

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA



EFFECTO DEL NIVEL DE COLINA PROTEGIDA DEL RUMEN EN EL DESEMPEÑO
Y CARACTERISTICAS DE LA CANAL DE CORDEROS DE ENGORDA

TESIS

QUE PRESENTA

ING. LUIS ALBERTO MARTINEZ GALINDO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIA ANIMAL

ESCOBEDO, N.L. MÉXICO

ABRIL 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**EFFECTO DEL NIVEL DE COLINA PROTEGIDA DEL RUMEN EN EL DESEMPEÑO
Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE CORDEROS DE ENGORDA**

TESIS

QUE PRESENTA

ING. LUIS ALBERTO MARTINEZ GALINDO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIA ANIMAL

ESCOBEDO, N.L. MÉXICO

ABRIL 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA



EFFECTO DEL NIVEL DE COLINA PROTEGIDA DEL RUMEN EN EL DESEMPEÑO
Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE CORDEROS DE ENGORDA

Aprobación de tesis por el comité particular de

Ing. Luis Alberto Martínez Galindo

Ph.D. Jorge R Kawas Garza

Director de Tesis

Dr. Héctor Fimbres Durazo

Asesor

Dr. Fernando Garza Cazares

Asesor

Dra. Maria Esther Ortega Cerrilla

Asesor

Dr. Ramón García Castillo

Asesor

AGRADECIMIENTO

Primero que nada, extendo mi más caluroso agradecimiento a mi madre, María Aurora Galindo, por su amor y por el sacrificio que hizo para que yo saliera adelante, y a mi padre Romualdo Martínez, que desde el cielo, sigo contando con su apoyo.

También doy gracias a todos y cada uno de los profesores del **Posgrado Conjunto Agronomía-Veterinaria**, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por todo su apoyo, en especial al Dr. Jorge Kawas, por brindarme esta oportunidad tan importante para mi carrera.

También agradezco a la Universidad Autónoma de Nuevo León, y a las empresas, AQUA Laboratorios, S. A. de C. V., y a MNA de México, S. A. de C. V., que me apoyaron en todo este proceso, y me prestaron sus instalaciones para realizar este trabajo.

Por su confianza y comprensión, muchísimas gracias,

Su amigo Luis Alberto Martínez Galindo

NOMENLATURA

AGNE	Ácidos grasos no esterificados
C	Efecto Cuadrático
CLSTRL	Colesterol
cm	Centímetro
CPR	Colina protegida de la fermentación en el rumen
d	Día
EE	Extracto etéreo
EEM	Error estándar de la media
FDA	Fibra detergente ácido
FDN	Fibra detergente neutro
g	Gramos
GDP	Ganancia diaria de peso
GH	Hormona del crecimiento
INS	Insulina
kg	Kilogramo
L	Efecto Lineal
MS	Materia seca
N	Nitrógeno
NEFA	Ácidos grasos no-esterificados
°C	Grados centígrado
P	Probabilidad
PC	Proteína cruda
TG	Triglicéridos

TIF	Tipo Inspección Federal
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

ÍNDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	5
2.1. Objetivo	6
2.2. Hipótesis.....	7
REVISIÓN DE LITERATURA	8
3.1. Funciones y características de la colina	8
3.2. Síntesis y degradación en el rumen.....	12
3.3. Desempeño en respuesta a la colina protegida.....	14
3.3.1. Vacas lecheras	14
3.3.2. Engorda de bovinos en corral	20
3.3.3. Engorda de corderos en corral.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS	25
4.1. Ubicación e instalaciones	25
4.2. Características de los animales y diseño experimental	25
4.3. Manejo de los animales	25
4.4. Preparación de alimentos y manejo de la alimentación.....	26
4.5. Colección y análisis de muestras de alimento	29
4.6. Características de la canal.....	30
4.7. Análisis de muestras de sangre.....	30
4.8. Análisis estadísticos.....	31
RESULTADOS Y DISCUSION	33
5.1. Desempeño productivo de los corderos.....	33
5.2. Rendimiento y características de la canal.....	36
5.3. Medidas corporales y pesos de órganos viscerales.....	39
5.4. Concentración de triglicéridos y colesterol en suero.....	41
CONCLUSIÓN	44
BIBLIOGRAFIA	45

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición del alimento base usado para preparar las raciones para corderos con varios niveles de colina protegida del rumen (CPR).	26
Cuadro 2. Consumo de materia seca, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida.	32
Cuadro 3. Pesos y rendimiento de las canales caliente y fría de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida.	35
Cuadro 4. Medidas corporales y pesos de órganos viscerales de corderos consumiendo raciones de engorda con varios niveles de colina protegida.	37
Cuadro 5. Concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero sanguíneo de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida.	38

INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Estructura química de la colina y de la fosfatidilcolina.	7
Figura 2.	Las vías metabólicas de la colina y su relación con el ácido fólico y la metionina, como donadores de grupos metilo de las vías de metilación.	7
Figura 3.	Sitios de acción (líneas continuas) de la colina en el metabolismo de los lípidos en la vaca lechera de alta producción.	15

RESUMEN

La colina es un compuesto similar a las vitaminas que tiene varias funciones importantes, entre ellas, como componente de los fosfolípidos. La colina participa importantemente en mantener la integridad de las membranas y participa en la digestión y metabolismo de los lípidos. Debido a que la colina es degradada extensivamente en el rumen, esta debe ser protegida de la degradación ruminal. Varios estudios han demostrado que la colina protegida de la degradación ruminal (CPR) ha mejorado la ganancia de peso del ganado bovino, sin embargo, en un estudio con ovinos, la suplementación de CPR no mejoró ($P > 0.05$) el desempeño. La CPR pudiera haber mejorado el desempeño del ganado bovino, alterando el metabolismo y/o el transporte de lípidos. El objetivo de este estudio fue determinar si la suplementación de CPR en cantidades que pudieran ser económicamente viables, pudieran mejorar el desempeño de corderos de engorda consumiendo una ración alta en grano. Cuarenta corderos machos enteros de cruzas Saint Croix, de 3 a 4 meses de edad (peso aproximado de 20 kg), fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos en un diseño completamente al azar. La prueba de desempeño tuvo una duración de 105 días, 15 días para adaptación de los corderos a los corrales y a las raciones, y 90 días para registrar datos de peso corporal, consumo y ganancia de peso. La CPR no afectó ($P > 0.10$) el consumo de MS, la GDP o la conversión alimenticia de los corderos. El consumo promedio diario de MS fue de 1.031, 1.009, 0.957 y 1.029 kg por cordero para niveles de 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR, respectivamente. La GDP fue de 0.210, 0.221, 0.187 y 0.220 kg/día para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR, respectivamente. Las conversiones alimenticias fueron de 4.946,

4.615, 5.123 y 4.781 para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR, respectivamente. El peso al sacrificio, los pesos de la canal caliente o fría, longitud de las tuberosidades, y los pesos de la piel y los órganos viscerales (hígado, riñón, corazón, pulmón y sangre) no fueron afectados ($P > 0.10$) por la suplementación de CPR. Sin embargo, la suplementación de CPR afectó el grosor de la grasa dorsal ($P < 0.012$) y el área del músculo longissimus ($P < 0.048$), aunque no afectó la grasa del RPC ($P > 0.10$). Una reducción ($P < 0.013$) de la altura a la cruz de 49.0 a 46.4 cm, y una reducción del área del músculo longissimus de 2.065 a 1.826 cm², sugiere un efecto negativo de la suplementación de CPR en el crecimiento de los corderos. La concentración de triglicéridos en suero se redujo ($P < 0.017$) de 21.5 a 9.4 mg/dl, mientras que la concentración de colesterol se redujo ($P < 0.053$) de 50.6 a 43.6 mg/dl con un aumento en la suplementación de CPR de 0 a 0.3% de la ración. Aparentemente, debido a una gran reserva corporal de colina endógena en esta especie, la suplementación de colina no mejoró el desempeño productivo de esta especie.

ABSTRACT

Choline is a compound similar to vitamins that has various important functions, among them, as a component of phospholipids. Choline has an important participation in maintaining membrane integrity and is involved in lipid digestion and metabolism. Since choline is extensively degraded in the rumen, it should be protected from rumen degradation. Various studies have demonstrated that rumen-protected choline (RPC) has improved the average daily weight gain of finishing heifers and steers, however, in a study with sheep, RPC supplementation did not improve ($P > 0.05$) growth performance. Supplementation of RPC may have improved performance of beef cattle by altering lipid metabolism and/or transport. The objective of this study was to determine if RPC supplementation in quantities that could be economically viable, could improve the growth performance of feedlot lambs fed a high grain diet. Forty intact male Saint Croix lambs, weighing an average of 20 kg, 3 to 4 months of age were randomly assigned to four groups in a completely random design. The growth study lasted 105 days, 15 days for adaptation of lambs to pens and feed, and 90 days for registration of growth data. RPC had no effect ($P > 0.10$) on lamb DM intake, ADG or feed conversion. Average DM intake was 1.031, 1.009, 0.957 and 1.029 kg for lambs supplemented with 0, 0.1, 0.2 and 0.3% RPC, respectively. The ADG of lambs was 0.210, 0.221, 0.187 and 0.220 kg/d, respectively. Feed conversion was 4.946, 4.615, 5.123 and 4.781 kg feed DM, respectively. Slaughter weight, hot and chilled carcass weights and dressing percent, length of tuberosities, and the weights of skin and visceral organs (liver, kidney, heart,

lungs and blood) were not affected ($P > 0.10$) by RPC supplementation. However, RPC supplementation affected 12th rib fat thickness ($P < 0.012$) and the area of the longissimus muscle ($P < 0.048$), although it did not affect the KPH fat ($P > 0.10$). A reduction ($P < 0.013$) of the height to the cross from 49.0 to 46.4 cm, and a reduction of the longissimus muscle area from 2.065 to 1.826 cm², may suggest a negative effect of RPC supplementation on lamb growth. Triglyceride concentration in blood serum was reduced ($P < 0.017$) from 21.5 to 9.4 mg/dl, whereas the cholesterol concentration decreased ($P < 0.053$) from 50.6 to 43.6 mg/dl with an increase in the RPC level in the ration from 0 to 0.3%. Apparently, since there is a large endogenous body reserve of choline in sheep, choline supplementation is not expected to improve the productive performance of this species.

