

**EL EFECTO DEL NIVEL DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN EN EL
COMPORTAMIENTO ANIMAL Y SANGUINEO EN GANADO
CAPRINO LECHERO**

RICARDO NICOLAS SILVA CERRON

T E S I S

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Grado de:**

**DOCTOR EN CIENCIAS
EN ZOOTECNIA**



**Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Abril de 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCION DE POSTGRADO

EL EFECTO DEL NIVEL DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN EN EL
COMPORTAMIENTO ANIMAL Y SANGUINEO EN GANADO CAPRINO LECHERO

TESIS

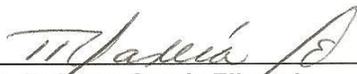
POR

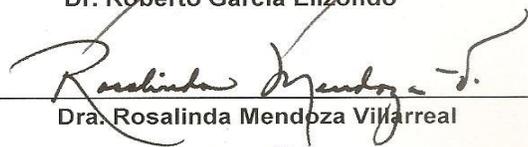
Ricardo Nicolás Silva Cerrón

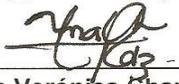
Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría
y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de :

DOCTOR EN CIENCIA
EN ZOOTECNIA

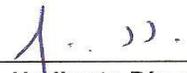
COMITÉ PARTICULAR

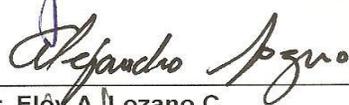
Asesor Principal: 
Dr. Roberto García Elizondo

Asesor: 
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor: 
Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Asesor: 
Dr. Jorge Kawas Garza

Asesor: 
Dr. Heriberto Díaz Solís

Asesor: 
Dr. Elóy A. Lozano C.


Dr. Fernando Ruiz Zarate
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Abril de 2014

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme apoyado y permitido realizar estos estudios.

Al Dr. Roberto García Elizondo por haber siempre estado presente en los momentos más importantes de esta investigación y apoyarme con sus consejos.

A la Dra. Rosalinda Mendoza por su apoyo constante y disposición en el desarrollo de esta investigación,

A la Dra. Ana Charles Rodríguez por su apoyo y disposición en la asesoría de este trabajo.

Al Dr. Heriberto Díaz Solís por su disposición y consejos en todo momento del desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Jorge Kawas Garza por sus consejos, asesoría y amistad durante mis estudios.

Al Dr. Eloy A. Lozano Cavazos gracias por haber estado en los momentos decisivos de este trabajo.

A mis compañeros de trabajo por haberme dado siempre su apoyo incondicional.

DEDICATORIA

Al Señor de los Milagros

Sin ti no hubiera hecho nada.

Con todo amor y cariño a los seres que más quiero, gracias por haberme
soportado y apoyado.

Mis Padres en paz descansen

Nicolás Silva Corrales

Haydee de Silva Barrientos

Mi Esposa

Ana Velia Rodríguez Flores

Mis Hijos

Ricardo, Christy, Jenny y Karla

Mis Hermanas

Charo, Mirtha y Miriam

COMPENDIO

EL EFECTO DEL NIVEL DE LA HARINA DE SEMILLA DE ALGODÓN EN EL COMPORTAMIENTO ANIMAL Y SANGUINEO EN GANADO CAPRINO LECHERO

TESIS

POR

RICARDO NICOLAS SILVA CERRON

**DOCTOR EN CIENCIAS
EN ZOOTECNIA**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Abril 2014

Dr. Roberto García Elizondo - Asesor -

Palabras clave: gosipol, metabolitos, harina de semilla de algodón, cabras lecheras.

Se utilizaron 60 animales, 30 cabras lecheras de la raza Alpina y 30 crías alimentadas de leche como única dieta para evaluar los efectos de la cantidad de gosipol provenientes de la harinolina. El análisis se basó en la determinación del comportamiento animal medido en la cabras como producción de leche, su grasa, proteína y lactosa, consumo de materia seca y cambio de peso corporal al inicio de la lactancia y en cabritos, aumento de peso diario, consumiendo leche de las cabras en tratamientos (10 cabras y 10 crías por tratamiento). Las

cuales fueron distribuidas al azar en tres tratamientos (de 10 animales cada uno) T1 (0), T2 (15) y T3 (30%) del concentrado con una energía neta de lactancia (EN_L) de 1.99, 1.93 y 1.88 Mcal/kg y proteína cruda (PC) de 21.98 , 21.73 y 21.49 %, respectivamente, por 60 días de lactancia empleando un análisis completamente al azar (ANOVA) y las diferencias fueron analizadas por DMS.

Al analizar los metabolitos en sangre de las cabras adultas en ordeña en dos muestreos (30 y 60 días) no se encontró diferencia al ($P>0.05$) para todos los metabolitos a excepción de la creatinina con valor de 3.41, 3.87 y 5.00 mg/dL en el día 60 para los tratamientos con 0,15 y 30% de HSA respectivamente. Las dietas alimenticias de las cabras tuvieron una proporción de forraje a concentrado 49:51. El nivel de gossipol libre consumido estimado fue de 0 .65 y 1.30 g para el T2 y T3 y gossipol total de 2.66 y 5.34 g respectivamente. Los consumos de materia seca promedio fueron: 2.73, 2.74 y 2.75 kg/día para las cabras de los tratamientos 1,2 y 3 respectivamente. La producción de leche promedio por día ajustada por grasa al 4% fue: T1 (2.10), T2 (2.28) y T3 (2.28 lts) sin mostrar diferencia ($P>0.05$). El aumento de peso de los cabritos fue para el tratamiento T1 (0.086), T2 (0 .066) y T3 (0 .085 kg) sin diferencia significativa ($P>.05$).

La HSA conteniendo gossipol se puede utilizar eficientemente por cabras lecheras lactantes sin efectos negativos en los metabolitos en sangre, producción de leche y consumo de materia seca.

Palabras clave: gossipol, metabolitos, harina de semilla de algodón, cabras lecheras

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	
Definición, clasificación química y características del Gosipol	3
Biosíntesis de Gosipol.	8
Efectos del Gosipol en el animal.	9
Prevención de la toxicidad por Gosipol	11
Variedades de algodón que contienen bajos niveles de Gosipol . . .	20
Composición Nutricional de la Harina de semilla de algodón y su contenido de Gosipol.	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS	
Animales y Alimentación.	27
Análisis de Sangre.	30
Análisis Estadístico.	31
4. RESULTADO Y DISCUSIÓN	
Análisis de Sangre	30
Comportamiento Animal	34
5. CONCLUSIÓN.	37
6. LITERARUTA CITADA.	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Recomendación de niveles seguros de gossypol libre en dietas de rumiantes.	15
2	Guías de utilización de gossypol en plasma de productos de algodón en dietas de vacas lecheras lactantes.	18
3	Composición Nutricional de la Harina de semilla de algodón.	24
4	Valores de gossypol para harinas de semilla de algodón coleccionadas de los molinos de semilla de algodón de Estados Unidos durante el periodo 2001 - 2003.	27
5	Ingredientes y química del concentrado experimental utilizado en la alimentación de cabras lecheras con diferentes niveles de harina de semilla de composición algodón.	29
6	Análisis bromatológico de la mezcla de triticale y gramíneas utilizadas en las dietas experimentales.	30
7	Metabolitos sanguíneos de cabras con dos niveles de HSA en la dieta (días 30 y 65).	34
8	Consumo Nutricional, Producción y Composición de la Leche, Peso Total y Cambio de Peso.	37
9	Pesos Totales y Aumento de Peso de Crías Alimentadas con Leche Provenientes de los Tratamientos.	38

