Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias

CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE ALGUNOS MICROMINERALES Y VITAMINAS EN VAQUILLAS EN PASTOREO SUPLEMENTADAS CON BOLOS DE DEPÓSITO INTRARUMINAL

Memoria de Título Presentada como parte de los requisitos para optar al TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

DANIELA HEUFEMANN GONZÁLEZ

VALDIVIA – CHILE
2011

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Ricardo Chihuailaf V.

PROFESOR COPATROCINANTE

Dr. Eduardo Quiroz R.

PROFESORES CALIFICADORES

Dra. Mª. Angélica Hidalgo G.

Dr. Juan Pablo Smulders R.

FECHA DE APROBACIÓN: 29/12/2011

ÍNDICE

Capítulos Página

1. RESUMEN…….……..…1

2. SUMMARY.……..…2

3. INTRODUCCIÓN……..….….3

4. MATERIAL Y MÉTODOS……..…….8

5. RESULTADOS……..…..11

6. DISCUSIÓN.……...16

7. REFERENCIAS……. 19

8. ANEXOS……..……21

9. AGRADECIMIENTOS..……..…23

1. RESUMEN

El uso de bolos intraruminales de liberación prolongada facilita el aporte de oligoelementos y vitaminas mediante la liberación constante por largos periodos, luego de una sola aplicación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la concentración sanguínea de cobre, zinc, selenio, α-tocoferol y retinol en vaquillas en pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal.

En este estudio se emplearon 30 vaquillas frisonas, asignadas al azar en 2 grupos experimentales. Un grupo recibió dos bolos de depósito intraruminal mientras el otro grupo se mantuvo como control. Se obtuvieron muestras de sangre previo a la administración de los bolos y luego cada 45 días hasta los 194 días de ensayo. Se determinó la concentración de cobre y zinc mediante espectrometría de absorción atómica, la concentración de α-tocoferol y retinol mediante HPLC y la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GPx) mediante un método espectrofotométrico. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza de medidas repetidas, seguido de la prueba LSD. El nivel de significación utilizado fue 5%.

La actividad sanguínea de GPx fue incrementada por los bolos de depósito y fue diferente del grupo control entre los días 49 y 145 de ensayo ($P<0,05$). Las concentraciones plasmáticas de cobre fueron diferentes entre grupos siendo mayor en le grupo suplementado entre los días 92 y 145 de ensayo ($P<0,05$). Las concentraciones séricas de zinc fueron similares durante todo el estudio ($P\geq0,05$). Las concentraciones plasmáticas de α-tocoferol y retinol fueron similares previo a la suplementación ($P>0,05$) y no fueron diferentes entre grupos durante todo el ensayo.

La administración de dos bolos de depósito intraruminal en vaquillas a pastoreo no modifica las concentraciones plasmáticas de retinol, α-tocoferol y zinc. Sin embargo, incrementan la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa durante 150 días y evita el descenso de la concentración plasmática de cobre.

***Palabras clave*:** microminerales, vitaminas, vaquillas, bolos intraruminales

2. SUMMARY

BLOOD MICROMINERALS AND VITAMINS CONCENTRATION IN GRAZING HEIFERS SUPPLEMENTED WITH INTRARUMINALS BULLETS

The use of extended release intraruminal bullets facilitates the supply of trace elements and vitamins by the continuous release for long periods after a single application. The aim of this study was assess the blood concentration of cooper, zinc, selenium, α-tocopherol and retinol on grazing heifers supplemented with intraruminal deposit bullets.

For the study 30 heifers were selected, at random allocated in two experimental groups. One group received intraruminal deposit boluses while the other group was kept as control. Blood samples were obtained before the administration of bullets and then every 45 days up to the 194 testing days.

The concentration of copper and zinc was measured by atomic absorption spectrometry and the concentration of α-tocopherol and retinol by HPLC technique. The activity of blood glutathione peroxidase (GPx) was determined by a spectrophotometric method. The results were expressed as arithmetic mean and mean standard error and analyzed by ANOVA for repeated measures followed for the LSD test. The significance level used was 5%.

Blood GPx activity was increased by supplementation with bullets and it was different from the control group between days 49 and 145 testing days ($P<0.05$). Plasma concentrations of copper were different between groups and it was higher in supplemented group than control group between 92 days and 145 testing days ($P<0.05$). Serum zinc concentration was similar throughout the study ($P\geq0.05$). Plasma concentrations of α-tocopherol and retinol were similar before supplementation ($P\geq0.05$), but it were not different between groups throughout the trial.

It is concluded that the use of two intraruminal bullets in heifers grazing does not modify the plasma levels of α-tocopherol, retinol and zinc. However, the intraruminal bullet increases the blood activity of glutathione peroxidase for 150 days and it prevents the decrease in plasma concentration of copper.

***Key words*:** microminerals, vitamins, heifers, intraruminal bullet

3. INTRODUCCIÓN

Los desbalances nutricionales que afectan a los rebaños se producen porque el aporte o la utilización de los alimentos no es capaz de satisfacer los requerimientos de mantención y/o producción. Cuando estos desbalances son de corta duración y no demasiados severos, el metabolismo del animal los puede compensar, utilizando sus reservas corporales; sin embargo, si el desbalance es severo o moderado pero persistente, el animal agota sus reservas corporales y se presentan las enfermedades. Lamentablemente, la mayoría de estas enfermedades tienen un efecto de difícil percepción, sin embargo actúan limitando la producción de un modo persistente que provoca disminución de la rentabilidad de la empresa pecuaria (Contreras 1996).

Las actuales tendencias en la nutrición mineral del bovino van en dos líneas bien diferentes, ya se trate de sistema de explotación intensiva o extensiva. En el primer caso se estudia minimizar los aportes para evitar excreciones innecesarias que crean un problema importante de contaminación ambiental. En el ganado extensivo, se busca la forma de evitar el riesgo de subnutrición en elementos minerales procurando conseguir un adecuado contenido en el pasto mediante fertilización, situación complicada y costosa cuando la carga ganadera es baja (gran superficie a fertilizar) y la variación estacional es alta (Ciria y col 2005).

Muchos factores afectan los requerimientos minerales, incluyendo la naturaleza y el nivel de producción, edad, forma química de los elementos, interrelación con otros nutrientes, consumo de minerales, raza y adaptación de los animales (McDowell 2003).