1. INTRODUCCIÓN

La colina no es una vitamina en el sentido tradicional debido a que no participa del sistema enzimático, y se requiere en cantidades de gramos en comparación con las vitaminas que se requieren en cantidades de miligramos (NRC, 2001). En comparación con otras vitaminas hidrosolubles, la colina no tiene ninguna función conocida como coenzima (NRC, 2007). La colina es requerida por muchas especies de animales, incluyendo las ratas (NRC, 1995), aves (NRC, 1994), cerdos (NRC, 1998), corderos pre-rumiantes (2007) y becerros (NRC, 2000; 2001).

La colina tiene tres funciones metabólicas principales como: (1) componente de la fosfatidilcolina, la cual tiene funciones estructurales en las membranas biológicas, y en la utilización de los lípidos de los tejidos; (2) precursor del neurotransmisor acetilcolina; y (3) precursor de la betaina, la cual sirve como precursor de grupos metilos lábiles para las reacciones de metilación, como en los casos de la formación de metionina a partir de homocisteina y creatina a partir de ácido guanidoacético (NRC, 2007). La colina es un compuesto similar a las vitaminas que funciona de varias maneras, principalmente como un fosfolípido, teniendo un papel importante en la integridad de la membrana celular y participando en la digestión y transporte de lípidos (Bindel et al., 2000).

Mucha de la colina que llega a los intestinos de los rumiantes es fosfatidilcolina que contienen los protozoarios (Broad y Dawson, 1976), aunque la defaunación afecta la cantidad de colina disponible en ovinos (Dawson et al., 1981; Hsu et al., 1991). La cantidad de protozoarios en el rumen son bajos en ganado que consumen dietas altas en concentrado debido al bajo pH ruminal (Towne et al.,

1990), y la inclusión de grasa en las dietas de finalización puede reducir o eliminar los protozoarios del rumen (Purser y Moir, 1966; Czerkawski et al., 1975; Ikwuegbu y Sutton, 1982). Por lo tanto, las dietas con un alto nivel de concentrado que contienen grasa, pueden limitar el suministro de colina al intestino delgado del rumiante.

Debido a que la colina que está presente o que se agrega a los alimentos es extensivamente degradada en el rumen (Atkins et al., 1988; Sharma y Erdman, 1989b), esta debe ser protegida de su degradación para que pueda ser de provecho para los rumiantes. La suplementación de colina protegida de la degradación en el rumen (CPR) ha mejorado la producción de vacas lecheras (Sharma y Erdman, 1989a; Erdman y Sharma, 1991; Pinotti et al., 2003) y mejorado la ganancia de peso de vaquillas (Bindel et al., 2000) y novillos (Bryant et al., 1999; Drouillard et al., 1998). Sin embargo, pocos estudios se han llevado a cabo con la inclusión de colina protegida del rumen (CPR) con ovinos en crecimiento (Bryant et al., 1999).

2.1 OBJETIVO

Determinar el efecto del nivel (0, 0.1, 0.2 y 0.3%) de CPR en la ración de corderos en raciones a base de harina de soya y sorgo, sobre el desempeño (ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia) y calidad de la canal. También se pretende determinar el contenido de grasa en varios órganos y tejidos (dorsal, hígado, riñón, pelvis, corazón, mesentérica) y las concentraciones de ácidos grasos no-esterificados (NEFA), triglicéridos (TG) y colesterol (CLSTRL) para determinar los efectos de la CPR en el metabolismo de la grasa.

2.2 HIPÓTESIS

La CPR puede reducir la acumulación de grasa total (dorsal, abdominal y periférica) en la canal, aumentar la ganancia de peso y mejorar la eficiencia alimenticia de corderos consumiendo dietas a base de sorgo y harina de soya, sin afectar la calidad de la canal.

REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Funciones y características de la colina

La colina es una base de amonio cuaternaria, derivada de la etanolamina por metilación de adenosilmetionina, también conocida como etanolamina, es un componente esencial de las dietas para los mamíferos debido a que se requiere para función normal de las células, la cual, mediante a su síntesis, produce materiales biológicos como la acetilcolina y varios fosfolípidos (Kuksis y Mookerjea, 1978). La colina ha sido clasificada como una de las vitaminas de Complejo-B pero no satisface la definición estándar de una vitamina (McDowell, 1989), la cual debe “ser sintetizada endógenamente y que sea un cofactor de alguna enzima”, a diferencia de otras vitaminas hidrosolubles.

La colina, un nutriente esencial, es un hidróxido trimetilado que se encuentra en tejidos biológicos en forma libre (**Figura 1**). La colina es principalmente encontrada como un componente de las moléculas de grasa conocidas como fosfolípidos. Consecuentemente, la colina tiene tres funciones metabólicas principales: (1) componente de la fosfatidilcolina (lecitina); (2) precursor del neurotransmisor acetilcolina; y (3) precursor de la Betaína. La síntesis de la colina potencialmente consume tres unidades de metionina como donante de grupos metilo (CH₃).

Aunque la mayoría de los animales sintetizan colina, esta debe ser consumida en la dieta debido a que la síntesis *de novo* es inadecuada para mantener la salud. El

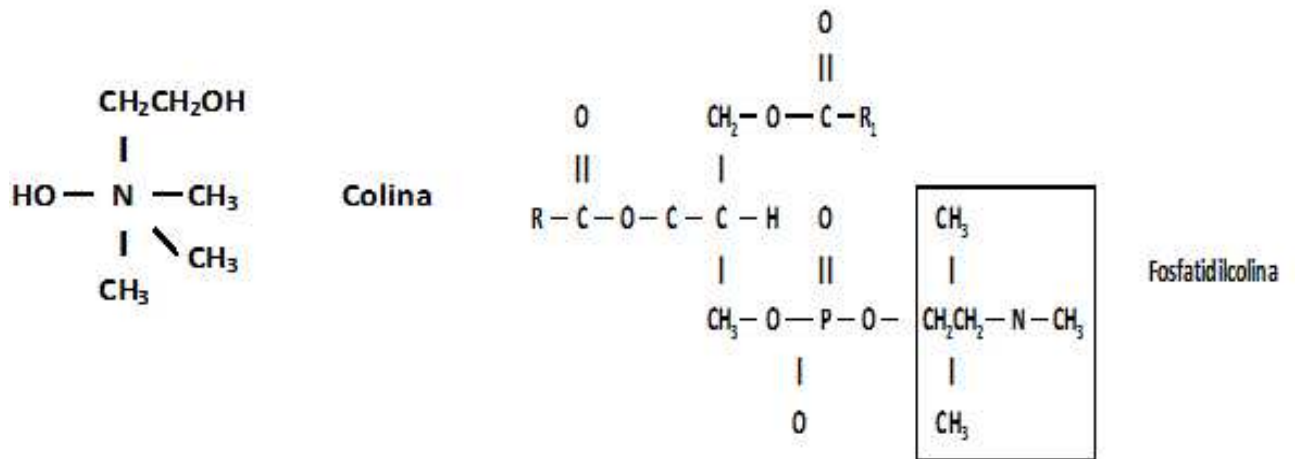


Figura 1. Estructura química de la colina y de la fosfatidilcolina (Donkin, 2011).

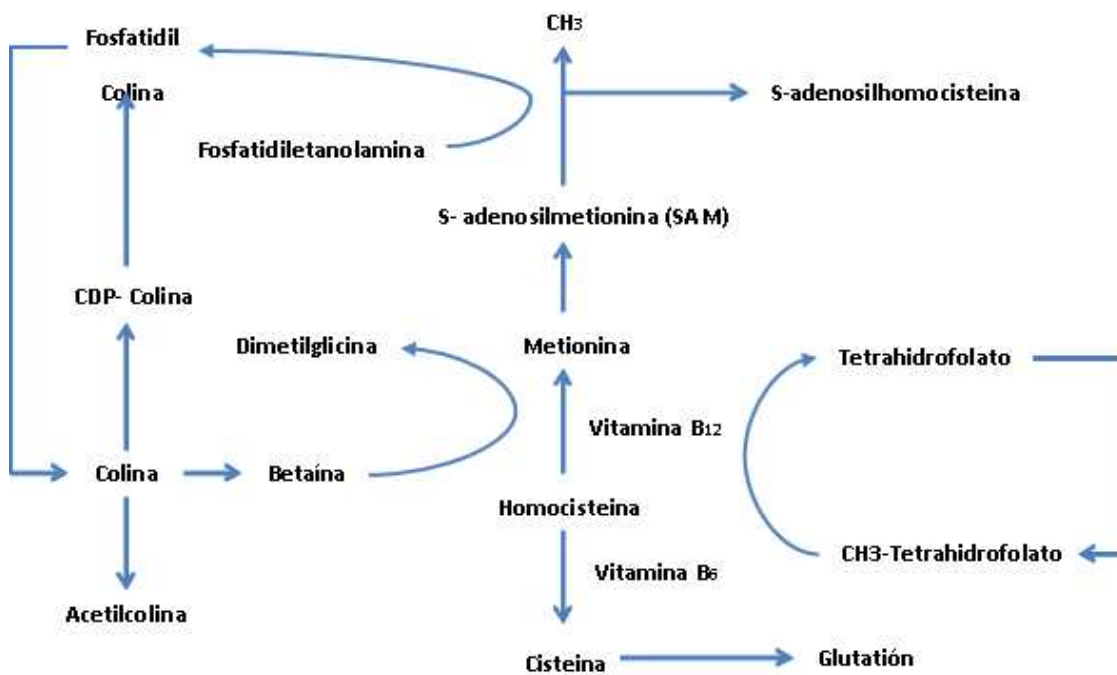


Figura 2. Las vías metabólicas de la colina y su relación con el ácido fólico y la metionina, como donadores de grupos metilo de las vías de metilación (Donkin, 2011).

suministro intestinal de colina no es suficiente para satisfacer las necesidades de los tejidos ya que las poblaciones de microbios en el rumen la degradan rápidamente, y por tal motivo, el requerimiento de colina aumenta (Atkins et al., 1988).

