METODOLOGIA DE INVESTIGACION EN NUTRICION MINERAL DE RUMIANTES

Oswaldo Rosero[1]

1. Introducción

Una de las limitaciones más importantes en la producción del ganado en los países tropicales es la desnutrición. La insuficiencia de energía y/o proteína frecuentemente son causas de una producción animal subóptima; sin embargo, numerosos investigadores han observado que el ganado algunas veces se desmejora a pesar de una provisión adecuada de alimentos. Los desbalances de minerales, sean éstos por deficiencias o excesos en los suelos y/o forrajes, pueden también ser causantes de la baja producción y problemas reproductivos de los rumiantes en pastoreo de las regiones tropicales.

Los rumiantes, al igual que otros animales, deben recibir todos los nutrientes esenciales en cantidades óptimas para mantener su salud, crecer y reproducirse a su máximo potencial. Los principales signos clínicos de deficiencias de minerales son: enfermedades de extenuación, pérdida y despigmentación del pelo, desórdenes de la piel, aborto no infeccioso, anemia, diarrea, pérdida del apetito, tetania, anormalidades de los huesos, pica y baja fertilidad.

Es de vital importancia considerar el valor de la suplementación mineral, particularmente en rumiantes que se alimentan de pastos y forrajes tropicales. Sin embargo, la sola suplementación mineral en animales con deficiencias de proteína o energía, no ayudará a aumentar el crecimiento.

En 1937, Maynard citaba en su texto "Animal Nutrition" sólo 11 elementos comprobados esenciales en la dieta, muchos de ellos "descubiertos recientemente" como esenciales: cal-

[1] Ph. D., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Copyrighted material

cio (Ca), fósforo (P), sodio (Na), cloro (Cl), azufre (S), magnesio (Mg), hierro (Fe), yodo (I), manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn). También decía que "el cobalto (Co) parece ser esencial de acuerdo a trabajos recientes", y mencionaba que en la práctica, "la mayoría de ellos (otros elementos) son suplidos en tal abundancia en las raciones comunes, que no es necesario considerarlos".

Durante las últimas décadas, numerosos investigadores han trabajado en la definición de las diferentes funciones bioquímicas y metabólicas de los minerales. Underwood (1979) menciona cinco aspectos en que los logros obtenidos han tenido gran significancia nutricional:

- El descubrimiento de los denominados "nuevos" elementos trazas.
- El modo de acción de estos elementos trazas en relación con cambios clínicos y patológicos en el animal.
- La interrelación entre la forma química del elemento y su disponibilidad biológica.
- Las interacciones entre los elementos trazas.
- Los factores que afectan los requisitos mínimos y niveles máximos de tolerancia en el animal.

Al respecto, se han identificado como mínimo 15 minerales considerados esenciales para los rumiantes. De ellos hay siete macroelementos (Ca, P, potasio (K), Na, Cl, Mg y S) y ocho microelementos (Co, Cu, I, Fe, Mn, molibdeno (Mo), selenio (Se) y (Zn). Un elemento mineral es considerado esencial si su deficiencia en la dieta es capaz de producir daño funcional y/o estructural. La incorporación del nutriente puro en la dieta deficitaria, debe corregir inmediatamente los signos de deficiencia y restaurar la salud normal del animal.

Se ha encontrado que elementos trazas como cromo (Cr), níquel (Ni), silicio (Si), estaño (Sn) y vanadio (V) son esenciales para una o más especies de animales de laboratorio, con base en estudios de crecimiento de animales que consumieron dietas purificadas, bajo condiciones ambientales controladas. Sin embargo, hasta la fecha no se ha encontrado significancia práctica de ninguno de estos minerales en la alimentación de rumiantes.

Muchos de los minerales considerados esenciales pueden tener efectos tóxicos cuando se suministran en grandes cantidades, como por ejemplo: Cu, Co, I, Mn, Mo, Se y Zn. De igual manera, algunos elementos como el aluminio (Al), arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb) y mercurio (Hg) son considerados tóxicos.

En general, la mayor parte de los elementos trazas funcionan como constituyentes o como activadores de enzimas, y son indispensables en cantidades mínimas para mantener diferentes funciones metabólicas en el organismo del animal.

Copyrighted material

2. Uso de radioisótopos en estudios de nutrición mineral

Se han conducido numerosos estudios, usando técnicas modernas de análisis, en países tropicales para evaluar los elementos minerales en los suelos, plantas y tejidos animales (McDowell *et al.*, 1986). En estudios agronómicos se utilizan isótopos para medir la translocación de elementos minerales del suelo a la planta y para observar la estabilidad durante los procesos de análisis. El Se^{75} se usa para determinar la pérdida de este elemento en forrajes durante el almacenamiento e incineración a diferentes temperaturas.

El uso de radioisótopos es común en la investigación en nutrición de rumiantes, principalmente en estudios de metabolismo mineral, y ha hecho posible el comprender mejor la función dinámica de los minerales, lo que a su vez ha permitido determinar mejor los requerimientos y las regulaciones homeostáticas en el animal.