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. Las vacas lecheras pueden ser suplementadas durante la ordeña en la sala; no obstante, las vaquillas tienen un manejo diferente quedando generalmente supeditadas al aporte mineral de la pradera que en algunos casos es muy bajo (Molina 2000).

3.1 LOS OLIGOELEMENTOS

El término micro, oligoelementos o elemento traza se refiere a los elementos que están presentes en pequeñas cantidades en la dieta y son necesarios en pequeñas cantidades para el organismo (NRC 2001). Aunque representan menos del 0,01% de la masa total de un organismo, muchos son esenciales para la función normal (Rabiee y col 2010).

Los elementos traza son requeridos para un crecimiento y desarrollo normal de los animales. Participan en la síntesis de proteínas, son componentes estructurales de proteínas y son activadores de una amplia gama de sistemas enzimáticos (Ceylan y col 2008). Para cada elemento hay un rango seguro y adecuado de ingesta, en que la homeostasis es capaz de mantener las concentraciones y funciones tisulares óptimas, pero además cada oligoelemento es potencialmente tóxico cuando el rango adecuado es excedido (Mertz 1981).

3.2 VITAMINAS

Las vitaminas tienen diversas funciones incluyendo la participación en muchas vías metabólicas, función celular inmune y regulación genética. Una carencia de vitaminas resulta en una enfermedad carencial específica.

De las vitaminas liposolubles el ganado lechero requiere de las vitaminas A, D, E y K, sin embargo, las vitaminas A y E son las únicas con un requerimiento dietario absoluto (NRC 2001). Vitaminas A y E son dos nutrientes esenciales que juegan un papel muy importante en numerosos procesos biológicos. Debido a que son solubles en grasa, comparten varios mecanismos comunes relativos a su metabolismo y la transferencia a su descendencia. También se exhiben algunas funciones complementarias (Debier y Larondelle 2005).

3.3 IMPORTANCIA DE LOS OLIGOELEMENTOS Y VITAMINAS EN BOVINOS LECHEROS

Los minerales y vitaminas juegan un rol importante en la salud del ganado (McDowell 2002). Los minerales traza son necesarios para la síntesis de hormonas, la función reproductiva normal, síntesis de vitaminas, síntesis de enzimas y la integridad del sistema inmune (Rabiee y col 2010). Los beneficios incluyen mejoras en la fertilidad y reducción en la incidencia de lesiones podales, entre otros (Nocek y col 2006).

Las deficiencias de minerales usualmente implican varios minerales así como otros factores condicionantes. Sin embargo, los signos de carencia de un mineral pueden predominar y afectar el rendimiento del rumiante. El efecto de la falta de un solo elemento puede incluir fallas reproductivas. Los rumiantes frecuentemente están sujetos a severas deficiencias dietarias de elementos traza tales como cobre, cobalto, selenio, yodo, manganeso y zinc (Hidiroglou 1979).

Los requerimientos de vitaminas y minerales son altamente dependientes del nivel de productividad. El aumento de la tasa de crecimiento y producción de leche elevará en gran medida las necesidades de minerales. Mejores prácticas de gestión que conducen a la mejora de la producción de leche y las tasas de crecimiento para el ganado requerirá más atención a la nutrición de minerales y vitaminas. Deficiencias marginales de minerales y vitaminas, con bajos niveles de producción, se vuelven más severos con mayores niveles de producción, y los signos nutricionales de deficiencias antes insospechados, generalmente se presentan cuando los niveles de producción

aumentan (McDowell 2002). En general, todas las vitaminas y minerales esenciales son necesarios para la reproducción debido a su papel en el metabolismo celular, el mantenimiento y crecimiento de los animales. La disponibilidad de nutrientes para la reproducción es de particular interés en las vacas primíparas, que también tienen un requerimiento de nutrientes para el crecimiento (Hurley 1989).

El equilibrio de la dieta de todos estos nutrientes son importantes para proteger los tejidos contra el daño de los radicales libres. Los antioxidantes sirven para estabilizar los radicales libres altamente reactivos, manteniendo así la integridad estructural y funcional de las células. Por lo tanto, los antioxidantes son muy importantes para la defensa inmune y la salud de los seres humanos y animales (McDowell 2002).

Los mecanismos de defensa tisulares contra los radicales libres por lo general incluyen la vitamina C, vitamina E y β-caroteno como las fuentes principales de vitaminas antioxidantes. Además, varias metaloenzimas que incluyen la glutatión peroxidasa (Se), catalasa (Fe) y la superoxido dismutasa (Cu, Zn, Mn) son también fundamentales en la protección de los componentes celulares internos del daño oxidativo (McDowell 2002).

La baja producción y la eficiencia reproductiva subóptima del ganado son debidas a una nutrición inadecuada, en particular a la carencia de minerales, ya que la actividad ovárica está influenciada por éstos (Ceylan y col 2008).

3.4 MÉTODOS DE SUPLEMENTACIÓN MINERAL

Existen dos procedimientos para prevenir y controlar las carencias minerales. Los métodos indirectos para modificar las cantidades de minerales ingeridas por los animales mediante el empleo de fertilizantes que influyen sobre la composición mineral de los pastos y alimentos que se cultivan en los mismos y el segundo grupo incluye todos los procedimientos de administración directa de minerales a los animales mediante su incorporación al agua de bebida, o raciones, o mediante el empleo de bloques de sales minerales para lamer, mezclar y soluciones de minerales, gránulos pesados e inyecciones parenterales (Underwood 1981).

El tratamiento de los suelos, en explotaciones extensivas, presenta serios inconvenientes y raras veces tienen éxito, ya que la productividad por unidad de superficie, incluso en los forrajes tratados, suele estar limitada por lluvia inadecuada o escasa o por bajas temperaturas invernales, y el transporte y aplicación del fertilizante suelen ser invariablemente caros (Underwood 1981).

Los animales domésticos que consumen la totalidad o una proporción regular de su dieta total en recipientes, tolvas o comederos pueden recibir mejor los suplementos minerales

mezclando los minerales precisos con la ración completa o con la porción concentrada de la misma. Los métodos más eficaces de proporcionar minerales son a través del uso de suplementos minerales combinado con concentrado. Esto asegura una adecuada ingesta de los elementos minerales por cada animal al consumir otros nutrientes. Este procedimiento representa un sistema ideal para proveer suplementos minerales a vacas lecheras bajo sistema de producción más intensivo pero no puede ser usado en ganado a pastoreo que reciben poco concentrado y dependen de los forrajes (McDowell 2002).