INDICE DE FIGURAS

Cuadro		Página
1	Vista en perspectiva de la molecula de gosipol que muestra la presencia de una simetría doble	4
2	Formas tautometricas de gosipol	6
3	Productos comunes de la transformación de gosipol . . .	7
4	Una ruta propuesta para la biosíntesis de gosipol (6) en semilla de algodón donde <i>E,E</i> -farnesyl diphosphate (1) con intermediarios (+) β -cadinene (2), 8-hydroxy-(+)- β -cadinene(3), desoxyhemigosypol (4), y hemigosypol (5).	9
5	Acoplamiento de gosipol con grupos amino en proteínas.	16
6	Pesos totales de crías alimentadas con leche provenientes de los tratamientos.	38

1. INTRODUCCIÓN

La harina de semilla de algodón (HSA) o harinolina es un excelente alimento comúnmente utilizados en bovinos de engorda y bovino productor de leche. La HSA es alta en proteína 41.3% (Forster and Calhoun,1995), sin embargo, en el ganado caprino lechero estabulado ha sido muy poco o nulo el uso debido a la falta de información en su utilización y el contenido de gossipol ($C_{30}H_{30}O_8$) que normalmente tienen los sub-productos de algodón. Este es un poli fenólico aldehído, pigmento Amarillo encontrado principalmente en las glándulas de las plantas de algodón, que aparecen como manchas negras por ejemplo al cortar una semilla de algodón por el medio (Nagalakshmi *et al.* 2007) y se considera que es parte de la defensa de la planta contra hongos e insectos.

Los rumiantes bien desarrollados con una flora microbiana bien establecida, son más eficientes que los jóvenes en desintoxicar el gossipol al convertir el gossipol libre a gossipol ligado en el rumen impidiendo su absorción en la sangre (Calhoun et al., 1995), que animales jóvenes. La toxicidad con gossipol ocurre cuando un animal consume altas cantidades de productos de algodón y el animal no puede desintoxicarlo eficientemente (Mena, *et al.* 1998).

En un reciente estudio realizado por Rodríguez *et al.* (2013) substituyendo harina de soya por HSA sola y con urea en ganado caprino lactante Alpino x Saanen encontraron mayor respuesta en producción de leche ($P<0.05$) con la harina de soya como única fuente proteica. En otro estudio Nagalakshmi *et al.*

(2002) utilizando borregas de 3 a 4 meses de edad y usando HSA extraída en forma mecánica al 17.9% del consumo total de la materia seca encontraron una reducción en la utilización de los nutrientes y fermentación ruminal.

Así mismo (Solaiman *et al.* 2008) utilizando cabritos de la raza Nubia de 6 a 8 meses de edad consumiendo semilla de algodón (Easy Flo*cottonseed) reemplazando el 15.7% y 32.7% del maíz y la soya del concentrado encontraron diferencia significativa ($P < 0.01$ y $P < 0.05$) para aumento de peso diario y consumo diario de materia seca, respectivamente. Tampoco se encontró efecto ($P > 0.05$) para los metabolitos glucosa, bilirrubina y urea en sangre sin embargo, si encontró un incremento lineal para proteína total y niveles de creatinina ($P < 0.05$).

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del nivel de la harina de semilla de algodón en el comportamiento animal y metabolitos en sangre en ganado caprino lechero.

Hipótesis

El nivel de harina de semilla de algodón no afecta el comportamiento animal y metabolitos en sangre en ganado caprino lechero

2. REVISION DE LITERATURA

Definición, clasificación química y características del Gosipol

Gosipol ($C_{30}H_{30}O_8$) es un aldehído poli fenólico (Figura 1). Pigmento Amarillo encontrado principalmente en las glándulas de las plantas de algodón que aparecen como manchas negras por ejemplo al cortar una semilla de algodón por el medio y se considera que es parte de la defensa de la planta contra hongos e insectos (Blanchfield, *et al.*, 2006; Nagalakshmi *et al.*, 2007).

Las plantas contienen varios químicos que son tóxicos a los mamíferos (Liener, 1980, James *et al.*, 1988). Sin embargo, muchas son fuentes de alimento para animales y humanos como los productos de la semilla de algodón (semilla de algodón, aceite de algodón, harina de semilla de algodón y cascarilla de algodón).

El gosipol fue aislado por primera vez en 1889 de las raíces y semillas del algodón del genus *Gossypium* y es considerado un poli fenólico bis-sesquiterpeno encontrado en la planta de las malváceas, (Chauncey and Stipanovic, 2006).

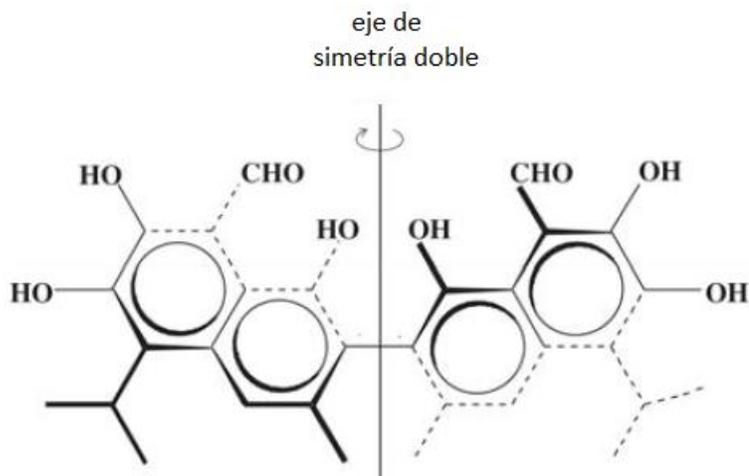


Figura 1. Vista en perspectiva de la molécula de gossipol que muestra la presencia de una simetría doble. (*The EFSA Journal 2008*)

Los terpenos e isoprenoides unidades específicas del gossipol, son compuestos orgánicos derivados del isopreno (2-metil-1,3-butadieno-unidad química del terpeno) un hidrocarburo de 5 átomos de carbono. Los isoprenoides son lípidos al que pertenecen las vitaminas A, E, K. Existen otros isoprenoides que tiene olores que forman parte de muchas plantas como el naranjo. Los terpenos se originan por polimerización enzimática de dos o más unidades de isopreno, ensambladas y modificadas de muchas maneras diferentes. La mayoría de los terpenos tienen estructuras multicíclicas, las cuales difieren entre sí no solo en grupo funcional sino también en su esqueleto básico de carbono (Wikipedia 2013)

En condiciones adecuadas se puede inducir al isopreno a polimerizarse en múltiplos de 5 carbonos, generando numerosos esqueletos de terpenos. Es por esto que se relaciona a los terpenos con el isopreno ya que se sabe que el isopreno no es el precursor de del terpeno. Un sesquiterpeno, clasificado en

base al número de unidades de isopreno tiene 15 carbonos y están presentes en los aceites esenciales. También estos actúan como fitoalexinas, compuestos antibióticos producidos por las plantas en respuesta a la aparición de microbios y como inhibidores de su consumo de herbívoros que podría ser el gossipol (Wikipedia 2013).