La factibilidad de usar radioisótopos en investigación y diagnóstico depende de la vida media, facilidad de detección, disponibilidad, costo y número de isótopos disponibles para cada elemento. Existen muchos isótopos adecuados para la mayor parte de los minerales, excepto para el Mg y el Cu. La vida media del Mg^{28} (21.3 h), Cu^{64} (12.8 h) y el Cu^{67} (61.1 h) es corta para experimentos nutricionales en rumiantes (Field, 1984).

En la determinación de deficiencias o excesos de minerales, los análisis cuantitativos de los diferentes elementos son indispensables. La técnica de activación de neutrones es un método deseable para el análisis de minerales en un gran número de muestras. Este método no es destructivo, puede determinar cantidades extremadamente pequeñas de cualquier elemento, y un gran número de elementos en la misma muestra. La única operación requerida es la radiación de neutrones en un reactor y la medición de la actividad en un medidor adecuado. Un buen ejemplo de ello es el análisis de Se, donde las muestras y estándares son activados con neutrones de 1×10^{13} n - cm^2 - s^{-1}. Se requiere un tiempo de 8 a 12 semanas para que la radiación disminuya, y el Se (Se^{75}), que tiene una vida media de 120 días, es contado en un analizador multicanal.

En la cuantificación del consumo voluntario de minerales en rumiantes se utiliza el P^{32}. En esta técnica hay que distinguir entre el P de origen salival y el P de la muestra de pasto obtenida de animales con fístula esofágica. La absorción verdadera de un elemento mineral es un parámetro fundamental en estudios nutricionales y requiere del uso de radioisótopos para medir la excreción endógena y fecal, que puede ser independiente del consumo mineral o variar con él. La excreción endógena fecal de los diferentes minerales no es constante pero debe medirse para algunos minerales como el P. La tasa de absorción, retención y excreción de un elemento de-

Copyrighted material

pende del estatus del animal. Así, la deficiencia de un mineral puede establecerse en base a la absorción, retención y excreción del isótopo particular.

Kirchgessner y Schwarz (1976) indican tres formas de utilizar radioisótopos en el diagnóstico de deficiencias de minerales: 1) Determinación de la absorción intestinal de un radioisótopo administrado oralmente, con la medición de actividad en la sangre; 2) Determinación de la retención de una dosis administrada parentalmente; 3) Determinación de la excreción fecal endógena de una dosis administrada parenteralmente.

En el estudio de desórdenes metabólicos nutricionales, como la hipomagnesemia y la hipocalcemia del ganado lechero, se han utilizado isótopos como Ca^{45} y Mg^{28}. Finalmente, los radioisótopos se han utilizado también en investigaciones para determinar las diferentes interacciones y antagonismos entre minerales, que pueden producir deficiencias o toxicidades en los rumiantes.

3. Métodos para la determinación de minerales

Existen numerosos procedimientos y técnicas apropiadas para analizar minerales en diferentes tejidos vegetales y animales. El método de espectrofotometría de absorción atómica es el más utilizado en la determinación de la mayoría de los minerales macros y trazas, y el procedimiento colorimétrico para el análisis de P. Adicionalmente, se pueden utilizar métodos basados en el uso de la absorción atómica sin llama (horno de grafito), particularmente en la determinación de Co y Mo.

Los análisis en huesos, suero sanguíneo (o plasma) y preparaciones de biopsia de hígado, son más frecuentes en la determinación de deficiencias y toxicidades minerales. Para una descripción detallada de las diferentes metodologías analíticas se recomienda el manual "Métodos de Análisis de Minerales para Tejidos de Plantas y Animales" (Fick *et al.*, 1979).

4. Recolección y procesamiento de muestras

La determinación cuantitativa del contenido de un mineral específico requiere de un buen procedimiento de muestreo, una adecuada identificación y preparación de la muestra, y la aplicación de técnicas analíticas apropiadas. Aunque el análisis sea exacto, los valores obtenidos no pueden ser mejores que la muestra recolectada. Entre los factores importantes en la recolección de muestras se incluyen el obtener una muestra representativa, evitar la contaminación e identificar la muestra en forma adecuada. Cada muestra debe relacionarse a una área específica, finca o animal. Los errores por contaminación

Copyrighted material

siempre causan problemas y pueden ocurrir en cada paso hasta que se ha completado el análisis. Recipientes sucios, instrumentos que no son de acero inoxidable y la exposición al aire son las principales fuentes de contaminación en muestras de tejido animal, mientras que las más importantes fuentes de contaminación en forrajes son el suelo, polvo atmosférico y el procedimiento de recolección y molienda.

a. Muestreo de sangre

La contaminación proveniente de los recipientes usados en el muestreo de sangre y de tejidos se puede minimizar remojando los recipientes durante la noche en agua que contenga detergente de bajo contenido de fosfatos. Los envases (incluyendo las tapas) deben cepillarse y enjuagarse tres veces con una solución de HCl al 10% y tres veces con agua desionizada. Las muestras de sangre pueden contaminarse con los anticoagulantes, las aguas y las jeringas usadas para su recolección. Se recomienda el uso de jeringas desechables y de agujas de acero inoxidable. El tapón usado en el sistema de recolección de sangre mediante el "vacutainer" puede ser una fuente de contaminación de zinc. Esto puede evitarse no usando el tapón, sino agujas de sangrado tipo California junto con "parafilm". Las muestras de tejidos pueden recolectarse con más seguridad mediante la disección con tijeras o cuchillos de acero inoxidable.

