	Q
Manganeso	22.0	17.4	20.3	19.4	1.46	0.460	0.225
Hierro	427	453	488	572	78.2	0.197	0.712
Cobre	618	671	525	536	133.1	0.518	0.876
Zinc	199	138	134	116	17.4	0.005	0.240
Molibdeno	0.71	0.49	0.41	0.44	0.05	0.001	0.016

<sup>1</sup> Probabilidad P, Lineal, L; Cuadrático, Q.



**Figura 1. Concentraciones de hierro, zinc y cobre en hígado de corderos consumiendo raciones con cuatro niveles de melaza.**

### 4.3. Concentraciones de enzimas en hígado

Las concentraciones de las enzimas hepáticas (como indicadores de daño hepático) en respuesta a varios niveles de melaza en la ración de los corderos se presenta en la Tabla 6. Las enzimas analizadas fueron alanina aminotransferasa (TGP/ALT), aspartato aminotransferasa (TGO/AST), fosfatasa alcalina (FA), creatinina cinasa (CK) y lactato deshidrogenasa (LDH). Un aumento en el nivel de melaza tendió a reducir linealmente las concentraciones de TGP/ALT ( $P < 0.07$ ) y de LDH ( $P < 0.10$ ). Otras enzimas cuya actividad se redujo significativamente con un aumento en el contenido de melaza en la ración fueron TGO/AST ( $P < 0.01$ ), FA ( $P < 0.01$ ) y CK ( $P < 0.03$ ).

Sólo TGO (AST) fue notablemente elevada en los controles, comportándose cuadráticamente ( $P < 0.02$ ) en relación a un aumento en el nivel de melaza en la ración. Con la inclusión de melaza, la TGO disminuyó (98.8-121.9 u/L) en relación con los controles (227.8 u/L). Los corderos de los tratamientos con melaza tuvieron una concentración de TGP/ALT inferior al rango normal (15-44 u/L), mientras que la LDH estuvo dentro de los rangos sugeridos como normales (83-476 u/L). De manera similar, las concentraciones de FA obtenidas fueron notablemente superiores (284.6 a 374.0 u/L) a el rango de valores normales sugeridos para esta enzima (27-156 u/L). La concentración de CK en sangre de los corderos fue superior para los controles (197.7 u/L) y un bajo (6%) nivel de melaza (183.7 u/L) en comparación con corderos

consumiendo 12% (89.1 u/L) y 18% (104.6 u/L) de melaza. El rango de concentración normal de esta enzima varía de 7.7 a 101 u/L.

**Cuadro 7. Concentración de enzimas hepáticas (u/L) de corderos consumiendo varios niveles de melaza.**

Enzima	Melaza (%)				EE	P <sup>1</sup>	
	0	6	12	18		L	Q
TGP/ALT (UI/L) <sup>2</sup>	15.4	13.9	13.1	13.6	0.77	0.07	0.20
TGO/AST <sup>3</sup>	227.8	117.2	98.8	121.9	27.2	0.01	0.02
FA <sup>4</sup>	374.0	323.6	260.0	284.6	25.8	0.01	0.15
CK <sup>5</sup>	197.7	183.7	89.1	104.6	38.1	0.03	0.70
LDH <sup>6</sup>	472.2	364.9	353.0	360.8	45.2	0.10	0.21

<sup>1</sup> Probabilidad P, Lineal, L; Cuadrático, Q.

<sup>2</sup> Alanina aminotransferasa.

<sup>3</sup> Aspartato aminotransferasa

<sup>4</sup> Fosfatasa alcalina

<sup>5</sup> Creatinina cinasa

<sup>6</sup> Lactato deshidrogenasa

La concentración de urea fue mayor ( $P < 0.001$ ) en los corderos que consumieron raciones con 12 y 18 % de melaza (52.1 - 50.2 mg/L) que los que consumieron la ración con 0 y 6 % (39.1 - 38.2 mg/L) respectivamente, como se observa en el cuadro 9.

#### **4.4. Histopatología del hígado**

Las siguientes lesiones en el hígado fueron observadas en todos los corderos, incluyendo en los controles:

- (1) Múltiples focos de agregados de neutrófilos, de tamaño variable fueron evidentes al azar en el parénquima hepático (Figura 1). Sinusoides aparecieron distorsionados y los cordones de hepatocitos se observaron pobremente organizados. Numerosos hepatocitos tuvieron diferentes estadios de cambios degenerativos (inflamación y cambios grasos) y ocasionalmente evidencias de necrosis (picnosis, Cariolisis, y Cariorrexis) (Figura 1).
- (2) Más aun, se observaron hepatocitos difusamente esparcidos que fueron evidentes durante la apoptosis, y ocasionalmente en la mitosis (Figura 2). La presencia de Cariomegalia y citomegalia de los hepatocitos fue común (Figura 2).

- (3) Dos cambios interesantes se observaron también en los hepatocitos, inclusiones intranucleares que resultaron negativos a la tinción de Ziehl Neelsen (negativos al plomo), y condensaciones citoplásmicas e eosinofílicas homogéneas, similares a los cuerpos de Councilman.
- (4) Por otro lado, los macrófagos fueron de mediana a moderada distensión con pigmentos de hemosiderina en su citoplasma (Figura 3). Otros cambios incluyen la hiperplasia de células ovas (Figura 4). Por otro lado, en los tres casos, los hepatocitos dispersos contenían gránulos finos agregados de color pardo a rojizo en el citoplasma cuando fueron teñidos con Rhodanine (cobre-positivos) (Figura 5).

