



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Zootecnia

Concentraciones de las variables sanguíneas del metabolismo proteico y de las inmunoglobulinas G (Ig G) circulantes en vacas lecheras pre-parto, suplementadas con una pequeña cantidad de afrecho de soya, con y sin minerales trazas quelados

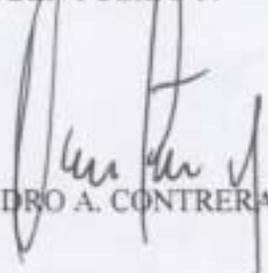
Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA.

Sergio Alejandro Molina Hernández
Valdivia Chile 2000

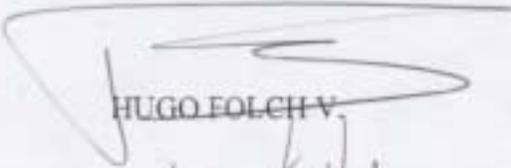
PROFESOR PATROCINANTE:


RUBÉN PULIDO F.

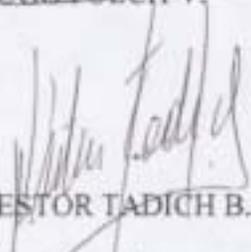
PROFESOR COPATROCINANTE:

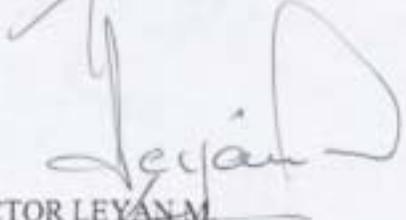

PEDRO A. CONTRERAS B.

PROFESOR COLABORADOR:


HUGO FOLCH V.

PROFESORES CALIFICADORES:


NESTOR TADIĆ B.


VÍCTOR LEYÁN M.

FECHA DE APROBACION:

20 DE DICIEMBRE DE 2000

A mi Familia, en especial a mis padres ,
Luis y Mercedes por su perseverancia,
apoyo y confianza en sus hijos.

A Marlene y a la estrella que lleva en su
su vientre, que son la base de un nuevo y
esperanzador proyecto de vida.

INDICE

	<u>Pag.</u>
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCION	3
4. MATERIAL Y METODO	14
5. RESULTADOS	18
6. DISCUSION	22
7. BIBLIOGRAFIA	27
8. ANEXOS	35

1. RESUMEN

Muchos productores lecheros del sur de Chile utilizan potreros de sacrificio para mantener en ellos a sus vacas durante el período pre-parto. Con el objeto de evaluar el estado nutricional de vacas en este tipo de manejo y de establecer las variaciones de los parámetros proteicos de los perfiles metabólicos y de los niveles de inmunoglobulinas G (Ig G) circulantes, que pudiera determinar la suplementación con afrecho de soya, solo o asociado a minerales trazas que lados, se compararon en los períodos pre-parto y 21 días post-parto las concentraciones de las variables mencionadas.

Se emplearon 15 vacas de genotipo Frisón Negro Chileno las que se separaron durante el pre-parto en tres grupos con 5 vacas cada uno. Los animales del grupo D.B recibieron una dieta base diaria consistente en paja de avena ad-libitum más 4 Kg de avena grano entero, los del grupo D.B+S recibieron la dieta base más 0,5 Kg de afrecho de soya, mientras que el grupo D.B+S+M recibió la dieta base más 0,5 Kg de afrecho de soya y más 7 g de minerales trazas quelados. Con posterioridad al parto los animales de los tres tratamientos recibieron pradera permanente ad-libitum más 5 Kg de concentrado comercial y 300 g de sales minerales. En cada período, mediante punción yugular se obtuvieron dos muestras de sangre en las que se determinó las concentraciones de urea, proteínas totales, albúmina, globulinas, hemoglobina, cobre, zinc, Ig G circulantes y la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa. Dada la condición normal de los valores obtenidos a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, se obtuvieron promedios (*) y desviaciones estándar (D.E) de todos los grupos, los cuales fueron sometidos a un análisis de varianza simple y test de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos.

Durante el pre-parto la concentración de urea fue significativamente ($p < 0,05$) menor en el grupo D.B ($2,10 \pm 0,35$ mmol/l), situación que se invirtió en el período post-parto. Las proteínas totales, al igual que las globulinas presentaron valores significativamente ($p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente) mayores en el grupo D.B+S ($86,4 \pm 4,98$ g/l y $57,6 \pm 5,08$ g/l) durante el período post-parto. En este mismo período el grupo D.B+S+M presentó un aumento ($p < 0,05$) significativo en las Ig G circulantes. Las concentraciones sanguíneas de las restantes variables estudiadas no difirieron significativamente ($p > 0,05$) entre los tres grupos de animales.

De lo observado se puede concluir que en general la suplementación con afrecho de soya, solo o asociado a minerales trazas quelados durante el período pre-parto, en las condiciones del presente ensayo, no aumentó las variables estudiadas, a excepción de la variable urea.

Palabras claves: pre-parto, afrecho de soya, minerales trazas quelados, perfiles metabólicos, inmunoglobulinas (Ig) G circulantes.

2. SUMMARY

Blood concentrations of protein metabolism variables and circulating G immunoglobulins in pre-partum dairy cows, supplemented with a small amount of soy bran alone or associated to chelated trace minerals.

Many dairy farmers in southern Chile use a single paddock to maintain their cows during the pre-partum period. In order to evaluate the nutritional status of the cows under supplementation with soy bran, alone or associated to chelated trace minerals during pre-partum and 21 days post-partum, the variations of the protein parameters of the metabolic profiles and the levels of circulating G immunoglobulins (Ig), were studied.

Fifteen Chilean Friesian cows were used. in three groups, with 5 cows each during the pre-partum period. One group, B.D received a daily diet consisting of oat straw ad-libitum plus 4 kg of whole grain oats. Group B.D+S received the basic diet plus 0.5 kg of soy bran, and group B.D+S+M received the basic diet plus 0.5 kg of soy bran and 7 g chelated trace minerals. In the post-partum period, the 3 groups were grazed, and received 5 kg of commercial concentrates and 300 g of mineral mix. Jugular blood samples were obtained in every period to determine urea, total proteins, albumin, globulins, hemoglobin, copper, zinc, circulating IgG and glutathione peroxidase. Results were normally distributed through the test of Kolmogorov-Smirnov. Averages and standard deviations for all the variables were obtained. Differences were tested through Tukey's test.

During the pre-partum period, the urea concentration was significantly ($p < 0,05$) lower in group B.D ($2,10 \pm 0,35$ mmol/l), a situation which was inverse in the post-partum period. The total proteins and globulins were significantly ($p < 0,05$ and $p < 0,01$, respectively) higher in group B.D+S ($86,4 \pm 4,98$ g/l and $57,6 \pm 5,08$ g/l) during the post-partum sampling. During this same period, the group B.D+S+M had a significant ($p < 0,05$) increase in circulating IgG. The blood concentrations of the rest variables studied did not differ significantly ($p > 0,05$) among the 3 groups.

It is possible to conclude that the supplementation with soy bran, alone or associated with chelated trace minerals during the pre-partum period, in the conditions in this study, did not improve most of the variables studied. only increasing the urea blood concentration.

Key words: pre-partum, soy bran, chelated trace minerals, metabolic profiles, circulating G immunoglobulinas (Ig).

3. INTRODUCCION

La ganadería en la actualidad adquiere una gran importancia debido a la creciente demanda de alimentos en el mundo; se le exige que aumente sus niveles de producción y que a la vez sea rentable. En este sentido, Contreras (1996) señala que la necesidad de obtener el mayor rendimiento de los animales a definido genéticamente a individuos más eficientes, pero a su vez más exigentes en los procedimientos de manejo, alimentación y programas destinados a mantener la salud. Son en estos procedimientos más exigentes donde los productores deben poner mayor énfasis para lograr una alta productividad y eficiencia en la utilización de los recursos disponibles.

La producción de leche en el sur de Chile se basa principalmente en el pastoreo de praderas permanentes, que representan el recurso alimenticio más abundante y de menor costo en esta zona. Debido a las condiciones climáticas de la zona, las praderas se caracterizan por una gran estacionalidad en su producción. Lanuza (1996) señala que la mayor producción ocurre en los meses de primavera (entre un 40% y 60%), quedando el resto de la producción para las otras tres estaciones. A partir del mes de mayo y hasta mediados de septiembre, el crecimiento de las especies forrajeras es prácticamente nulo. Esto significa que en esta época la alimentación es insuficiente para los animales, con las consiguientes pérdidas de peso y en muchos casos muertes por desnutrición (Soto, 1996). Las pérdidas directas pueden ser contabilizadas, pero no se puede expresar en cifras la impresionante pérdida de peso que anualmente sufren los animales, los problemas de reproducción y de parición y la mayor susceptibilidad a enfermedades como consecuencia de más de cuatro meses de penuria alimenticia (Soto, 1996).

La escasez invernal de forrajes incide directamente en la alimentación animal y, por ello, es necesario adoptar diversas estrategias en el manejo de las praderas y de los animales, dando origen, a su vez, a diversos sistemas de producción (Klee, 1996). Es una práctica común en el sur de Chile la utilización de potreros de sacrificios, especialmente a salida de invierno, en donde los animales son suplementados, ya que el aporte nutritivo de estos potreros es muy bajo, llegando a ser en algunos casos nulo. Además cuando se incorpora el uso de forrajes toscos y/o voluminosos como pajas u otros residuos de cosechas, subproductos agro industriales o granos, se obtienen nuevas alternativas de producción (Klee, 1996).

3.1. Perfiles metabólicos.

Con el objeto de tener un instrumento de diagnóstico paraclínico, que permita estudiar la naturaleza de los trastornos metabólicos y evitar las situaciones adversas producto de desequilibrios nutricionales en un rebaño, Payne y col. (1970) en Compton, Gran Bretaña, propusieron el empleo de los perfiles metabólicos. Este examen mide las concentraciones de distintos elementos sanguíneos, en grupos representativos de animales para evaluar el estado de salud nutricional del rebaño. El perfil metabólico ha sido satisfactoriamente empleado en

diversos países para dilucidar trastornos metabólicos, o cuando aún sin observar anormalidades, se requiere establecer el riesgo de peligro existente para prevenir problemas futuros (Pizarro, 1994).

Los perfiles metabólicos no son un examen nutricional, sino un indicador del balance metabólico nutricional del animal, es decir señala cuando se ha alterado la capacidad de homeostasis en él (Wittwer, 1994). Blowey y col. (1973), determinaron que cambios significativos en las concentraciones sanguíneas de glucosa, urea, albúmina se deben en su mayoría a cambios en la dieta. Sin embargo, menos de la mitad de los cambios en la dieta producen variaciones significativas en los niveles sanguíneos de estos metabolitos.

Para mejorar su utilidad en estudios de nutrición, los resultados de los perfiles metabólicos hay que confrontarlos con antecedentes de la composición de los alimentos, la dieta aportada, comportamiento productivo y el manejo a que han sido sometidos los animales (Orellana, 1989).