Los terpenos se forman a través de uniones de unidades biológicas de isopreno. La unión de dos monómeros de acuerdo a la Regla Isoprenica de Wallach pueden dar el precursor pirofosfato de geranilo (GPP). El pirofosfato de geranilo es precursor de los monos terpenos. La incorporación de otra unidad isoprenica da como resultado el pirofosfato de farnesilo (FPP), precursor de los sesquiterpenos. Las unidades de isopreno pueden ser biosintetizadas en dos formas. A través de intermediarios de la Ruta del Ácido Mevalónico (MVA) o partir de compuestos derivados de la Ruta del 2-C metil-D-eritrito 4-fosfato, denominada también. Ruta de la 5-fosofono-1-Desoxi-D-Xilulosa (DXP). Recientemente se descubrió que diversos terpenos en plantas y bacterias se producen mediante la ruta de DXP (Wikipedia 2013)

Al menos 15 pigmentos de gossipol o derivados han sido identificados en productos del algodón ocho de estos han sido aislados y caracterizado (Berardi and Goldblatt, 1980). El gossipol debido a la presencia de polihidroxilado aromáticos se considera existe en tres formas tautoméricas y puede adaptarse a diferentes formas lo que ocasiona numerosas especies moleculares (Figura 2).

Este se encuentra en el algodón y productos de algodón en dos formas: gossipol libre que es extraído con solventes y el adherido. El último representa casi todos aductos covalentes de gossipol a proteínas de las cuales el gossipol libre se puede liberar parcialmente al calentarlo con ácidos. La forma libre se considera toxica y la ligada se considera no toxica.

El gossipol también es insoluble en agua y soluble en solventes orgánicos y grasas. Otra característica es que en rayos ultravioleta (UV) tiene una absorción máxima de 385 nm (E18,000 dependiendo de solventes). Se derrite a temperaturas alrededor de 200° C dependiendo de su forma polimórfica. Muchas formas polimórficas y solventes cristalinos existen dependiendo del solvente de cristalización.

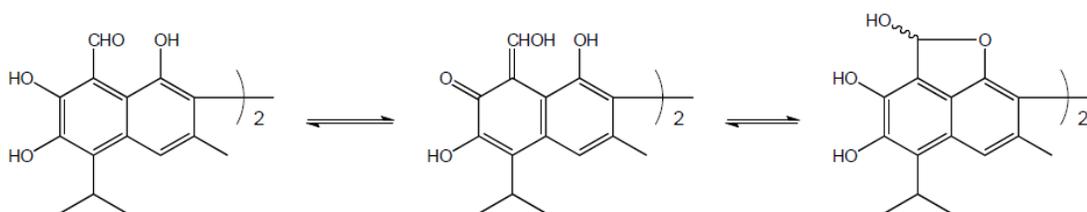


Figura 2. Formas tautoméricas de gossipol. (*The EFSA Journal 2008*)

También, la pérdida de agua de la forma hemiacética por ejemplo al calentar solventes inertes arriba de 90° esto resulta en la formación reversible de anhydrogossipol .

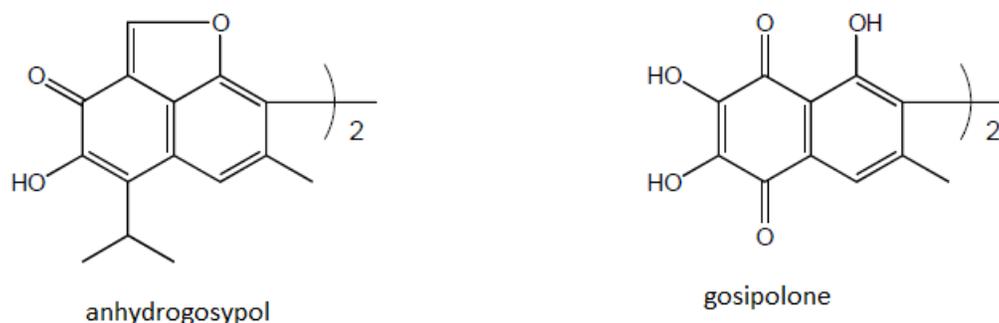


Figura 3. Productos comunes de la transformación del gosipol. (*The EFSA Journal 2008*)

La oxidación de gosipol produce gosipolone (Figura 3). Debido a que la rotación alrededor del enlace conectando las dos mitades de la molécula es estorbada la molécula no es plana y tiene un eje de simetría.

La molécula del gosipol es por lo tanto quiral por su disimetría axial lo que provoca el enantiomerismo (+) y (-). El (+) gosipol tiene la configuración (S) y el negativo la configuración (R) (Huang *et al.*, 1988; Freedman *et al.*, 2003). Los grupos aldehídicos presentes en el principal tautómero (la forma disaldehídica) reaccionan rápidamente con aminas incluyendo los grupos amino en proteínas (Strom Hansen *et al.*, 1989) y forman Iminas (Bases Schiff) que todavía pueden ser transformadas a otros productos.

Ya que estos compuestos forman complejos con algunos iones metálicos, el gosipol ligado incluye una fracción de gosipol ligado a complejos metálicos particularmente con el hierro. Parte del gosipol ligado puede en principio ser liberado en el tracto digestivo de los animales pero evidencia sobre esto no está clara o no existente (Calhoun comunicación personal).

Biosíntesis de Gosipol

Una propuesta cadena de la biosíntesis of gosipol (6) de *E,E*-farnesyl diphosphate (1) en algodones es observada en Fig.3. El primer paso es la ciclización de of *E,E*-farnesyl diphosphate (1) a (+)- -cadinene (2) catalizado por (+)- cadinene synthase (Benedict et al., 1995, Davis and Essenberg, 1995, Chen et al., 1995, Benedict et al., 2001): La hidroxilación of (+)- cadinene (2) para formar 8-hydroxy- (+)- cadinene (3) es catalizado por (+)- cadinene 8-hidroxilasa, a citocrome P₄₅₀ monooxygenasa (Luo et al., 2001). Intactos cotiledones de algodón convierten 8-hidroxi- (+)- cadinene (3) to desoxihemigosipol (4) and hemigosipol (5) demostrando la funcionalidad del citocromo P₄₅₀ monooxygenase en la biosíntesis of gosipol (6) (Wang et al., 2003, (Chauncey et al., 2006).