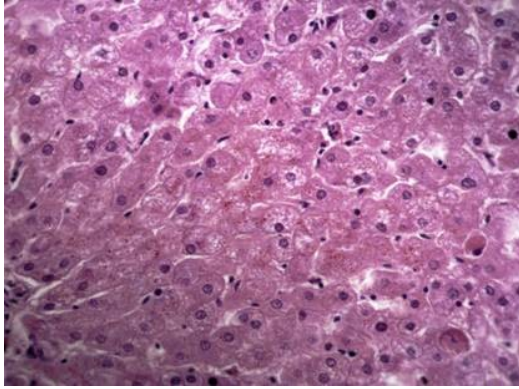
**Cuadro 8. Cambios histopatológicos en hígados de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza.**

<b>Melaza</b>	<b>Cambios degenerativos (hepatocitos)</b>	<b>Conglomerados de PMNs</b>	<b>Apoptosis</b>	<b>Citomegalia/Caromegalia</b>	<b>Mitosis</b>
(%)	(Figura 1)	(Figura 2)	(Figura 3)	(Figura 4)	(Figura 5)
<b>0</b>	+	++	+	++	++
<b>0</b>	++	+	++	+	+
<b>0</b>	+	++	+	++	--
<b>0</b>	++	++	+++	+++	+
<b>0</b>	++	++	++	++	++
<b>6</b>	+	++	++	+	+
<b>6</b>	+	+	+	+	+
<b>6</b>	++	+++	++	++	+
<b>6</b>	++	+	+++	+++	++
<b>6</b>	++	+	+	++	+
<b>12</b>	++	++	+	++	+
<b>12</b>	++	++	+	++	+
<b>12</b>	+++	+++	+++	+++	++
<b>12</b>	+	+	++	++	+
<b>12</b>	+	++	+++	+++	+
<b>18</b>	++	+	++	++	++
<b>18</b>	++	+	+	++	--
<b>18</b>	+++	+++	++	+++	+
<b>18</b>	+	++	+++	+++	+
<b>18</b>	++	+++	+++	+++	+

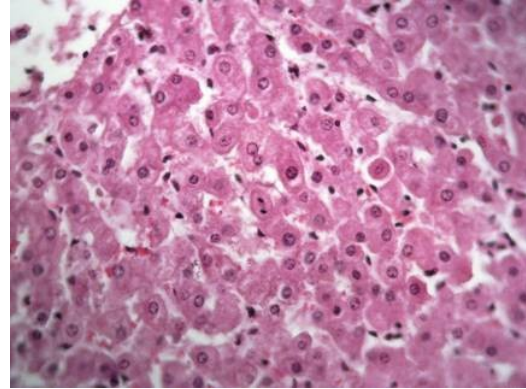


**Cuadro 9. Cambios histopatológicos en hígados de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza.**

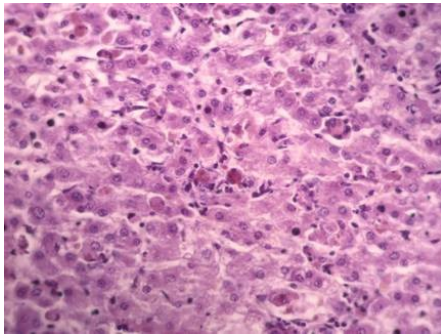
<b>Melaza</b>	<b>Cuerpos de Councilman</b>	<b>Kupffer Activas</b>	<b>Hiperplasia de células ovas</b>	<b>Cuerpos de inclusión intranuclear</b>	<b>Tinción de Rhodanine</b>
<b>%</b>	<b>(Figura 6)</b>	<b>(Figura 7)</b>	<b>(Figura 8)</b>	<b>(Figura 9)</b>	
<b>0</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>0</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>0</b>	<b>++</b>	<b>-</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>0</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>0</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+++</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>6</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>6</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>6</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>6</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>+++</b>	<b>-</b>	<b>++</b>
<b>6</b>	<b>++</b>	<b>-</b>	<b>++</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>12</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>12</b>	<b>+++</b>	<b>++</b>	<b>+++</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>12</b>	<b>++</b>	<b>++</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>+++</b>
<b>12</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>12</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>18</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>18</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>18</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+++</b>
<b>18</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>18</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>-</b>



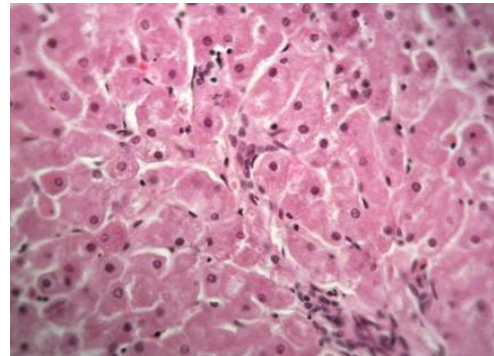
**Figura 2. Histopatología de hígado con 0% de melaza**