La colina desempeña un papel importante en el metabolismo, especialmente en el transporte de los lípidos (**Figura 2**). Es un agente lipotrópico debido a su capacidad para prevenir o corregir el exceso de deposición de grasa en el hígado, que generalmente aparece como consecuencia de su deficiencia en la dieta. La fosfatidilcolina es el principal fosfolípido de los rumiantes, esencial para la absorción y transporte de lípidos, mantenimiento de las estructuras de la membrana celular, la señalización celular y la síntesis de las lipoproteínas (Zeisel y Holmes-McNary, 2001). El segundo compuesto sintetizado a partir de la colina, la acetilcolina, es un neurotransmisor en el sistema nervioso central y periférico, y crítico en las uniones neuromusculares para las contracciones musculares. La acetilcolina es sintetizada a partir de colina y acetil-CoA en las neuronas. Debido a que la colina es un componente crítico para la síntesis de fosfolípidos y de neurotransmisores, apoya la integridad estructural y las funciones de señalización en las membranas celulares, tiene influencia en la neurotransmisión colinérgica y la cognición, además de ser una fuente importante como donador de grupos metilos lábiles vía la betaína para las reacciones de metilación, como en los casos de la formación de metionina a partir de homocisteína y creatina a partir de ácido guanidoacético (Zeisel y Holmes-McNary, 2001; Erdman, 1992).

El metilo donante (SAM) se sintetiza a partir de metionina y se utiliza para transferir un grupo metilo, en la formación de fosfatidilcolina. Una vez que SAM dona un grupo metilo, se convierte en S-adenosil-homocisteína, la cual se metaboliza a la

homocisteína. La homocisteína se puede convertir a metionina en una reacción que requiere metiltetrahidrofolato (THF) y vitamina B₁₂. Alternativamente, betaína (un metabolito de la colina) se puede utilizar como el donante de grupos metilo para la conversión de homocisteína a metionina. El principal donante de metilos para la regeneración de metionina a partir de homocisteína en los rumiantes es el 5-metiltetrahidrofolato (Xue y Snoswell, 1985a, b).

Sin embargo, en la nutrición de rumiantes, la colina es típicamente vista como un componente no-esencial, aunque haya reportes de solamente el 30% de la colina requerida es proporcionada por el flujo duodenal de colina (Erdman, 1992). Consecuentemente, la mayor parte de la colina requerida, especialmente en vacas lecheras debe ser producida mediante la síntesis *de novo* a través de la metilación secuencial de la fosfatidiletanolamina, con los grupos metilo siendo proporcionados por la S-adenosil-L-metionina (Zeisel y Holmes-McNary, 2001).

Debido a que la síntesis *de novo* puede generar suficientes donadores de metilo para la síntesis de fosfatidilcolina, la presencia de este paso metabólico no significa que un aumento en la disponibilidad en la dieta y la absorción intestinal de colina no es requerida para la óptima salud y metabolismo de la vaca.

La colina, entre otras funciones fisiológicas, evita la acumulación de grasas en el hígado estimulando la eliminación de los triglicéridos mediante su transformación en lecitinas. También participa en procesos de transmetilación en interrelación con el ácido fólico y la vitamina B₁₂ para la formación de metionina a partir de la homocisteína y la creatina (Bondi, 1989).

3.2. Síntesis y degradación en el rumen

Los rumiantes son capaz de sintetizar en el rumen muchas de las vitaminas hidrosolubles, especialmente las del complejo B y vitamina K, en cantidades superiores a las requeridas por los microorganismos del rumen (Kawas et al., 2011).

Los ovinos reciben una cantidad insignificante de colina de la dieta consumida, debido a que la colina de la dieta es casi completamente destruida por la actividad microbiana en el rumen (Neill et al., 1978, 1979; Dawson et al., 1981). Casi toda la colina de las reservas corporales del ovino es de origen endógeno, mientras que en ratas, el 18 al 54% es de origen alimenticio (Dawson et al., 1981). La capacidad del hígado del ovino para sintetizar colina parece ser menor a la del hígado de la rata (Bremer y Greenberg, 1961; Henderson, 1978; Neill et al., 1979), y cálculos han demostrado que la síntesis hepática solamente contribuye aproximadamente 18% de las reservas corporales de colina endógena en ovinos (Robinson et al., 1984). Una producción significativa de colina libre ocurrió en las regiones superior e inferior del cuerpo, y específicamente en el corazón, el cerebro y los músculos de las extremidades posteriores de los ovinos. En general, los resultados muestran una producción significativa de colina en los tejidos extra-hepáticos del ovino, con el músculo esquelético contribuyendo en aproximadamente 60% de la actividad extra-hepática. Consecuentemente, la producción extra-hepática de colina en el ovino, junto con la reutilización de colina biliar, pueden explicar el mantenimiento de la gran reserva corporal de colina endógena en esta especie (Robinson et al., 1987).

Las características propias de la fisiología digestiva de los rumiantes adultos hacen que, prácticamente la totalidad de los alimentos ingeridos o de las sustancias administradas vía oral, se vean expuestas a la acción digestiva ruminal

(principalmente, hidrólisis, bio-hidrogenación y fermentación microbiana) antes de ser digeridos en el abomaso y absorbidos en el intestino (Torre y Caja, 1998).

Aunque la respuesta a la utilización de un determinado nutriente o aditivo debería esperarse que siguiese la ley biológica general de los rendimientos decrecientes, con una fase de aumento (básicamente de tipo lineal) y otra de saturación de la respuesta (de tipo cuadrático), en los rumiantes el proceso se ve claramente modificado por las condiciones fermentativas ruminales (Torre y Caja, 1988).

Resulta así que, en muchos casos, aun elevando las dosis administradas del nutriente o aditivo a valores muy altos, no se consigue un aumento significativo del mismo en sangre o en el intestino, lo que es consecuencia de su degradación ruminal. Para paliar estos inconvenientes se han desarrollado distintos métodos de protección o *by-pass* que permiten que los nutrientes pasen el rumen sin ser alterados (o en pequeña cuantía) y así puedan ser digeridos en el abomaso y absorbidos en el intestino (Torre y Caja, 1998).

La pared del rumen parece ser permeable a algunas vitaminas del complejo B, aunque a efectos prácticos, la absorción ruminal tiene escasa importancia ya que las vitaminas sintetizadas se encuentran en el interior de los cuerpos microbianos (Hungate, 1966) y no estarán disponibles hasta la rotura de su membrana. La mayor parte de la colina ingerida se degrada rápidamente en el rumen, y así, Sharma y Erdman (1989b) mencionan que el cloruro de colina, que es muy higroscópico, se degrada un 97% en escasos minutos. Entre las vitaminas que son ampliamente metabolizadas en el rumen se encuentran, colina, niacina, ácido fólico y riboflavina (Santschi et al., 2005). La mayor parte de la investigación con vitaminas

encapsuladas se han centrado en la colina, en donde se han publicado varios artículos de CPR en ganado lechero, dando un efecto positivo en la reproducción, la función hepática y la producción de leche (Oelrichs et al., 2004; Piepenbrink y Overton, 2003; Pinotti et al., 2002).

3.3. Desempeño en respuesta a la colina protegida

3.3.1. Vacas lecheras

Las vacas lecheras de alta producción no tienen la capacidad de satisfacer sus requerimientos de energía durante la transición del período seco a la vaca recién parida. La demanda por glucosa (energía) aumenta 2.5 veces del periodo pre-parto al post-parto, con la mayor deficiencia ocurriendo una o dos semanas después de parir. Conforme la vaca comienza a utilizar una gran cantidad de energía para la producción de leche, la vaca no tiene capacidad de consumir suficiente materia seca para satisfacer su requerimiento de energía (NRC, 2001; Overton y Waldron, 2004).

En el hígado, la síntesis de glucosa permite la disponibilidad de energía para los procesos de producción de leche y la reproducción. La acumulación de grasa en el hígado durante el periodo de transición inhibe la producción de glucosa en el hígado. Consecuentemente, las vacas lecheras con una función hepática saludable presentan menos padecimientos relacionados con el metabolismo de la energía que aquellas vacas con un hígado infiltrado con grasa. Sin embargo, la investigación ha demostrado que el impacto es mayor a solamente la enfermedad, y que el mantenimiento de un nivel bajo de grasa en el hígado, y consecuentemente, mejor función hepática, puede impactar positivamente en la producción de leche y la fertilidad (NRC, 2001; Overton y Waldron, 2004).

Estudios de investigación con vacas lecheras durante el periodo de transición han demostrado que un aumento en la colina disponible para su absorción en el intestino, mejora la función hepática. Suplementando la vaca durante la transición con CPR (colina encapsulada) no solamente redujo la grasa en el hígado después del parto de ligeramente a moderadamente, aumentando el consumo de MS, la producción de leche, perdiendo menos condición corporal y mejorando la tasa de concepción al primer servicio, en comparación con vacas que no fueron suplementadas. Cuando los parámetros en sangre que están relacionados con el metabolismo de la energía fueron examinados, las vacas que consumieron la CPR tuvieron mayores niveles de glucosa y menor concentración de cuerpos cetónicos y ácidos grasos no esterificados (AGNE; NEFA por sus siglas en inglés). Estos resultados sugieren que las vacas que consumieron CPR tuvieron una mayor capacidad de equilibrar su metabolismo energético al inicio de la lactancia para una mejor salud, producción de leche y fertilidad (Overton y Waldron, 2004).