La conversión de 8-hydroxy (+)- cadinene (3) a desoxihemigosipol (4) requiere hidroxilaciones, desaturaciones y formación de éter cíclico (Chauncey et al.,2006). Stipanovic et al. (1992) demostró que desoxyhemigosipol (4) descompone a hemigosipol (5) en solución por una oxidación libre no enzimática.

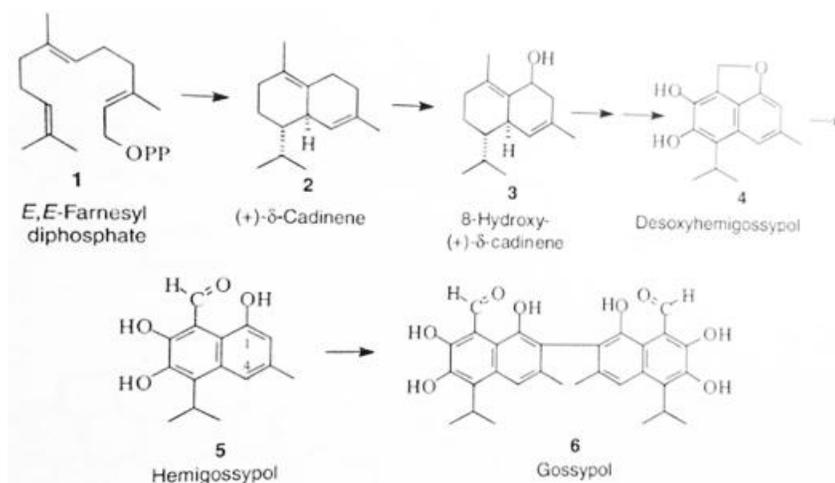


Figura 4. Una ruta propuesta para la biosíntesis de gossipol (6) en semilla de algo donde *E,E*-farnesyl diphosphate (1) con intermediarios (+) δ -cadinene (2), 8-hydroxy-(+)- δ -cadinene(3), desoxyhemigossypol (4), y hemigossypol (5). (Chauncey et al., 2006)

Efectos del gossipol en el animal

El gossipol afecta negativamente las funciones hepáticas de los animales, la capacidad de acarrear o desalojar oxígeno por parte de los eritrocitos, flujo de respiración, consumo de alimento y las funciones productivas y reproductivas (Lindsey et al., 1980, Calhoun et al., 1990, Gray et al., 1990). También ha sido conocido como una sustancia tóxica principalmente en rumiantes jóvenes y animales no rumiantes (Skutches et al., 2007) así como en bovinos adultos y cabras afectando su fisiología reproductiva.

Así mismo los rumiantes tienen la habilidad, debido a su contenido de microorganismos en el rumen a desintoxicar el gossipol dependiendo de la fuente del producto usado, procesamiento, cantidad consumida y tipo de isómero existente en el producto. Recientemente, el gossipol ha sido usado como un agente anti cancerígeno. En todas estas circunstancias las rutas

metabólicas son afectadas negativamente o positivamente con las respectivas enzimas correspondientes.

Se considera que las enzimas a nivel hígado serán afectadas negativamente cuando las gallinas consuman harina de semilla de algodón a niveles no recomendables. Sugiyama et.al. (1984) reporta efectos de ligazón a GST B y previene la ligazón de la enzima con sustratos normales como ácido litocólico. Lee et al. (1982) reporta que la inhibición fue competitiva en presencia de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno, un conocido sustrato de GST. Ya que esto es competencia inhibitoria el gossipol no cambia por el enzima pero solamente previene que los sustratos normales reaccionen. Por lo tanto la actividad del GST esta inversionalmente proporcional a la cantidad de gossipol en el cuerpo.

El gossipol en las gallinas es considerado como un toxico hepático. Gallinas que consumen altas concentraciones de harina de semilla de algodón sufren de pérdida de peso, reducción de consumo y disminución de peso (Nagalakshmi *et al.* 2007). Similarmente a otros tóxicos la toxicidad depende de la cantidad de harina de semilla de algodón en la dieta. La cantidad aceptada en gallinas es considerada en 280 mg/kg (Nagalakshmi *et al.*,2007).

Utilizando niveles no recomendados en bovinos principalmente han causado acumulación en la sangre de los animales ocasionando efectos tóxicos y por lo tanto una reducción de producción de carne, leche y fertilidad del ganado. Estudios hechos en mono gástricos, ratones hembras, de acuerdo a Randel *et.al.* (1991) se concluye que el gossipol causo un desorden en los ciclos ováricos e interfiere con la concepción y tuvo un efecto negativo en el desarrollo

embrionario. También el gossipol fue aislado en forma cristalina en hígados de cerdos que se habían alimentado con harina de semilla de algodón con un alto nivel de gossipol libre. El producto cristalino fue identificado como dianilongossipol por su ultravioleta (248-500 m μ) y luz infrarroja spectra.

De acuerdo al reporte de la European Food Safety Authority (2008) existe algo de transferencia de gossipol a partes consumibles como musculo de rumiantes, pollo y leche de vaca como así se transfiere en la leche de ratones de madres consumiendo gossipol. Sin embargo existe muy poca información en la cantidad transferida. Es importante también recordar que los rumiantes tienen la habilidad de desintoxicar el gossipol a nivel ruminal debido a su flora microbiana.

Prevención de la toxicidad por gossipol

La semilla de algodón y harina de semilla de algodón son excelentes alimentos para el ganado. La semilla es alta en proteína y energía, fibra y una buena fuente de fosforo y vitamina E, sin embargo los dos contienen gossipol, **que** puede producir efectos tóxicos en los animales.

Las características físicas de la semilla de algodón así como su valor nutricional ha resultado en su uso extensivo en dietas de ganado lechero principalmente, pero la preocupación sobre el gossipol ha inhibido el uso de harina de semilla de algodón cuando se suministra semilla de algodón.

Las recomendaciones actuales de productos de semilla de algodón y harina de semilla de algodón están dentro de estos parámetros considerando la fuente, productos de algodón, las variedades genéticas usados actualmente y la

capacidad nutricional de desintoxicación por parte del rumiante. Así mismo existen técnicas como la medición de gossipol en suero plasmático y fragilidad eritrocítica que detectan una tendencia a una intoxicación por gossipol.

La literatura sobre la utilización de productos de semilla de algodón en rumiantes y la toxicidad de gossipol fue extensivamente revisada por Calhoun y Holmberg en 1991. La revisión cubrió al algodón y sus subproductos, procesos de extracción de aceite, gossipol en la semilla de algodón y sus subproductos, análisis de gossipol y envenenamiento por gossipol. Así mismo se creía que el gossipol libre era la forma tóxica y el gossipol adherido no era disponible para los rumiantes y por lo tanto no era tóxico. Consecuentemente las recomendaciones para usar semilla de algodón y harinolina en dietas de animales fue basada en gossipol libre (Berardi y Goldblatt, 1980; Calhoun y Holmberg, 1991). El gossipol total que incluye el gossipol libre y el gossipol adherido fue muy pocas veces determinado.