En explotaciones extensivas la mejor manera de suplementar los minerales consiste en la provisión de sales para lamer, la dosificación oral de animales, el tratamiento de los suministros de agua, las inyecciones de compuestos orgánicos de los minerales precisos que se absorben con lentitud, o la administración de gránulos pesados o compuestos de minerales que son retenidos en el conducto gastrointestinal. El consumo voluntario de estas sales para lamer suele ser suficiente para prevenir la deficiencia o intoxicación en un rebaño, aunque no se tiene la certeza de que todos los animales lamerán suficiente sal en todo momento (Underwood 1981).

La administración oral de soluciones o pastas minerales a los animales tiene la ventaja de que todos reciben cantidades conocidas de los minerales que precisan a intervalos regulares. Este tipo de tratamiento no resulta conveniente cuando son elevados los costos de mano de obra y los animales tienen que ser conducidos a sitios alejados y ser manipulados con frecuencia tan solo para que reciban este tratamiento (Underwood 1981).

3.5 BOLOS DE DEPÓSITO INTRARUMINAL

El uso de bolos de liberación prolongada es una alternativa de suplemento y puede ofrecer ventajas que permiten satisfacer los requerimientos mediante la liberación constante del elemento por largos periodos luego de una sola aplicación (McLellan 2007).

El retículo-rumen proporciona un sitio donde los dispositivos de liberación controlada pueden retener y liberar su contenido directamente en el tracto digestivo del animal. Idealmente, un dispositivo intraruminal de liberación controlada debe liberar el bioactivo a un ritmo que es constante, ajustable e independiente del medio ambiente del rumen. Una liberación a ritmo constante previene perdidas por sub o sobre-dosificación (McLellan 2007).

Los dispositivos intraruminales que liberan el principio activo de forma pasiva tienden a ser más simples y más baratos. Es una manera rentable de proporcionar los suplementos solos o en combinación con otros nutrientes (Vandamme y Ellis 2004). Deben ser hechos de materiales que sean seguros para el animal, y para el posterior consumo humano (McLellan 2007).

La hipótesis que se planteó en este estudio fue que en vaquillas en pastoreo, la concentración sanguínea de cobre, zinc, selenio, retinol y α-tocoferol aumenta posterior a la administración de dos bolos de depósito intraruminal.

3.6 OBJETIVOS

3.6.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la concentración sanguínea de algunos micronutrientes en vaquillas en pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal.

3.6.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar el efecto de la suplementación con bolos de depósito intraruminal sobre la concentración sanguínea de cobre, zinc, selenio, α-tocoferol y retinol en vaquillas en pastoreo.

Comparar la concentración sanguínea de cobre, zinc, selenio, α-tocoferol y retinol en vaquillas en pastoreo suplementadas mediante la administración de bolos de depósito intraruminal con aquellas vaquillas no suplementadas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1. Ubicación del predio

Se seleccionó un rebaño lechero localizado en el sector de Corte Alto, Comuna de Purranque, Provincia de Osorno.

4.1.2. Animales, alimentación y manejo

El rebaño estaba constituido por 300 vacas en ordeña, 60 vaquillas y 103 terneros. La producción láctea es de 6800 litros promedio de leche anuales por vaca. La concentración de partos es de 1/3 en otoño y 2/3 en primavera. El peso al encaste de las vaquillas es de 320 kilos.

El predio tiene 350 hectáreas de pradera artificial. Los animales se alimentan en base a pradera constituida principalmente por ballica y son suplementados en invierno con ensilaje de pradera y pastoreo de coles.

4.2. MÉTODOS

4.2.1 Diseño experimental

Durante la primera semana del mes de enero se seleccionaron 30 vaquillas preencaste, con un peso promedio de 301,5 ± 17,4 Kg, que a la inspección de rebaño no presentaban signos de alteración, mantenidas a pastoreo y sin suplementación mineral. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos experimentales. Las 15 vaquillas de un grupo recibieron bolos de depósito intraruminal (Suplementado), mientras el otro grupo se mantuvo sin suplementación (Control).

4.2.2. Suplementación

A mediados del mes de enero de 2011, cada animal del grupo suplementado recibió por vía oral 2 bolos de depósito intraruminal[1]mediante el uso de un aplicador.

Los bolos, de 107 g y con un largo de 70 mm y diámetro de 25 mm, contienen cobre, cobalto, manganeso, zinc, yodo, selenio, vitamina A, vitamina E y vitamina D (Anexo 1). El efecto de este bolo se prolonga, según datos del fabricante, durante 8 meses.

[1] Megabric®, Lab. Neolait, France

4.2.3 Obtención y manejo de las muestras

Se realizó el primer muestreo inmediatamente previo a la administración de los bolos intraruminales y luego cada 45 días hasta los 194 días de ensayo.

En cada oportunidad se obtuvieron muestras de sangre de cada animal. Estas fueron obtenidas por venopunción coccígea en la mañana, donde se depositaron 6 mL de la muestra en tubos con heparina y 4 mL en tubos sin aditivo. Las muestras de sangre con heparina se centrifugaron a 2000 g por 10 minutos para extraer plasma. El suero se obtuvo por retracción del coágulo de las muestras de sangre sin aditivo. El plasma y suero obtenido fueron depositados en microtubos plásticos y almacenados a -25°C para su posterior análisis.

4.2.4. Método Analítico

4.2.4.1 Determinación de concentración plasmática de cobre; se determinó en el laboratorio de patología clínica veterinaria de acuerdo a sus protocolos estándares, a partir de muestras de plasma mediante espectrometría de absorción atómica a una longitud de onda de 324,5 nm en un equipo Thermo® Solaar. Los valores se expresaron en μmol/L.

4.2.4.2 Determinación de concentración sérica de zinc; se determinó en el laboratorio de patología clínica veterinaria de acuerdo a sus protocolos estándares a partir de muestras de suero mediante espectrometría de absorción atómica a una longitud de onda de 213,9 nm en un equipo Thermo® Solaar. Los valores se expresaron en μmol/L.