La conversión de glucosa a lactosa es principalmente importante para la producción del leche. La glucosa se requiere para muchas funciones metabólicas, siendo el hígado el que genera glucosa a partir de ácido propiónico y aminoácidos. Conforme aumentan los niveles de grasa en el hígado, la capacidad del hígado de sintetizar glucosa disminuye, siendo importante para un metabolismo eficiente, un bajo nivel de grasa hepática durante la transición. Esto se debe a que el hígado es la fuente de glucosa predominante, ya que muy poca glucosa es absorbida desde el intestino delgado. La habilidad del hígado de coordinar el metabolismo energético y generar glucosa es una de las claves determinantes para una alta y persistente producción de leche, y una eficiente reproducción, considerando ciclicidad y

concepción. Debido a que las vacas tienen una reserva mínima de glucosa, sus organismos pasan por muchos cambios biológicos durante el inicio de la lactancia en respuesta a una mayor demanda de glucosa. El hígado aumenta dramáticamente la utilización de glucosa y los tejidos periféricos reducen su utilización de glucosa como fuente energética. Consecuentemente, la estrategia para una transición exitosa es satisfacer la demanda de glucosa de la vaca lechera durante la transición (Overton y Waldron, 2004).

Además de producir glucosa, el hígado metaboliza grasa, siendo los ácidos grasos no esterificados (AGNE) metabolizados después de ser movilizados desde el tejido adiposo en respuesta a un balance energético negativo de la vaca de alta producción (**Figura 3**). La lipólisis del tejido adiposo resulta en la liberación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en sangre. Los NEFA extraídos por el hígado son esterificados a triglicéridos (TG) o parcialmente oxidados a cetonas para proporcionar energía (ATP) para el metabolismo hepático. Las cetonas son liberadas en la sangre y oxidadas adicionalmente por el músculo. Por otra parte, los triacilglicéridos del hígado pueden ser almacenados generando el hígado graso o empaquetados en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y exportadas en sangre. La colina puede afectar la síntesis de los componentes de apolipoproteína del VLDL para aumentar la exportación de TG desde el hígado o el metabolismo de cetonas por los tejidos periféricos.

Los AGNE son utilizados por el hígado para generar energía para los procesos metabólicos y para la síntesis de grasa en leche. Los AGNE son una fuente de energía de aproximadamente 40% de la grasa en leche durante los primeros 30 a

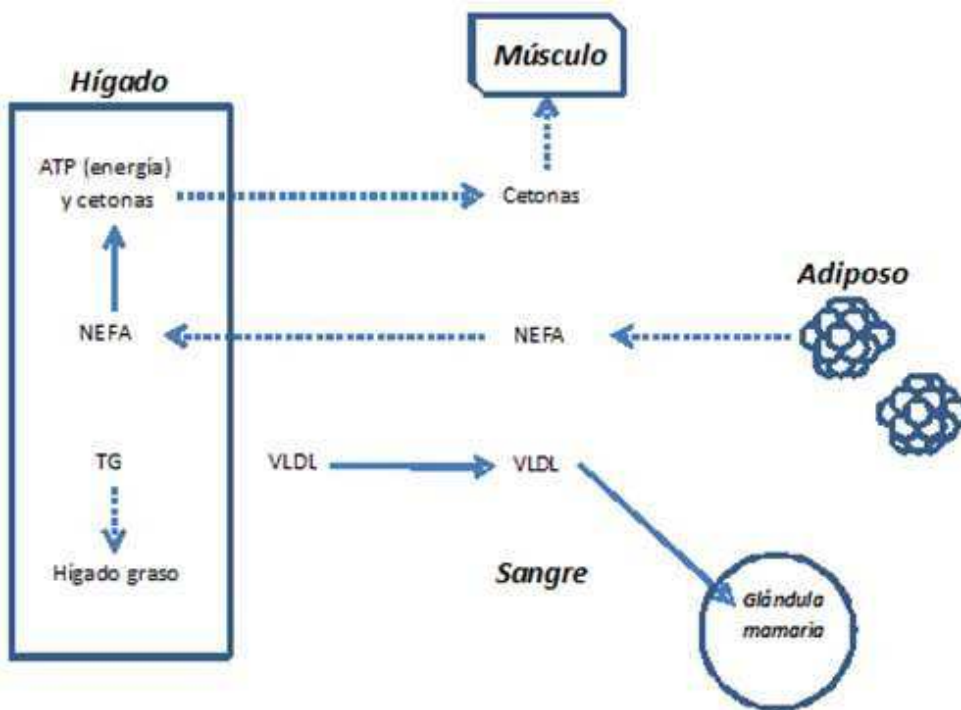


Figura 3. Sitios de acción (líneas continuas) de la colina en el metabolismo de los lípidos en la vaca lechera de alta producción (Adaptado de Overtone y Waldron 2004)

50 días de la lactancia. Sin embargo, los AGNE no pueden reemplazar ciertas funciones de la glucosa, ni pueden ser usados para sintetizar glucosa. La cantidad de grasa que el hígado puede procesar está limitada a ciertas enzimas y pasos metabólicos. El destino de los AGNE incluye la oxidación completa para aporte de energía, la oxidación parcial con la liberación de cuerpos cetónicos en el torrente sanguíneo, y el transporte de la grasa a otros tejidos del organismo mediante una lipoproteína de muy baja densidad (VLDL). Debido a que los pasos metabólicos para la oxidación de los AGNE tienen una capacidad limitada, los triglicéridos se acumulan como grasa en el hígado al inicio de la lactancia cuando el nivel de AGNE en el hígado excede la capacidad de oxidación y transporte. Consecuentemente, la grasa que se acumula en el hígado reduce su habilidad para sintetizar glucosa y desempeñar otros procesos metabólicos (Overton y Waldron, 2004).

La colina es necesaria para la síntesis de VLDL para el transporte de la grasa fuera del hígado. Parte de la colina puede ser sintetizada por los rumiantes a partir de metionina en el rumen o en el hígado, aunque esta cantidad se ha demostrado no ser adecuada para asegurar una función óptima del hígado, para la producción de leche y la fertilidad. Suplementando CPR ha ayudado a reducir la acumulación de grasa en el hígado y acelerar la remoción de grasa de este órgano, observándose un mayor nivel de glucosa y menores concentraciones de AGNE y cuerpos cetónicos en sangre. Debido a que las bacterias en el rumen destruyen la colina, solamente la CPR puede ser efectivamente utilizada en la suplementación de vacas lecheras (Overton y Waldron, 2004).

La acumulación de grasa en el hígado puede impactar en el metabolismo de la energía durante el inicio de la lactancia. La acumulación de grasa en el hígado puede

clasificarse en las siguientes categorías: Normal ($< 1\%$ de grasa en base húmeda), ligera (de 1 a 5%), moderada (de 5 a 10%) y severa ($\geq 10\%$). En la mayoría de los establos lecheros, el desarrollo de programas específicos de alimentación y manejo para la vaca en transición, minimiza la presentación de padecimientos clínicos y la acumulación de un exceso de grasa en el hígado de la vaca en transición. Sin embargo, estudios de investigación han demostrado que hasta el 50% de las vacas en establos lecheros tienen han demostrado que hasta el 50% de las vacas en establos lecheros tienen niveles moderadas a severos de grasa en los hígados, lo que puede reducir hasta en una tercera parte la producción de glucosa, en comparación con vacas que tienen menos de 5% de grasa en el hígado (Overton y Waldron, 2004).

En experimentos con vacas lecheras (Erdman y Sharma, 1991; Erdman, 1994; Pinotti et al., 2003), la CPR ha tendido a incrementar la producción de leche. Erdman y Sharma (1991) evaluaron una colina protegida de la degradación ruminal (CPR) de origen Japonés (Showa Denko, K.K., Tokyo, Japón), la cual pudiera ser potencialmente usada como suplemento para cubrir los requerimientos de colina de vacas lecheras. Dos experimentos fueron llevados a cabo para evaluar los efectos de niveles graduados de colina en la producción y composición de la leche de vacas lecheras alimentadas con una ración a base de 60% de ensilaje de maíz y 40% de concentrado, en base materia seca. En el experimento 1, 48 vacas Holstein fueron alimentadas con 0, 0.078, 0.156 y 0.234% de CPR de la quinta a la 21 semanas postparto. La suplementación de colina no afecto el consumo de MS y tendió ($P > 0.05$) a aumentar la producción de leche de 1 a 2.2 kg/d. En el segundo experimento, vacas Holstein a mitad de gestación fueron aleatoriamente distribuidas a raciones

con dos niveles de proteína (13 o 16.5%) en dos Cuadros Latinos 4 x4, con 4 niveles de colina (0.008, 0.16 y 0.24%) para cada nivel de proteína cruda. El nivel de proteína cruda de la ración no afectó ($P > 0.05$) la producción de leche, si aumentó ($P < 0.05$) el contenido de proteína en leche (0.25 unidades porcentuales). Sin embargo, un aumento en la colina en la dieta hasta 0.24%, aumentó linealmente la producción de leche en 2.6 kg/d, no afectando las concentraciones de grasa o proteína en leche.

En conclusión, una de las funciones más importantes de la colina es su participación como componente de los fosfolípidos que contiene las membranas de todas las células del organismo, principalmente fosfatidilcolina, un componente del neurotransmisor acetilcolina, y como el precursor directo de la betaina en el metabolismo de los metilos. El mayor potencial de suplementar CPR a la vaca de transición se ha enfocado en su participación en el metabolismo de los lípidos debido a que la fosfatidilcolina es requerida para la síntesis y liberación de los VLDL del hígado, las cuales tienen la función de transportar los triglicéridos fuera del hígado. La producción de leche y de leche corregida por grasa, generalmente han aumentado en respuesta a la suplementación de CPR durante el periodo de transición (Erdman y Sharma, 1991; Pinotti et al., 2003), lo que sugiere que los cambios metabólicos en el metabolismo de los ácidos grasos en el hígado permitieron un mejor desempeño durante el inicio de la lactancia.