Se pueden obtener muestras representativas de sangre por punción yugular, punción de la cola con aguja y jeringa o se pueden tomar en el matadero al momento que se corta el cuello del animal. Se recomienda el uso de agujas número 18 o más grandes para prevenir la hemólisis. La recolección de sangre de cada animal puede variar de 10 a 50 ml. Las muestras pueden almacenarse en refrigeración por varios días o por un período más largo si se congelan. En estudios sobre la concentración de minerales en el plasma o suero, la sangre entera no debe refrigerarse ni congelarse. Por lo tanto, es necesario separar el plasma o suero tan pronto sea posible después de que se tome la muestra de sangre. Las muestras de suero y plasma desproteinizadas son más estables y pueden mantenerse a temperatura ambiente de 2 a 4 semanas. Si se prevee un período más largo (mayor de 4 semanas) entre la recolección y el análisis de las muestras, éstas pueden ser congeladas.

Se ha observado en muchas ocasiones, que la concentración de algunos minerales en la sangre, particularmente de P, son mayores que las esperadas. Las concentraciones de P están afectadas por el consumo reciente de este elemento. Así, es posible encontrar niveles altos de P en la sangre de animales con deficiencias de P que han sido transferidos recientemente a dietas altas en ese elemento. Cuando se encuentren niveles de P orgánico muy altos, en contraposición a concentraciones bajas en los forrajes, se debe considerar un posible

Copyrighted material

aumento debido al manejo previo del animal y/o a los procedimientos de recolección y procesamiento de la muestra. Cuando el animal ha sido excitado, sometido a ejercicio o deprivado de agua antes de recolectar la muestra, es posible que los niveles de P inorgánico en la sangre se eleven. Bajo condiciones de campo es difícil evitar el ejercicio, pero se debe reducir al mínimo la excitación del animal.

Durante la recolección, la hemólisis severa elevará el contenido de P en el suero o plasma. También es importante la temperatura y el tiempo antes de la separación del suero o el plasma. Mientras más largo sea el tiempo transcurrido entre la recolección y la separación del suero o plasma, más altos serán los valores de proteínas y, consecuentemente de P inorgánico. Obviamente, las temperaturas altas de los trópicos aumentarán la reacción. Dayrell *et al.* (1973) indican que las concentraciones de P inorgánico se elevan significativamente cuando el suero ha sido separado después de que la sangre ha permanecido a temperatura ambiente por más de 3 horas. El mejor procedimiento es el de poner las muestras de sangre en refrigeración o en agua helada, y separar el plasma o suero tan pronto como sea posible. Bajo algunas condiciones se justifica un centrifugador portátil.

(1) Obtención de plasma. Para obtener plasma, el tubo o reci-piente de recolección debe contener un anticoagulante. Tan pronto como se tome la sangre, ésta se debe mezclar suavemente con el anticoagulante invirtiendo el tubo varias veces hasta lograr una mezcla completa. Los anticoagulantes se pueden usar en las siguientes concentraciones: heparina, 2 mg/ml de sangre; citrato sódico y citrato de litio, 5 mg/ml de sangre; oxalatos sódico, potásico y de litio, de 1 a 2 mg/ml de sangre. El anticoagulante a ser usado no debe causar hemólisis o contaminar la muestra con elementos minerales que se desean analizar. Por ejemplo, el citrato sódico y los oxalatos de potasio y sodio no se deben usar si se va a analizar Na o K en plasma. Las células rojas del ganado son relativamente frágiles y hay evidencia que ocurre cierta hemólisis cuando se usa heparina. El citrato de litio (20% p/v; 0.1 ml/10 ml de sangre) ha dado buenos resultados y puede ser un anticoagulante adecuado en el análisis de minerales en plasma.

Para obtener plasma las muestras deben centrifugarse por 15 a 20 minutos de 2 000 a 2 500 rpm, aproximadamente. Se deben centrifugar dentro de las 24 horas después de la recolección o dentro de las primeras horas si no hay refrigeración. El plasma se remueve con una pipeta, teniendo cuidado de no aspirar o revolver las células, y se transfiere a un recipiente limpio.