4.2.4.3 Determinación de concentración sanguínea de selenio; la concentración de selenio se estimó a través de la medición de la actividad sanguínea de la enzima glutatión peroxidasa (GPx), mediante una técnica cinética NADPH-dependiente usando un reactivo comercial[2], en un autoanalizador Metrolab 2300, Wiener a 340 nm en el laboratorio de patología clínica veterinaria. Los valores fueron expresados en U/g Hb.

4.2.4.4 Determinación de concentración de hemoglobina; la concentración de hemoglobina (Hb), expresada en g/L, se determinó mediante el método de la cianometahemoglobina, en un espectrofotómetro Hitachi 4020, a 540 nm, en el laboratorio de patología clínica veterinaria de acuerdo a sus protocolos estándares.

4.2.4.5 Determinación de concentración plasmática de α–tocoferol y retinol; las muestras se analizaron por cromatografía liquida de alto rendimiento (HPLC) en fase reversa en un Cromatógrafo Agilent Technologies 1200 acoplado a un detector de UV, previa extracción de lípidos, según la metodología indicada por Chihuailaf (2005). Para esto se utilizó una columna Kromasil C18, de 150 x 4,6 mm x 5 μm y metanol 100% como fase móvil a un flujo de 1,5 mL/minuto los primeros 7 minutos y de 2 mL/minuto hasta los 18 minutos. Los resultados se expresaron en μg/mL de plasma.

---

[2] Ransel®, Randox Lab., Irlanda

4.2.5 Análisis de datos

Los resultados se analizaron según la metodología propuesta por Zar (1998) mediante estadística descriptiva y se expresaron en medias aritméticas y error estándar (EE). La normalidad y la homocedasticidad de los datos se evaluaron mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Barttlet, respectivamente. La comparación entre grupos se realizó mediante Análisis de Varianza de medidas repetidas, seguido de la prueba de comparación múltiple LSD (mínima diferencia significativa). Se consideró significativo cuando el valor de P fue menor a 0,05; utilizando el programa estadístico Statistix 8.0[3].

[3] Analytical Sofware, USA

5. RESULTADOS

5.1 ACTIVIDAD SANGUÍNEA DE GLUTATIÓN PEROXIDASA

Previo a la suplementación (día 0), la actividad sanguínea de GPx fue similar entre grupos (P>0,05), siendo de 40 ± 2 U/g Hb en el grupo suplementado y de 50 ± 7 U/g Hb en el grupo control. Al transcurrir el ensayo, la actividad de GPx aumentó significativamente respecto del valor inicial en el grupo suplementado alcanzando el máximo valor de 323 ± 12 U/g Hb a los 92 días de ensayo. En el grupo control también se registró un alza significativa respecto del valor inicial que alcanzó un máximo de 254 ± 9 U/g Hb, el día 92 de ensayo. Posterior a ello, la actividad de GPx disminuyó paulatinamente hasta el fin del ensayo. A pesar del incremento en la actividad de GPx en el grupo control, se observaron diferencias significativas entre grupos entre el día 49 y el día 145 de ensayo (Figura 1).

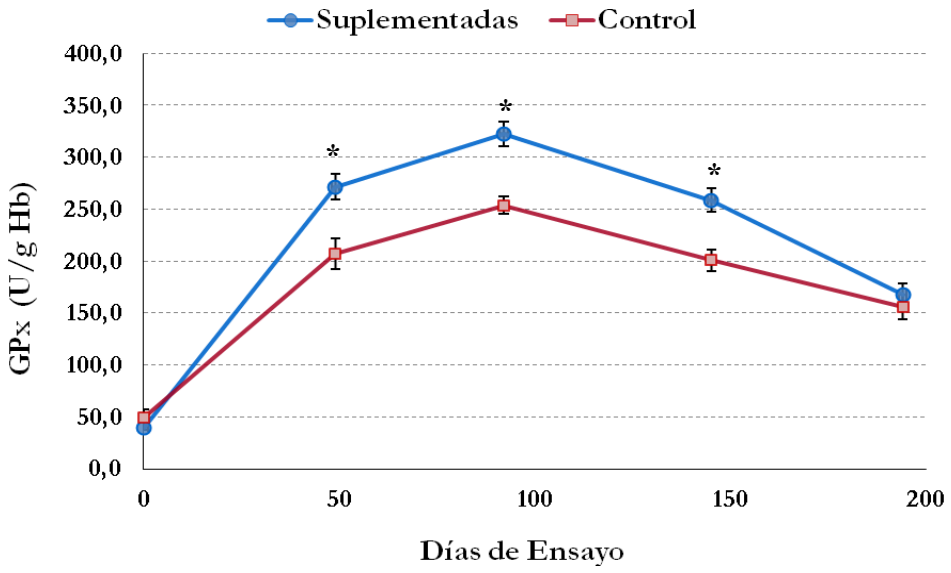

Figura 1. Actividad sanguínea de GPx ($\bar{X}$ ± EE) en vaquillas a pastoreo suplementadas con dos bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).
***** *Indica P<0,05 entre grupos*

5.2 CONCENTRACION PLASMÁTICA DE COBRE

Previo a la suplementación (día 0), la concentración plasmática de Cu fue similar entre grupos (P≥0,05), siendo de 14,8 ± 0,4 µmol/L en el grupo control y de 13,6 ± 0,3 µmol/L en el grupo suplementado. Al transcurrir el ensayo, el grupo suplementado presentó una menor caída en los valores que lo observado en el grupo control estableciendo diferencias entre grupos los días 92 y 145 de ensayo (P<0,05). Los valores más bajos en ambos grupos se registraron el día 145 de ensayo con valores de 11,5 ± 1,1 µmol/L para el grupo suplementado y 7,4 ± 0,3 µmol/L para el grupo control. Hacia el final del ensayo, ambos grupos alcanzaron valores semejantes a los observados al inicio del ensayo (Figura 2).