3.3.2. Engorda de bovinos en corral

Poco se conoce con respecto a la suplementación de CPR en el desempeño y las características de la canal de ganado de carne u ovinos. Drouillard et al. (1998) llevó a cabo dos experimentos para evaluar el efecto de suplementar CPR a ganado

de engorda. En un estudio con novillos consumiendo dietas sin la inclusión de grasa, la CPR aumentó la ganancia diaria de peso (GDP) en 6.5% y el rendimiento de la canal, redujo el consumo de MS, y mejoró la eficiencia alimenticia en 12%. Sin embargo, cuando se incluyó grasa en la dieta, la CPR no mejoró la GDP, el rendimiento en canal o la eficiencia alimenticia, mientras que el consumo de materia seca tendió a aumentar en vez de reducirse. En un segundo experimento, cada gramo de CPR aumentó el consumo diario de MS de los animales en 0.15 kg y aumentó la GDP en 0.04 kg/día. Los pesos de la canal fueron incrementados 2.18 kg/g de CPR, y el grosor de la grasa dorsal sobre la 12va costilla fue incrementado en 0.05 cm/g de CPR.

El efecto de la suplementación de CPR en dietas para novillos de engorda fue evaluada por Bryant et al. (1999). En este estudio, 160 novillos de cruza de razas Británicas y continentales, de porte mediano a grande, con un peso promedio de aproximadamente 391 kg, fueron usados en un experimento en el que se ofrecieron raciones con 90% de concentrado con 0, 0.25, 0.5, o 1.0% RPC (base MS) durante 112 a 140 días. La alimentación de 0.25% de CPR aumentó la GDP en 11.6%, comparado con 0% de CPR. Sin embargo, las respuestas disminuyeron con un aumento en el nivel de CPR. El consumo de MS no fue afectado por el nivel de CPR, pero la eficiencia alimenticia (alimento:ganancia de peso) se mejoró en 6.8% con 0.25% RPC en comparación con 0% RPC, y las respuestas disminuyeron con un aumento en la suplementación de CPR. Estos autores reportaron una mejora en el desempeño del ganado de engorda consumiendo una dieta con 3% de grasa amarilla que contenía CPR. Sin embargo, en otro estudio con ganado de carne alimentado con una dieta con 5% de grasa, la CPR aumentó el consumo y la GDP. La ganancia

diaria de peso aumentó 11.6% con 0.25% de CPR pero solamente 4.3% con 0.5% de CPR, y no aumento con 1% de CPR (no se encontró una respuesta en el consumo de MS o en la eficiencia alimenticia).

Bindel et al. (2000) evaluaron los efectos de 0, 5, 10 y 15 gramos de colina de CPR sobre el desempeño de vaquillas de engorda. El nivel de CPR no tuvo efecto en el consumo diario de MS, aunque la GDP respondió cuadráticamente ($P < 0.05$) con un aumentos de 8.6, 14.5 y 7.3% con una suplementación diaria de CPR de 5, 10 y 15 gramos, en comparación con el grupo testigo (sin CPR). La eficiencia alimenticia también respondió cuadráticamente con un aumento en el nivel de CPR (6.7, 10.0 y 5.3% con 5, 10 y 15 gramos de CPR por día), en comparación con el grupo testigo.

Bindel et al. (2005) usaron novillos con cánula ruminal para evaluar los efectos de la colina en la digestión y el metabolismo. Cuatro novillos fueron implantados con estradiol y 120 mg de acetato de trenbolona, mientras que otros 4 novillos no fueron implantados, en un diseño simultaneo de Cuadrados Latinos 4 x 4, con un arreglo factorial 2 x 2 (0 y 4% de sebo, y 0 y 5 g/d de colina administrada abomasalmente). Este estudio se llevó a cabo considerando que el estrógeno puede reducir el flujo de bilis (Piepenbrink y Overton, 2003), lo que puede afectar el metabolismo, así como la digestión de los lípidos. En ratas, el estrógeno puede prevenir la acumulación hepática de triglicéridos que ocurre cuando una dieta deficiente en colina es ofrecida, mediante un aumento en la metilación de fosfatidiletanolamina para formar colina (Young, 1971), lo que hace que el animal sea menos dependiente de la colina en la dieta. Por esta razón, Bindel et al. (2005) implantaron los novillos con un implante que contenía estradiol para determinar si el estradiol puede alterar la utilización de colina por el ganado. El estrógeno no afecto la digestibilidad de la materia seca o de

los ácidos grasos ($P > 0.10$). La urea en plasma fue menor para los novillos implantados con estradiol, reflejando una mayor deposición de proteína. En conclusión, pocos efectos de la implantación con estrógeno y la infusión de colina en el abomaso fueron observados en la digestión o la concentración de metabolitos en plasma.

3.3.3. Engorda de corderos en corral

Bryant et al. (1999) llevaron a cabo un experimento con corderos Suffolk, con un peso promedio de aproximadamente 30 kg, consumiendo una ración con 80% de concentrado durante 56 días. Los niveles de CPR incluidos en las dietas fueron de 0, 0.25, 0.5 y 1.0%, en base MS. La GDP respondió cuadráticamente ($P < 0.10$) al nivel de CPR, aunque el consumo de MS y la eficiencia alimenticia no fueron afectados. Los niveles de triglicéridos (TG) y colesterol (CLSTRL) fueron medidos semanalmente en sangre, y muestras de sangre fueron tomadas intensivamente en los días 28 y 56 para evaluar insulina (INS), hormona del crecimiento (GH) y ácidos grasos no-esterificados (NEFA).

Las concentraciones en suero de INS y CLSTRL aumentaron linealmente ($P < 0.05$) y la concentración de GH respondió cúbicamente ($P < 0.05$) al nivel de CPR en el día 28, sin encontrar diferencias en el día 56. Las concentraciones de TG en muestras semanales aumentaron linealmente ($P < 0.10$) con un aumento en el nivel de CPR, aunque en promedio durante el estudio, no se encontraron diferencias ($P > 0.10$) entre tratamientos.

La cantidad de grasa en riñón ($P < 0.10$) y mesentérica de la canal ($P < 0.05$) aumentaron linealmente, aunque no los contenidos de grasa en el músculo

longissimus (ojo de la costilla) y del hígado no cambiaron ($P > 0.10$) con nivel de RPC en la dieta.

Se puede asumir que la capacidad intrínseca de cada animal, la diferencia de la dieta basal, calidad de los insumos, nivel de consumo, diseño experimental, entre otros factores, pudieron haber influido en el resultado de estos primeros trabajos de investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación e instalaciones

Un estudio de desempeño se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Acopio de la Asociación Mexicana de Criadores de Ovinos del Estado de Nuevo León (AMCO-Nuevo León), en colaboración con la Facultad de Agronomía (FAUANL) y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ-UANL), de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

La prueba constó de tres etapas para la colección de muestras, registro de datos, análisis estadísticos e interpretación de la información: (1) etapa experimental; (2) etapa de análisis de muestras en el laboratorio; y (3) etapa de análisis e interpretación de datos.

4.2. Características de los animales y diseño experimental

Cuarenta corderos machos enteros de cruza Saint Croix, de 3 a 4 meses de edad (peso aproximado de 20.3 kg), fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos en un diseño completamente al azar. La prueba de desempeño tuvo una duración de 105 días, 15 días para adaptación de los corderos a los corrales y a las raciones, y 90 días para registrar datos de peso corporal, consumo y ganancia de peso.

4.3. Manejo de los animales

Los corderos se confinaron individualmente en corraletas de 1 x 2 m. A los animales se les aplicó un desparasitante, se vacunaron contra enfermedades

Clostridiales y se les aplicó una inyección de vitaminas A, D y E. Agua fue ofrecida a libre acceso.

Durante el estudio de desempeño, los corderos se pesaron al llegar al centro de acopio (peso de llegada), al iniciar el estudio (peso inicial; día 15), y a los 90 días (sacrificio). La ganancia diaria de peso se calculó como peso final (peso al sacrificio; día 105) menos peso inicial (día 15), dividido entre 90 (días en prueba), después de los 15 días de adaptación de los corderos a las corraletas y alimentos. La eficiencia alimenticia (conversión alimenticia) se calculó como el consumo de materia seca total de cada cordero durante el período, dividido entre la ganancia total de peso durante el mismo período.

4.4. Preparación de alimentos y manejo de la alimentación

La ración base que se utilizó para este estudio, se presentan en el **Cuadro 1**. Para prepara las raciones experimentales, se utilizó la ración base con un 16% de proteína cruda. Los tratamientos constaron de 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR (colina protegida de la fermentación en el rumen) en la ración. La CPR que se usó en este estudio, se comercializa con el nombre de Cap-Shure (Balchem Corp., Slate Hill, NY), con una concentración mínima garantizada de cloruro de colina de 25%. Los porcentajes de CPR fueron diseñados para proveer 250, 500 y 750 gramos de cloruro de colina por tonelada de alimento.

La cantidad total de alimento se ofreció en dos porciones durante el día (8 a.m. y 3 p.m.), y se calculó considerando el consumo diario y un 10% adicional, para reducir la selección de los componentes de las raciones por los corderos. La

conversión alimenticia se calculó usando los consumos y ganancias de peso promedio de los corderos durante el estudio.

Los corderos se confinaron individualmente en corraletas de 1 x 2 m. A los animales se les aplicó un desparasitante, se vacunaron contra problemas clostridiales y se les inyectó vitaminas A, D y E. Agua fue ofrecida a libre acceso. Durante el estudio de desempeño, los corderos se pesaron al llegar al centro de acopio (peso de llegada), al iniciar el estudio (peso inicial; día 15), y a los 45 y 90 días.

Los consumos de alimento se registraron diariamente, y se colectó el alimento rechazado todas las mañanas. La ganancia diaria de peso se calculó para cada uno de los dos períodos (0 a 45 días y 45 a 90 días), después de los 15 días de adaptación de los corderos a las corraletas y alimentos.

La eficiencia alimenticia (conversión alimenticia) se calculó como el consumo de materia seca total de cada cordero durante el período dividido entre la ganancia total de peso durante el mismo período.

4.5. Colección y análisis de muestras de alimento

Todas las muestras de alimento ofrecido, alimento rechazado, heces, orina y fluido ruminal se almacenaron y procesarán para su posterior análisis. Al final de la fase de colección de la prueba de digestibilidad, las heces fueron secadas individualmente en una estufa de aire circulante a 55°C durante aproximadamente 96 horas, hasta un peso constante. Muestras de alimento ofrecido y alimento rechazado también fueron secadas a 55°C. Posteriormente, todas las muestras de alimento y heces fueron molidas a través de un . molino . Wiley . con . una . criba de 2 mm,

Cuadro 1. Composición del alimento base usado para preparar las raciones para corderos con varios niveles de colina protegida del rumen (CPR).