Rogers y Moore (1995) mencionan que no es riesgoso dar mayores niveles de gossipol libre en la dieta cuando la fuente es semilla de algodón en lugar de harina de semilla de algodón. Para vacas maduras y toros los niveles sin riesgo recomendados de gossipol libre en la dieta son de 900 y 1200 ppm respectivamente al dar semilla de algodón comparado con 200 y 600 ppm respectivamente, cuando la fuente de gossipol libre es harina de semilla de algodón.

Los niveles altos de gossipol libre recomendado para dietas que tienen semilla de algodón refleja el conocimiento de que el gossipol libre en la semilla de

algodón no procesada es extensivamente adherida durante la digestión en el rumen y es menos disponible que el gossipol libre de la harina de semilla de algodón (Calhoun, 1995). Sin embargo, en estudios con ganado vacuno y ovino, en los cuales diferentes fuentes de gossipol libre (gossipol ácido acético, semilla de algodón y harina de semilla de algodón procesada por diferentes métodos) fueron dados; se observó que los niveles de gossipol en plasma y tejido y su toxicidad en muchas ocasiones no fueron correlacionadas ya sea con el nivel de gossipol libre contenido en el alimento o con los consumos de gossipol libre (Calhoun et al., 1990 a,b; Calk, 1992; Calhoun y Wan, 1995; Wan et al.,1995).

Estos estudios demostraron que el nivel de gossipol libre es de valor limitado para hacer recomendaciones acerca de los niveles de semilla de algodón y harina de semilla de algodón que sin riesgo se puede dar a los rumiantes. Sin embargo, Lindsey et al. (1980) demostró que la habilidad del Rumen para desintoxicar el gossipol puede excederse cuando los consumos de gossipol libre por vacas adultas son muy altos.

Los niveles, sin riesgo, recomendados para rumiantes propuesto por Calhoun y Holmberg en 1991 (Cuadro. 1) se consideran conservadoras debido a la inseguridad de los muchos factores conocidos que influyen en la toxicidad por gossipol.

Cuadro 1. Recomendación de niveles seguros de gosispol libre en dietas de rumiantes ¹

Desarrollo del Rumen	Edad en semanas	Gosispol Libre	
		ppm en dieta	mg/kg de peso vivo por día
Prerrumiante	0 a 3	100	1.1
Transición ²	3 a 8	200	2.3
Funcionalidad			
Post- destete	8 a 24	200	3.6
Maduro ³	>24	600	6.8

1 La Información de tabla es tomada de Calhoun y Holmberg (1991)

2 La transición de un prerrumiante a un rumiante funcional empieza cuando el animal empieza a consumir alimento seco.

3 Este nivel es considerado seguro para hembras en reproducción. El nivel recomendado para machos en reproducción es de 200 ppm.

En estudios recientes (Das Hagas et. al., 2010, Solaiman et.al., 2008 and Risco et al., 2002) trabajando con cabras los primeros dos y Risco et al., 2002 con vacas lecheras no encontraron efectos negativos al suministrar harina de semilla de algodón y semilla de algodón respectivamente. En el primer trabajo de machos caprinos suplementadas con .5 kg de Harina de semilla de algodón en un periodo de 120 días la harina de semilla de algodón no afecto la calidad del semen producido.

Así mismo en el otro trabajo también con machos consumiendo semilla de algodón procesada (EasyFlo) a un nivel de 15.7% si se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) para circunferencia escrotal y motilidad espermática en forma negativa conforme se incrementó el nivel de semilla de algodón. También se encontró un incremento significativo ($P < 0.05$) en el nivel de proteína sérica y creatinina con el incremento de semilla de algodón así como una mejoría en el consumo de alimento y aumento de peso diario. El nivel de hemoglobina y

hematocritos fueron mayores para el grupo tratamiento y no hubo efecto en las células somáticas.

Un procedimiento de cromatografía de alta definición (HPLC) para determinar isómeros (+) y (-) en plasma de tejidos de animales, desarrollado por Kim y Calhoun (1995) ha sido usado para medir niveles gossipol en plasma en varios estudios donde los rumiantes utilizados se alimentaron con diferentes fuentes de gossipol. El nivel de gossipol en plasma depende de la fuente, el nivel del isómero de gossipol en la dieta, condiciones del proceso, composición de la dieta, su consumo en materia seca y el desarrollo del rumen.

Cuando gossipol ácido acético en forma de una capsula de gelatina fue directamente puesto en el rumen este fue más toxico en borregos que el gossipol libre de carazas de algodón o harina de semilla de algodón de sus dietas (Calhoun et al. 1990). Generalmente el gossipol libre en la semilla de algodón esta extensivamente ligado al rumen y es menos disponible al ganado vacuno y a borregos que el gossipol libre en la harina de semilla de algodón, sin importar el proceso utilizado en la extracción de aceite (Calhoun y Wan, 1995). Sin embargo, el gossipol libre en la semilla de algodón es mucho más disponible cuando fue mezclado con un sustituto de leche y dado a borregas lactando (Calhoun y Wan, 1995).

Incrementando el nivel de proteína en la dieta de borregos disminuye la disponibilidad del gossipol pero el efecto es un poco modesto (Calhoun información no publicada). La formación de un complejo (Figura. 4) entre el grupo libre amino ípsilon de lisina y grupos de aldehído pueden ser

responsables por la disminución en su disponibilidad (Reiser y Fu, 1962) pero al añadir lisina en las dietas de borrego y bovinos, esta no disminuye la disponibilidad de gossypol (Calk *et al.*, 1992., Lauwikel *et al.* 1997). El agregar hierro como sulfato de hierro si liga al gossypol y disminuye su disponibilidad en borregos y bovinos (Calk *et al.*, 1992; Mena 1997).

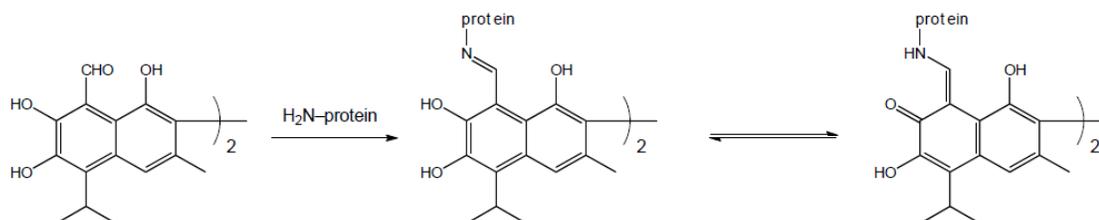


Figura 5. Acoplamiento de gossypol con grupos amino en proteínas. (*The EFSA Journal 2008*)

La digestibilidad de la materia seca en relación al consumo de gossypol que provenga de semilla de algodón o harina de semilla de algodón también es importante. Al incrementarse el consumo de materia seca en relación al consumo de productos de semilla de algodón, los niveles de gossypol de bovinos y borregos disminuye y a la inversa.