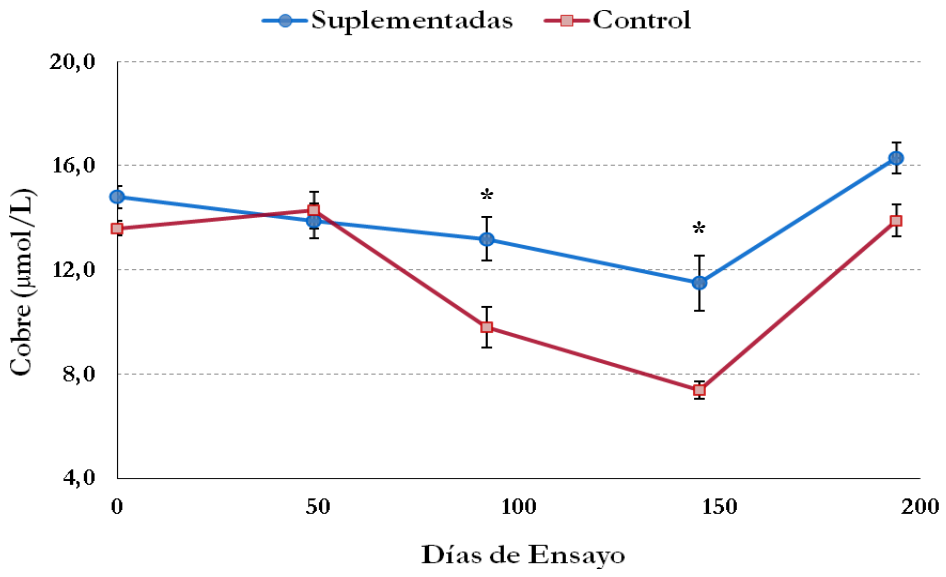

Figura 2. Concentración plasmática de cobre ($\bar{X}$ ± EE) en vaquillas a pastoreo suplementadas con dos bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).
***** *Indica P<0,05 entre grupos*

5.3 CONCENTRACION SÉRICA DE ZINC

Al inicio del ensayo (día 0), las concentraciones de Zn fueron similares entre los grupos (P≥0,05), siendo de 13,9 ± 0,5 µmol/L en el grupo control y de 12,0 ± 0,4 µmol/L en el grupo suplementado. A medida que transcurrió el ensayo, las concentraciones en ambos grupos se mantuvieron con una fluctuación similar y no hubo diferencias significativas entre grupos (P≥0,05) durante todo el ensayo (Figura 3).

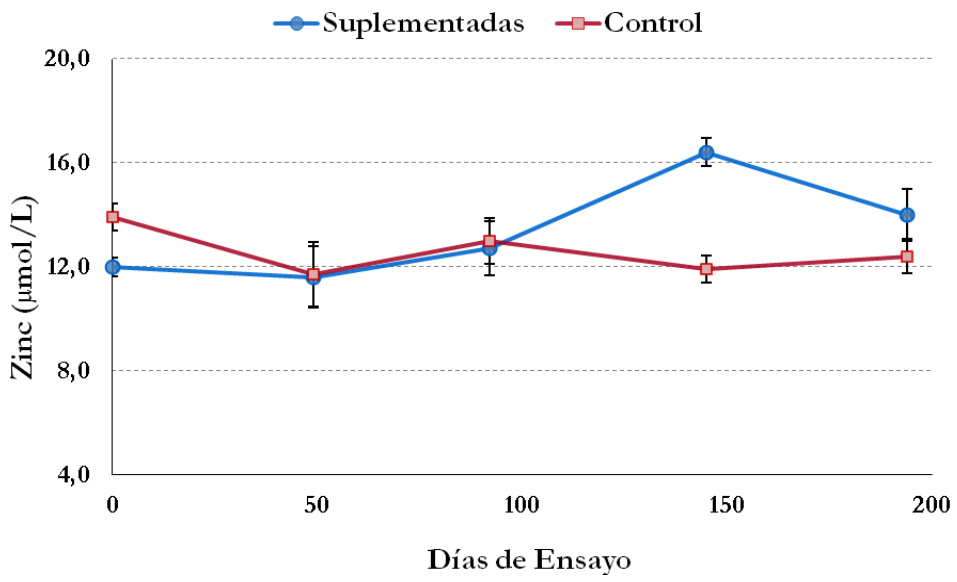

Figura 3. Concentración plasmática de zinc ($\bar{X}$ ± EE) en vaquillas a pastoreo suplementadas con dos bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

5.4. CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE α-TOCOFEROL

Previo a la suplementación con bolos intraruminales, las concentraciones plasmáticas de α-tocoferol en ambos grupos fueron similares (P≥0,05), siendo de 4,4 ± 0,3 μg/mL en el grupo suplementado y de 5,2 ± 0,1 μg/mL en el grupo control. El día 49 se registró una tendencia en el grupo suplementado a presentar un valor mayor en la concentración de α-tocoferol, siendo de 6,4 ± 0,4 μg/mL. Además, hacia el final del estudio ambos grupos tendieron a presentar una menor concentración (P≥0,05), llegando a 3,6 ± 0,2 μg/mL en el grupo suplementado y 3,8 ± 0,1 μg/mL en el grupo control (Figura 4).

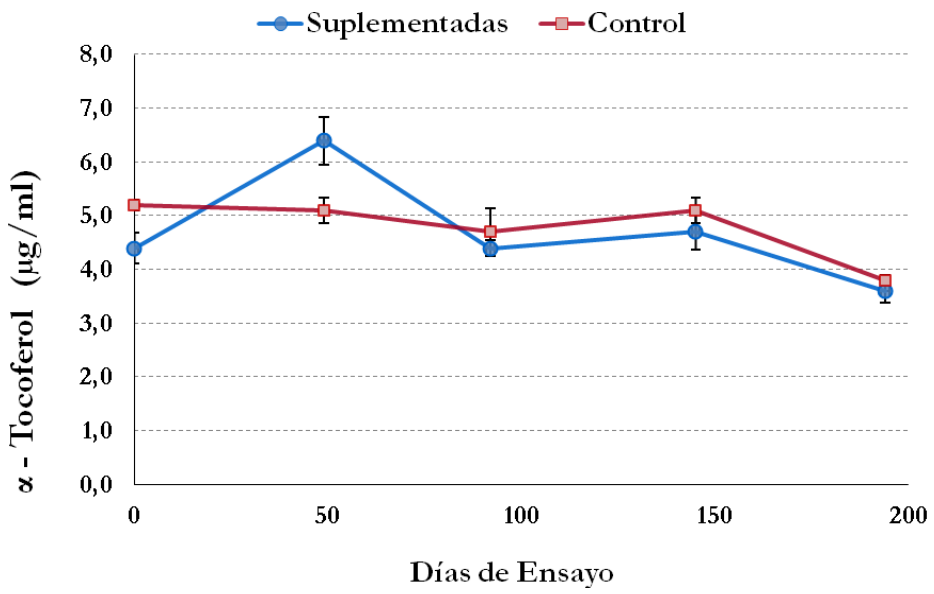

Figura 4. Concentración plasmática de α-tocoferol ($\bar{X}$ ± EE) en vaquillas a pastoreo suplementadas con dos bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