(2) Obtención de suero. La recolección de suero es apropiada en aquellas áreas donde no se puede centrifugar y refrigerar la muestra dentro de las 24 horas después de su colección. En el caso de que las muestras se tomen con aguja, se recomien-

Copyrighted material

da el uso de agujas "California" tamaño 15 y tubos de ensayo o tubos al vacío de 20 ml. Los tubos al vacío comerciales (vacutainers), no se recomiendan para análisis de Zn, pues los tapones de hule son fuente de contaminación. Se recolecta de 10 a 15 ml de sangre de cada animal, en tubos de ensayo recubiertos con silicón. Luego de obtenida la muestra, se permite que coagule, y tan pronto se forme suficiente suero, lo que generalmente toma 8 o más horas, se transfiere a otro recipiente. El suero se puede transferir utilizando una pipeta de vidrio tipo "pasteur" con bulbo de gotero de 1 ml de volúmen. Se debe tener el cuidado de introducir la pipeta en el tubo de tal manera que no se aspire el coágulo o se dañe la membrana de células rojas. Para el análisis de macroelementos, se debe desproteinizar 1 ml de suero tan pronto se disponga del equipo necesario. El suero restante se puede refrigerar o congelar para la determinación de microelementos por espectrofotometría de absorción atómica. Las muestras de suero que se toman en el campo deben conservarse frías en hielo o refrigeradas hasta que se lleven al laboratorio. El suero de color rosado indica hemólisis y no es adecuado para el análisis de minerales, pues los valores de Fe, Zn, Mg y K pueden presentarse muy altos.

(3) Precipitación de proteínas en plasma y suero. Se debe utilizar una solución libre de proteínas para el análisis de P por el método de Fiske-Subbarow (1925) o Harris & Popat (1954). Un buen procedimiento para precipitación de las proteínas séricas y plasmáticas es el siguiente:

a) Verter 9 ml de ácido tricloracético (TCA) al 10% (p/v) en un tubo de ensayo.

b) Agitar la muestra y mediante pipeteo añadir a los 9 ml de TCA 1 ml de suero o plasma.

c) Mezclar (tapado) por un minuto con un agitador vortex. Dejar en reposo por lo menos 10 minutos y centrifugar por 10 minutos a 2500 rpm. Decantar el sobrenadante si se desea guardar por un período prolongado.

El sobrenadante representa una dilución de 1 en 10 de la muestra original. Los estándares se deben diluir con TCA en la misma manera.

b. Muestreo de hígado

Para la obtención de muestras mediante biopsia de hígado en bovinos se recomienda la técnica reportada por Chapman *et al.* (1963). Para la obtención de muestras de animales sacrificados se sugiere el siguiente procedimiento: Para prevenir la contaminación de la muestra de hígado, ésta se debe colectar tan pronto se corte el abdómen del animal. Se debe hacer el esfuerzo por no tocar la parte del hígado a ser utilizada. Se deben usar guantes de plástico, cuando sea posible, y cortar de 50 a 100 g (tamaño de un puño) del lóbulo derecho del hígado, con unas tijeras o un cuchillo de acero inoxidable. La muestra de hígado fresco se puede congelar en

Copyrighted material

una bolsa de plástico o se puede poner en botellas de polietileno con formaldehido al 10%. No se deben utilizar áreas de hígado infestadas con parásitos.

c. Muestreo de huesos

A veces se usa la composición mineral de los huesos para detectar el estado mineral de los animales. El estatus mineral del animal puede detectarse más correctamente en el esqueleto axial y las costillas. Benzie *et al.* (1959) indican que la reabsorción y reabilitación de minerales ocurre más rápidamente en el esqueleto axial y las costillas de la oveja que en los huesos largos. Sin embargo, Blincoe *et al.* (1973) no encontraron diferencias en las concentraciones de Ca y Mg en la vértebra caudal, la costilla derecha o el fémur. Little (1972) ha descrito una técnica quirúrgica para la obtención de muestras de las costillas del ganado por biopsia.

Se pueden obtener muestras de los huesos de la cola con un cuchillo o sierra de carne durante el destace, removiendo dos vértebras caudales de la parte próxima al tronco. En ovinos y caprinos, se puede tomar el hueso metacarpus (hueso largo de la extremidad anterior que une al casco). Las muestras de hueso se pueden conservar congeladas o en recipientes con formaldehido al 10% hasta que se preparen para análisis.

d. Muestreo de forrajes

En general, las muestras de forraje deben tomarse dos veces por año por finca, durante el período final de la estación lluviosa.

(1) Procedimiento de muestreo. Antes de tomar las muestras, se debe observar cuidadosamente a los animales en pastoreo y recolectar en las áreas donde éstos comen. En ocasiones es necesario seguir al animal en el potrero y colectar las muestras con la mano para que representen lo que el animal consume. Se selecciona al azar diez o más sitios, dependiendo del tamaño del potrero. Luego se combinan las muestras tomadas de diferentes sitios en una sola muestra que pese aproximadamente 400 g de materia fresca. Cuando existan grandes diferencias entre sitios de muestreo (tipo de suelo más vegetación) se deben muestrear individualmente para establecer el porcentaje de cada una de las especies principales. Se deben tomar muestras separadas de las especies más importantes. Se debe anotar la altura de corte y ésta debe representar la altura a que el animal pastorea. Se recomienda el uso de guantes plásticos y tijeras de acero inoxidable. Las muestras se pueden depositar en bolsas de tela para secarlas inmediatamente al aire o se pueden mantener en bolsas de plástico siempre y cuando se sequen al horno pocas horas después de colectadas.