Al disminuir el consumo de materia seca en relación al consumo de productos de semilla de algodón, la disponibilidad de gossypol se incrementa y el potencial de envenenamiento por gossypol también incrementa. Ciertos tipos de procesos parecen ser que alteran la ligazón del gossypol a la semilla para que sobrepase el rumen y así no desintoxicarse.

Semillas de algodón previamente procesadas tienen más disponibilidad del gosispol que la no procesada (Bernard y Calhoun,1997). Esto sugiere que la semilla de algodón que haya pasado por un proceso de calor podría ser más toxico. Dentro de la semilla de algodón el gosispol se localiza en estructuras discretas llamadas glándulas del pigmento. El calor no rompe estas glándulas pero aparentemente se incrementa la disponibilidad del gosispol a través de una reacción química entre el gosispol y otros componentes de la glándula que produce un complejo de gosispol que sobrepasa el proceso normal de desintoxicación que ocurre en el rumen.

La suave cubierta y condiciones de secado que se usan para producir la semilla de flujo suave, así como la semilla cubierta con 3 a 5% del almidón no aparenta elevar los niveles de gosispol disponible (Bernard et al., 1999). Actualmente una manera de evaluar la disponibilidad del gosispol es dar el producto y medir el valor del gosispol en sangre y tejido. Esto requiere tiempo y es costoso. Las guías para establecer valores sin riesgo en el uso de gosispol en pasma están dadas en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Guías de utilización de gosispol en plasma de productos de algodón en dietas de vacas lecheras lactantes

Plasma gosispol $\mu\text{g/ml}$		Comentarios
Gosispol Total	(-) - gosispol	
5 o menos	3.5 o menos	Seguro
6 a 8	4 a 5.5	Precaución
9 a 11	6 a 8	Peligro
más de 11	más de 8	Envenenamiento de gosispol

(Calhoun y Silva; 2004)

Actualmente 5 $\mu\text{g/ml}$ es considerado un nivel seguro superior para gosispol en plasma en ganado lechero alimentado con productos de semilla de algodón por

periodos largos. El nivel seguro superior para el isómero (-) es de 3.5 µg/ml de plasma. Estos valores son aproximadamente la mitad de los valores observados en ganado bovino que se sospechaba estaba intoxicado con gossipol y fueron seleccionados arbitrariamente para proveer un margen de seguridad.

Las recomendaciones actuales para los productos de semilla de algodón en dietas de vacas lecheras son de 2.3 a 3.6 kg. de semilla de algodón por día o un 15 % de la dieta en base a materia seca y no más de 5.4 Kg. por día de todos los productos de semilla de algodón i.e. semilla de algodón, harinolina y cascarilla de algodón (aproximadamente un 22.5 % de la dieta). En hatos lecheros alimentados con una ración completa (TMR) con 15% de semilla de algodón de buena calidad con borra el gossipol en plasma promedia 1.5 a 3.5 µg/ ml y generalmente no excede 5.0 µg/ml cuando los productos de semilla de algodón no son más del 22.5% de la dieta. La experiencia práctica alimenticia a través de los años ha establecido que estos niveles son seguros cuando las vacas se alimentan con semilla de algodón de buena calidad, sin tratamiento térmico, de variedades con borra así como harinolina de estas. Sin embargo recientes eventos indican que estos niveles no son seguros para semilla procesada.

Con respecto a ganado de carne y la utilización de la harinolina se considera que las recomendaciones para ganado de leche son factibles de usarse. Sin embargo estos niveles sobrepasarían las necesidades de animales de engorda y animales en pastoreo. Normalmente los niveles de harinolina están dentro de un rango del 5 al 10% en dietas de engorda dependiendo de las características del animal y de los días engorda. En ganado de carne en agostadero su nivel

de utilización se encuentra entre 1 a 2 kgs por animal siendo las recomendaciones conservadoras del Workshop for Cattlemen, May 5, 1989.

La utilización de la harinolina en dietas de gallinas no es factible ya que decolora la yema de huevo a lo que el consumidor no está acostumbrado, aunque esto no cause ningún daño a su salud. Su utilización en animales de engorda es factible ya que se han obtenido buenos resultados en incrementos de peso en animales de 2 a 18 semanas de edad. Sin embargo se tendrían que ajustar los niveles de Metionina y Lisina ya que la harinolina o pasta de algodón tiene un contenido menor a la soya; la fuente de proteína normalmente usada en los pollos. Se considera también que estos ajustes puede implicar un costo mayor de la ración por lo tanto el diferencial de precios entre la harinolina y la soya habría que considerarlo.

En una situación similar se encuentran los cerdos donde su recomendación para ganado de finalización está alrededor de un 5% haciendo ajustes similares en los aminoácidos esenciales que en los pollos de engorda y solamente cuando las condiciones del mercado lo permitan.

Variedades de algodón que contienen bajos niveles de gossipol

Debido a la existencia de nuevas variedades que continuamente están siendo introducidas por fito mejoradores y que los procesos de extracción de aceite cambian con el tiempo; es importante conocer los efectos de estos cambios en la composición de la semilla de algodón y harinolina. Dos tipos de semilla de

algodón están siendo usadas por el ganado lechero en EU, la variedad Upland (*Gossypium hirsutum*) y Pima (sin borra, *Gossypium barbadense*).

La semilla de algodón Upland o con borra tiene pequeñas fibras todavía pegadas a la cubierta de la semilla a diferencia de la semilla Pima que esta negra sin ninguna borra. Esta es la misma que se produce en México y en este momento no se procesa la semilla de algodón para la extracción de aceite y harinolina.

La semilla Pima también la llaman la semilla negra pero también hay que recordar que hay semilla de algodón desbarrada por un proceso y que existe disponibilidad para su uso y que también es negra. La semilla Upland se da primordialmente como semilla entera proveniente de una despepitadora en contraste con la Pima que generalmente es quebrada o molida antes de suministrarse al ganado.

Al considerar la utilización de la bioingeniería genética en el desarrollo de variedades sin gossipol o semilla de algodón sin glándula tendría que existir suficiente volumen de estas semillas para su proceso en diferentes productos derivados de la semilla de algodón. Actualmente de una tonelada corta (2000 lbs) de semilla de algodón se produce por medio de una procesadora de semilla de algodón el 46.4% de harinolina con un valor de 177.45 dólares, aceite de algodón (PBSY) con un 32.9 % y un valor de 125.48 dólares, borra de primer corte y segundo un 7.9% con un valor de 30.27 y cascarilla con un valor de 49 dólares. El valor comercial total de la tonelada corta nos daría entonces un valor de 382.20 dólares. Se puede entonces analizar la opción de introducir una

variedad nueva libre de gossypol, ya que analizar solamente su producción por contenido de gossypol e intentar incrementar su valor nutricional podría no ser la única opción del punto de vista de los procesadores de semilla de algodón.