3.2. Variables metabólicas.

Las variables metabólicas representan niveles de metabolitos sanguíneos provenientes del metabolismo energético, proteico y mineral.

El volumen de reservas de disponibilidad inmediata de un metabolito está dado por su concentración en la sangre, que se mantiene dentro de ciertos límites de variación fisiológica, y que son considerados valores de referencia (Rowlands y Pocock. 1976). Si la variación se sale de estos rangos en grupo de individuos de un rebaño, nos indica la presencia de un desbalance metabólico nutricional o una alteración orgánica, lo que condicionará una disminución en la capacidad de utilización o biotransformación (Rowlands y col, 1973). Los rangos referenciales* de algunas variables del perfil metabólico se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 1. Rangos referenciales de algunas variables sanguíneas, para bovinos en el sur de Chile.

VARIABLE	UNIDAD	RANGO
Urea	mmol/l	2,6 - 7,0
Proteínas Totales	g/l	66,0 - 90,0
Albúmina	g/l	29,0 - 41,0
Globulinas	g/l	28,0 - 52,0
Hemoglobina	g/dl	9,1 - 13,0
Cobre	umol/l	8,4 - 22,0
Zinc	umo l/l	8,0 - 24,0

* Laboratorio Patología Clínica Veterinaria, UACH. Valdivia, 2000.

3.2.1. Variables del metabolismo proteico en los perfiles metabólicos.

3.2.2.1. Urea: la urea es sintetizada en el hígado a partir del amonio que traspasa la pared ruminal y que llega al hígado vía porta (Stevens y col, 1980; Payne y Payne, 1987).

La relación entre la urea sanguínea, amonio y la proteína de la dieta depende de cuatro factores básicos: disponibilidad de nitrógeno no proteico y proteico en la dieta para la degradación microbiana, disponibilidad de energía para la síntesis proteica microbiana, cantidad de aminoácidos absorbidos del intestino en relación a los requerimientos corporales y del pH del rumen (Manston y col, 1975). Estos factores deben considerarse al interpretar los casos de aumento en la concentración de urea y con ello decidir los procedimientos de normalización, si ello es indicado (Wittwer y col, 1987),

Se ha comprobado en rumiantes que con dietas pobres en proteína su concentración esta disminuida y con dietas ricas en nitrógeno proteico o urea su concentración aumenta (Rowlands, 1980; Wittwer, 1983; Chamberlain y Wilkinson, 1996), por lo tanto, la concentración de urea sanguínea es un indicador sensible de la ingesta de proteínas (Wittwer y col, 1987).

3.2.2.2. Proteínas totales: Constituyente sanguíneo que representa la suma de albúmina y globulinas. La concentración de proteínas totales sanguínea está influenciada por variaciones de las diferentes proteínas, por lo que puede suceder que disminuya una (albúmina), pero junto a ello aumente al otra (globulinas), por lo que no hay variación en su valor total (Wittwer, 1983), por lo tanto, para su análisis se debe tener los valores de sus dos fracciones.

Las hiperproteinemias se presentan generalmente acompañadas de un aumento de globulinas, que es su principal causa de variación (Rowlands y col., 1977). Se han apreciado descensos en su concentración durante el período pre-parto, aumentando en el post-parto (Rowlands y col., 1975). Su disminución más frecuente es por baja concentración de albúmina, en hemorragias y sobrehidratación (Rudolph, 1985).

3.2.2.3. Albúmina: Es la proteína sérica que se encuentra en mayor concentración, aproximadamente 50% de la proteína total. La albúmina es sintetizada en el hígado a, partir de aminoácidos, y es por tanto en algún modo, reflejo de la habilidad del animal para sintetizar y almacenar proteínas. Se debe tener en cuenta entonces que insuficiencias hepáticas y parásitos gastrointestinales también pueden producir descensos en las concentraciones de albúmina (Sykes, 1978; Topps y Thompson, 1984).

La ingesta de proteínas afecta a la concentración sanguínea de albúmina, pero es una respuesta más lenta que la observada en la urea (Rowlands y col, 1980; Chamberlain y Wilkinson, 1996).

3.2.2.4. Globulinas: Es un conjunto de proteínas que se agrupan en alfa, beta, gamma globulinas, según carga eléctrica y velocidad de migración en un campo eléctrico (Tizard, 1989). Las alfa y beta son sintetizadas en el hígado, mientras que la gamma lo son por células

plasmáticas y linfocitos. Estas últimas corresponden a las inmunoglobulinas (Ig G, M, A, D y E) (Wittwer, 1983).

Las hiperglobulinemias se presentan generalmente en primavera, afectando principalmente a las vacas en el inicio de la lactancia y mejores productoras (Wittwer y col., 1987). Su aumento puede observarse en procesos infecciosos agudos o crónicos, parasitismo, alteraciones hepáticas, carcinomas y mielomas (Wittwer, 1983).

3.2.2.5. Hemoglobina: Su concentración es influenciada por la ingesta de proteína, pero al igual que la albúmina, posee una respuesta más lenta que la presentada por la urea al aportar mayores niveles de proteínas (Rowlands, 1980).

A medida que avanza la edad y el número de lactancias la concentración de hemoglobina disminuye (Carrasco, 1981). Además es influenciada por el nivel productivo durante la lactancia, disminuyendo a medida que aumenta la producción (Wittwer y col., 1987).

La hemoglobina puede aumentar en las policitemias y deshidratación, pero en ésta última también se encuentra aumentada la proteína sérica total (Rudolph, 1985).

3.2.3. Cu, Zn y GSH-Px en los perfiles metabólicos.

El diagnóstico adecuado de deficiencias o desbalances minerales como por ejemplo de cobre y zinc, no solo pueden basarse en los aportes entregados a través de los alimentos: sino que también, en análisis complementarios como lo es la medición del nivel de estos minerales en el suero sanguíneo (Stehr, 1988). Sin embargo, los niveles sanguíneos solo se alteran cuando los animales están bajo deficiencias severas. Por otro lado en algunos casos la medición de la actividad de una enzima estrechamente relacionada con un mineral, como es el caso de la glutatión peroxidasa y el selenio: sirve para la evaluación de su nivel sanguíneo (Weiss y col., 1990; Ceballos y col., 1998).

3.2.3.1. Cobre: el cobre forma parte de la estructura de la hemoglobina, también tiene relación con varios sistemas enzimáticos y con la producción de pigmentos (Chamberlain y Wilkinson, 1996). El cobre desempeña funciones importantes en la bioquímica orgánica del bovino, debiendo mantenerse en un rango de concentración orgánica bastante estrecho para mantener el estado normal de salud y productividad (Mayland y col., 1980).

La deficiencia de cobre en los rumiantes puede atribuirse a la presencia en la dieta de factores que reducen su disponibilidad (Bremner y Davies, 1980). El molibdeno y el azufre son probablemente los más importantes, aunque otros metales como el zinc y el hierro pueden también afectar su utilización (Humphries y col., 1983).

3.2.3.2. Zinc: los átomos de zinc cumplen funciones vitales para el organismo al participar como integrantes de estructuras o cofactores de diversos sistemas enzimáticos, entre los que destacan anhidrasa carbónica, fosfatasa alcalina, carboxipeptidasas, polimerasas del DNA y

RNA, timidina kinasa y deshidrogenasas láctica y glutámica (McGilvery, 1979). Deficiencias de zinc causan anorexia, lesiones cutáneas y posiblemente laminitis (Chamberlain y Wilikinson, 1996).

3.2.3.3. GSH-Px: la mayor parte del selenio se encuentra contenido en el interior de las células rojas como componente de la GSH-Px, enzima que juega un papel central en los procesos celulares de óxido-reducción, al suponer un importante mecanismo de defensa celular contra las formas de oxígeno altamente reactivas (radicales libres) que se producen en el organismo durante el metabolismo aerobio habitual (López y col., 1997).

La actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) está altamente correlacionada con el estatus del selenio y puede ser fácilmente medida en laboratorios (Chamberlain y Wilkinson, 1996). La actividad de la GSH-Px es más indicativa del estatus del selenio a largo plazo (Weiss y col., 1990).

3.3. Ciclo productivo de vacas lecheras.

Existen diferentes etapas productivas por las que pasan los animales de lechería. Algunas de ellas están directamente involucradas con el producto final y otras en cambio, tienen su efecto en el mediano o largo plazo (INIA, 1988).

El ciclo productivo de una vaca lechera debería ser aproximadamente de 12 meses, en los cuales se pueden identificar cuatro etapas para el manejo alimentario:

- Balance negativo de energía; producción máxima de leche (desde el parto al día 70 de lactancia aproximadamente).
- Equilibrio de energía; ingestión máxima de materia seca (del día 70 a 140 de lactancia aproximadamente).
- Balance positivo de energía (día 140 a 305 o más de lactancia).
- Período seco (45 a 60 días previo la próxima lactancia).

Dentro de las anteriores etapas, es importante destacar el período seco, ya que es una etapa de transición de diversos factores hacia la próxima lactancia. El intervalo ideal entre secado y parto dependerá, entre otros, de factores inherentes al animal mismo como es su nivel productivo, de su peso y condición corporal, que será la resultante del manejo alimenticio y de sistema productivo a que se encuentran sometidos (INIA, 1988).

La condición corporal de la vaca al momento del secado y al parto, es la resultante del manejo alimenticio a que fue sometida durante la lactancia y período seco respectivamente. No es conveniente un sobreengrasamiento al momento del parto, ni un déficit nutricional durante el período seco, por lo que debe procurarse una suficiente reserva de grasa corporal que al movilizarse al inicio de la lactancia asegura el máximo de producción, sin afectar la salud del animal (Stehr, 1994). Se considera que la condición corporal 3,0-3,5 es la más indicada al parto (Ferguson y Otto, 1989; Dobbelaar, 1995), en una escala de 1 (delgada) a 5 (obesa).

Durante el período seco, la vaca no produce leche, sino que utiliza los nutrientes para el feto en el útero, y para regenerar las células productoras de leche en la ubre en preparación para la próxima lactancia (Bondi, 1988). La vaca continua aumentando su peso corporal, pero este aumento es principalmente en forma del crecimiento de la placenta y su feto en el útero (Bell, 1993).

El período seco y el inicio de la lactancia son etapas cruciales en la vida productiva de las vacas lecheras y constituyen una de las piedras angulares en el éxito de la explotación (INIA, 1988).

Desde el punto de vista de alimentación y manejo, el período seco se puede dividir en dos subperíodos. En el primero (período seco temprano), la vaca está secándose y la ración necesita balancearse sólo para los requisitos de mantenimiento y gestación. En el segundo período (período pre-parto) que representa las tres últimas semanas de gestación, se alimenta la vaca preparándola para la próxima lactancia (Quigley y Drewry, 1998).

3.4. Período pre-parto.

La alimentación y el manejo de la vaca pre-parto puede ayudar a evidenciar el potencial genético de la vaca en la próxima lactancia y minimizar los problemas de salud que suceden generalmente en el periparto (Quigley y Drewry, 1998). dentro de estos se encuentran: hipocalcemia (fiebre de leche), síndrome de movilización grasa, acetonemia, hipomagnesemia, distocia al parto, retención de placenta, metritis, mastitis (Bondi, 1988; INIA, 1988; Stehr, 1994; Grummer, 1995; Grum y col., 1996; Contreras, 1998). Además existen otros trastornos secundarios tales como desplazamiento de abomaso (Stehr, 1994) e infertilidad (Stehr, 1994; Contreras, 1998).