(2) Secado. El secamiento del forraje fresco se hace en un horno de aire forzado a una temperatura entre

Copyrighted material

45° y 60 °C. El secado debe realizarse en poco tiempo (en 8 horas o a lo sumo toda la noche). Se recomienda utilizar bolsas de tela en vez de bolsas de papel. Una vez que las muestras ya están secas secadas, se permite que lleguen a un equilibrio con la humedad ambiental por un período de 48 horas. No se debe mantener las muestras en un cuarto hermético durante el período de equilibrio. Las muestras deben tener 88% o más de materia seca.

(3) Molienda y submuestreo. Al moler la muestra se puede contaminar con ciertos minerales trazas (Cu, Mn, Se y Zn). Por ejemplo, si se va a analizar Cu, el contenido de este elemento se puede triplicar si se muele la muestra en un molino Wiley con cribas de bronce. Las mejores formas de moler muestras incluyendo el uso de un molino limpio con cribas de acero inoxidable, la utilización de mortero y mango, y el cortado fino del forraje con cuchillo o tijeras de acero inoxidable. Las muestras que se han secado al aire o que están parcialmente secas deben molerse por primera vez a través de una criba de 4 mm. La parte del material que quedó en el molino se debe mezclar con la parte molida en una bolsa grande de plástico, mezclando con movimientos rotatorios (la bolsa debe tener aproximadamente 1/3 de material molido y 2/3 de aire), se toma una submuestra y se muele de nuevo a través de una criba de 1 mm.

(4) Almacenamiento. Se coloca aproximadamente 30 g de material molido a través de la criba de 1 mm en una bolsa de plástico (bolsas Whirl-Pack) y se sella herméticamente para prevenir los cambios de humedad en el laboratorio durante los análisis. En el caso de que se anticipe trabajo analítico adicional, y como precaución contra la pérdida accidental de la muestra, es recomendable almacenar aproximadamente 300 g del material molido en forma gruesa, en un recipiente a prueba de insectos y gases. Es necesario asegúrese que la muestra contenga por lo menos 88% de materia seca. También se pueden incluir bolas de nafta en el recipiente si fuese necesario evitar insectos o moho.

5. Diagnóstico de deficiencias y desbalances minerales

Los desórdenes de nutrición mineral van desde deficiencias minerales agudas o toxicidades caracterizadas por signos clínicos y cambios patológicos bien marcados, hasta una mala condición general o un crecimiento y una producción inferior. Estas últimas condiciones tienen gran importancia porque afectan áreas vastas y a un gran número de animales, además de que pueden confundirse con deficiencias de energía, proteína y varios tipos de parasitismo (Underwood, 1977).

Los signos clínicos de deficiencias minerales, los exámenes patológicos y bioquímicos, así como los análisis de agua, suelos, plantas y tejidos animales, han sido utilizados con diferente grado de éxito para establecer deficiencias o excesos de minerales. El

Copyrighted material

método más confiable para confirmar deficiencias minerales es la respuesta obtenida con la suplementación de minerales específicos. Sin embargo, tales estudios son costosos en cuanto a tiempo y recursos si son realizados adecuadamente. La mayoría de los desequilibrios minerales, especialmente en condiciones marginales, no presentan manifestaciones patológicas de falta o exceso de un mineral específico, por lo que muchas veces es necesario realizar análisis químicos y ensayos biológicos para identificarlos (McDowell *et al.*, 1984).

Los análisis para determinar las formas minerales disponibles en el suelo puede proveer indicios de deficiencias en el ganado, pero a menudo son difíciles de interpretar y son poco confiables. Datos de Brasil, Bolivia y Florida indican que las correlaciones entre el contenido mineral de suelos, plantas y tejidos animales son altamente variables entre localizaciones y frecuentemente bajas o inexistentes. Las correlaciones típicas entre minerales en forrajes y suelos reportadas en Brasil fueron: Fe = 0.12, Mn = -0.12, Zn = 0.30 (Conrad *et al.*, 1980).

Las desventajas de los análisis forrajeros para evaluar la suficiencia mineral para el ganado en pastoreo incluyen: 1) Incertidumbre de que las muestras sean representativas de lo que el ganado consume; 2) Dificultad para estimar el consumo de forrajes; 3) Variaciones en la disponibilidad de alimentos en el forraje; 4) Posibilidad de que las muestras estén contaminadas con suelo. A pesar de ello, los análisis de forrajes son preferibles a los de suelos.