**Figura 3. Histopatología de hígado con 6% de melaza**



**Figura 4. Histopatología de hígado con 12% de melaza**



**Figura 5. Histopatología de hígado con 18% de melaza**

**Cuadro 10. Química sanguínea de corderos consumiendo raciones con varios niveles de melaza.**

Variable	Tiempo (días)				EE	Melaza (%)				EE	P <sup>1</sup>		
	0	15	30	45		0	6	12	18		T <sup>2</sup>	M <sup>3</sup>	M*T
Glucosa	54.39 <sup>a</sup>	66.21 <sup>a</sup>	55.56 <sup>a</sup>	54.84 <sup>a</sup>	4.53	77.44 <sup>a</sup>	60.5b	60.7b	37.4c	3.89	0.915	0.001	0.88
Colesterol	43.16 <sup>a</sup>	47.72 <sup>a</sup>	39.62 <sup>a</sup>	38.01 <sup>a</sup>	2.81	32.71b	43.60 <sup>a</sup>	45.55 <sup>a</sup>	46.66 <sup>a</sup>	2.46	0.156	0.003	0.54
Proteínas totales	6.15 <sup>a</sup>	6.42 <sup>a</sup>	6.11 <sup>a</sup>	5.95 <sup>a</sup>	0.26	6.18ab	5.78b	6.09ab	6.61 <sup>a</sup>	0.21	0.951	0.01	0.79
BUN <sup>1</sup>	21.10 <sup>a</sup>	23.35 <sup>a</sup>	19.85 <sup>a</sup>	19.73 <sup>a</sup>	2.38	18.29bc	17.85c	24.35 <sup>a</sup>	23.45 <sup>a</sup>	1.62	0.584	0.001	0.43
Urea sérica	45.2	49.8	42.9	42.2	5.10	39.1b	38.2b	52.1 <sup>a</sup>	50.2 <sup>a</sup>	3.46	0.53	0.001	0.42
Creatinina	0.867 <sup>a</sup>	0.739 <sup>a</sup>	0.760 <sup>a</sup>	0.780 <sup>a</sup>	0.059	0.61c	0.79b	0.86ab	0.90 <sup>a</sup>	0.045	0.599	0.001	0.35
Ácido Úrico	0.365 <sup>a</sup>	0.285 <sup>a</sup>	0.347 <sup>a</sup>	0.334 <sup>a</sup>	0.29	0.262 <sup>a</sup>	0.355 <sup>a</sup>	0.371 <sup>a</sup>	0.343 <sup>a</sup>	0.023	0.892	0.06	0.06
Albumina (A)	1.49 <sup>a</sup>	1.53 <sup>a</sup>	1.45 <sup>a</sup>	1.47 <sup>a</sup>	0.04	1.50ab	1.40b	1.48ab	1.57 <sup>a</sup>	0.03	0.965	0.02	0.81
Globulina (G)	4.67	4.88	4.67	4.48	0.23	4.68ab	4.38b	4.61ab	5.03 <sup>a</sup>	0.18	0.68	0.03	0.80
Relación A:G	0.32ab	0.33 <sup>a</sup>	0.27b	0.32ab	0.01	0.29	0.31	0.31	0.31	0.01	0.03	0.67	0.08
Bilirrubina Dir.	0.09 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.024	0.08 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.03 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.042	0.439	0.42	0.60
Bilirrubina Ind.	0.21	0.24	0.28	0.27	0.03	0.26	0.29	0.22	0.24	0.03	0.45	0.44	0.43
Bilirrubina total	0.29 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.27a	0.31	0.031	0.29 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.23 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.032	0.82	0.22	0.46
TGO	162.36 <sup>a</sup>	121.85 <sup>a</sup>	170.33 <sup>a</sup>	117.49 <sup>a</sup>	49.09	65.22b	125.9ab	202.8 <sup>a</sup>	178.2ab	35.55	0.089	0.04	0.80
TGP	14.29 <sup>a</sup>	14.56 <sup>a</sup>	15.04 <sup>a</sup>	13.73 <sup>a</sup>	1.365	13.97 <sup>a</sup>	15.55 <sup>a</sup>	14.35 <sup>a</sup>	13.74 <sup>a</sup>	0.968	0.859	0.30	0.06
FA	269.55 <sup>a</sup>	350.02 <sup>a</sup>	206.72 <sup>a</sup>	277.63 <sup>a</sup>	43.75	260.73 <sup>a</sup>	355.95 <sup>a</sup>	276.29 <sup>a</sup>	310.95 <sup>a</sup>	33.26	0.537	0.537	0.62
LDH	397.27 <sup>a</sup>	364.66 <sup>a</sup>	363.93 <sup>a</sup>	361.10 <sup>a</sup>	72.65	189.44b	465.25 <sup>a</sup>	435.15 <sup>a</sup>	379.12 <sup>a</sup>	44.81	0.603	0.003	0.82
Amilasa	26.02 <sup>a</sup>	33.61 <sup>a</sup>	21.04 <sup>a</sup>	21.48 <sup>a</sup>	0.645	25.73b	30.90 <sup>a</sup>	25.41b	20.12c	0.608	0.123	0.0001	0.36

<sup>1</sup> Probabilidad P, Lineal, L; Cuadrático, Q. <sup>3</sup> Melaza (M). <sup>2</sup>Tiempo (T).

**Cuadro 11. Rangos hematológicos de la química sanguínea de corderos alimentados con diferentes niveles de Melaza**

Química Sanguínea	Rangos Normales	Melaza (%)			
		0	6	12	18
Glucosa mg/dL	44.0 - 81.2	54.56	46.37	43.1	47
BUN mg/dL	10.3 - 26.0	21.81	15.31	14.8	17.8
Creatinina mg/dL	0.9 - 2.0	0.86	0.598	0.679	0.715
Colesterol mg/dL	44.1 - 90.1	47.43	37.93	33.9	28.3
Prot. Tot. g/dL	5.9 - 7.8	5.86	4.83	5.51	5.025
Albumina g/dL	2.7 - 3.7	1.38	1.21	1.325	1.235
BilTotal mg/dL	0.0 - 0.5	0.2625	0.2062	0.216	0.245
TGO u/L	49.0 - 123.3	242.56	111.12	92.35	108.95
TGP u/L	15-44	14.87	11.81	12.25	11.85
Fosf. Alcal. u/L	26.9 - 156.1	286.56	273.31	219.85	236.65
LDH u/L	83.1 - 475.6	466.18	316.06	326.7	318.65
Amilasa u/L	140.0 - 270	19.62	33.87	15.75	18.2
Sodio g/dL	141.6 - 159.6	87.91	79.65	86.82	57.555
Potasio mmol/L	4.3 - 6.3	3.03	3.08	3.1385	2.0725
Magnesio mmol/L	2.4 - 4.5	1	0.67	0.53	0.445
P04 mg/dL	4.0 - 7.3	4.37	5.275	6.515	4.845
CK u/L	7.7 - 101.0	205.56	117.31	78.75	76.25
Urea sérica mg/dL	10-26	46.68.5	32.762	31.675	38.085
Globulina	3.2 - 5.0	4.47	3.62	4.185	3.79
Rel Alb.Glob.mg/L	.42 - 0.76	0.293	0.275	0.2665	0.27

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN

#### 5.1. Consumo de MS, ganancia de peso y eficiencia alimenticia

El consumo de MS, la ganancia de peso y la eficiencia no fueron afectadas con un aumento en el contenido de melaza en la ración. La melaza reemplazo principalmente al sorgo en la ración. Debido al alto contenido de minerales, la melaza contiene menos energía que el sorgo (NRC, 2007). Sin embargo, aunque hubo una tendencia para que los corderos que consumieran raciones con mas melaza tuvieran una eficiencia alimenticia menos favorable, esta no fue significativamente peor a la de corderos que consumieron raciones con menos melaza y mas sorgo.