5.5 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE RETINOL

Al inicio del ensayo (día 0), las concentraciones de retinol fueron de 0,77 ± 0,01 µg/mL y de 0,76 ± 0,01 µg/mL en los grupos suplementado y control, respectivamente sin registrarse diferencias entre ellos (P≥0,05). Sin embargo al avanzar el ensayo, se observó una incremento paulatino y sostenido en ambos grupos, llegando a alcanzar valores de 0,83 ± 0,03 µg/mL en el grupo suplementado y 0,88 ± 0,06 µg/mL en el grupo control al final del ensayo (Figura 5). No se registraron diferencias entre grupos (P≥0,05).

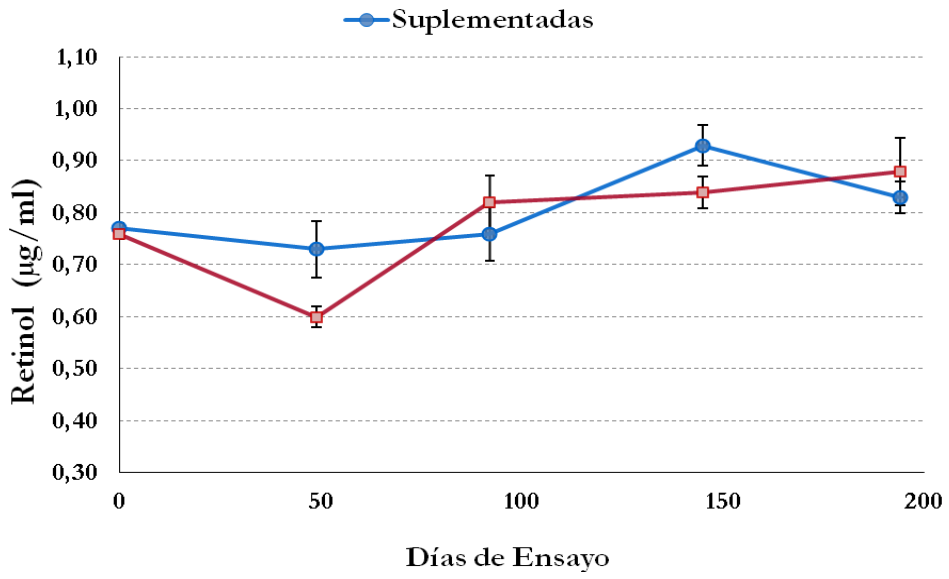

Figura 5. Concentración plasmática de retinol ($\bar{X}$ ± EE) en vaquillas a pastoreo suplementadas con dos bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

6. DISCUSIÓN

6.1 ACTIVIDAD SANGUÍNEA DE GLUTATIÓN PEROXIDASA

Al inicio del ensayo la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa fue de 50 ± 7 U/g Hb en el grupo control y de 40 ± 2 U/g Hb en el grupo suplementado, siendo 60 U/g Hb el límite bajo el cual se considera que existe una carencia nutricional de selenio (Ceballos y col 1998). De acuerdo a ello, al inicio del estudio el rebaño de vaquillas presentaba una carencia de selenio. Considerando que el rebaño se mantenía exclusivamente a pastoreo, se puede sostener que los forrajes con que se alimentan estos animales presentan un bajo contenido de selenio (Wittwer y col 2002). La carencia de selenio en bovinos afecta principalmente a animales jóvenes en crecimiento durante la época invernal, actuando como factor predisponente la falta de acostumbramiento al ejercicio, al cambiar de un sistema de estabulación a uno de pastoreo (Wittwer y col 2002).

En los muestreos post suplementación con bolos intraruminales, la actividad de GPx aumentó en el grupo suplementado por sobre el valor considerado adecuado (>130 U/g Hb) hasta el final del estudio. De acuerdo a esto, el uso de 2 bolos intraruminales en los animales del grupo suplementado fue suficiente para establecer diferencias en el balance metabólico de selenio respecto del grupo control. No obstante, estas diferencias solo se mantienen hasta el día 145 de ensayo ya que posterior a ello, la actividad de GPx cae hasta el valor que registró el grupo control.

En consecuencia, en este estudio, el efecto de dos bolos intraruminales solo se prolonga por 5 meses. Diversos factores pueden determinar la menor duración de los bolos respecto de lo señalado por el fabricante. Probablemente, en este estudio los bolos sufrieron disolución más rápida como consecuencia de un ambiente ruminal característico de un animal en pastoreo permanente. No obstante, llama la atención el incremento de la actividad de GPx en el grupo control mantenido solo a pastoreo ya que el consumo de forraje difícilmente puede provocar este nivel de incremento.

6.2 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE COBRE

Las concentraciones plasmáticas de Cu se mantuvieron dentro del intervalo de referencia indicado para la especie (10-24 μmol/L) hasta el día 50. La suplementación con dos bolos intraruminales mantuvo la concentración de Cu plasmático dentro de este intervalo de referencia. A los días 92 y 145 de post suplementación, la concentración disminuyó en el grupo control, situándose transitoriamente bajo el intervalo de referencia. En animales mantenidos solo a pastoreo, las fluctuaciones en cantidad y calidad del forraje condicionan el aporte mineral y en la época de otoño, donde comienza a disminuir la disponibilidad de forraje y con esto las

concentraciones de cobre en él, pueden explicar este fenómeno en el grupo control ya que las concentraciones más bajas de Cu se registraron precisamente a fines de otoño y principios de invierno. El hecho que en el grupo suplementado la concentración de Cu se haya mantenido podría estar indicando que el aporte de Cu entregado por los bolos se ajusta a los requerimientos de los animales utilizados en este ensayo.