El análisis de tejidos y fluidos animales han mostrado mayor precisión en la evaluación del aporte mineral de la dieta total (forraje, agua, etc.) a los requisitos del ganado. La concentración de minerales en tejidos y fluidos animales, además de las concentraciones de enzimas, metabolitos o compuestos orgánicos específicos con los cuales el mineral considerado está funcionalmente asociado, son indicadores importantes del estado mineral. El tejido hepático es especialmente útil para evaluar el estado del animal en relación con Co, Cu, Mn y Se. La sangre entera y el suero o plasma sanguineo generalmente se utilizan para estudios de nutrición animal. Concentraciones que estén significativa y consistentemente por encima o debajo de las concentraciones o rangos "normales" (Cuadro 1) son evidencia sugestiva pero no conclusiva de un exceso o deficiencia mineral en la dieta.

Debido a limitaciones serias del P en la sangre y suero como indicadores del estado de este mineral, el análisis más recomendado es el nivel de P en el hueso. La válidez de los análisis en tejidos y fluidos animales está en función de las condiciones de muestreo y procesamiento, discutidas previamente.

Dado que muchos factores causan variaciones en el contenido mineral del pelo, es poco probable que los

Copyrighted material

Cuadro 1. Diagnóstico de deficiencias o toxicidades de minerales específicos en el ganado vacuno.

Elemento	Requisito del animal			Tejido	Nivel crítico[c]
	Vaca de leche[a]	Vacuno de carne[b]	Ovino		
Deficiencia					
Calcio, %	0.54	0.18-0.53	0.21-0.52	Hueso (sin grasa)	24.5 %
				Ceniza de hueso	37.6%
				Plasma	8 mg/100 ml
Magnesio, %	0.20	0.05-0.25	0.04-0.08	Suero	1-2 mg/100 ml
				Orina	2-10 mg/100 ml
Fósforo, %	0.38	0.18-0.37	0.16-0.37	Hueso (sin grasa)	11.5%
				Ceniza de hueso	17.6%
				Plasma	4.5 mg/100 ml
Potasio, %	0.80	0.50-0.70	0.50		
Sodio, %	0.18	0.06-0.10	0.04-0.10	Saliva	100-200 mg/ml
Azufre, %	0.20	0.08-0.15	0.14-0.26		
Cobalto, ppm	0.10	0.07-0.10	0.10	Hígado	0.05-0.07 ppm
Cobre, ppm	10	4 -10	5	Hígado	25-75 ppm
				Suero	0.65 µg/ml
Yodo, ppm	0.50	0.20-2.00	0.10-0.80	Leche	300 µg/día
Hierro	50	20	30-50	Hemoglobina	10 g/100 ml
				Transferrina	13-15%sat.
Manganeso, ppm	40	20	20-40	Hígado	6 ppm
Selenio, ppm	0.10	0.20	0.1	Hígado	0.25 ppm
				Suero	0.03 µg/ml
				Pelo o lana	0.25 ppm
Zinc, ppm	40	20-40	35-50	Suero	0.6-0.8 µg/ml
Toxicidad					
Cobre, ppm	80	115	8-25	Hígado	700 ppm
Flúor, ppm	30	30-100[d]	60-200	Hueso	
Manganeso, ppm	1000	150		Pelo	
Molibdeno, ppm	6	6[d]	5-20	Hígado	
Selenio, ppm	5	5	2.0	Hígado	
				Pelo	
Zinc, ppm	500	500	1000		

Las siguientes determinaciones son técnicas de diagnóstico muy sensitivas: Vitamina B_{12} para Co; tiroxina libre para I; ceruloplasmina para Cu y peroxidasa glutationes para Se.

Las concentraciones de algunos minerales en el suelo que sugieren deficiencia son: Ca=0.35 meq/100 g, K=0.15 ,meq/100 g, Mg=0.07 meq/100 g, P=10 ppm, Cu=0.6 ppm, Mn=19 ppm y Zn=2 ppm.

[a] Recomendaciones para vacas lactantes (500 Kg) dando entre 17 y 23 kg de leche (NRC, 1978).
[b] Recomendaciones para etapas de crecimiento y engorde de novillos y novillas (NRC, 1976).
[c] Datos en base seca, tomados de McDowell (1976), McDowell *et. al.* (1983) y Mtimuni (1982).
[d] NRC (1980).

Copyrighted material

análisis de pelo sean indicadores precisos del estado mineral del animal (Combs *et al.*, 1982). Las concentraciones de Ca, P y Cu en el pelo no son afectadas por el consumo de estos minerales. Sin embargo, los contenidos de Zn y Se pueden reflejar el consumo de estos elementos en la dieta. Si se analiza el pelo, hay que tener cuidado de comparar los valores con los de animales control que sean de similar raza, sexo, semental, color y temporada. El pelaje nuevo y la contaminación ambiental son fuentes importantes de variación.

A causa de la complejidad y costo de los análisis de minerales, es importante seleccionar y analizar un número mínimo de plantas y tejidos animales que sean los mejores indicadores del estado mineral del animal.