Ingrediente	kg/ton
Cascarilla de soya	50
Sorgo, grano ¹	695
Harina de soya	165
Melaza	60
Carbonato de calcio	9
Urea	5
Sal	10
Premezcla ²	6

¹Grano: 50% entero y 50% molido.

²Colina protegida (CPR; Balchem Corporation, Slate Hill, N.Y.), cloruro de amonio, minerales traza, vitaminas A y E, y lasalocida sódica (30 g/ton).

preparándolas para los análisis químicos por duplicado, repitiéndose el análisis en aquellas muestras donde la diferencia en determinaciones fue mayor al 5%.

Para cada animal, muestras compuestas de alimento ofrecido y alimento rechazado, fueron secadas en una estufa a 105 °C (AOAC, 1997) para determinar el contenido de materia seca (MS) residual. Extracto etéreo (EE) fue determinado mediante el método Goldfisch (AOAC, 1997). El contenido de cenizas fue determinado después de la combustión en una estufa a 600 °C, durante 3 horas. El contenido de nitrógeno en alimento ofrecido y rechazado fue determinado usando el método micro-Kjeldahl (AOAC, 1997). El contenido de proteína cruda fue calculado como $N \times 6.25$.

La fibra en detergente neutro (FDN; constituyentes de la pared celular) fue analizada en muestras de alimentos de acuerdo al procedimiento de Goering y Van Soest (1970), con las modificaciones propuestas por Harris (1970). Las determinaciones se llevaron a cabo utilizando un analizador de fibra marca Ankom, modelo A200, de Ankon Technology usando bolsas de filtración.

4.6. Características de la canal

Los animales fueron llevados a un rastro tipo TIF, donde se sacrificaron. Los rendimientos (%) de la canal caliente (peso de la canal como porcentaje del peso vivo al sacrificio) y la canal fría (después de enfriar las canales a -3 °C durante 24 horas) de los corderos, fueron calculados. Para evaluar la calidad de la canal, varias variables fueron medidas: Peso de la canal caliente, peso de la canal fría, rendimiento de la canal caliente, rendimiento de canal fría, pesos de piel, vísceras, sangre y cabeza, marmoleo, cobertura de grasa, y área del ojo del lomo.

Al final del experimento, la altura a la cruz, la longitud de las tuberosidades (de las tuberosidades escapula-humeral a la coxo-femoral) y la circunferencia torácica fueron medidas (cm) en los corderos antes de ser transportados al rastro, donde fueron pesados y sacrificados, registrándose el peso de la canal caliente, y el rendimiento de la canal caliente (peso de la canal como porcentaje del peso vivo. Los pesos de la piel, hígado, corazón, pulmones y sangre fueron obtenidos. Las canales fueron colgadas y refrigeradas de -3 a -5 °C durante 24 horas. El grado de rendimiento fue calculado con la siguiente ecuación (Meat Evaluation Handbook, 2001):

$$\text{Grado de rendimiento} = 0.4 + (10 \times \text{grosor de grasa ajustada, en pulgadas})$$

4.7. Análisis de muestras de sangre

Una muestra de sangre de cada cordero se obtuvo antes de iniciar el experimento (día 0), al final del primer período (45 días) y al final del segundo período (90 días). Todas las muestras se dejaron coagular durante 30 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugaron a 1,000 x g durante 15 minutos. El suero se separó y almacenó a -72 °C en un congelador de baja temperatura, hasta su análisis para determinar las concentraciones de triglicéridos (TG) y colesterol (CLSTRL). Las pruebas colorimétricas para determinar las concentraciones de TG y CLSTRL se llevarán a cabo usando kits comerciales (Idexx Laboratories Inc., Westbrook, Maine).

4.8. Análisis estadístico

El consumo de materia seca, la ganancia diaria de peso, la eficiencia alimenticia, y las características de las canales fueron analizadas usando un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, usando el procedimiento Mixed de SAS (SAS, 1999). El modelo incluye tratamiento, tiempo y todas las posibles interacciones, siendo el animal la unidad experimental. El animal y el termino error fueron considerados al azar en el modelo. La matriz de correlación de la simetría compuesta (CS) seleccionada fue la que mejor se ajustó a los datos. El modelo fue el siguiente (Littell et al., 1998):

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + R_{j(i)} + P_k + (\tau P)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

donde: Y_{ijk} es la variable de respuesta (consume, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia) al tiempo k del animal j en el tratamiento i , μ es la media general, τ_i , es un efecto fijo del tratamiento i , $R_{j(i)}$ es el efecto aleatorio del animal j en el tratamiento i , P_k , es el efecto fijo del tiempo k , $(\tau P)_{ik}$ es el efecto de la interacción fija del tratamiento i con el tiempo k , y ε_{ijk} es el error aleatorio al tiempo k en el animal j en el tratamiento i . Las variables de desempeño y las características de la canal fueron analizadas para respuestas lineales y cuadráticas al nivel de colina protegida en el rumen (CPR) usando contrastes ortogonales.

RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Desempeño productivo de los corderos

Pocos experimentos se han llevado a cabo con corderos en finalización consumiendo CPR (Bryant et al., 1999). Debido a que es muy posible que la inclusión de un alto nivel de CPR (1%) en las dietas de corderos en finalización, no tenga un beneficio económico, en nuestro experimento, los niveles de CPR evaluados variaron de 0 a 0.3%, mientras que en el estudio de Bryant et al. (1999), las concentraciones utilizadas en raciones para ovinos variaron de 0 a 1% de la MS.

En el Cuadro 2, se presenta el consumo diario de MS, la GDP y la eficiencia alimenticia de corderos consumiendo raciones con varios niveles de CPR. No se observó diferencia ($P > 0.05$) en el consumo de MS entre niveles de CPR en las raciones de los ovinos. El consumo promedio diario de MS fue de 1.031, 1.009, 0.957 y 1.029 kg por cordero para niveles de 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR, respectivamente. Bryant et al. (1999) evaluaron el efecto de la inclusión de CPR (0, 0.25, 0.5 y 1%) en dietas para corderos a base de heno de zacate Sudan, maíz, pasta de soya, melaza y grasa amarilla (3%). En concordancia con nuestro estudio, estos autores no observaron un efecto ($P > 0.05$) de la suplementación de CPR en el consumo de MS o la conversión alimenticia.

La ganancia diaria de peso no fue afectada ($P > 0.05$) por el nivel de CPR. La GDP fue de 0.210, 0.221, 0.187 y 0.220 kg/día para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR en las raciones de los corderos. Bryant et al. (1999) reportaron que la GDP respondió cuadráticamente ($P < 0.10$) a la suplementación de CPR, aunque el consumo de MS y la conversión alimenticia no fueron afectados ($P > 0.10$). Sin embargo, la tendencia

cuadrática fue de una reducción en la ganancia de peso (0.21, 0.18, 0.18 y 0.23 kg/día) con la suplementación de los primeros dos niveles de colina (0.25 y 0.50%), incrementándose solamente con el mayor nivel (1.0%) de colina.

En estudios con ganado bovino, Drouillard et al. (1998), Bryant et al. (1999) y Bindel et al. (2000) observaron que la CPR mejoró la tasa de crecimiento del ganado en finalización sin afectar negativamente las características de la canal. El mecanismo por el cual la colina mejora el desempeño no se conoce, pudiendo deberse a alteraciones en el metabolismo y/o el transporte de lípidos (Bryant et al., 1999). Bindel et al. (2000) ofrecieron dietas con tres niveles de sebo (0, 2 y 4%) y 4 niveles (0, 20, 40 y 60 g/d) de CPR (25% de colina), aportando 0, 5, 10 y 15 g/d de colina. La suplementación de 20 g/d de CPR aumentó ($P < 0.10$) la GDP en 8.6% y la eficiencia alimenticia en 7.6%, no observándose un beneficio adicional con mayores niveles de colina. Niveles moderados de suplementación de CPR mejoraron el crecimiento del ganado en finalización, sin afectar negativamente las características de las canales. Un desempeño óptimo fue obtenido con una suplementación de 20 g de CPR.

Las conversiones alimenticias fueron de 4.946, 4.615, 5.123 y 4.781 para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR en la ración. Sin embargo, con novillos de engorda, Bryant et al. (1999) si obtuvo una mejora en la eficiencia alimenticia de 6.8% con 0.25% de CPR en la dieta de novillos en finalización, en comparación con 0% de CPR, observando un beneficio decreciente con mayores niveles de CPR.

Cuadro 2. Consumo de materia seca, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida.

Características de la canal	Nivel de colina protegida (%)				EEM ¹	P ²	
	0	0.1	0.2	0.3		L	C
Consumo de material seca (kg/d)	1.031	1.009	0.957	1.029	0.046	0.780	0.313
Ganancia diaria de peso (kg/d)	0.210	0.221	0.187	0.220	0.011	0.963	0.333
Conversión alimenticia	4.946	4.615	5.123	4.781	0.190	0.990	0.979

¹ EEM, error estándar de la media.

² P, probabilidad; L, efecto lineal; C, efecto cuadrático.

5.2. Rendimiento y características de la canal

En el Cuadro 3, se presentan los pesos y rendimientos de la canal caliente y fría de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida. El peso al sacrificio no fue afectado ($P > 0.05$) por el nivel de CPR. Los pesos de la canal caliente y fría tampoco fueron afectados ($P > 0.05$) por el nivel de CPR en la ración de los corderos. Los pesos de la canal caliente fueron de 19.5, 19.9, 18.4 y 19.8 kg, mientras que los pesos de la canal fría fueron de 18.8, 19.2, 17.5 y 19.3 kg, respectivamente, para los niveles de 0, 0.1, 0.2 y 0.3 de CPR en la ración.