Estos datos difieren con los reportados por Fegeros et al (1989) quienes trabajaron con 86 corderos machos de raza Karagouniko destetados con un peso inicial de 13 kg, durante 60 días. Las dietas ofrecidas a libre acceso tenían tres niveles de melaza (0, 8 y 16%), con y sin lasalocida sódica (33 ppm). Reportando que los corderos que consumieron las dietas que contenían lasalocida aumentaron la ganancia diaria de peso en 8.6%, redujeron el consumo 4.8% ( $P < 0.005$ ) y mejoró la conversión alimenticia en 11.8%. La melaza también mejoró la proporción de crecimiento por 16-34% y aumento el consumo del alimento 15-22%. La combinación de lasalocida y melaza mejoró

( $P < 0.001$ ) el consumo de alimento, concluyendo que la melaza y lasalocid mejoran positivamente las características ruminales de la digestión.

Sudana y Leng (1986) reportaron datos diferentes a los del presente estudio, ya que encontraron un incremento ( $P < 0.001$ ) en el consumo de MS en corderos que consumieron urea y melaza comparados con los que no fueron suplementados. Además, los corderos suplementados ganaron entre 333 a 420 g/d, concluyendo que la suplementación de urea y melaza aumentaron la digestibilidad de la paja.

## **5.2 Concentración de minerales en hígado**

Concentraciones de Cu en hígado de  $< 20$  mg/kg en tejido seco o 5 mg/kg en tejido húmedo, además de una concentración de  $< 0.5$  mg Cu/L en plasma, sugieren una deficiencia de este elemento. Altas concentraciones de Fe (Phillippo et al., 1987) y Zn (Davis y Mertz, 1987) también reduce el nivel de Cu en el organismo y pueden aumentar los requerimientos de Cu. También, la concentración de Zn en hígado se redujo significativamente de 199 a 116 ppm, lo que está relacionado con un aumento en las concentración de Fe y Cu en las dietas con mas melaza.

El nivel toxico de Cu en ovinos es mucho menor al observado con caprinos, siendo mayor el requerimiento de cobre de los caprinos (Solaiman et al., 2001). Mientras que el requerimiento de Cu de los ovinos varía de 7 a 11 mg/kg de MS, la máxima concentración tolerable de Cu en la dieta de ovinos es

de 15 mg/kg MS cuando la dieta contiene concentraciones normales de molibdeno (1-2 mg/kg de MS) y de azufre (0.15 a 0.25%), mientras que el máximo nivel tolerable de Cu en la dieta de caprinos ha sido establecido en 40 mg/kg DM (NRC, 2007).

La melaza contiene una alta concentración de minerales como potasio, magnesio, azufre (0.47%), hierro (263 ppm), y cobre (66 ppm). Por otro lado, las concentraciones de manganeso (59 ppm) y zinc (21 ppm) son bajas (NRC, 1996).

El máximo nivel tolerable de hierro en la dieta es de 500 mg/kg de MS (NRC, 2005). La concentración de Fe en hígado tendió a aumentar de 427 a 572 ppm. Ivan et al. (1990) reportaron que altos niveles de hierro en forrajes (549 a 990 mg Fe/kg de MS) puede causar una deficiencia de cobre en corderos y cabritos.

La concentración de Cu en hígado tendió a reducirse de 742 a 416 ppm conforme aumento el nivel de melaza de 0 a 18% en la dieta. El hígado de bovinos normalmente contiene de 200-300 mg Cu/kg MS (Underwood y Suttle, 1999). Concentraciones de cobre > 150 ppm (base húmeda) puede ser un indicador de trastorno hemolítico. Por lo tanto, las concentraciones en hígado de los corderos de este estudio sugieren niveles de 3 a 5 veces mayores a los normales.

Una intoxicación con Cu es caracterizada en dos fases: (1) prehemolítica, cuando el cobre se acumula en el hígado, excediendo en 250 mg Cu/kg (peso húmedo) en caprinos y 150 mg Cu/kg (peso húmedo) en ovinos y (2) crisis hemolítica, cuando el Cu es liberado del hígado en los lisosomas y el nivel de

Cu en sangre aumenta seguido por la hemoglobinuria, hemoglobinemia e ictericia. Niveles elevados de enzimas hepáticas tales como sorbitol dehidrogenasa, gama glutamil-transferasa, y trasaminasa glutamato-oxaloacetato son indicativas de daño al hígado y preceden a la muerte (Solaiman et al., 2001). La fase prehemolítica dura desde varias semanas a más de un año. La segunda fase dura de horas a días (Fuentealba y Aburto, 2003)

La alimentación de los ovinos con hasta 30 mg Cu/kg, ya sea a base de proteinato de Cu o  $\text{CuSO}_4$  no causó toxicidad durante un período de engorda de 73 d. Se informó que durante este período los animales no tuvieron signos de estrés y esta fue la posible razón de no observar signos de toxicidad con Cu y tener un buen desempeño de los ovinos (Eckert et al., 1999). De hecho, Castellanos-Ruelas et al. (2008) alimentaron ovejas Pelibuey durante 90 días con los desechos de aves de corral y se suplementados con S, Mo, Zn como antagonistas del Cu, como fue la intención de este estudio, no observaron signos clínicos de intoxicación con Cu, y tuvieron buenos parámetros productivos. Sin embargo, los estudios patológicos de hígado no se llevaron a cabo en estos estudios. Sería más probable que si los estudios patológicos de hígado se realizan en los anteriores estudios, evidencias de daño hepático serían similares a nuestros resultados. Recordemos que en la intoxicación crónica de Cu en ovinos resulta de la acumulación de Cu en los hepatocitos durante un período de pocas semanas a más de un año, y se considera que tiene dos fases distintas. Durante la acumulación o fase pre-hemolítica, los animales pueden ser clínicamente normales, incluso con concentraciones



hepáticas de cobre de 1000 ppm, debido al aumento compensatorio en la tasa mitótica, produciendo suficientes nuevos hepatocitos para acumular el cobre liberado por las células que mueren (Fuentealba y Aburto, 2003 ). Sin embargo, el daño hepático ocurre durante este período como se observa con el aumento de los niveles de enzimas relacionadas con este trastorno (Fuentealba y Aburto, 2003). La intoxicación crónica con Cu es siempre un riesgo aun con la ingestión de prolongada de Cu, incluso con cantidades de Cu consideradas normales de 12 mg/kg de MS, en los productos alimenticios comerciales (Angus, 2000).