Bell y col. (1992) señalan que si bien el manejo de la vaca pre-parto no es dificultoso, es a menudo mal realizado por los productores. Varios productores asumen incorrectamente que los requerimientos nutricionales son lo suficientemente bajos para que los animales puedan obtener una adecuada nutrición en base a praderas (a menudo de pobre calidad) o en potreros de sacrificio con heno de pradera de regular a mala calidad (Quigley y Drewry, 1998); sin embargo, para entonces la alimentación debe entregar nutrientes adicionales para el crecimiento fetal, preparación del sistema digestivo y para compensar la disminución del consumo de materia seca que ocurre en ese momento (Van Saun, 1991).

Por su parte en nuestro país como la mayoría de los partos ocurren en primavera y otoño, son muchos los productores que no disponen de sistemas de alimentación balanceado en estas épocas. Esto debido a que sólo cuentan con praderas con escaso crecimiento y regular calidad a salidas de invierno y fines de verano respectivamente (Pizarro, 1994), esto coincide generalmente con las tres últimas semanas de gestación donde hay que realizar varios cambios en la dieta y en el manejo (Heinrichs y col., 1996).

3.5. Suplementación pre-parto.

La suplementación y otras estrategias que facilitan el manejo del período pre-parto se basan en el conocimiento de la calidad y cantidad de nutrientes requeridos para soportar el crecimiento fetal durante los últimos estadios de la gestación y síntesis láctea durante la lactancia temprana (Bell, 1995).

Muchas de las dietas del periodo seco temprano consisten solamente en forrajes y un mínimo nivel de granos. Un incremento de granos es requerido en el periodo pre-parto para compensar la escasez energética causada por el rápido crecimiento fetal (Heinrichs y col., 1996) y acostumar a la flora ruminal a los cambios de nivel y composición de la dieta post-parto, maximizando la capacidad funcional de las vellosidades ruminales (Chamberlain y Wilkinson, 1996). El alimento adicional ayudara a reducir alguna pérdida de peso en la gestación tardía, que las vacas pueden experimentar en respuesta al incremento del crecimiento fetal (Van Saun, 1991; Bell, 1993). Se señala que durante los 10 días pre-parto, el incremento de granos en la ración debe llegar aproximadamente de 250 a 500 grs. por cada 50 kilos de peso vivo (Bondi, 1988).

El crecimiento de tejidos fetales aumentan exponencialmente en los últimos estadios de la gestación, haciéndose necesario el aporte conjunto de nutrientes en la ración para el crecimiento fetal y los aumentos de peso de los tejidos de la madre (Prior y Laster, 1979; Bondi, 1988; House y Bell 1994). Según el N.R.C (1989), los requerimientos de proteína cruda para las últimas semanas de gestación es de un 12 % de la materia seca consumida. Cuando no son cumplidos los requerimientos nutricionales se tiene la necesidad de suplementar alimentos proteicos como es por ejemplo, el afrecho de soya entre otros; el cual es el suplemento de proteínas que más se usa en la industria norteamericana de alimentos balanceados (Shaver, 1999).

3.5.1. Suplementación proteica.

Los rumiantes se caracterizan por tener dos sistemas de degradación de los alimentos: uno es el sistema ruminal, el cual en ambiente anaeróbico a las bacterias, protozoos y hongos ruminales realizan una fermentación de los nutrientes liberándose, entre otros compuestos, ácidos grasos volátiles (AGV) y amonio (NH_4), siendo un sistema de baja eficiencia en el uso tanto de la energía como de las proteínas. El otro sistema de degradación es de tipo aeróbico, de mayor eficiencia, en el cual las enzimas del abomaso e intestino degradan los nutrientes a moléculas simples para luego ser absorbidas en la zona posterior del tracto digestivo y metabolizado por el animal huésped (Church, 1993).

Cuando se ofrece fuentes de escaso nivel proteico, se produce una deficiencia de proteína verdadera que debe ser compensada con aportes proteicos que contengan proteínas de baja degradabilidad a nivel ruminal (Bondi, 1988). ya que interesa que la mayor parte de la proteína pase intacta al intestino y así aprovecharla al máximo (Hargreaves, 1988). Sin embargo, en condiciones prácticas, los resultados, aún en varios experimentos cuidadosamente controlados, son inconsistentes, en el sentido de que a veces se constata un efecto positivo al

suplementar con una fuente de proteína no degradable (Dhiman y Satter, 1993) pero en otras ocasiones no se detectan efectos (Petit y Tremblay, 1995).

3.5.1.1. Degradabilidad de la proteína en el rumen: Actualmente la degradabilidad de la proteína del alimento en el rumen se reconoce como un parámetro importante para determinar la respuesta a la nutrición proteica. La degradabilidad de la proteína se puede definir como una medida de la susceptibilidad de ésta a la actividad proteolítica que existe en el rumen, también permite conocer la velocidad a la que se degrada y por lo tanto la posibilidad que egrese sin ser atacada (Orskov, 1982).

Los nuevos sistemas de valoración proteica dan mayor énfasis al conocimiento de la degradabilidad de la proteína, ya que este factor determina dos parámetros del sistema; la proteína degradable disponible para los microorganismos ruminales y la proteína no degradable disponible para la digestión en el intestino delgado y su posterior absorción (Chamberlain y Wilkinson, 1996).

Algunos de los factores que afectan la tasa de degradación son:

A.- Características de la proteína del alimento. Entre las que destacan la solubilidad y la estructura como factores que determinan el nivel de acción de los microorganismos ruminales (Satter y Roffler, 1988). La solubilidad de las proteínas a sido positivamente correlacionada con su degradabilidad en el sentido de que las proteínas solubles al encontrarse en disolución, serán más accesibles a las enzimas de los microorganismos (Owens y Berger. 1983).

La resistencia de la pared celular a la rumia y a la acción de los microorganismos, junto con los tratamientos a los que son sometidos los alimentos, pueden alterar la tasa de degradación de proteínas (Shaver, 1999).

B.- Acción microbiana ruminal: determinada por aporte y disponibilidad de sustratos básicos, nivel de consumo (Chamberlain y Wilkinson. 1996). nivel de inclusión de grasas en la dieta y del pH ruminal (Orskov, 1982).

3.5.2. Suplementación mineral.

Los minerales se dividen en macro y micro minerales, según la cantidad requerida por los animales, perteneciendo al primer grupo el calcio, magnesio, fósforo, potasio, cloro, sodio y azufre; mientras que entre los más importantes del segundo grupo se encuentran el cobre, selenio, cobalto, zinc, yodo y fierro (Chamberlain y Wilkinson 1996).

En bovinos se debe considerar necesariamente una optimización del aporte mineral de acuerdo a los alimentos disponibles y los requerimientos de los animales según su producción y fisiología (Stehr, 1988).

Los trastornos nutricionales de origen mineral ocupan un lugar muy importante entre los factores limitantes en la productividad del ganado bovino (Wittwer y col, 1988). Estos

trastornos están asociados a largos o cortos desbalances entre los aportes, utilización y egresos de los minerales (Chamberlain y Wilkinson, 1996).

Los minerales trazas o microminerales, usualmente se encuentran en la estructura de diversas enzimas o participan como cofactores de éstas; y varios de estos minerales trazas son esenciales para los bovinos (Chamberlain y Wilkinson, 1996).

Durante los últimos años se han diagnosticado algunos problemas de rebaños y casos individuales de alteraciones carenciales en el metabolismo del zinc y cobre (Wittwer y col., 1982; Wittwer y col., 1986).

Según N.R.C. (1989) los requerimientos de zinc, cobre y selenio en el período preparto de vacas lecheras son 40, 10 y 0,3 ppm respectivamente.

La suplementación de minerales en las raciones de bovinos lecheros es variable; desde su inexistencia a aportes que pueden interferir con la absorción o utilización de otros elementos. La suplementación mineral que comúnmente se entrega es a través de sales inorgánicas, ya sea a libre disposición o en cantidades definidas, pero también existen las formas orgánicas de minerales trazas que tienden a ser mejor absorbidos y utilizados por las vacas (Church, 1993; Meza, 1994).

3.5.2.1. Minerales quelados: Existen muchas incógnitas frente a cuales son las mejores formas de presentación de los minerales para que los niveles de absorción y biodisponibilidad sean óptimos para los animales.

La tendencia actual es la de una demanda por productos pecuarios cada vez más libres de residuos, ya sean hormonales, químicos, o de otra naturaleza. Esto ha llevado a desarrollar alternativas en el mejor uso de minerales, orientados a tener productos más estables en el tracto digestivo para lograr mejores niveles de absorción y biodisponibilidad en el organismo: tales propósitos son el objetivo principal del uso de minerales quelados u orgánicos.

La Asociación Oficial Americana de Controladores de Alimentos (AAFCO) define al mineral quelado como el producto resultante de la reacción de un ion metal desdp una sal metálica soluble con aminoácidos con una relación molar de un mol de metal, y de uno a tres (preferiblemente dos) moles de aminoácidos para formar uniones covalentes coordinadas (AAFCO, 1990). El peso molecular de los minerales quelados debe ser mantenido bajo para promover la absorción intestinal intacta (Herrick, 1993).

La ventaja del uso de los minerales quelados es darle más eficacia biológica a los animales, ofreciendo grandes posibilidades para regular cantidad de un determinado ion metálico a nivel celular (Herrick, 1993).

Los investigadores coinciden en la idea que si un ion metal puede ser quelado antes de la alimentación para los animales, la ligadura ayuda al catión, o sea al metal, a no tener partes libres que entren dentro de otras reacciones químicas (Ashmead, 1993).

Los minerales quelados, que llevan una carga neutral, pueden llegar a absorberse y metabolizarse cerca de un 300 % más eficientemente que minerales inorgánicos. Minerales quelados dados adjuntamente a minerales inorgánicos pueden ser más absorbibles y accesibles a niveles intracelulares (Manspeacker y col., 1987).

Grasas y fibras no interfieren con la absorción del mineral quelado debido a la alta constante de formación (o a la baja constante de disociación). Hay experimentos que demuestran que a pesar de que se encuentran mayores cantidades de sales inorgánicas en la mucosa del duodeno y yeyuno que minerales quelados, estos últimos son transportados en mayor cantidad a la serosa, habiendo una mayor disponibilidad de ellos hacia la sangre (Ashmead, 1993).

3.6. Nutrición y sistema inmune.

Ha sido bien establecido que una malnutrición proteica y energética deprimen severamente el sistema inmune (Hutcheson, 1990). Un aporte insuficiente de proteínas da lugar además, a un descenso en el hematócrito y en las últimas etapas, asociado a la hipoproteinemia, se producen edemas (Blood y Radostits, 1992).