6. Técnicas de mapeo para la determinación de deficiencias y toxicidades minerales

Las deficiencias o toxicidades del ganado en pastoreo pueden predecirse mediante el uso de una técnica sistemática de encuestas y mapeos o por un reconocimiento regional. Los niveles de Se y Co analizados en forrajes de los Estados Unidos han sido relacionados con enfermedades que responden a la suplementación de Se y Co. Se han llevado a cabo técnicas similares de mapeo para Co y P en Brasil y para Se en Venezuela. Egan (1975) logró identificar, mediante el muestreo y análisis de sedimentos del cause de ríos, zonas con deficiencias no sospechadas, tales como deficiencia de Cu inducida por exceso de Mo en ganado ovino y bovino, deficiencia en Mn en ganado bovino y deficiencia de Co en ganado ovino. Se han identificado deficiencias de Co y/o Cu en rumiantes en pastoreo en regiones de Brasil, como resultado de bajas concentraciones hepáticas de estos elementos (Tokarnia y Döbereiner, 1973). Deficiencias de P fueron también establecidas en Venezuela y Panamá, teniendo como base bajos niveles de P en suero sanguíneo.

Desde 1974, la Universidad de Florida ha tenido un convenio de cooperación en la investigación mineral con instituciones en América Latina, Africa y el Sudeste de Asia. El propósito de esta investigación ha sido el de identificar deficiencias o excesos de minerales para el ganado en pastoreo, mediante el uso de una técnica sistemática de mapeo, que se basa en el análisis de plantas y tejidos animales, y en observar la respuesta biológica a la suplementación con minerales (McDowell *et al.*, 1984).

7. Disponibilidad biológica de diferentes fuentes de fósforo

La disponibilidad biológica o valor biológico (VB) del P en los ingredientes de la dieta es muy variable, y depende de múltiples factores para las diferentes especies animales. Algunos de estos factores son el tipo de alimento usado, forma química del elemento, la relación Ca:P, edad del ani-

Copyrighted material

mal, sexo, niveles de energía y grasa, medio ambiente, hormonas, enfermedades, parásitos, niveles de proteína y de microelementos, interacciones con otros minerales y nutrientes, la naturaleza física de las fuentes de P y otros ingredientes en la dieta, tipo de procesamiento, tamaño de partículas y muchos más.

La estructura química de la molécula de fosfato es probablemente el factor más importante en la disponibilidad del P. Las moléculas de fosfato ocurren ya sea en la forma -Ortho- o enlazadas por átomos de oxígeno compartido. Estas estructuras múltiples, denominadas fosfatos condensados, pueden existir como dos moléculas o como polímeros de muchas moléculas. Los piro-fosfatos son dos moléculas enlazadas, mientras que los meta-fosfatos son moléculas con anillos o estructuras cíclicas. Los efectos de las diferentes estructuras sobre el VB de las distintas fuentes de P están bien explicados en la literatura. La evidencia indica que el fosfato debería estar en la forma -Ortho- para ser absorbido y utilizado.

El VB de las fuentes inórganicas de P (fosfatos) se ha determinado mayormente mediante su comparación con una fuente "standard" a la que se le ha dado arbitrariamente un valor de disponibilidad. Los criterios de respuesta han sido múltiples y variados, pero la mayoría de trabajos han usado % cenizas en hueso como la medida más sensitiva, particularmente en estudios con pollos. El uso de este tipo de ensayos comparativos superó muchos de los problemas asociados con la determinación de disponibilidad verdadera o absoluta, siendo su ventaja principal el que los resultados pueden ser aplicados ampliamente. Una buena fuente de fosfato siempre es buena y una mala fuente siempre es mala, bajo todas las condiciones.

Por supuesto, el animal obtiene el P no sólo de las fuentes inórganicas sino también de los ingredientes del alimento, sean ellos de origen animal o vegetal. Esta contribución es generalmente de más del 50% del P total de la dieta. La disponibilidad de P en los ingredientes de origen vegetal ha sido investigada por muchos años. La principal fuente de P en la mayoría de estos ingredientes es el fitato. La molécula de fitato es principalmente ácido hexafosfórico inositol o ácido fítico. Es de conocimiento general que, tal como se encuentra en granos y semillas, dos moléculas de ácido fítico están enlazadas a través de enlaces catiónicos, principalmente Mg y K, pero también en menores cantidades con Ca y otros cationes divalentes menores. El ácido fítico es una fuente relativamente rica en P, pero desafortunadamente la mayoría de éste no está biológicamente disponible. Los animales adultos tienen una mayor habilidad para utilizar fitatos que los animales jóvenes, como resultado de una mayor secreción de la enzima fitasa en el tracto gastrointestinal. La fitasa hidroliza el P del fitato, haciéndolo disponible para el animal.

Copyrighted material

En resumen, el concepto de disponibilidad biológica es un concepto utilizable cuando es debidamente entendido. Se pueden presentar confusiones si se le considera como disponibilidad absoluta, pues en realidad representa disponibilidad relativa para obtener suplementación mineral apropiada de todas las especies animales (Underwood, 1981).

8. Referencias

BENZIE, D.; BOYNE, A. W.; DALGARDO, A. C.; DUCKWORTH, J.; HILL, R. 1959. Studies of the skeleton of sheep. III. Relationship between phosphorus intake and resorption and repair of the skeleton in pregnancy and lactation. Journal of Agricultural Science 52:1.