El enorme riesgo de envenenamiento sensibiliza a los nutricionistas para ser mas cautelosos cuando Cu es suplementado la dieta de ovinos. Inclusive, la administración de Cu como suplemento en forma continua en los alimentos para ovinos está prohibida en Europa (Sykes y Russel, 2000).

### **5.3. Concentraciones de enzimas en hígado**

Con la inclusión de melaza, la TGO disminuyó (98.8-121.9 u/L) en relación con los controles (227.8 u/L). En varios estudios se ha mencionado que la enzima TGO (AST) es un valioso indicador de daño hepático durante la fase previa hemolítica de la intoxicación crónica con Cu (Fuentealba y Aburto, 2003; Angus, 2000; Hidiroglou et al., 1984). Un alto nivel de TGO sugiere daño hepático y puede ser debido a una necrosis hepática primaria o secundaria, por cetosis, congestión hepática pasiva o absceso hepático. En este estudio quedó demostrada la interacción que existe entre los elementos minerales que aporta

la melaza en grandes cantidades, los cuales se encuentran en niveles tóxicos. El Fe, en alta concentración en melaza, fue un factor de protección contra los efectos tóxico del Cu de estas raciones.

Sin embargo, otros indicadores también se han promovido como primeras evidencias de daño al hígado, como la FA (AP) o LDH (Fuentealba y Aburto, 2003; Merck, 2007). Altos niveles de FA sugieren daño por necrosis hepática o una metamorfosis grasa del hígado (Merck, 2007).

La concentración de TGP fue de 15.4 u/L, mientras que los corderos de los tratamientos con melaza tuvieron una concentración de TGP inferior (13.1-13.9 u/L) al rango normal (15-44 u/L). La enzima TGP/ALT está normalmente presente en células de hígado y corazón. Esta enzima se libera en sangre cuando hay daño hepático o del corazón (Merck, 2007). En este estudio hay evidencia que la inclusión de melaza en vez de causar una intoxicación por cobre, protege a los corderos.

La concentración de CK en sangre de los corderos se redujo linealmente ( $P < 0.05$ ) conforme aumentó el nivel de melaza en la ración. Mientras que la concentración de CK en los animales control fue dos veces mayor al rango normal de hasta 101 u/L, la inclusión de melaza redujo la concentración de esta enzima a valores aceptables que fluctuaron entre 89 y 105 u/L. La CK se encuentra principalmente en músculo esquelético, músculo cardíaco y el cerebro, la cual se eleva en casos de infarto agudo al miocardio y daño del músculo esquelético. La CK no se eleva en congestión hepática (Merck, 2007).

#### **5.4. Histopatología del hígado**

Las lesiones observadas en este estudio coinciden con las lesiones descritas en el envenenamiento con cobre; por ejemplo, en ratas canela Long-Evans (LEC), un modelo válido para humanos con enfermedad de Wilson (es un trastorno autosómico recesivo que resulta de la acumulación patológica de cobre principalmente en el hígado y el cerebro) los cambios histológicos se caracterizan en la etapa inicial mediante la acumulación multifocal de neutrófilos alrededor de pequeños focos necróticos de los hepatocitos. Cariomegalia hepatocelular (cambio poliploide), esteatosis, un gran número de cuerpos Councilman (órganos hialinos, también llamados cuerpos Mallory en algunos textos), mitosis de hepatocitos, y la apoptosis. (Aburto et al., 2001; Irani et al., 2001). Después de esta etapa, las ratas sobrevivientes desarrollar hepatitis crónica, colangiofibrosis, preneoplásicas focos y nódulos, y carcinomas hepatocelulares (Aburto et al., 2001; Irani et al., 2001). En nuestro estudio todos los cambios considerados en la etapa inicial se identificaron.

La demostación Histoquímica del cobre se demuestra con la confianza de la tinción Rhodanine que es altamente específica (Schultheiss et al., 2002;). Se ha demostrado en estudios con ratas que el cobre se acumula preferentemente en hepatocitos y se distribuye difusamente a través de todo el citoplasma. El cobre se acumula en prácticamente todos los hepatocitos en todo el lóbulo hepático, pero muestra una tendencia a localizarse en las zonas periportales (Aburto et al., 2001). La intoxicación con Cu en nuestro estudio se demostró en

solamente tres casos, tal vez porque la cantidad de cobre fue todavía baja, y pasó inadvertida en otros casos, pero las lesiones eran evidentes.

El mecanismo por el cual el exceso de Cu induce daño hepatocelular todavía no está claro. La peroxidación lipídica ha sido postulada como el mecanismo de toxicidad con Cu (Aburto et al., 2001). La peroxidación lipídica (LPO) inducida por aductos etheno- ADN en ADN nuclear y mitocondrial (Nair et al., 2005). Por lo tanto, la apoptosis es una vía natural de las células afectadas todavía en control de los mecanismos para evitar la mitosis cuando su ADN está dañado, pero finalmente, el control se debilita durante la inflamación y la mitosis de las células alteradas permite que ocurran los tumores hepatocelulares (Choudhury et al., 2003).

La presencia de prominentes remanentes hialinos dentro de las células hepáticas (cuerpos de Mallory) se ha observado también en Fischer ratas cargadas con Cu, ratas Wistar y ovejas (Simpson et al., 2006; Aburto et al., 2001; Irani et al., 2001). Estas alteraciones pueden representar rutas endocítica de la fagocitosis y también ocurre en el hígado de los alcohólicos. Por otra parte, los estudios ultraestructurales han demostrado que los cuerpos Councilman corresponden a cuerpos apoptóticos presentes dentro de los sinusoides, hepatocitos y células de Kupffer (Simpson et al., 2006; Aburto et al., 2001). Cuerpos de inclusión intranuclear no han sido reportados en intoxicación con Cu, pero se ha demostrado que el Cu provoca alteraciones en los núcleos y esto probablemente representa este tipo de daños. Otra posibilidad es la presencia de glucógeno, la reacción PAS resultado débilmente positivo en todos

estos casos y probablemente representan la acumulación de glucógeno debido al alto contenido de energía de la dieta de los animales en este experimento.