Desde hace tiempo se sabe que la deficiencia de minerales trazas y la enfermedad tienen una estrecha relación, pero los efectos de la desnutrición sobre el sistema inmune son complejos. Por ejemplo, la desnutrición puede incluir no sólo deficiencias sino también excesos o desequilibrios de los minerales (Tizard, 1989).

Dentro de este marco, varios autores han estudiado y determinado ciertas relaciones entre el sistema inmune y distintos minerales (Hutcheson, 1990). En vacas deficitarias en selenio se ha descrito una reducción de la actividad de la GSH-Px en las células fagocitarias, y también una disminución de la capacidad bactericida de los neutrófilos frente a distintos agentes (Larsen y col., 1988; Hogan y col., 1990). Swecker y col. (1995) y Wichtel (1998), sostienen que la actividad antioxidante del selenio ha sido asociada con mastitis subclínica y perjuicio de la función inmune. También se ha demostrado un incremento en la formación de anticuerpos en terneros destetados suplementados con selenio (Droke y Loerch, 1989) y viceversa, dietas deficientes en selenio disminuyen el nivel de inmunoglobulinas Ig G e Ig M en plasma (Larsen, 1993). Yamini y Mullaney (1985) citados por Awadeh y col. (1998), sostienen que una deficiencia nutricional del selenio resulta en una supresión de la inmunidad. En la actualidad no está totalmente establecido el papel de este oligoelemento en la respuesta inmune, si bien hay evidencias de que, al menos en parte, responde a la acción protectora ejercida por la glutatión peroxidasa (GSH-Px) (López y col., 1997).

El cobre es esencial para el crecimiento y para la prevención de una serie de trastornos clínicos y patológicos (Bondi, 1988). La deficiencia da lugar a un conjunto de manifestaciones clínicas que incluyen retraso en el desarrollo, cojera, diarrea, desmielinización del sistema nervioso central en recién nacidos y anemia en las últimas etapas de la deficiencia (Blood y Radostits, 1992). El cobre es un componente de células inmunes y del sistema enzimático necesario para ayudar en la protección contra las enfermedades amenazantes y, por lo tanto, se

le ha atribuido en la influencia sobre la función normal del sistema inmune en animales (Graham, 1991). Hutcheson (1990), sostiene que la deficiencia de cobre y un adecuado nivel de este mineral almacenado en el hígado puede perjudicar la respuesta inmune.

Chirase y col. (1991), le han atribuido al zinc la cualidad de mineral inmunocompetente en respuesta a los manejos estresantes de la rutina productiva, incluyendo destete, castración, transporte y lactancia. Kirchgessner y col. (1993), sostienen que una de las principales consecuencias de la deficiencia de zinc es la de una función inmune anormal. Otras consecuencias son menor consumo de alimentos, alopecias, atrofia testicular y paraqueratosis, es decir, trastornos de los tejidos epidérmicos con lesiones abiertas en la piel, lo que hace a los animales más susceptibles a las infecciones.

El presente trabajo pretende aportar al conocimiento de la materia y servir de pauta para futuras investigaciones que relacionen balance proteico, estado metabólico nutricional de minerales trazas y función inmune, como respuesta a un estrés nutricional asociado al pre-parto y lactancia post-parto; planteándose la siguiente hipótesis: La suplementación con afrecho de soya pre-parto, sola o asociada a una suplementación con selenio, cobre y zinc, aumenta las concentraciones de las variables sanguíneas del metabolismo proteico y de las inmunoglobulinas circulantes. Para aceptar o rechazar esta hipótesis, se realizó este experimento con los siguientes objetivos:

- a) Evaluar el efecto metabólico nutricional proteico al parto y tres semanas post-parto mediante la medición de las concentraciones de hemoglobina, urea, proteínas totales, albúminas y globulinas en vacas suplementadas con afrecho de soya con y sin minerales trazas quelados, durante el período pre-parto.
- b) Evaluar el estatus inmunológico al parto y tres semanas post-parto mediante la medición de las Ig G circulantes en vacas suplementadas con afrecho de soya con y sin minerales trazas quelados, durante el período pre-parto.

4. MATERIAL Y METODO

4.1. UBICACIÓN DEL PREDIO.

El presente trabajo se realizó en el predio experimental Vista Alegre perteneciente a la Universidad Austral de Chile, ubicado a 6 kms. al norte de la ciudad de Valdivia, X región.

4.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

Se utilizaron 15 vacas Frisón Negro Chileno clínicamente sanas, de un nivel productivo medio-alto, disponibles en el rebaño predial, con uno o más partos que se encontraban en el último tercio de la gestación; las que al inicio del experimento tenían un peso vivo promedio de 650 kg (anexo 1).

4.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.

La parte de campo del experimento fue realizada desde agosto hasta diciembre de 1999. Las 15 vacas permanecieron en un potrero de sacrificio y recibieron como dieta base paja de avena ad-libitum más 4 kg de avena grano entera. El total de vacas se distribuyó en 3 grupos, según la fecha de parto, cada grupo estuvo constituido por 5 animales los cuales recibieron en el pre-parto la siguiente ración:

- Grupo D.B: sólo dieta base.
- Grupo D.B+S: dieta base + 0,5 kg de afrecho de soya.
- Grupo D.B+S+M: dieta base + 0,5 kg de afrecho de soya +minerales trazas quelados.

Como fuente de minerales trazas quelados se ofreció una mezcla de dos productos comerciales en dosis de:

- 3 g. Por vaca/día. (Producto A*)
- 4 g. Por vaca/día. (Producto B**)

Tabla 2. Composición de los productos usados como fuente mineral.

	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Se (ppm)
Producto A	---	---	1000
Producto B	20000	80000	---

* Sel-plex. ALLTECH CHILE LTDA.

** Bioplex ZMC 842. ALLTECH CHILE LTDA.

El análisis de todos los alimentos utilizados en el ensayo se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 3. Composición química de los alimentos utilizados.

	MS (%)	EM (Mcal/Kg)	PC (%)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Se (ppm)
Avena, grano	97,04	2,80	13,24	10,31	34,78 ^	0,28
Avena, paja	95,22	1,71	3,10	5,42	7,67	0,01
Soya, afrecho	89,70	2,64	49,31	19,82	54,25	0,17
Pradera permanente	18,51	2,59	20,46	15,63	45,53	0,01
Concentrado comercial	86,89	3,03	17,24	8,63	34,06	0,10

La estimación de la composición nutritiva de las dietas consumidas en los distintos grupos se presentan en la tabla 4. Dicho consumo se estimó en base a tablas del N.R.C. (1989), considerando estado fisiológico y peso vivo.

Tabla 4. Ingredientes y estimación de la composición nutritiva de las dietas consumidas por vaca promedio, en los tres grupos del período pre-parto.

Item	Grupo		
	D.B	D.B+S	D.B+S+M
Ingredientes			
Avena, grano (Kg)	4,00	4,00	4,00
Avena, paja	Ad-libitum	Ad-libitum	Ad-libitum
Soya, afrecho (Kg)	---	0,50	0,50
Minerales trazas (g)	---	---	7,00
Composición nutritiva			
MS (Kg)	11,28	11,62	11,32
EM (Mcal)	23,18	24,18	23,56
PC(g)	739,29	950,03	936,97
Cu (ppm)	6,82	7,35	10,88
Zn (ppm)	15,24	16,86	42,80
Se (ppm)	0,10	0,11	0,38

Una vez ocurrido el parto, las vacas pasaron al manejo nutricional rutinario del predio, consistente en: pastoreo directo de pradera permanente, concentrado comercial (5 kg vaca/día parcializado en partes iguales, otorgándolos en la ordeña de la mañana y tarde respectivamente.) y sales minerales** (en dosis de 300 g/vaca día). La estimación de nutrientes consumidos en el post-parto se presenta en la tabla 5.

* Alimento Concentrado Cosetan vaca lechera 15. BIOMASTER S.A.

** Vetersal Lechería estándar.

Tabla 5. Estimación de nutrientes consumidos por vaca promedio en los distintos grupos de animales al inicio de la lactancia.

Nutrientes	Grupo		
	D.B	D.B+S	D.B+S+M
MS (Kg)	16,02	16,19	15,95
EM (Mcal)	42,62	43,07	42,44
PC (Kg)	3,08	3,11	3,06
Cu (ppm)	13,44	13,47	13,43
Zn (ppm)	41,55	41,60	41,53
Se (ppm)	0,03	0,03	0,03

4.4. REGISTRO DE DATOS.

Para realizar la estimación de los nutrientes consumidos por los animales se registraron mediciones de peso vivo, las cuales se realizaron a las 08:30 AM, posterior al ordeño (vacas en lactancia).

Se realizaron tres mediciones del peso vivo (anexo 1) de las vacas: la primera medición fue 3 semanas pre-parto, la segunda fue 1 a 2 días pre-parto y la última fue tres semanas post-parto.

4.5. ANALISIS DE LOS ALIMENTOS.

Muestras de alimentos utilizados en el experimento, se analizaron en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Austral de Chile. El análisis porcentual de los alimentos comprendió la materia seca (MS), la proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC), cenizas totales (CT) por la metodología descrita en Bateman (1970); la energía metabolizable (EM) por el método de Tilley y Terry (1963), cobre (Cu), zinc (Zn) por el método de espectrofotometría de absorción atómica. Los niveles de selenio (Se) de los alimentos utilizados fueron determinados por el método ICP-MS en el laboratorio Hill, Nueva Zelanda. En las sales minerales comerciales, la composición utilizada, fue la que entregaron sus respectivos proveedores.

4.6. TOMA DE MUESTRAS.

El experimento se dividió en período uno (pre-parto) y período dos (21 días post-parto), en las vacas de los tres grupos las muestras de sangre fueron obtenidas lo más cercanamente posible del parto (en promedio cinco días pre-parto) y tres semanas post-parto, para evidenciar las variaciones sanguíneas de los animales en cada período.

Con el objeto de evaluar los parámetros sanguíneos de interés para este experimento se recolectaron muestras de sangre mediante punción yugular, obteniéndose 2 muestras de 10 ml

cada una por vaca con el sistema de tubos al vacío, la primera era sangre más heparina y la segunda sangre sin anticoagulante. Luego fueron transportadas al laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile. De la muestra con heparina se obtuvo un hemolizado utilizado para determinar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) mediante el empleo de un kit comercial* (basado en la técnica cinética compuesta NADPH-dependiente; de la muestra sin anticoagulante se extrajo el suero, el cual fue almacenado a -20° C. hasta su análisis. En el suero se midieron niveles de: urea, proteínas totales, albúmina, globulinas, hemoglobina, zinc y cobre; conservando una fracción de suero para su posterior envío al laboratorio del Instituto de Inmunología donde se determinaron el nivel de inmunoglobulinas G (Ig G) circulantes de cada muestra; a través de la técnica de inmunodifusión radial, estandarizada en el mismo Instituto.

Tabla 6. Variables sanguíneas y métodos empleados para el análisis de las muestras.