En un estudio realizado por Baumgurtel y Judson (1998) donde a un grupo de vaquillas se les administraron 2 bolos de depósito intraruminal con minerales y vitaminas, con una composición similar al bolo utilizado en este estudio, las concentraciones de cobre se mantuvieron constantes durante todo el estudio en el grupo suplementado y en el grupo control, y no se registraron diferencias entre los grupos.

6.3 CONCENTRACIÓN SÉRICA DE ZINC

En el caso del Zn, las concentraciones se mantuvieron constantes durante todo el ensayo respecto a los valores iniciales y siempre dentro del intervalo de referencia señalado para la especie (8-24 μmol/L). Es necesario precisar que se observa una tendencia a incrementar la concentración de Zn en el grupo suplementado hacia el día 145 de ensayo.

Es probable que el aporte de Zn por los bolos no haya incrementado la concentración sérica de este mineral debido a que los animales presentaban un balance metabólico adecuado. Cuando ello ocurre, la absorción de este mineral se reduce a nivel intestinal. De esta forma, la homeostasis corporal impide que el animal incorpore una mayor cantidad de Zn cuando los requerimientos están cubiertos y, si los compartimentos de reserva no están completos, la circulación desvía el mineral hacia éstos impidiendo que aumente su concentración en sangre. De este modo, el aporte de los bolos no es posible visualizarlo en el suero sanguíneo.

Al igual que en este ensayo, en donde no hubo diferencias significativas entre grupos, en el estudio conducido por Baumgurtel y Judson (1998), tampoco el tratamiento con bolos intraruminales afectó las concentraciones de Zn.

6.4 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE α-TOCOFEROL

Previo a la suplementación con los bolos intraruminales, los valores de α-tocoferol fueron de 5,2 ± 0,1 μg/mL en el grupo control y de 4,4 ± 0,3 μg/mL en el grupo suplementado, valores similares a los obtenidos por González (2005), donde el promedio fue de 5,0 ± 1,0 μg/mL. En el estudio realizado por Paillacar (2011) en la época de otoño, previo a suplementar con α-tocoferol obtuvo valores de 6,24 ± 0,49 μg/mL en el grupo control, de 6,09 ± 0,43 μg/mL en el grupo suplementado con 1500 UI de α-tocoferol, y de 5,95 ± 0,27 μg/mL en el grupo suplementado con 300 UI de α-tocoferol. Al transcurrir el ensayo en el día 50 el grupo suplementado tuvo tendencia a presentar valores mayores, pero luego se mantuvo constante hasta el final del estudio

en ambos grupos, por lo que el bolo administrado no tuvo efecto sobre las concentraciones de α-tocoferol.

Si bien, el intervalo de referencia para el α-tocoferol no se encuentra definido para vaquillas, se estima que animales mantenidos en pastoreo tienen cubierto sus requerimientos ya que la fuente natural de α-tocoferol es el forraje verde. El balance metabólico de α-tocoferol es mantenido a nivel hepático y cuando el aporte es mayor a los requerimientos el exceso es eliminado por vía biliar. En estas condiciones, y aunque en este estudio no se midió el contenido de α-tocoferol presente en el forraje, probablemente el aporte de α-tocoferol por los dos bolos intraruminales resulta marginal frente al aporte que es capaz de entregar la pradera.

6.5 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE RETINOL

Los valores iniciales de retinol previo a la suplementación fueron de 0,76 ± 0,01 μg/mL en el grupo control y 0,77 ± 0,01 en el grupo suplementado, los que se encuentran dentro del intervalo de referencia que es 0,25 a 0,80 μg/mL (Quintela y col 2008). En un estudio realizado por Chihuailaf y col (2008), la concentración promedio fue de 0,42 μg/mL en el periodo de invierno y de 0,50 μg/mL en el periodo de primavera. Es posible que las diferencias puedan atribuirse a la disponibilidad de forraje para la alimentación invernal

Al transcurrir el estudio, las concentraciones tuvieron un incremento de forma sostenida en ambos grupos, sin diferencias, por lo que en este caso los dos bolos intraruminales no fueron capaces de incrementar la concentración de retinol. Ello puede significar que la pradera fue capaz de aportar este micronutriente en una cantidad suficiente para que los animales puedan cubrir sus requerimientos (Chihuailaf y col 2008).

6.6 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y bajo las condiciones en que se realizó este estudio se puede concluir que:

a) la administración de dos bolos de depósito intraruminal en vaquillas a pastoreo no modifica las concentraciones plasmáticas de retinol, α-tocoferol y zinc.

b) dos bolos de depósito intraruminal incrementan la actividad de glutatión peroxidasa durante 150 días y evita el descenso de la concentración plasmática de cobre.

7. REFERENCIAS

Baumgurtel K L, G J Judson. 1998. Evaluation of a sustained release bolus to supply trace elements and vitamins to beef cattle. *Anim Prod Aust* 22, 133-136.

Ciria J, R Villanueva, J Ciria. 2005. Avances en nutrición mineral en ganado bovino. *IX Seminario de Pastos y Forrajes.* Valladolid, España, Pp 50-69

Ceballos A, F Wittwer, P Contreras. 1998. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. *Arch Med Vet* 30, 13-22.

Ceylan A, I Serin, H Aksit, K Seyrek. 2008. Concentrations of some elements in dairy cows with reproductive disorders. *Bull Vet Inst Pulawy* 52, 109-112.

Contreras P. 1996. Consideraciones sobre la suplementación mineral para desbalances metabólicos –nutricionales en rebaños bovinos. INIA, Centro Regional de Investigación Remehue, Serie Remehue N° 64

Chihuailaf R H. 2005. Balance metabólico de selenio y α-tocoferol en bovinos a pastoreo y relación con la magnitud del daño oxidativo de lípidos. *Tesis de Doctorado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Chihuailaf R H, CS Gonzalez, F Wittwer, PA Contreras. 2008. Concentraciones plasmáticas de retinol en vaquillas a pastoreo: Primeros valores obtenidos en un rebaño del sur de Chile. *Arch Med Vet* 40, 65-68.

Debier C, Y Larondelle. 2005. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br J Nutr* 93, 153-174.