La semilla de algodón sin glándula en forma natural se caracterizó el siglo pasado en los E.U. en los 50's. Durante los 80's la producción anual de semilla de algodón sin glándula fue de cerca de 20,000 acres cerca de la ciudad de Waco Texas, sin embargo esta aventura comercial fracasó debido a la infestación de insectos, baja producción de borra y falta de demanda del producto. De todas las aplicaciones que la Universidad de Nuevo México probó la que se observó que tenía mayor potencial fue la semilla de algodón sin glándula (G-CSM) en alimentación de camarones.

También en la Universidad de Texas A&M por medio de Keerti S. Rathore continúa el trabajo en una variedad de un nivel sumamente bajo de gossypol producida por biotecnología. Rathore ha utilizado una técnica que silencia al gene que nulifica la producción del gossypol en la semilla pero la deja en el resto de la planta para su protección contra predadores. Se considera que hasta que esta variedad tenga un soporte comercial la variedad sin glándula tendrá más éxito en sobrevivir comercialmente.

Otra estrategia en proceso reportada por Stepanovic R.D, Jil,W y A.A.Bell (2007) sería crear una planta libre de gossypol y el follaje con glándula. En lugar de bloquear la síntesis de gossypol en la semilla de plantas con glándula reinstalarían la formación de la glándula y la parte sintética del gossypol y

compuestos en el follaje de plantas sin glándula. Esto sería logrado con un tejido verde promotor específico que está fuertemente relacionado con la formación de la glándula.

Composición Nutricional de la Harina de semilla de algodón y su contenido de gosispol.

En el Cuadro 3, se presenta información sobre la composición nutritiva de harinas de semilla de algodón de tres fuentes (Calhoun et al., 1995; NRC, 2001; Waldroup y Kersey, 2002). Las primeras dos fuentes que están tituladas NCPA 1995 y NCPA 2002, respectivamente nos dan resultados de dos estudios patrocinados por la NCPA.

La lista de participantes de la NCPA de 1995 es de 66 muestras de Harinolina extraída por medio de expansores y solventes colectados de 25 molinos de semilla de algodón y aceite en los EU durante el ciclo de producción 1993-1994 (Calhoun et al., 1995). La lista del 2002 son de muestras de harinolinas extraídas con expansores y solventes producidas durante el la cosecha del año 2000 para 14 molinos de aceite de algodón de los EU. Muestras representativas fueron obtenidas de los embarques de salida de harinolina por un periodo de dos meses durante el periodo pico dentro del proceso (Waldroup y Kersey.2002).

La información titulada NRC-2001 es para harinolina extraída con solventes de 41% de proteína cruda (Internacional Feed No.5-01-630) de la 7th Revised Edition of Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC, 2001).

Cuadro 3. Composición Nutricional de la Harina de semilla de algodón.¹

Característica	NCPA 1995 ²			NCPA 2002 ³			NRC 2001 ⁴		
	N	Prom.	DE ⁵	N	Prom.	DE	N	Prom.	DE
Materia Seca, %	66	89.1	0.93	14	91.6	0.71	180	90.5	1.9
Proteína Cruda, %	66	47.6	1.99	14	43.8	0.84	158	44.9	4.1
PCIDA							8	1.8	0.5
PCIDN							7	3.3	0.9
Fibra Cruda, %	66	11.2	1.47	14	11.7	1.98			
FDA, %	66	17.3	2.7				58	19.9	5.4
FDN, %	66	24.5	3.61				47	30.8	9
Grasa Cruda, %	66	2.2	0.89	14	2.9	1.61	113	1.9	2.2
Cenizas, %	66	7.5	1				44	6.7	0.7
Calcio %	66	0.22	0.03	14	0.21	0.02	185	0.2	0.1
Fósforo, %	66	1.2	0.14	14	1.1	0.07	185	1.15	0.1
Magnesio, %	66	0.66	0.06	14	0.64	0.03	65	0.61	0.11
Potasio, %	66	1.72	0.11	14	1.56	0.07	185	1.64	0.38
Sodio, %	66	0.14	0.09	14	0.16	0.1	97	0.07	0.06
Cloro, %							3	0.07	
Azufre, %	66	0.44	0.03	14	0.41	0.02	30	0.4	0.11
Cobre, ppm	66	12	2	14	13	2	59	14	3
Fierro, ppm	66	126	39	14	51	7	60	149	47
Manganeso, ppm	66	20	27				61	24	11
Zinc, ppm	66	64	68	14	60	8	55	67	15
Molibdeno ppm	66	2.5	0.8				18	3	0.8

¹ Los valores están basados en 100% de materia seca.

² Fuente de información (Calhoun et al., 1995).

³ Fuente de información (Waldrup and Kersey, 2002).

⁴ National Research Council, Nutrient Requirements of Dairy Cattle 7th Revised Edition, 2001.

⁵ Desviación Estándar

No se encontró mucha diferencia en la información para los nutrientes en forma individual reportados para las tres fuentes. La proteína Cruda fue más alta para NCPA (1995) que para NCPA (2002) y NRC (2001). La FDA y FDN fueron más nolina que las de la NRC. Existe algo de variación en los valores reportados por sodio y fierro pero esto más que toda refleja cantidades que provienen del proceso de manufactura.

Los detalles de los procedimientos usados para coleccionar las muestras y análisis están descritos en las fuentes respectivas. La mayor parte de los molinos de aceite de algodón en los Estados Unidos participaron en la colección de las muestras para los dos estudios de la NCPA. Estos están considerados como la mejor fuente de información sobre la composición de nutrientes de HSA producidas en los EU. De acuerdo a la NRC (2001), su información fue coleccionada de laboratorios comerciales, literatura e información no publicada dada por investigadores universitarios.

Durante los últimos años ha habido cambios significativos en el proceso y utilización de la semilla de algodón. El número de molinos que extraían aceite de la semilla de algodón disminuyó de 50 en 1990 a menos de 14 (NCPA 2004) y el porcentaje de semilla de algodón molida para aceite disminuyó de 63 a 45. Casi todas las HSA actualmente producidas usan expansores en el proceso de solvente directo; por lo tanto solamente la información para HSA extraídas por expansores y solventes son presentadas en el Cuadro 4. Sin embargo, información de un pequeño número de muestras de harinolina extraída en

forma mecánica (expeler) se encuentra en las fuentes originales (Calhoun et al., 1995; Waldroup y Kersey 2002). Los expansores fueron incorporados al proceso directo por solventes para facilitar la extracción y ligar el gosipol libre. Los valores de gosipol de 41 muestras de harinolina extraída por expansores y solventes, producidas por 13 molinos de aceite de algodón durante el periodo 2001-2003 están resumidas en el Cuadro 4. En general, el gosipol libre de la AOCS promedio 0.135% de materia seca para el conjunto completo con una desviación estándar de 0.058%. El rango fue de 0.060 a 0.324 %. En 1995, Calhoun et al. reporto valores similares para 66 harinolinas extraídas con expansores y solventes (0.14% con una desviación estándar de 0.04%).