VARIABLE	METODO
Urea	Ureasa/reacción Berthelot**
Proteínas totales	Refractometría
Albúmina	Verde de bromocresol
Globulinas	Diferencia entre proteínas totales y albúmina
Hemoglobina	Cianometahemoglobina
Zn y Cu	Absorción atómica***

4.7. ANALISIS DE RESULTADOS.

Los resultados obtenidos se sometieron a la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de la distribución de los valores dentro de cada variable. Dada la condición normal de las distribuciones, se calculó el promedio y desviación estándar de todos los grupos de animales, luego en el primer período se utilizó un análisis de varianza simple para determinar variaciones entre los grupos del ensayo. En el segundo período se utilizó un análisis de varianza simple entre los promedios de los grupos de este período, basados en los promedios de los grupos del primer período. En aquellos grupos que presentaron diferencias significativas, se realizó un test de Tukey para evidenciar entre que grupos era efectivamente la diferencia. Se empleó un nivel de significancia de 5 %.

* Ransel®. Laboratorios Randox, Crumlin, Irlanda del Norte.

** Boehringer Mannheim®.

*** Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer 403.

5. RESULTADOS

5.1. VARIABLES METABOLICAS.

5.1.1. Urea.

En la tabla 7 se presentan los promedios (\bar{x}) y desviaciones estándar (D.E) de las concentraciones de urea sanguínea de los tres grupos de animales en cada período.

Los resultados analizados demuestran que en el primer período los grupos D.B+S y D.B+S+M, presentaron concentraciones de urea sanguínea significativamente ($p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente) mayores que a la presentada por el grupo D.B. En el segundo período esta situación se invierte, evidenciando el grupo D.B, un aumento significativamente ($p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente) mayor sobre los grupos D.B+S y D.B+S+M.

Tabla 7. Promedios (\bar{x}) y desviaciones estándar (D.E) de urea sanguínea (mmol/l) por grupos en cada período.

	Grupo D.B ($\bar{x} \pm D.E$)	Grupo D.B+S ($\bar{x} \pm D.E$)	Grupo D.B+S+M ($\bar{x} \pm D.E$)
Período 1	2,10 \pm 0,35 a	5,03 \pm 1,41 b	6,35 \pm 1,38 b
Período 2	6,87 \pm 2,19 a	5,65 \pm 0,60 b	4,97 \pm 1,92 b

Nota para tablas 7 a 12 y figura 1:

Letras distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre grupos.

5.1.2. Proteínas totales.

La tabla 8 muestra los promedios (\bar{x}) y desviaciones estándar (D.E.) de concentraciones sanguíneas de proteínas totales.

Los resultados evidencian la ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los distintos grupos para el período uno. En el segundo período el nivel de proteínas totales resultó significativamente ($p < 0,05$) mayor para el grupo D.B+S. Esta diferencia significativa ($p < 0,05$) está dada por cambios en la concentración sanguínea de globulinas como puede verse en la tabla 10.

Tabla 8. Promedios (x) y desviaciones estándar (D.E.) de concentraciones sanguíneas de proteínas totales (g/l) por grupos en cada período.

	Grupo D.B (x ± D.E.)	Grupo D.B+S (x ± D.E.)	Grupo D.B+S+M (x ± D.E.)
Período 1	69,6 ± 4,78	69,2 ± 9,34	75,4 ± 3,58
Período 2	75,4 ± 5,55 a	86,4 ± 4,98 b	80,0 ± 4.47 a

5.1.3. Albúmina.

Los promedios (x) y desviaciones estándar (D.E.) para las concentraciones sanguíneas de albúmina se presentan en la tabla 9.

La albúmina sanguínea, en cada período presentó una concentración similar ($p > 0,05$) para los tres distintos grupos.

Tabla 9. Promedios (x) y desviaciones estándar (D.E.) de concentraciones sanguíneas de albúmina (g/l) por grupos en cada período.

	Grupo D.B (x ± D.E.)	Grupo D.B+S (x ± D.E.)	Grupo D.B+S+M (x ± D.E.)
Período 1	31,2 ± 3,11	34,0 ± 3,94	31,4 ± 2,61
Período 2	32,2 ± 1,92	28,8 ± 3,03	30,8 ± 1,48

5.1.4. Globulinas.

En la tabla 10 se presentan los promedios (x) y desviaciones estándar (D.E.) de las globulinas séricas expresadas en g/l de los tres grupos en cada período.

Los resultados analizados demuestran que en el primer período no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos. En el segundo período el promedio de la concentración sérica obtenido del grupo D.B+S es significativamente ($p < 0,01$) mayor que el promedio de los grupos D.B y D.B+S+M.

Tabla 10. Promedios (x) y desviaciones estándar (D.E.) de las globulinas séricas (g/l) por grupos en cada período.

	Grupo D.B (x ± D.E.)	Grupo D.B+S (x ± D.E.)	Grupo D.B+S+M (x ± D.E.)
Período 1	38,4 ± 3,21	35,2 ± 7,26	44,0 ± 5,00
Período 2	43,2 ± 6,02 a	57,6 ± 5,08 b	49,2 ± 5,76 a

5.1.5. Hemoglobina.

Las variaciones de las concentraciones sanguíneas de hemoglobina de los distintos grupos de animales en cada período, son presentadas en la tabla 11.

Durante los períodos del experimento no se observó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los promedios de las concentraciones de hemoglobina en los distintos grupos.

Tabla 11. Promedios (x) y desviaciones estándar (D.E.) de la concentración sanguínea de hemoglobina (g/dl) por grupos en cada período.

	Grupo D.B (x ± D.E)	Grupo D.B+S (x ± D.E.)	Grupo D.B+S+M (x ± D.E.)
Período 1	10,77 ± 1,04	10,12 ± 0,76	10,28 ± 0,29
Período 2	10,5 ± 1,06	9,12 ± 0,68	9,23 ± 1,00

5.1.6. GSH-Px, Cu y Zn.

Las variaciones de la actividad enzimática de la GSH-Px y de las concentraciones sanguíneas de Cu y Zn de los tres grupos en cada período se presentan en la tabla 12.

En estas tres variables analizadas no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Tabla 12. Promedios (x) y desviaciones estándar (D.E) de la actividad enzimática de la GSH-Px (U/g Hb) y de las concentraciones sanguíneas de Cu y Zn (umol/l) por grupos en cada período.

Variable	Período	Grupo D.B (x ± D.E)	Grupo D.B+S (x ± D.E.)	Grupo D.B+S+M (x ± D.E.)
GSH-Px	1	126,0 ± 27,69	153,0 ± 61,27	134,6 ± 26,58
	2	125,4 ± 55,97	126,0 ± 50,76	141,4 ± 53,19
Cu	1	8,6 ± 6,47	9,4 ± 2,61	12,0 ± 4,58
	2	13,2 ± 4,03	18,2 ± 5,26	15,8 ± 6,91
Zn	1	10,6 ± 0,89	8,6 ± 4,28	9,2 ± 4,97
	2	8,2 ± 4,44	8,0 ± 4,30	12,6 ± 2,51

5.2. VARIABLES INMUNOLOGICAS.

5.2.1. Ig G.

En la tabla 13 se presentan los resultados de los niveles de Ig G circulantes en la sangre (mg/dl) de los tres grupos con diferencias en su plano nutricional durante el período pre-parto.

En el primer período no se observó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), mientras que en el segundo período el aumento de las Ig G circulantes en el grupo D.B+S+M (figura 1) fue significativamente ($p < 0,05$) mayor que el grupo D.B, en el cual se observó una disminución de Ig G circulantes.

Se observa, sin embargo, una alta dispersión de los datos junto con niveles muy dispares entre los períodos.

Tabla 13. Resultados de promedios (\bar{x}) y desviaciones estándar (D.E.) de los niveles de Ig G circulantes (mg/dl) de los distintos grupos en cada período.

	Grupo D.B ($\bar{x} \pm D.E.$)	Grupo D.B+S ($\bar{x} \pm D.E.$)	Grupo D.B+S+M ($\bar{x} \pm D.E.$)
Período 1	9655 \pm 3229	7773 \pm 4868	4754 \pm 2420
Período 2	4421 \pm 2027	8929 \pm 1422	7620 \pm 1962

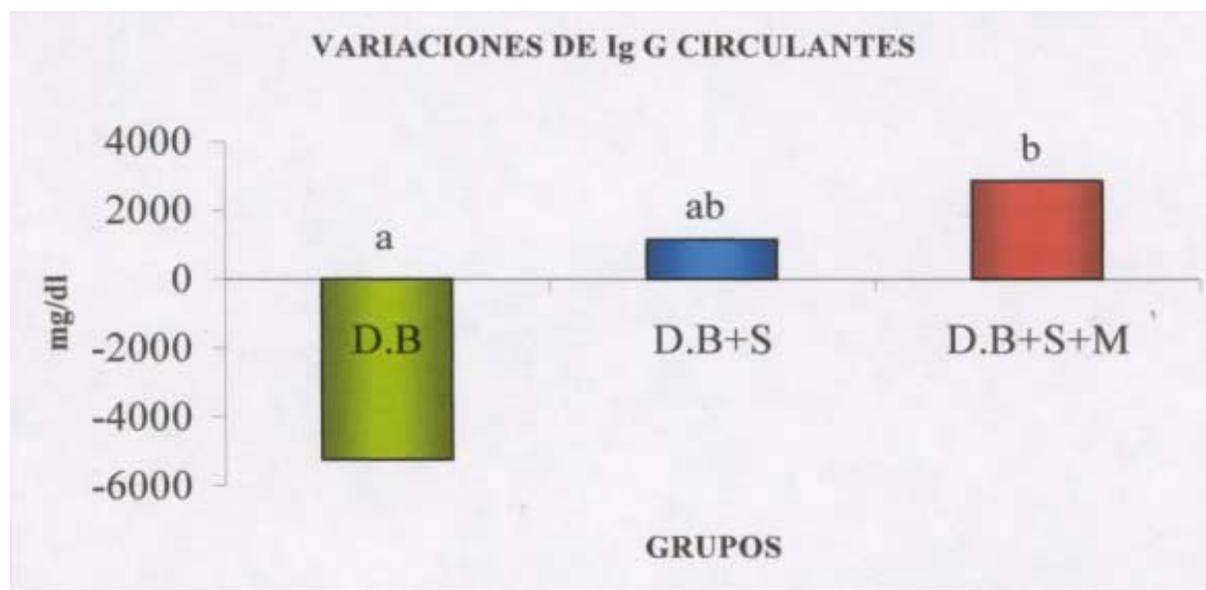


Figura 1. Diferencias de los promedios de cada grupo en el segundo período con respecto al promedio de cada grupo del primer período (0= promedio de los distintos grupos en el primer período).

6. DISCUSION

6.1. VARIABLES METABOLICAS.

6.1.1. Urea.

Son numerosos los estudios que se refieren a la urea como un excelente indicador del nivel de ingesta proteico de los animales (Topps y Thompson, 1984; Payne y Payne, 1987; Waghorn y col, 1990). Estos autores evidenciaron claramente un aumento de las concentraciones sanguíneas de urea al ingerir los animales dietas proteicas. Además, determinaron que en general, las concentraciones de urea en sangre tienden a ser menores en invierno y elevarse en prima vera-verano, cuando el contenido proteico de la pradera aumenta.