González C. 2005. Evaluación del daño oxidativo en eritrocitos de bovinos a pastoreo con bajo contenido de Selenio y suplementados con selenio y α-Tocoferol. *Memoria de Título,* Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Hidiroglou M. 1979. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: A Review. *J Dairy Sci* 62, 1195-1206.

Hurley W, R Doane. 1989. Recent developments in the role of vitamins and minerals in reproduction. *J Dairy Sci* 72, 784-804.

McDowell L. 2003. Minerals Requirements and Tolerances. In: *Minerals in animal and human nutrition.* 2nd ed. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, Pp 12-14.

McDowell L. 2002. Recent advances in minerals and vitamins on nutrition of lactating cows. *Pakistan J Nutr* 1, 8-19.

McLellan B J. 2007. Desarrollo de un dispositivo intraruminal de liberación controlada. *Tesis Doctoral,* Universidad de Waikato, Hamilton, Nueva Zelanda.

Mertz W. 1981. The Essential trace elements. *Science* 213, 1332-1338

Molina S. 2000. 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. *Memoria de Título,* Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

NRC, National Research Council. 2001. Vitamins. In: National Research Council (ed). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academic Press, Washington DC, USA, Pp 166-168.

Nocek J E, M T Socha, D J Tomlinson. 2006. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *J Dairy Sci* 89, 2679-2693.

Paillacar J. 2011. Estatus antioxidante en vaquillas en pastoreo de otoño suplementadas con α-tocoferol. *Memoria de Titulo*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Quintela L, C Díaz, J Becerra, G Alonso, S Gracia, P Herradon. 2008. Papel del β-caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno: Revisión. *ITEA* 104, 399-410.

Rabiee AR, J Lean, MA Stevenson, MT Socha. 2010. Effect of feeding organic trace mineral on milk production and reproductive performance in lactating dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci* 93, 4239-4251.

Underwood E. 1981. Detección y corrección de las deficiencias e intoxicaciones generales: Principios Generales. En: Underwood E (ed). *Los Minerales en la nutrición del ganado*. 2 ed. Acribia, Zaragoza, España, Pp 23-34

Vandamme Th F, Ellis K J. 2004. Problemas y desafíos en el desarrollo de sistemas de entrega de drogas en el rumen. *Adv Drug Deliv Rev* 56, 1415-1436.

Wittwer F, P Araneda, A Ceballos, PA Contreras, M Andaur, H Bohmwald. 2002. Actividad de glutatión peroxidasa (GSH-PX) en sangre de bovinos a pastoreo de la IX Región, Chile y su relación con la concentración de selenio en el forraje. *Arch Med Vet* 44, 49-57.

Zar J. 1998. Biostatistical Analysis. 4th Ed. Publisher: Prentice Hall

8. ANEXOS

ANEXO 1. Composición del bolo de depósito intraruminal (Lab. Neolait, France).

Composición	Dosis de 2 Bolos	Aporte Diario	Fuente del aporte
Cobre (mg)	33.000	138	Óxido y Sulfato
Zinc (mg)	27.000	113	Sulfato
Manganeso (mg)	17.600	73	Óxido
Yodo (mg)	500	2	Yoduro potásico
Cobalto (mg)	480	2	Sulfato
Selenio (mg)	480	2	Selenito de sodio
Vitamina A (UI)	1.000.000	4.167	N/A
Vitamina D (UI)	200.000	833	N/A
Vitamina E (UI)	2.000	8	N/A

ANEXO 2. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GPx) ($\bar{X} \pm$ EE), expresada en U/g de Hb, en vaquillas a pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

Días de Ensayo	Control	Suplementado
0	50 ± 7	40 ± 2
49	207 ± 15	272 ± 12
92	254 ± 9	323 ± 12
145	201 ± 11	259 ± 11
194	156 ± 12	168 ± 11

ANEXO 3. Concentración plasmática de cobre ($\bar{X} \pm$ EE), expresada en μmol/L, en vaquillas a pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

Días de ensayo	Control	Suplementado
0	13,6 ± 0,3	14,8 ± 0,4
49	14,3 ± 0,7	13,9 ± 0,7
92	9,8 ± 0,8	13,2 ± 0,8
145	7,4 ± 0,3	11,5 ± 1,1
194	13,9 ± 0,6	16,3 ± 0,6

ANEXO 4. Concentración sérica de zinc ($\bar{X}$ ± EE), expresada en μmol/L, en vaquillas a pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

Días de ensayo	Control	Suplementado
0	13,9 ± 0,5	12,0 ± 0,4
49	11,7 ± 1,2	11,6 ± 1,2
92	13,0 ± 0,9	12,7 ± 1,0
145	11,9 ± 0,5	16,4 ± 0,5
194	12,4 ± 0,7	14,0 ± 1,0

ANEXO 5. Concentración plasmática de α-tocoferol ($\bar{X}$ ± EE), expresada en μg/mL, en vaquillas a pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

Días de ensayo	Control	Suplementado
0	5,2 ± 0,1	4,4 ± 0,3
49	5,1 ± 0,2	6,4 ± 0,4
92	4,7 ± 0,4	4,4 ± 0,2
145	5,1 ± 0,2	4,7 ± 0,3
194	3,8 ± 0,1	3,6 ± 0,2

ANEXO 6. Concentración plasmática de retinol ($\bar{X}$ ± EE), expresada en μg/mL, en vaquillas a pastoreo suplementadas con bolos de depósito intraruminal (suplementada) y no suplementadas (control).

Días de ensayo	Control	Suplementado
0	0,76 ± 0,01	0,77 ± 0,01
49	0,60 ± 0,02	0,71 ± 0,05
92	0,82 ± 0,05	0,76 ± 0,05
145	0,84 ± 0,03	0,93 ± 0,04
194	0,88 ± 0,06	0,83 ± 0,03

9. AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Ricardo Chihuailaf, por guiarme y tener siempre una excelente disposición.

Al laboratorio de Patología Clínica del Hospital Veterinario, por la ayuda en la realización de los análisis.

Al Laboratorio de Bioquímica, por permitir el uso del HPLC.

A mis padres, hermana por la paciencia y apoyo constante durante estos años.

Y a cada una de las personas que me brindaron su apoyo, compañía y amistad.