BLINCOE, C.; PESPPERANCE, A. L.; BOHMAN, V. R. 1973. Bone magnesium, calcium and strontium concentration in range cattle. Journal of Animal Science 36:971.

CHAPMAN, H. L.; COX, D. H.; HAINES C.H.; DAVIS, G.K. 1963. Evaluation of the liver biopsy technique for mineral nutrition studies with beef cattle. Journal of Animal Science 22:733.

COMBS, D.K.; GOODRICH, R.D.; MEISKE, J.C. 1982. Mineral concentration in hair as indicators of mineral status. A review. Journal of Animal Science 54:391.

CONRAD, H.H.; SOUSA, J.C.; MENDES, M.O.; BLUE, W.G.; McDOWELL, L.R. 1980. Iron, manganese, sodium and zinc interrelationships in a tropical soil, plant and animal system. *In* IV World Conference on Animal Production. Ed. by L.S. Verde, A. Fernández. Buenos Aires, Argentina. p. 48.

DAYRELL, M.S.; LOPES, H.O.S.; SAMPAIO, I.B.M.; DOBEREINER. 1973. Factors a serem considerados na interpretação de valores analíticos do fosforo inorgánico no soro sanguineo dos bovinos. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, Série Veterinária 8:43.

EGAN, A.R. 1975. The diagnosis of trace element deficiencies in the grazing ruminant. *In* Trace elements in Soil-Plant-Animal Systems. New York, EE.UU., Academic Press. p. 371.

FIELD, A.C. 1984. Mineral and metabolic disorders of livestock witr reference to copper, cobalt and phosphorus. Nuclear Techniques in Tropical Animal Diseases and Nutritional Disorders. Viena, International, Atomic Energy Agency. 37 p.

FICK, K.R.; McDOWELL, L.R.; MILES, P.H.; WILKINSON, N.S.; FUNK, J.D.; CONRAD, J.H. 1979.

Copyrighted material

Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales. Gainesville, Florida, EE.UU, Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Florida. 35 p.

FISKE, C.H.; SUBBAROW, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus phosphorus. Journal of Biological Chemistry 66:375.

HARRIS, W.D.; POPAT, P. 1954. Determination of the phosphorus content of lipids. American Oil Chemistry Society Journal 31:124.

KIRCHGESSNER, M.; SCHWARZ, J.J. 1976. Trace element deficiency and its diagnosis by radioisotope injection. Nuclear Techniques in Animal Production and Health. Proceedings of an International Symposium, Viena, 1976. International Atomic Energy Agency. 81 p.

LITTLE, D.A. 1972. Bone biopsy in cattle and sheep for studies of phosphorus status. Australian Veterinary Journal 48:668.

McDOWELL, L.R. 1976. Mineral deficiencies and toxicities and their effect on beef production in developing countries. *In beef* Cattle Production in Developing Countries. Ed. by A.J. Smith. Edinburg, Scotland. University of Edinburg. Centre for Tropical Veterinary Medicine. p. 216.

_____; CONRAD, J.H.; ELLIS, G.L. 1983. Mineral deficiencies and their diagnosis. *In* Herbivore Nutrition in the Subtropics and Tropics. Ed. by F.M.C. Gilchrist, R.I. Mackie. Craighall, South Africa, Science Press. p. 241.

_____; _____; _____; LOOSLI, J.K. 1984. Minerals for grazing ruminants in tropical regions. Gainesville, Florida, EE.UU., Department of Animal Science, Center for Tropical Agriculture y US Agency for International Development. 86 p.

_____; _____; _____. 1986. Ruminant mineral deficiencies. Radioisotopic and other techniques of detection. Nuclear and Related Techniques for Improving Productivity of Indigenous Animals in Harsh Environments. Vienna. International Atomic Energy Agency. 23 p.

NRC. 1976. Nutrient requirements of beef cattle. 4 ed. National Research Council. Washington, D.C., National Academy Press. 89 p.

_____. 1978. Nutrient requirements of dairy cattle. 5 ed. National Research Council. Washington, D.C., National Academy Press. 108 p.

_____. 1980. Nutrients requirements of beef cattle. 5 ed. National Research Council. Washington, D. C., National Academy Press. 97 p.

MTIMUNI, J.P. 1982. Identification of mineral deficiencies in soil, plant and animal tissues as constrains to

Copyrighted material

cattle production in Malawi. Ph. D. Thesis, Gainesville, Florida. University of Florida. 214 p.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. 1973. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brasil. A review. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Serie Veterinaria 8 (suplemento): 1.

UNDERWOOD, E.J. 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4 ed. New York, EE.UU., Academic Press. 429 p.

UNDERWOOD, E.J. 1979. The current status of trace element nutrition: An overview. The 2nd Annual International Mineral Conference. p. 1.

UNDERWOOD, E.J. 1981. The Mineral Nutrition of Livestock. 2 ed. Farnham Royal, England, Commonwealth Agricultural Bureaux. 180 p.

Copyrighted material