El Fe es un componente de la hemoglobina, la mioglobina, y las enzimas del citocromo. Se almacena en el hígado en forma de ferritina o hemosiderina. La ferritina contiene complejos formados de Fe y proteína; la hemosiderina es una molécula mal caracterizada que contiene Fe con con ferritina parcialmente degradada. La hemosiderosis es caracterizada por el almacenamiento de cantidades incrementales de hierro en células de Kupffer del hígado sin aparente daño hepatocelular. La exacta base bioquímica de intoxicación con Fe no está clara, pero se ha sugerido que los radicales libres se forman cuando el Fe libre está presente. El Fe libre puede estar presente si la cantidad de Fe en el hígado excede la capacidad de formar complejos con las proteínas para formar la ferritina.

La sobrecarga de Fe en el hígado a menudo da lugar a fibrosis y cirrosis. El mecanismo de daño al hígado causado por el exceso de Cu en el hígado, probablemente se basa en el daño causado por los radicales libres a las membranas lipídicas, de forma similar a la toxicidad causada por el Fe. Gránulos de Cu fueron evidentes con coloración de HE.

En resumen, un exceso de Cu se observó que tiene una influencia en el metabolismo del Fe en ovinos, produciendo rápidamente un aumento de la concentración plasmática de Fe, probablemente causada por hemólisis crónica compensada. Además, el exceso de Cu causó un aumento dramático en la cantidad de Fe y ferritina en el bazo, posiblemente al interferir con la reutilización de Fe de la ferritina (Theil y Calvert, 1978).

Un nivel de Cu en hígado de hasta 500 ppm, en base seca (DM), se considera normal para ovinos. Si el contenido de Cu en hígado es superior a 800 ppm, hay un grave riesgo de hypercuprosis, con la posibilidad de que el estrés inducido por la crisis hemolítica si no se toman medidas para reducir los niveles de Cu en la dieta de los ovinos (Hidiroglou et al., 1984).

Estudios previos indican que constituyentes en la melaza antagonizan el Cu consumido en la acumulación de Cu en el hígado del ganado. Con el uso de compuestos orgánicos de Cu no se pudo superar este antagonismo. La alimentación con altos niveles de Cu (> 10 ppm en la dieta total, en base DM) en suplementos a base de melaza pudiera ser la solución más sencilla para asegurar la adecuada absorción de cobre (Arthington et al., 2003).

El almacenamiento del Cu se inicia en los hepatocitos centrilobulares, donde la mayor parte del cobre es secuestrado en el lisosoma hepático. Las membranas lisosomales pierden su integridad conforme se acumula el Cu, y los hidrolizados de Cu lisosomal son liberados, irreversiblemente dañando la célula. Cuando la necrosis hepatocelular y la apoptosis ocurren, la pérdida acelerada de hepatocitos lleva a una liberación aguda masiva de Cu causando hemólisis y la acumulación de hemoglobina se arroja en los tubulos renales. Los túbulos renales hemoglobinuricos causan moldes de isquemia y daño directo al epitelio, dando como resultado una necrosis tubular (Hoenerhoff y Williams, 2004).

Un aumento del S en la dieta de 0.8 a 2.5 g de S/kg en la dieta redujo el flujo omasal de Cu soluble del 50% en ovinos (35). En este estudio, un mayor incremento de S en la dieta de hasta 4,4 g/kg tuvo un pequeño efecto adicional en el flujo omasal y la solubilidad del Cu. Los rumiantes son expuestos a altos

consumos de Fe en el agua bebida, en suelo o pastos con un alto contenido de hierro. Una serie de estudios indican que la adición de 250-1200 mg de Fe (como carbonato ferroso)/kg de dieta reduce en gran medida el nivel de Cu en bovinos y ovinos (Spears, 2003).

## **CAPITULO VI**

### **CONCLUSIONES**

La melaza contiene niveles altos de Cu, que pudieran causar toxicidad, sin embargo, una alta concentración de Fe interfiere con la acumulación de Cu en el hígado, aunque se observó daño hepático en todos los tratamientos, inclusive en la ración sin melaza se detectaron signos clínicos de intoxicación.



## CAPITULO VII

### BIBLIOGRAFIA

- Aburto, E. M., A. E. Cribb, I. C. Fuentealba, B. O. Ikede, F. S. Kibenge, and F. Markham. 2001. Morphological and biochemical assessment of the liver response to excess dietary copper in Fischer 344 rats. *Can J Vet Res.* 65(2): 97–103.
- AFIA. 1994. *Feed Manufacturing Technology IV*. American Feed Industry Association, Inc. Arlington, VA.
- AIFA. 1990. *Feed Ingredient Guide II*. Association of American Feed Control Officials Incorporated. American Feed Industry Association, Inc. Arlington, Virginia, USA.
- Ammerman, C. B. 1969. Recent development in cobalt and copper in ruminant nutrition: A review. *J. Dairy Sci.* 53: 1097-1107.
- Ammerman, C. B. and Goodrich, R. D. 1983. Advances in Mineral in Ruminants. *Journal of Animal Science* 57: 519-533.
- Angus, K. W. 2000. Inorganic and organic poisons. In: Martin, W. B.; Aitken, I. D. (Ed.) *Diseases of sheep*. 3ed. Oxford: Blackwell, 368-378.
- AOAC. 1997. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. American Official Analytical Chemists. 16<sup>th</sup> revised edition.
- Arthington, J. D., F. M. Pate and J. W. Spears. 2003. Effect of copper source and level on performance and copper status of cattle consuming molasses-based supplements. *J Anim. Sci.* 81: 1357-1362.