Los promedios de las concentraciones de urea sanguínea estuvieron dentro del rango referencial para la especie, de 2,6-7,0 mmol/l*, a excepción del grupo D.B en el primer período. Las concentraciones de urea se presentaron en general, más bajas en el pre-parto, para aumentar posteriormente en el post-parto; discrepando con lo reportado por Oyarzún (1997), quien encontró valores más elevados de urea en vacas con alta gestación y sin producción láctea. Tal discrepancia puede ser explicada por el déficit proteico que soportaron las vacas del presente experimento durante el pre-parto, ya que la proteína cruda consumida por los animales estuvo por debajo del 12 % de la materia seca, nivel recomendado por el N.R.C. (1989).

El aumento significativo de los niveles sanguíneos de urea en los grupos D.B+S y D.B+S+M ($p<0,01$ y $p<0,001$ respectivamente) con respecto al grupo D.B en el primer período, se debería a la suplementación con afrecho de soya, alimento que posee un alto tenor proteico, durante el período pre-parto. Sin embargo, en el segundo período la situación anterior se invirtió, ya que el grupo D.B demostró un aumento significativo ($p<0,05$ y $p<0,01$, respectivamente) con respecto al grupo D.B+S y D.B+S+M. producto de una mayor respuesta presentada por parte del grupo D.B a la normalización de sus niveles de ingesta de proteínas, debido al consumo de pradera de buena calidad en el post-parto.

6.1.2. Proteínas totales.

La concentración sanguínea de proteínas totales está dada por variaciones en la concentración sanguínea de albúmina y globulinas. Se han observados valores más bajos para proteínas totales en vacas pre-parto (Oyarzún, 1997). lo que concuerda con lo observado en el presente experimento.

* Laboratorio Patología Clínica Veterinaria, UACH Valdivia, 2000.

Los grupos D.B y D.B+S, en el primer período presentaron valores promedios de proteínas totales situados en el límite inferior del rango de referencia para la especie, que es de 66-90 g/l*, lo que respaldaría que el aporte proteico durante el período pre-parto fue insuficiente, ya que en ambos grupos el aporte de proteína cruda sólo alcanzó a un 6,6 y 8,2 % de la materia seca respectivamente.

En el segundo período se destaca el aumento significativo ($p<0,05$) del nivel de proteínas totales en el grupo D.B+S, esto se debería al incremento de la concentración de globulinas sanguíneas de ese grupo de animales, ya que las globulinas son la principal causa de variación de las proteínas totales (Rowlands y col, 1977; Sommer, 1985).

6.1.3. Albúmina.

La albúmina tiene una vida media de 15 a 18 días, por lo que su disminución será útil como índice de una deficiencia proteica de largo plazo en la que ocurre una constante pérdida de masa proteica corporal; es decir es un indicador del grado de depleción de las reservas proteicas corporales (Sykes, 1978). Además parece no existir una relación lineal entre albúmina y el grado de deficiencia proteica (Sykes y Field, 1973).

En el presente experimento las albúminas tuvieron una concentración sérica que se mantuvo en el límite inferior del rango de referencia para la especie, de 29-41 g/l *, llegando incluso el grupo D.B+S, en el último período, a tener una concentración promedio levemente bajo el rango de referencia, lo que estaría asociado al bajo aporte proteico durante el pre-parto; a pesar de que este grupo de animales fue suplementado con afrecho de soya, dejando claro a la vez, la poca utilidad de la suplementación en este experimento sobre los niveles de albúmina sérica. Además al inicio de la lactancia, el hígado ve alterada su función de síntesis por la infiltración grasa sufrida por éste en dicho período, debido a la excesiva movilización de grasa corporal (Contreras, 1990).

En los períodos analizados, los promedios de las concentraciones de albúmina de los distintos grupos fueron similares ($p>0,05$), lo que indica que no hubo diferencias en el metabolismo proteico de cada tratamiento del experimento: coincidiendo con los resultados obtenidos por Orellana (1989), quien trabajó durante la alta gestación con dos grupos de ovejas con diferencias en su manejo y plano nutricional.

6.1.4. Globulinas.

Las diferencias encontradas en las concentraciones de globulinas entre los grupos de animales, pueden atribuirse a la edad o a problemas infecciosos (Rowlands y col., 1977). En el presente experimento los promedios de las concentraciones de globulinas se mantuvieron dentro del rango de referencia para la especie, de 28-52 g/l*, a excepción del grupo D.B+S en el último período, el cual sobrepasa el límite superior del rango referencial. Coincidentemente ese mismo grupo de animales y en el mismo período, presentó un aumento de los niveles

* Laboratorio Patología Clínica Veterinaria, UACH. Valdivia, 2000.

séricos de globulinas significativamente ($p < 0,01$) mayor que los otros dos grupos, la causa de este aumento pudo deberse a la presencia de un proceso infeccioso (Wittwer, 1983), el cual no fue manifestado clínicamente, ya que en este período son especialmente susceptibles algunos órganos como útero y glándula mamaria.

6.1.5. Hemoglobina.

Las concentraciones de hemoglobina en los tres grupos fluctuaron dentro del rango de referencia para la especie de 9,1-13,0 g/dl*. En general el nivel de hemoglobina fue levemente más alto en el primer período, para luego disminuir en el segundo período. La menor concentración de hemoglobina al inicio de la lactancia, momento de la mayor producción de leche, concuerda por lo descrito por Hewett (1974), Pizarro (1994) y Oyarzún (1997).

A pesar de no existir diferencia significativa ($p > 0,05$) entre grupos, siempre el grupo D.B presentó los niveles más altos de hemoglobina. Es importante destacar a la vez, que los valores de hemoglobina durante el experimento se mantuvieron más cercanos del límite inferior del rango referencial, lo que podría explicarse por el pobre nivel proteico consumido por las vacas durante el período pre-parto (Rowlands, 1980).

6.1.6. GSH-Px, Cu y Zn.

Los valores de la actividad sanguínea de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) observados en este experimento estuvieron cercanos a los valores observados por Ceballos y col. (1998), de 161 ± 82 ($x \pm D.E$) y 143 ± 65 ($x \pm D.E$) U/g Hb en vacas pre-parto y en vacas al inicio de la lactancia respectivamente.

El aumento de selenio en la ración producirá una elevación de la actividad sanguínea de GSH-Px en un lapso entre 1 a 4 semanas después de la suplementación (Knight y Sunde, 1988). No se observó diferencia significativa ($p > 0,05$) por efecto del tratamiento a lo largo del ensayo, lo que discrepa con lo observado por Weiss y col. (1990), quienes registraron una actividad más alta ($p < 0,05$) de la GSH-Px en vacas suplementadas con 0.2 ppm de selenio durante el período pre-parto. La ausencia de un efecto de la suplementación en este ensayo puede deberse al corto lapso de suplementación.

Los valores promedios de cobre sérico se mantuvieron dentro del rango de referencia para la especie, que es de 8,4-22,0 $\mu\text{mol/l}$ *. La inexistencia de un aumento significativo ($p > 0,05$) del cobre sérico en el grupo D.B+S+M. puede ser explicado por la existencia de cobre almacenado en el hígado de las vacas no suplementadas, el cual mantiene las concentraciones sanguíneas de cobre durante períodos de deficiencia moderada (Chamberlain y Wilkinson, 1996). Puesto que el hígado es el órgano de reserva principal para el cobre, sirve como índice valioso del estado de los animales con respecto al cobre, siendo más fiable que el contenido en cobre del suero sanguíneo (Bondi, 1988).

* Laboratorio Patología Clínica Veterinaria, UACH. Valdivia, 2000.

Los valores promedios de zinc sérico se situaron dentro del rango referencial, que es de 8-24 $\mu\text{mol/l}$ *. En los períodos analizados no se observó efecto de la suplementación mineral, concordando con Kincaid y Cronrath (1993), quienes reportaron que la suplementación con zinc orgánico no afectó las concentraciones de zinc sérico. Lo anterior se debería a la capacidad de los rumiantes de ajustar su balance mineral, mediante mecanismos homeostáticos, reduciendo su excreción fecal, incrementando su absorción o eliminación o movilizándolo sus reservas (Kincaid y col., 1976; Adams y col., 1978; Kirchgessner y col., 1993).

6.2. VARIABLES INMUNOLÓGICAS.

6.2.1. Ig G.

La Ig G es el isotipo de inmunoglobulina que se encuentra en mayor concentración en la sangre y por esta razón juega un rol importante en los mecanismos de defensa mediados por anticuerpos (Tizard, 1989). La molécula de Ig G consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas, unidas por puentes disulfuro, lo que le da una estructura espacial en forma de Y (Roitt, 1997). La Ig G puede opsonizar, aglutinar, precipitar antígenos y en determinadas ocasiones puede también, activar la cascada del complemento (Tizard, 1989).

En el presente experimento se enfrentó el efecto de una suplementación proteica y mineral (a través del afrecho de soya y minerales trazas -Cu, Zn y Se- quelados respectivamente) sobre el nivel de Ig G circulantes y así evaluar su efecto sobre una parte del sistema inmune.

Los niveles promedios de Ig G circulantes obtenidos en este ensayo sobrepasaron en gran magnitud, el rango de referencia para la especie, de 1700-2700 mg/dl (Tizard, 1989). Durante el experimento no se observaron procesos patológicos que hicieran aumentar excesivamente el nivel de Ig G en los animales. Sin embargo, puede ser que estos niveles de Ig G sean normales para el sur de Chile, producto de diferencias en el ambiente y manejo principalmente, que existan con otros países. Lo anterior resulta difícil de comprobar ya que no se encontró información al respecto. Tizard (1989), sostiene que en las vacas se observan diferencias estacionales muy importantes en las cifras séricas de inmunoglobulinas. Ropstad y col. (1989), en mediciones de Ig G séricas a vacas de lactancia temprana obtuvo como valores máximos 5700 mg/dl y 6500 mg/dl durante dos años consecutivos. En el presente experimento varias vacas presentaron valores de Ig G sérica mayores a 12500 mg/dl, valor máximo que entregaba la curva de calibración.

La tendencia general de los niveles de Ig G de los grupos D.B+S y D.B+S+M, a través de los períodos presentó una menor concentración en el período más cercano al parto que en el post-parto, lo que concuerda con lo reportado por Yamamoto y col. (1980), Olson y col. (1981), Lloyd (1983); quienes describen la existencia de una inmuno supresión al final de la gestación. Sin embargo, no concuerda con lo anterior la tendencia observada en el grupo uno.

* Laboratorio Patología Clínica Veterinaria, UACH. Valdivia, 2000.

Resulta inexplicable la diferencia tan radical de los niveles individuales de Ig G circulantes (anexo 2) de la mayoría de los animales, entre los períodos; los cuales no son separados por más de 25 días. Tal diferencia sería a la vez, la causante de la alta dispersión observada en los resultados.