Bryant et al. (1999) reportaron que los rendimientos de la canal de novillos de engorda aumentó linealmente ($P < .10$) conforme aumentó el nivel de CPR, pero la calificación del marmoleo fue menor para las dietas que contenían los tres niveles de CPR en comparación con la dieta sin CPR (respuesta cuadrática; $P < 0.05$).

En un estudio con vaquillas, Bindel et al. (2000) observó que el peso de la canal caliente, el rendimiento en canal, marmoleo y el grosor de la grasa sobre la 12a costilla, no fueron afectados por el nivel de grasa o la suplementación de colina en la dieta. El porcentaje de canales con clasificación USDA Choice no fue afectado con niveles intermedios de RPC, aunque se redujo con el nivel más alto (60 g/d).

En este estudio, los rendimientos de la canal caliente o fría no fueron afectados por el nivel de CPR en la ración. Mientras que los rendimientos de la canal caliente fueron 49.8, 49.6, 49.5 y 49.4%, mientras que los de la canal fría fueron de 48.1, 48.0, 47.1 y 48.1%, respectivamente, para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR, respectivamente.

Cuadro 3. Peso y rendimiento de la canal caliente y fría de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida.

Características de la canal	Nivel de colina protegida (%)				EEM ¹	P ²	
	0	0.1	0.2	0.3		L	C
Peso al sacrificio (kg)	39.1	40.1	37.1	40.1	1.00	0.976	0.328
Peso de canal caliente (kg)	19.5	19.9	18.4	19.8	0.55	0.853	0.382
Peso de la canal fría (kg)	18.8	19.2	17.5	19.3	0.50	0.881	0.182
Rendimiento canal caliente (%)	49.8	49.6	49.5	49.4	0.94	0.794	0.973
Rendimiento canal fría (%)	48.1	48.0	47.1	48.1	0.74	0.813	0.445
Grosor de grasa dorsal (mm)	0.024	0.016	0.031	0.073	0.013	0.012	0.074
Área del músculo longissimus (cm ²)	2.065	2.027	1.939	1.826	0.086	0.048	0.667
Grado de rendimiento,	0.64	0.54	0.71	1.14	0.14	0.014	0.068
Grasa RPC (kg) ^a	1.229	1.397	1.223	1.358	0.147	0.745	0.912
Grasa RPC (%)	6.3	7.1	6.6	6.8	0.66	0.730	0.685

El área del músculo longissimus (área del ojo de la chuleta) se redujo ($P = 0.048$) con un aumento en el nivel de CPR en la ración. El área del músculo longissimus fue de 2.065, 2.027, 1.939 y 1.826 cm^2 para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR, respectivamente. Otros autores no obtuvieron un efecto del nivel de CPR en el área del músculo longissimus de bovinos (Bryant et al., 1999; Bindel et al., 2000) u ovinos (Bryant et al., 1999).

El grosor de la capa de grasa dorsal aumento linealmente ($P = 0.012$) con un aumento en la concentración de CPR en la ración, lo que influyó en el grado de rendimiento, el cual aumentó ($P < 0.014$) concomitantemente. El grosor de la capa de grasa dorsal fue de 0.024, 0.016, 0.031 y 0.073 mm para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de ración, respectivamente. Bryant et al. (1999) no encontró un efecto ($P > 0.10$) de la CPR en la grasa dorsal de bovinos y ovinos suplementados con CPR. Bindel et al. (2000) tampoco observó un aumento ($P > 0.10$) del grosor de grasa dorsal, en la 12a costilla (0.93 a 1.01 cm), con un aumento de sebo en la ración de finalización de 0 a 4%, y tampoco obtuvo un efecto de la suplementada con CPR en el grosor de la capa de grasa dorsal ($P > 0.10$).

La cantidad de grasa del riñón, pelvis y corazón (RPC) no fue afectada ($P > 0.05$) por el nivel de CPR en la ración. La CPR (kg) fue de 1.280, 1.421, 1.221 y 1.343 para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de la ración. Como porcentaje del peso de la canal caliente, el RPC fue de 6.5, 7.1, 6.6 y 6.8, no obteniéndose un efecto del nivel de CPR ($P > 0.05$) en la ración. Otros estudios tampoco han obtenido cambios en la grasa del RPC con la suplementación de CPR a novillos (Bryant et al., 1999) o vaquillas (Bindel et al., 2000). Con corderos, Bryant et al. (1999) reportaron un aumento lineal ($P < 0.10$) de la grasa del riñón de 1.14 a 1.37%.

Además, un efecto cuadrático ($P < 0.05$) de la CPR en la grasa mesentérica y El área del músculo longissimus (área del ojo de la chuleta) la grasa pélvica se obtuvo de la suplementación de CPR a los corderos de finalización.

5.3. Medidas corporales y pesos de órganos viscerales

En el Cuadro 4, se presentan las medidas corporales y pesos de órganos viscerales de corderos consumiendo raciones de engorda con varios niveles de colina protegida. La altura a la cruz (cm) se redujo linealmente ($P < 0.013$) al aumentar el nivel de CPR en la ración.

La longitud de las tuberosidades no fue afectada ($P > 0.05$) por el nivel de CPR suplementada. La longitud fue de 61.1, 60.7, 58.5 y 60.0 cm para 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de CPR en la ración.

La circunferencia torácica tampoco fue afectada ($P > 0.05$) por el nivel de CPR en la ración. La circunferencia torácica fue de 79.9, 81.9, 79.9 y 81.7 cm para corderos de los grupos suplementados con 0, 0.1, 0.2 y 0.3% de la ración.

Ninguno de los órganos medidos en este estudio, entre los que incluyen los pesos de piel, hígado, riñón, corazón, pulmón y sangre, fueron afectados ($P > 0.05$) por el nivel de CPR en la ración de los corderos. Los rangos de pesos de estos órganos fueron: piel, de 4.776 a 5.249; hígado, de 0.682 a 0.785; riñón, de 0.096 a 0.108; corazón, de 0.155 a 0.171; pulmón, de 0.601 a 0.702; y sangre, de 1.166 a 1.346.

Cuadro 4. Medidas corporales y pesos de órganos viscerales de corderos consumiendo raciones de engorda con varios niveles de colina protegida.

Variable	Colina protegida (%)				EEM ¹	P ²	
	0	0.1	0.2	0.3		L	C
Altura a la cruz (cm)	49.0	49.9	47.2	46.4	0.807	0.013	0.664
Longitud de las tuberosidades (cm)	61.1	60.7	58.5	60.0	1.017	0.182	0.307
Circunferencia torácica (cm)	79.9	81.9	79.9	81.7	1.220	0.467	0.973
Peso de órganos viscerales (kg)							
Piel	5.080	5.144	4.776	5.249	0.190	0.950	0.789
Hígado	0.703	0.785	0.682	0.758	0.039	0.668	0.925
Riñón	0.102	0.108	0.096	0.105	0.004	0.950	0.789
Corazón	0.155	0.168	0.171	0.167	0.007	0.219	0.284
Pulmón	0.666	0.702	0.601	0.665	0.033	0.463	0.656
Sangre	1.166	1.324	1.272	1.346	0.075	0.151	0.573

¹ EEM, error estándar de la media.

² P, probabilidad; L, efecto lineal; C, efecto cuadrático.

5.4. Concentración de triglicéridos y colesterol en suero

En el Cuadro 5, se presentan las concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero sanguíneo de corderos consumiendo raciones de engorda con varios niveles de colina protegida. Las concentraciones de ambos, triglicéridos y colesterol, estuvieron dentro del rango normal.

En este estudio, la concentración de triglicéridos se redujo ($P < 0.017$) de 21.5 a 9.4 mg/dl con un aumento en la suplementación de CPR de 0 a 0.3% de la ración. En el estudio de Bryant (1999), mientras que los TG aumentaron linealmente ($P < 0.10$) con un aumento en el nivel de CPR, el colesterol en suero no fue diferente ($P > 0.10$) entre tratamientos, lo que contrasta con estudios previos que muestran que con un aumento en la suplementación de colina, los TG circulantes también aumentan (Lombardi et al., 1968; Kubsis y Mookerjea, 1978; Sugiyama et al., 1987; Zeisel et al., 1991). con varios niveles de colina protegida. Las concentraciones de ambos, triglicéridos y colesterol, estuvieron dentro del rango normal.

En este estudio, la concentración de triglicéridos se redujo ($P < 0.017$) de 21.5 a 9.4 mg/dl con un aumento en la suplementación de CPR de 0 a 0.3% de la ración. Mientras que en ratas, la suplementación de colina en la dieta aumentó las concentraciones circulantes de triglicéridos (Lombardi et al., 1968; Lombardi, 1971; Kubsis and Mookerjea, 1978), en rumiantes (Sharma and Erdman, 1989a; Erdman and Sharma, 1991), la colina no afectó significativamente las concentraciones de triglicéridos. Bindel et al. (2000) evaluaron los efectos de la CPR y grasa en la dieta de vaquillas de engorda, en el desempeño y la concentración de metabolitos en sangre. Cuando las dietas no contenían grasa adicionada, las concentraciones de triglicéridos aumentaron

Cuadro 5. Concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero sanguíneo de corderos alimentados con varios niveles de colina protegida.

Metabolitos en sangre	Nivel de colina protegida (%)				EEM ¹	P ²	
	0	0.1	0.2	0.3		L	C
Triglicéridos	21.5	13.2	14.7	9.4	1.51	0.017	0.392
Colesterol	50.6	51.5	46.6	43.6	1.87	0.053	0.369

¹ EEM, error estándar de la media.

² P, probabilidad; L, efecto lineal; C, efecto cuadrático.

^a Efecto de periodo para colesterol (P < 0.003).

en respuesta a niveles intermedios de CPR, sin embargo, cuando se agregó grasa a la dieta, la suplementación con CPR redujo las concentraciones de triglicéridos (dieta con 2% de sebo) o no las alteró (dieta con 4% de sebo). En nuestro estudio, las dietas fueron a base de grano de sorgo y pasta de soya, sin grasa agregada.