- Arthington, J. D. and F.M. Pate. 2002. Effect of Corn vs molasses-based supplements on trace mineral status in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 80: 2787-2791.
- Baker, D. H. and M. A. Funk. Toxicity and tissue accumulation of copper in chicks fed casein and soy-based diet. *Journal of animal science* vol. 69, 11: 4505-4511
- Bauman, D. E. 1977. Metabolism of dietary components in the rumen ecosystem. Introductory remarks. *Fed. Proc.* 36: 186.
- Britton, R. A. and R. A. Stock. 1987. Acidosis, rate of starch digestion and intake. *Okla. Agric. Exp. Snt. MP-121.* p. 125.
- Bureau, R. and P. R. Stout. 1965. Trans-aconitic acid in range grasses in early spring. *Science* 150:766-767 DOI: 10.1126/science.150.3697.766.
- Castellanos-Ruelas, A. F., J. A. Pacheco-Aguirre, M. L. Murguía-Olmedo, J. G. Rosado-Rubio, D. A. Betancur-Ancona, L. A. Chel-Guerrero. 2008. Effect of antagonistic minerals (Fe, S and Zn) on absorption and metabolism of Cu by sheep fed poultry waste. *Journal of Applied Animal Research.* Volume: 33, 971-2119.
- Chen, J. C. P. 1993. By-products of cane sugar processing. In: J. C. P. Chen and C. C. Chou (Ed.). *Cane sugar Handbook* (12 th. Ed.). pp. 376-431. John Wiley and Sons, New York.
- Choudhury, S., R. Zhang, K. Frenkel, T. Kawamori, F. L. Chung, R. Roy. 2003. Evidence of alterations in base excision repair of oxidative DNA damage during spontaneous hepatocarcinogenesis in Long Evans Cinnamon rats *Cancer Res.* 63 (22): 7704-7.

- Church, D. C. and W. G. Pond. 2004. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Editorial Limusa. Mexico, D, F. 204-233.
- Coleman, R. 1966. The importance of sulfur as a plant nutrient in world crop production. *Soil Sci.* 101:230-239.
- Davis, G. K. and W. Mertz. 1987. Copper. Pp. 301-364 in *Trace Elements in human and Animal Nutrition*, Vol. 1 W. Mertz, ed. New York: Academic Prees.
- Eckert, G. E., L. W. Greene, G. E. Carstens, and W. S. Ramsey. 1999. Copper status of ewes fed increasing amounts of copper from copper sulfate or copper proteinate. *J. Anim. Sci.* 77: 244-249.
- FEDNA. 1999. Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos. C. de Blas, G. G. Mateos y P. G. Rebollar (Eds.). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España, p. 496.
- Fegeros, K., G. Papadopoulos, G. Zervas, E. Ziras and B. Cafantaris. 1989. Effect of lasalocid sodium and molasses on performance of fattening lambs and on rumen liquor and blood parameters. *Department of Animal Nutrition and Feeding Agricultural College of Athens Arch Tierernah* 39: 11:921-31.
- Fimbres, D. H. 2000. Efecto del nivel de fibra en la ración de corderos de engorda, sobre el desempeño, digestión y parámetros ruminales. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. Monterrey, Nuevo León.
- Forbes, J. M., W. Brown, A. G. M. Albana and R. Jones. 1981. The effect of daylength on the growth of lambs. *Anim. Prod.* 32: 23.

- Fuentealba, I. C. and E. M. Aburto.2003. Animal models of copper-associated liver disease. *Comparative Hepatology*, 2:5. <http://www.comparative-hepatology.com/content>.
- Gipp W. F., W. G. Pond, J. Tasker, D. Van Campen, L. Krook and W. J. Visek, 1973. Influence of Level of Dietary Copper on Weight Gain, Hematology and Liver Copper and Iron Storage of Young Pigs. *The Journal of Nutrition*. 103: 713-719.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest 1970. Forage Fiber Analyses. *Agric. Handbook No. 379*. ARS, USDA, Washington, DC.
- Gould, H. D. 1998. Poliencephalomalacia. *J. Anim. Sci.* 76:309-314.
- Hidiroglou, M., D. P. Heaney, K. E. Hartin. 1984. Copper poisoning in a flock of sheep. Copper excretion patterns after treatment with molybdenum and sulfur or penicillamine. *Can Vet J.*;25( 10): 377-382.
- Hoenerhoff, M. and K. Williams. 2004. Copper-associated hepatopathy in a Mexican fruit bat (*Artibeus jamaicensis*) and establishment of a reference range for hepatic copper in bats *J Vet Diagn Invest* 16:590–593.
- Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: From basis to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852.
- INEGI. 2007. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- Irani, A. N., H. Malhi, S. Slehria, G. R. Gorla, I. Volenberg, M. L. Schilsky, S. Gupta. 2001. Correction of liver disease following transplantation of normal rat hepatocytes into Long-Evans Cinnamon rats modeling Wilson's disease. *Mol Ther.* 3 (3): 302-309.

- Ivan, M., J. G. Proulx, R. Morales, H. C. V. Codagnone and M. de S. Dayrell. 1990. Copper accumulation in the liver of sheep and cattle fed diets supplemented with copper sulfate or copper chloride. *Can. J. Anim. Sci.* 70: 727.
- Kawas, J. R. 2002. Engorda de corderos en corral. Seminario de Postgrado. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín, N.L.
- Kawas, J. R., J. L. Luevano and R. de la Cruz. 1991b. Effect of varying structural and nonstructural carbohydrate components in diets of pelibuey sheep on intake, digestión and rumination. Hair Sheep Research Symposium, University of the Virgin Islands, St.Croix, U.S. Virgin Islands.
- Kawas, J. R., J. Lopez, D. L. Danelon and C. D. Lu. 1991a. Influence of forego-to-concentrate rations on intake, digestibility, chewing and milk production of dairy goats. *Small Ruminant Research* 4:11.
- Kawas, J. R., N. A. Jorgensen and C. D. Lu. 1990. Influence of alfalfa maturity on intake and site of nutrient digestion in sheep. *J. Anim. Sci.* 68:4376.
- Luna, L. 1968. *Manual of Histological Staining Methods*, 3rd Ed., Ed: New York: McGraw Hill Publications.
- Martin, W. E., and T. E. Walker. 1966. Sulfur requirement and fertilization of pasture and forage crops. *Soil. Sci.* 101:248-257.
- Mason, J. 1981. Molybdenum-copper antagonim in ruminants: A review of the chemical basis. *Ir. Vet. J.* 35:221-229.
- Mason, J. 1986. Thiomolybdates: Mediators of molybdenum toxicity and enzyme inhibitors. *Toxicology* 42:99-109.