Con respecto al efecto de la suplementación, no se observó efecto, y es más, el grupo D.B+S+M presentó niveles más bajos de Ig G circulantes que el grupo D.B en el primer período, sin ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$), producto probablemente de la alta dispersión resultante. Lo anterior concuerda con lo reportado por Olson y col. (1981), quienes no encontraron interacciones significativas entre los efectos de bajos niveles de proteína en la dieta sobre la concentración de Ig G séricas. Se debe tener presente además, que a pesar de la suplementación proteica entregada a los grupos D.B+S y D.B+S+M, no se alcanzaba a cubrir los requerimientos de proteína en el período pre-parto. Estos datos evidencian el desarrollo de una aparente capacidad de reserva del sistema inmune humoral de los bovinos bajo condiciones de restricción nutricional (Olson y col, 1981). La ausencia del efecto de la suplementación con 0,3 ppm de selenio orgánico concuerda con lo reportado por Larsen y col. (1988), quienes no encontraron aumentos significativos ($p>0,05$) de Ig G sérica, en ovejas con una suplementación de 0,1; 0,5 y 1 ppm de selenio orgánico.

En el último período del ensayo se observó un aumento significativamente mayor de Ig G circulantes en el grupo D.B+S ($p<0,05$) con respecto al grupo D.B, pero esta diferencia ocurrió después de que las vacas habían sido sometidas al mismo manejo nutricional, por lo que la diferencia observada, más que un efecto residual de la suplementación pre-parto, se debería a otros factores como la edad (Williams y Millar, 1978), o el número de partos de las vacas (Halliday y col., 1978), o exposición a determinados antígenos, siendo este último, el principal factor que determina la producción y niveles de Ig G circulantes (Tizard, 1989).

El análisis general de los resultados obtenidos en las diversas variables sanguíneas estudiadas, permite concluir que:

1.- En condiciones de un aporte proteico bajo el nivel recomendado para el período pre-parto, la suplementación con 0,5 Kg. de afrecho de soya sólo incrementó los niveles sanguíneos de urea.

2.- La suplementación de selenio, cobre y zinc quelado, bajo las condiciones en que se entregaron, no provocaron efectos sobre los parámetros metabólicos e inmunológicos analizados.

3.- Por la gran variabilidad y elevados niveles de Ig G circulantes observados en este experimento, se hace necesario la ejecución de nuevos experimentos al respecto en nuestro medio, para poder comparar con otros resultados y lograr determinar valores de referencia.

7. BIBLIOGRAFIA

- AAFCO. Association of American Feed Control Officials. 1990. Some definitions of the various product concepts as formalized by the Association of American Feed Control Officials, *Feed Stuffs* 62: 16.
- ADAMS, R., W. TOUB, D. KRADEL, S. GUSS, B. MOSER, G. YUNG. 1978. Use and limitation of pro files in assessing health or nutritional status of dairy herds, *J. Dairy Sci.* 61: 1671-1679.
- ASHMEAD, D. 1993. Comparative intestinal absorption and subsequent metabolism of metal amino acid chelates and inorganic metal salts. En: The roles of amino acid chelates in animal nutrition. Noyes Publications. New Jersey, USA.
- AWADEH, F., R. KINCAID, K. JOHNSON. 1998. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves, *J. Anim. Sci.* 76: 1204-1215.
- BATEMAN, J. 1970. Nutrición animal. Manual de métodos analíticos. Centro Regional de Ayuda Técnica. México.
- BELL, A., M. RYMPH, R. SLEPETIS, W. HOUSE, R. EHRHARDT. 1992. Net nutrient requirements for conceptus growth in holstein cows-implications for dry cow feeding. En: Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf, Rochester. New York, USA, pp. 102-109.
- BELL, A. 1993. Pregnancy and fetal metabolism. En: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. J.M Forbes and J. France (Ed.) CAB International, Oxford, U.K.
- BELL, A. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation, *J. Anim. Sci.* 73: 2804-2819.
- BLOOD, D. y O. RADOSTITS. 1992. Enfermedades causadas por deficiencias nutricio nales. En: Medicina Veterinaria. 7^a ed.. Nueva Editorial Interamericana S.A. México.
- BLOWEY, R., D. WOOD, J. DAVIS. 1973. A nutritional monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. *Vet. Rec.*, 92: 691-696.
- BONDI, A. 1988. Nutrición animal. 1^a ed.. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España.

- BREMNER, I. y N. DAVIES. 1980. Dietary composition and the absorption of trace elements by ruminants. En: Digestive physiology and metabolism in ruminants. Ruckebush-Thivend ed. Lancaster. MTP Press.
- CARRASCO, G. 1981. Valores hematológicos normales de hembras bovinas de algunas lecherías de Chillán y San Carlos, Nuble. Tesis, M.V., Universidad de Concepción, Fac. Cienc. Agrop. For., Chillán, Chile.
- CEBALLOS, A., F. WITTEWER, P. CONTRERAS, H. BÖWMWALD. 1998. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año, *Arch. Med. Vet.* 30: 13-22.
- CHAMBERLAIN, A. y J. WILKINSON. 1996. Feeding the dairy cow. Chalcombe publications, Lincoln, Reino Unido.
- CHIRASE, N., D. HUTCHESON, G. THOMPSON. 1991. Feed intake, rectal temperature, and serum mineral concentrations of feedlot cattle fed zinc oxide or zinc methionine and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus, *J. Anim. Sci.* 69: 4137-4145.
- CHURCH, D. 1993. The Ruminant animal. 2nd ed., Waveland Press, USA.
- CONTRERAS, P. 1990. Algunas enfermedades asociadas al desbalance mineral y energético en bovinos. En: Diagnósticos Diferenciales de las Principales Enfermedades de las Especies de Producción. Ed. M. Quezada. Universidad de Concepción-Chile. pp. 186-199.
- CONTRERAS, P. 1996. Consideraciones sobre la suplementación mineral para desbalances metabólicos-nutricionales en rebaños bovinos. En: III Seminario: Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. Ed. F. Lanuza y G. Bortolameolli, Serie Remehue N° 64, pp. 85-103.
- CONTRERAS, P. 1998. Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños, *Arch. Med Vet.* 30: 17-27.
- DHIMAN, T. y L. SATTER. 1993. Protein as the first-limiting nutrient for lactating dairy cows fed high proportions of good quality alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 76: 1960-1971.
- DOBBELAAR, P. 1995. Body condition of cows, *Veeopro Holland.* 23: 12-123.
- DROKE, E. Y S. LOERCH. 1989. Effects of parenteral selenium and vitamin E on performance, health, and humoral immune response of steers new to the feedlot environment, *J. Anim. Sci.* 67: 1350-1359.

- FERGUSON, J. y K. OTTO. 1989. Managing body condition in dairy cows. En: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufactureis. Ithaca. New York.
- GRAHAM, T. 1991. Trace element deficiencies in cattle, *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 7: 153-162.
- GRUMMER, R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow, *J. Anim. Sci.* 73: 2820-2831.
- GRUM. D., J. DRACKLEY, R. YOUNKER, D. La COUNT, J. VEENHUIZEN. 1996. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows, *J Dairy Sci.* 79: 1850-1864.
- HALLIDAY, R., A. RUSSELL, M. WILLIAMS, J. PEART. 1978. Effects of energy intake during late pregnancy and of genotype on immunoglobulin transfer to calves in suckler herds, *Res. Vet. Sci.* 24: 26-31.
- HARGREAVES, A. 1988. La proteína en raciones de vacas lecheras. *Investigación y Progreso Agropecuario Remehue*, N° 8, pp. 8-11.
- HEINRICHS., A., V. ISHLER, R. ADAMS. 1996. Feeding and managing dry cows. College of Agricultural Sciences. Extension Circular 372. USA.
- HERRICK, J. 1993. Minerals in animal health. En: The roles of amino acid chelates in animal nutrition. Noyes publications. New Jersey, USA.
- HEWETT, C. 1974. On the causes and effects of variations in the blood pro file of swedish dairy cattle, *Acta Vet. Scand.* 50: 1-152.
- HOGAN, J., K. SMTH, W. WEISS, D. TODHUNTER, W. SCHOCKEY. 1990. Relationships among vitamin E, selenium and bovine blood neutrophils, *J. Dairy Sci.* 73: 2372-2378.
- HOUSE, W. Y A. BELL. 1994. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in holstein cows, *J. Dairy Sci.* 77: 1860-1869.
- HUMPHRIES, W., M. PHILLIPPO, B. YOUNG, I. BREMNER. 1983. The influence of dietary iron an molybdenum on copper metabolism in calves, *British J. Nutr.* 49: 77-86.
- HUTCHESON, D. 1990. Nutrition critical in getting calves started right, *Feed Stuffs* 62: 14-17.
- INIA, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 1988. Importancia del período seco en la vaca lechera. Osorno, Chile (Boletín técnico N° 133).

- KINCAID, R., W. MILLER, P. FOWLER, D. HAMPTON, R. GENTRY. M. NEATHERY. 1976. Effect of high dietary zinc upon zinc metabolism and intracellular distribution in cows and calves, *J. Dairy Sci.* 59: 1580-1592.
- KINCAID, R. y D. CRONRATH. 1993. Effects of added dietary fat and amino acids on performance of lactating cows, *J. Dairy Sci.* 76: 1601-1606.
- KIRCHGESSNER, M., B. PAULICKS, H. ROTH. 1993. Zinc en nutrición animal. Función, deficiencia, diagnóstico, requerimientos, suplementación y absorción, *Ciencia e Investigación Agraria*, 20: 161-181.
- KLEE, G. 1996. La pradera en los sistemas de producción de carne bovina. En: Ruiz, I. (Ed). Praderas para Chile, 2ª Edición, INIA, Santiago. Chile.
- KNIGHT, S. y R. SUNDE. 1988. Effect of selenium repletion on glutathione peroxidase protein level in rat liver, *J. Nutr.* 118: 853-858.
- LANUZA, F. 1996. Requerimientos de suplementación para vacas lecheras a pastoreo. En: III Seminario: Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. Ed. F. Lanuza y G. Bortolameolli, Serie Remehue N° 64, pp. 53-69.
- LARSEN, H., K. MOKSNES, G. OVERNES. 1988. Influence of selenium on antibody production in sheep. *Res. Vet. Sci.* 45: 4-10.
- LARSEN, H. 1993. Relation between selenium and immunity, *Norw. J. Agric. Sci. Suppl.* 11: 105-119.
- LLOYD, S. 1983. Immunosuppression during pregnancy and lactation, *Irish. Vet. J.* 37: 64-70.
- LOPEZ, M., M. MIRANDA, J. HERNANDEZ. C. CASTILLO. J. BENEDITO. 1997. Glutathión peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de Selenio en rumiantes, *Arch. Med. Vet.* 29: 171-180.
- MANSPEACKER, J., M. ROBL., G.H. EDWARDS. L.W. DOUGLASS. 1987. Chelated minerals: Their role in bovine fertility, *Vet. Med.* 82: 951-956.
- MANSTOR R., A. RUSSELL. S. DEW, J. PAYNE. 1975. The influence of dietary protein upon composition blood in dairy cows, *Vet. Rec.* 96: 497-502.
- MAYLAND, M., R. ROSENAU, A. FLORENCE. 1980. Grazing cow and calf responses to zinc supplementation *J. Anim. Sci.* 51: 966-974.
- McGILVERY, R. 1979. Biochemistry. A functional approach. 2nd ed., W.B. Saunders, Philadelphia, USA.