En un estudio con corderos consumiendo una dieta con 3% de grasa amarilla, Bryant et al. (1999) obtuvo muestras semanales de suero sanguíneo en las que determinó las concentraciones de TG y colesterol. Promediando los resultados obtenidos al final del estudio, mientras que las concentraciones de TG aumentaron linealmente ($P < .10$) con un aumento en el nivel de CPR, el colesterol en suero no fue diferente ($P > .10$) entre tratamientos, lo que concuerda con estudios previos que muestran que con un aumento en la suplementación de colina, los TG circulantes también aumentan (Lombardi et al., 1968; Kuksis and Mookerjea, 1978; Zeisel, 1981; Sugiyama et al., 1987; Zeisel et al., 1991).

CONCLUSION

Aunque se ha reportado previamente que la colina suministrada en una forma que es resistente a la degradación microbiana en el rumen puede mejorar el desempeño del ganado en finalización, ningún beneficio se observó en el desempeño (consumo de MS, ganancia diaria de peso o conversión alimenticia) de corderos consumiendo raciones altas en grano, con la inclusión de hasta 0.3% de CPR. Algunas variables que sugieren que la suplementación de CPR afectó el crecimiento de los corderos fueron: (1) la altura a la cruz se redujo significativamente con la suplementación de CPR; (2) se observó una menor área del ojo del lomo de corderos consumiendo CPR; y (3) mientras que la grasa dorsal aumentó con una mayor suplementación de CPR, la grasa del RPC no cambió significativamente, lo que se sugiere que en vez de haber movilización de tejido adiposo, hubo acumulación de grasa. Consecuentemente, no se recomienda incluir colina protegida en la dieta de corderos de engorda para aumentar el músculo y reducir la grasa en la canal.

BIBLIOGRAFIA

- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.
- Al-Ali, S. J., N. M. Malouf, and D. M. Walker. 1985. Choline requirement of the pre-ruminant lamb during the first two to three weeks of life. *Aust. J. Agric. Res.* 36:829.
- Atkins, K. B., R. A. Erdaman, and J. H. Vandersall. 1988. Dietary choline effects on milk yield and duodenal choline flow in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 71:109-116.
- Bindel, D. J., J. S. Drouillard, E. C. Titgemeyer, R. H., R. H. Wessels, and C. A. Loest. 2000. Effects of ruminally protected choline and dietary fat on performance and blood metabolites of finishing heifers. *J. Anim. Sci.* 78:2497-2503.
- Bindel, D. J., E. C. Titgemeyer, J. S. Drouillard, and S. E. Ives. 2005. Effects of choline on blood metabolites associated with lipid metabolism and digestion by steers fed corn-based diets. *J. Anim. Sci.* 83:1625-1632.
- Broad, T. E., and R. M. C. Dawson. 1976. Role of choline in the nutrition of the rumen protozoa *Entodinium caudatum*. *J. Gen. Microbiol.* 92:391-397.
- Bryant, T. C., J. D. Rivera, M. L. Galyean, G. C. Duff, D. M. Hallford and T. H. Montgomery. 1999. Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and serum metabolites in lambs. *J. Anim. Sci.* 77:2893-2903.

- Czerkawski, J. W., W. W. Christie, G. Breckenridge, and M. L. Hunter. 1975. Changes in the rumen metabolism of sheep given increasing amounts of linseed oil in their diet. *Br. J. Nutr.* 34:25-44.
- Dawson, R. M. C., D. W. Grime, and D. B. Lindsay. 1981. On the insensitivity of sheep to the almost complete microbial destruction of dietary choline before alimentary-tract absorption. *Biochem. J.* 196:499-504.
- Drouillard, J. S., A. S. Flake, and G. L. Kuhl. 1998. Effects of added fat, degradable intake protein, and ruminally protected choline in diets of finishing steers. *Kan. Agric. Exp. Sta. Coop. Ext. Serv. Rep. Prog. No. 804*, pp. 71-75. Manhattan, KS.
- Donkin, S.S. 2011. Rumen-protected choline. Department of Animal Sciences. Purdue University. <http://www.extension.org/pages/26158/rumen-protected-choline>.
- Erdman, R. A. 1992. Vitamins. Pp. 297-308 in *Large Dairy Herd Management*. H. H. Van Horn and C. J. Wilcox, eds. American Dairy Science Association. Champaign, IL.
- Erdman, R. A. and R. A. Sharma. 1991. Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74: 1641-1647.
- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handbook No. 379*. ARS-USDA, Washington, DC.
- Hartwell, J. R., M. J. Cecava, and S. S. Donkin. 2000. Impact of dietary rumen undegradable protein and rumen-protected choline on intake, peripartum liver

- triglyceride, plasma metabolites and milk production in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2907-2917.
- Hsu, J. T, G. C. Fahey, Jr., J. H. Clark, L. L. Berger, and N. R. Merchen. 1991. Effects of urea and sodium bicarbonate supplementation of a high-fiber diet on nutrient digestion and ruminal characteristics of defaunated sheep. *J. Anim. Sci.* 69:1300-1311.
- Ikwuegbu, O. A., and J. D. Sutton. 1982. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 48:365-375.
- Kawas, J. R., O. Mahgoub and C. D. Lu. 2011. Chapter 6. Nutrition of the meat goat. In: *Goat Meat Production and Quality*. Eds. O. Mahgoub, I.T. Kadim and E. Webb. CAB International, GPI Group, UK.
- Kubsis, A., and S. Mookerjea. 1978. Choline. *Nutr. Rev.* 36: 201-207.
- Littell, R.C., Henry, P.R., Ammerman, C.B., 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76, 1216-1231.
- Lombardi, B., P. Pani, and F. F. Schlunk. 1968. Choline deficiency fatty liver: Impaired release of hepatic triglycerides. *J. Lipid Res.* 9: 437-446.
- Lombardi, B. 1971. Effects of choline deficiency on rat hepatocytes. *Fed. Proc.* 30: 139-142.
- Meat Evaluation Handbook. 2001. United States Standards for Grades of Beef, Veal, Pork and lamb Carcasses. American Meat Science Association. Savoy, Illinois, p. 117-137.

- Neill, A. R., D. W. Grime, A. M. Snoswell, A. J. Northrop, D. B. Lindsay, and R. M. C. Dawson. 1979. The low availability of dietary choline for the nutrition of the sheep. *Biochem. J.* 180:559.
- NRC, 1994. Nutrient requirements of poultry. Ninth revised edition. National Academy Press.
- NRC, 1995. Nutrient requirements of laboratory animals. Fourth revised edition. National Academy Press.
- NRC, 1998. Nutrient requirements of swine. Tenth revised edition. National Academy Press.
- NRC, 2000. Nutrient requirements of beef cattle. Seventh revised edition. National Academy Press.
- NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh revised edition. National Academy Press.
- NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids. Seventh revised edition. National Academy Press.
- Oelrichs, W. A., M. C. Lucy, M. S. Kerley, and J. N. Spain. 2004. Feeding soybeans and rumen-protected choline to dairy cows during the periparturient period and early lactation. Effects on production and energy balance. *J. Dairy Sci.* 87 (Suppl. 1): 344 (abstr.).
- Overton, T. R., and M. R. Waldron. 2004. Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87 (E. Suppl.):E105-E119.

- Piepenbrink, M. S., and T. R. Overton. 2003. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 86: 1722-1733.
- Pinotti, L., A. Baldi, and V. Dell'Orto. 2002. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. *Nutr. Res. Reviews* 15:315–331.
- Pinotti, L., A. Baldi, I. Politis, R. Rebucci, L. Sangalli, and V. Dell'Orto. 2003. Rumen-protected choline administration to transition cows: Effects on milk production and vitamin E status. *J. Vet. Med.* 50:18–21.
- Purser, D. B., and R. J. Moir. 1966. Dietary effects upon concentrations of protozoa in the rumen. *J. Anim. Sci.* 25:668-674.
- Robinson, B. S., A. M. Snoswell, W. B. Runciman, and R. N. Upton. 1984. Uptake and output of various forms of choline by organs of the conscious chronically catheterized sheep. *Biochem. J.* 217: 399-408.
- Robinson, B. S., A. M. Snoswell, W. B. Runciman, and T. R. Kuchel. 1987. Choline biosynthesis in sheep: Evidence for extra hepatic synthesis. *Biochem. J.* 244: 367-373.
- SAS. 1999. The logistic procedure. In *SAS/STAT User's Guide*. Ver. 8. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Sharma, B. K. and R. A. Erdman 1989a. Effect of dietary and abomasally infused choline on milk production responses of lactating dairy cows. *J. Nutr.* 119: 248-254.
- Sharma, B. K. and R. A. Erdman 1989b. In vitro degradation of choline from selected feedstuffs and choline supplements. *J. Dairy Sci.* 72:2772-2776.

- Steel, R. G. D., and J. H. Torrie, 1980. Principles and Procedures of Statistics. An Biometrical Approach. Second ed. McGraw-Hill Book Co. New York, USA.
- Sugiyama, K., H. Suzuki, and K. Muramatsu. 1987. Effect of dietary choline on plasma and liver lipid levels in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric. Biol. Chem.* 51: 2603-2605.
- Towne, G. T., G. Nagaraja, R. T. Brandt, Jr., and K. E. Kemp. 1990. Ruminally ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. *J. Anim. Sci.* 68: 2150-2155.
- Xue, G.P., and A.M. Snoswell. 1985a. Comparative studies on the methionine synthesis in sheep and rat tissues. *Comp. Biochem. Physiol.* B80:489-494.
- Xue, G.P., and A.M. Snoswell. 1985b. Regulation of methyl group metabolism in lactating ewes. *Biochem Int.* 11:381-385.
- Zeisel, S. H., K. Da Costa, P. D. Franklin, E. A. Alexander, J. T. Lamont, N. F. Sheard, and A. Beiser. 1991. Choline, an essential nutrient for humans. *FASEB J.* 5: 2093-2098.
- Zeisel, S. H., and M. Holmes-McNary. 2001. Choline. In: *Handbook of Vitamins*. Third ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp- 513-528.