- Mason, J. 1990. The biochemical pathogenesis of molybdenum induced copper deficiency syndromes in ruminants: Towards the final chapter. *Ir. Vet. J.* 43:18-22.
- Matrone, G. 1970. Studies on copper-molybdenum-sulphate interrelationships. En: *Trace Element Metabolism in Animals. Proceedings of WAAP/IBP International Symposium.* Mills, C.F. (Ed). E&S Livingstone. Edimburgo y Londres, Gran Bretaña. pp: 354-362.
- Merck & CO.INC 2007. *El manual Merck de veterinaria 5ta Edición en Español.* España. Ed. Oceano /Centrum.
- Mills, C. F. 1987. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. *J. Anim Sci.* 65:1702-1711.
- Moorhead, T. G. 1994. Molasses Handling. In: *Feed Manufacturing Technology IV.* Edited by Robert R. McElhiney. Kansas State University-American Feed Industry Association. Inc. (AFIA).
- Newton, G. L., J. P. Fontenot, R. E. Tucker and C. E. Polan. 1972. Effects of high dietary potassium intake on the metabolism of magnesium by sheep. *Journal of Anim. Sci.* 35: 440-445.
- NRC, 2007 *Nutrient Requirements of small ruminants; sheep, goats, cervids, and new world camelids.* National Academy Press. Sixth revised edition. Washington D. C.
- NRC. 1985. *Nutrient Requirements of Sheep.* National Academy Press. Sixth revised edition. Washington D. C.
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle.* National Academy Press. Seventh revised edition Washington, D.C.

- Osbourne, D. F., R. A. Terry, M. C. Spooner, and R. M. Tetlow. 1981. Use of processing to explore the factors affecting the digestion of forage cellwalls. Anita. Feed Sci. Technol. 6:387.
- Phillippo, M., W. R. Humphries, and P. H. Garhtwaite. 1987a. The effect of dietary molybdenum an iron on cooper status and groeth in cattle. J. Agric. Sci. Camb. 109: 315 – 320.
- Pond, W. G. and J. H. Maner. 1974. Swine production in temperate and tropical environments. W. H. Freeman and Co. San Francisco pp 646.
- Preston, T. R. 1982. Nutritional limitations associated with the feeding of forages. J. Anim. Sci. 54:877-884.
- Rechcigl, J. E. 1991. Sulphur fertilization improves bahiagrass pastures. Better Crops Plant Food 75:22-24.
- Rechcigl, J. E., G. G. Payne, and R. J. Stephenson. 1989. Influence of sulfur and nitrogen on bahiagrass. In:Proc. 16<sup>th</sup> Int. Grassland Congr., Nice, France.pp 27-28.
- Robles, R. S. 1985. Cultivo del sorgo (grano y/o forage). Produccion de granos y forrajes . Ed. Sevilla. pp.141-145.**
- Sager, R. L., D. W. Hamar, and D. H. Gould. 1990. Clinical and biochemical alterations in calves with nutritionally-induced polioencephalomalacia. Am. J. Vet. Res. 51:1969.
- Schultheiss, P. C.,L. Cathy, D. Bedwell, W. Hamar, J. Martin J. Fettman. 2002. Canine liver iron, copper, and zinc concentrations and association with histologic lesions J Vet Diagn Invest 14:396–402.

- Simpson, D. M., A. Mobasher, S. Haywood, R. J. Beynon. 2006. A proteomics study of the response of North Ronaldsay sheep to copper challenge. BMC Vet Res. 2006 Dec 27; 2: 36.
- Smith, H. A., T. C. Jones, and R. D. Hunt. 1983. Veterinary Pathology 4<sup>o</sup> ed. Philadelphia Lea & Febirger; 1983.
- Smith, R. A. 1998. Impact of disease on feedlot performance: A Review. J. Anim. Sci. 76: 272-274.
- Solaiman, S. G., M. A. Maloney, M. A. Qureshi, G. Davis, and G.D'Andrea. 2001. Effects of high copper supplements on performance, health, plasma copper, and enzymes in goats. Small Rumin. Res. 41:127–139.
- Spears, J. W., J. D. Arthington, and F. M. Pate. 2003. Effect of copper source and level on performance and copper status of cattle consuming molasses based supplements. J. Anim. Sci. 81, 1357-1362.
- Statistix 9, 2008 Analytical Software. User's Manual. Tallahassee FL, USA.
- Sudana I B and Leng R A 1986 Effects of supplementing wheat straw with urea or a urea-molasses block and/or cotton seed meal, in intake and liveweight change of lambs. Animal Feed Science and Technology 15:16-35.
- Suttle, N. F. 1974. Effects of organic and inorganic sulphur on the availability of diet copper to sheep. Br. J. Nutr. 32:559-568.
- Suttle, N. F. 1991. The interactions between copper, Mo, and sulphur in ruminant nutrition. Annu. Rev. Nutr. 11:121-140.



- Sykes, A. R., A. J. F. Russel. 2000. Deficiencies of macro-elements in mineral metabolism. En: Diseases of sheep. W.B. Martin and I.D. Aitken (ed). 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 225-238.
- Theil, E. C. and K. T. Calvert.1978. The effect of copper excess on iron metabolism in sheep. *Biochem J.* 170 (1): 137-43.
- Underwood E. J. and Suttle N. F. 2001 *The Mineral nutrition off livestock.* 3<sup>a</sup> ed. CABI International Wallingford, Oxford, UK.
- Underwood, E. J. and N. F. Suttle, 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock.* 3er edición. CAB International, Wallingford. Londres. 600.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant.* Second edition. Cornell University. Cornell University Press.
- Whitehead, D.C. 2000. *Nutrient Elements in Grassland Soil-plant-animal Relationships.* CABI Publishing. Wallingford. U.K. 360p.