- MEZA, L. 1994. Efecto de la suplementación de minerales quelados sobre algunos parámetros productivos y hematológicos en terneros de lechería con diferentes sistemas de alimentación. Tesis, M.V., Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria, Chillan, Chile.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (N.R.C). 1989. Nutrient Requirements of dairy cattle. 6th rev. Ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- OLSON, D., L. WOODARD, R. BULL, D. EVERSON. 1981. Immunoglobulin levels in serum and calostrual whey of protein-metabolisable energy restricted beef cows, *Res. Vet. Sci* 30: 49-52.
- ORELLANA, W. 1989. Composición sanguínea en dos grupos de ovejas con diferencias en su manejo y plano nutricional durante la alta gestación. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ORSKOV, E. 1982. Protein Nutrition in Ruminants. Academic Press London. New York, USA.
- OWENS, F. y W. BERGER. 1983. Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective. current understanding and future implications, *J. Anim. Sel* 57: 498-518.
- OYARZUN, J. 1997. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos de rebaños lecheros en el sur de Chile 1986-1996. Tesis. M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- PAYNE, J., M. SALLY, R. DEW, M. MANSTON, M. FAULKES. 1970. The use of a metabolic profile test in dairy herds, *Vet. Rec.* 87: 150-158.
- PAYNE, J y S. PAYNE. 1987. The metabolic profile test. Oxford University Press. New York, USA.
- PETIT, H. y G. TREMBLAY. 1995. Milk production and intake of lactating cows fed grass silage with protein and energy supplements, *J. Dairy Sci.* 78: 353-361.
- PIZARRO, J. 1994. Perfiles metabólicos y condición corporal en vacas de lechería de baja producción sometidas a restricción alimenticia durante el pre y post-parto. Tesis, M.V., Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria, Chillán, Chile.
- PRIOR, R. Y D. LASTER. 1979. Development of the bovine fetus, *J. Dairy Sci.* 74: 2336-2341.
- QUIGLEY, J., J. DREWRY. 1998. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre and postcalving, *J. Dairy Sel* 81: 2779-2790.

- ROITT, I. 1997. *Inmunología*. 4ª Edición, Harcourt Brace Publishers international de España, S.A. Madrid, España.
- ROPSTAD, E., H. LARSEN, A. REFSDAL. 1989. Immune function in dairy cows related to energy balance and metabolic status in early lactation, *Acta Vet. Scand.* 30: 209-219.
- ROWLANDS, G., J. PAYNE, S. DEW, R. MANSTON. 1973. A potencial use of metabolic profiles in the selection of superior cattle, *Vet. Rec.* 93: 48-49.
- ROWLANDS, G., R. MANSTON, R. POCOCK, S. DEW. 1975. Relationships between stage of lactation and pregnancy and blood composition in a herd of dairy cows and the influences of seasonal changes in management on these relationships, *J. Dairy Res.* 42: 349-362.
- ROWLANDS, G. y R. POCOCK. 1976. Statistical basis of the Compton metabolic profile test, *Vet. Rec.* 98: 333-338.
- ROWLANDS, G., W. LITTLE, B. KITCHENHAM. 1977. Relationship between blood composition and fertility in dairy cows a field study, *J. Dairy Res.* 44: 1-7.
- ROWLANDS, G. 1980. Metabolites in the blood of beef and dairy cattle, *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 35: 172-235.
- ROWLANDS, G., R. MANSTON, A. STARK, A. RUSSEL, K. COLLIS, S. COLLIS. 1980. Changes in albumin, globulin, glucose and cholesterol concentrations in the blood of dairy cows in late pregnancy and early lactation and relationships with subsequent fertility, *J. Agric. Sci* 94: 517-527.
- RUDOLPH, W. 1985. Perfiles bioquímicos en los animales domésticos, *Monografías Med. Vet.* 7: 5-16.
- SATTER, L. y R. ROFFLER. 1988. Influencia de la ingestión de nitrógeno y carbohidratos sobre la fermentación ruminal. En: Haresign. W y D. Dole (Ed.). *Avances en nutrición de los rumiantes*. Acribia. Zaragoza, España.
- SHAVER, R. 1999. Proteínas de soya para vacas en lactación, *Alimentos balanceados para animales*, N° 4, pp. 14-17.
- SOMMER, H. 1985. Control de la salud y del aporte de nutrientes en las vacas lecheras. *Not. Med. Vet.* 1: 13-15.
- SOTO, P. 1996. Forrajes suplementarios de invierno y verano. En: Ruiz, I (Ed.). *Praderas para Chile*, 2ª Edición, INIA, Santiago, Chile.

- STEHR, W. 1988. Avances en nutrición mineral de los rumiantes. Producción Animal. Serie B Universidad Austral de Chile, N° 13, pp. 40-59.
- STEHR, W. 1994. Manejo nutricional de vacas lecheras, *El Campesino* 125(12): 12-18.
- STEVENS, J., J. ANDERSON, W. OLSON, J. SCHLOTTHAWER. 1980. Metabolic profile testing. En: Amstutz, H. (ed.). Bovine Medicine y Surgery. Vol. I, 2nd Edition, American Veterinary Publications, Inc.
- SWECKER, W., C. THATCHER, D. EVERSOLE, D. BLODGETT, G. SCHURIG. 1995. Effect of selenium supplementation on colostral Ig G concentration in cows grazing selenium-deficient pastures and on postsuckle serum Ig G concentration in their calves, *Am. J. Vet. Res.* 56: 450-453.
- SYKES, A. y A. FIELD. 1973. Effects of dietary deficiencies of energy, protein and calcium on the pregnant ewe, *J. Agric. Sci.* 80: 29-36.
- SYKES, A. 1978. An assessment of the value of plasma urea nitrogen and albumin concentrations as monitors of the protein status of sheep. En: Lister. D. (ed.). The Use of Blood Metabolites in Animal Production. Ocasional Publication N° 1:143-154. British Society of Animal Production, UK.
- TILLEY, J. y R. TERRY. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassld. Soc.* 18: 104-111.
- TIZARD, I. 1989. Inmunología veterinaria. 3^a Edición. Interamericana McGraw-Hill, México.
- TOPPS, J. y J. THOMPSON. 1984. Blood characteristics and the nutrition of ruminants. Her Majesty's Stationery Office, Londres.
- VAN SAUN, R. 1991. Dry cow nutrition: the key to improving fresh cow performance. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 7: 599-620.
- WAGHORN G., J. SMTH, M. ULYATT. 1990. Effect of protein and energy intake on digestion and nitrogen metabolism in wethers and on ovulation in ewes, *Anim. Prod.* 51: 291-300.
- WEISS, W., D.TODHUNTER, J. HOGAR L. SMTH. 1990. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows, *J. Dairy Sci.* 73: 3187-3194.
- WICHTEL, J. 1998. A review of selenium deficiency in grazing ruminants. Part 1: new roles for selenium in ruminant metabolism, *New Zealand Vet. J.* 46: 47-54.

- WILLIAMS, M. y P. MILLAR. 1978. Changes in Ig G 2 levels with age in British cattle, *Res. Vet. Sci.* 25: 82-85.
- WITTWER, F., V. URIBARRI, H. BÖHMWALD, P. CONTRERAS. 1982. Concentraciones séricas de zinc y cobre en vacas de 18 lecherías de la X región. En: V Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Valdivia, Chile.
- WITTWER, F. 1983. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- WITTWER, F., H. BÖHMWALD, P. CONTRERAS, R. ANRIQUE, R. FUCHSLOCHER. 1986. Estudio diagnóstico de la deficiencia de zinc y cobre en bovinos de la X región. En: VI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, Santiago, Chile.
- WITTWER, F., H. BÖHMWALD, P. CONTRERAS, J. FILOZA. 1987. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile, *Arch. Med. Vet.* 19: 35-45.
- WITTWER, F., P. CONTRERAS., H. BÖHMWALD, R. ANRIQUE, R. FUCHSLOCHER. 1988. Concentraciones de zinc y cobre en forraje y suero sanguíneo de 40 predios lecheros de la X región-Chile, *Arch. Med. Vet.* 20: 118-125.
- WITTWER, F. 1994. Diagnóstico de desbalances metabólicos nutricio nales en animales de producción. Primer curso nacional de divulgación en técnicas de R.I.A, y evaluación de metabolitos sanguíneos y cinéticas digestivas relacionadas en la nutrición y reproducción en bovinos, Maracay, Venezuela.
- YAMINI, B. y T. MULLANEY. 1985. Vitamin E and selenium deficiency as a possible cause of abortion in food animal. Proc. 28th Annu. Mtg. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn., Madison, WI. Pp. 131-144. Citado por Awadeh, f., R. Kincaid, K. Johnson. 1998. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves, *J. Anim. Sci.* 76: 1204-1215.
- YAMAMOTO, T., H. HIRATA, H. TANIGUCHI, Y. KAWAI, A. VEMATSU, Y. SUGIYAMA. 1980. Lymphocyte transformation during pregnancy. An analysis using whole blood culture, *Obstet. Gynec.* 55: 215-219.

8. ANEXOS

Anexo 1. Valores de peso vivo (Kg) de los animales de cada grupo, durante el experimento.

R.P.	GRUPO	3 Sem. Pre-parto	1-2 Días Pre-parto	3 Sem. Post-parto
700	D.B	N.R*	765,0	694,0
2050	D.B	N.R	488,0	416,0
1889	D.B	N.R	676,0	608,0
1060	D.B	N.R	703,0	629,0
1943	D.B	N.R	539,0	471,0
PROM.		N.R	634,2	563,6
1964	D.B+S	509,0	516,0	442,0
841	D.B+S	770,0	765,0	687,0
748	D.B+S	726,0	722,0	649,0
1921	D.B+S	604,0	603,0	536,0
1732	D.B+S	700,0	715,0	641,0
PROM.		661,8	664,2	591,0
1153	D.B+S+M	542,0	548,0	471,0
1658	D.B+S+M	654,0	661,0	579,0
1783	D.B+S+M	656,0	647,0	575,0
1271	D.B+S+M	666,0	665,0	593,0
759	D.B+S+M	669,0	680,0	608,0
PROM.		637,4	640,2	565,2

* N.R= Valores no registrados.

Anexo 2. Valores individuales de Ig G séricas (mg/dl) durante el experimento.

R.P.	GRUPO	PERIODO 1	PERIODO 2
700	D.B	>12500	4069
2050	D.B	4759	7948
1889	D.B	> 12500	2784
1060	D.B	10042	3593
1943	D.B	8472	3712
1964	D.B+S	2570	7068
841	D.B+S	> 12500	9971
748	D.B+S	11470	10137
1921	D.B+S	2522	9733
1732	D.B+S	9804	7734
1153	D.B+S+M	4759	5973
1658	D.B+S+M	2760	9043
1783	D.B+S+M	4664	5045
1271	D.B+S+M	2856	8781
759	D.B+S+M	8733	9257