La AOCS gosipol total para las 41 muestras promediaron 1.383% con una desviación estándar de 0.209 %. Estos valores son un poco más altos que los reportado por Calhoun et al. (1995) para harinolina extraída por expansores y solventes (1.16% con una desviación estándar de 0.14%). El promedio para gosipol negativo, expresado como un porcentaje del gosipol total fue un poco más alto para el conjunto reciente (42.8 vs. 41.7%) pero esta pequeña diferencia no fue significativa.

Aunque estadísticamente estas observaciones no fueron analizadas debido al poco número de muestras de la mayoría de los molinos, si existen diferencias importantes entre molinos en el nivel de gossypol libre de las harinas de semilla de algodón extraídas por expansores y solventes. Existe una menor variación dentro de los molinos que entre los molinos. Sin duda alguna estas diferencias

reflejan el proceso en general usado para la extracción de aceite en los diferentes molinos, incluyendo la cantidad de soapstock (un producto jabonoso) que se regresa a la harinolina antes de entrar a la desensolventizadora-tostadora. Es muy probable que el contenido de gossipol de la semilla de algodón en proceso contribuya a la variación en el gossipol libre de la harinolina.

Cuadro 4. Valores de gossypol para harinas de semilla de algodón coleccionadas de los molinos de semilla de algodón de Estados Unidos durante el periodo 2001-2003.

Molino Semilla de Algodón	No. de Muestras	AOCS gossypol libre ¹		AOCS gossypol total ²		HPLC gossypol total ³		Gossypol Negativo	
		% Materia Seca		% Materia Seca		% Materia Seca		% de Gossypol Total	
No.	No. de Muestras	Prom	Rango	Prom	Rango	Prom	Rango	Prom	Rango
1	3	0.11	0.106 - 0.116	1.69	1.515 - 1.839	1.45	1.428 - 1.469	51.6	50.9 - 52.1
2	3	0.09	0.060 - 0.117	1.29	1.168 - 1.390	1.01	0.886 - 1.096	41.7	41.2 - 42.7
3	1	0.21		1.19		1.11		44.8	
4	8	0.08	0.062 - 0.096	1.15	1.092 - 1.269	0.99	0.938 - 1.133	42.1	41.6 - 43.0
5	3	0.12	0.096 - 0.138	1.44	1.391 - 1.474	1.25	1.169 - 1.295	41.2	41.0 - 41.5
6	2	0.14	0.142 - 0.147	1.43	1.391 - 1.463	1.22	1.209 - 1.228	43.3	43.0 - 43.6
7	2	0.13	0.120 - 0.143	1.61	1.545 - 1.674	1.42	1.392 - 1.443	41.8	41.6 - 41.9
8	3	0.24	0.178 - 0.324	1.6	1.393 - 2.021	1.47	1.267 - 1.833	40.9	40.2 - 41.8
9	2	0.13	0.115 - 0.143	1.35	1.281 - 1.409	1.21	1.124 - 1.302	41.4	40.8 - 41.9
10	3	0.1	0.075 - 0.116	1.27	1.242 - 1.302	1.11	1.046 - 1.152	41.5	38.9 - 44.6
11	2	0.15	0.147 - 0.148	1.38	1.333 - 1.419	1.22	1.190 - 1.240	43.4	43.4 - 43.5
12	7	0.21	0.183 - 0.225	1.5	1.287 - 1.667	1.29	1.144 - 1.453	42.4	42.2 - 42.9
13	2	0.1	0.084 - 0.110	1.22	1.222 - 1.226	0.99	0.893 - 1.080	42.7	41.8 - 43.6

¹ Determinado por AOCS metodo oficial para gossypol libre Ba 7-58 (AOCS, 1985a).

² Determinado por AOCS metodo oficial para gossypol total Ba 8-78 (AOCS, 1985b).

³ Determinado por cromatografía líquida de alta definición (Hron et al., 1999).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y Alimentación.

Se utilizaron 30 cabras multíparas de raza Alpina, al inicio de la lactancia, (28 días promedio) de 48 ± 2 kg de peso vivo, 36-48 meses de edad) y 30 crías, la mayoría proveniente de las mismas cabras. Las cabras fueron sometidos a un periodo de adaptación de 21 días. El periodo de adaptación se inició 7 días post- parto para todos los animales. Durante el periodo, su alimentación consistía del mismo forraje y concentrado previo al parto a base de soya. Previo al experimento se ajustaron consumos. Estas fueron asignadas y distribuidas al azar a los siguientes tratamientos T1 (0), T2 (15) y T3 (30%) de harina de semilla de algodón con 10 animales cada uno y las crías 10 por grupo en la misma forma consumiendo la leche respectiva de cada tratamiento como única dieta.

Cuadro 5. Ingredientes y composición química del concentrado experimental utilizado en la alimentación de cabras lecheras con diferentes niveles de harina de semilla de algodón

Ingrediente	Tratamientos		
	T1(0%)	T2 (15%)	T3 (30%)
	Kg/ Ton		
Cascarilla de Soya	40	40	40
Harina de Semilla de Algodón 41	150	300
Pasta de Soya ⁴⁶	260	130
Maíz-Grano	415	415	415
Salvadillo de Trigo	210	190	170
Melaza	50	50	50
Base Lechero-25	25	25	25
Composición Química (%)			
Materia seca	88.50	88.60	88.80
ENL , Mcal/kg	1.99	1.93	1.88
Proteína cruda	21.98	21.73	21.49
PC Indegradable	8.65	9.13	9.60
Cenizas	3.81	4.49	5.16
Calcio	0.53	0.55	0.57
Fosforo	0.78	0.86	0.94
Relación, Ca:P	0.68	0.64	0.60
Fibra Detergente Acido	12.46	14.34	16.26
Fibra Detergente Neutro	26.31	27.37	28.43
Extracto Etéreo	3.28	3.07	2.87
CHOS. No Estructurales	44.63	43.34	42.05

Las dietas del experimento consistieron de concentrado (51%) y forraje (49%) y fueron diseñadas isoproteicas e isoenergéticas, sin embargo las dietas variaron levemente en su contenido debido a los incrementos de HSA. En el concentrado se incluyó la HSA (0, 10 y 15%) y en la ración completa (0, 7.65 y 15.30%) para los T1, T2 y T3 respectivamente. El forraje utilizado fue una mezcla de Triticale (*Triticum secale*) y gramíneas. Los ingredientes y composición química del concentrado se muestran en el Cuadro 5 y el forraje en el Cuadro 6. La ración completa se muestreo cada 15 días durante los 60

días de la duración del experimento. La fuente de gosipol (harina de semilla de algodón) fue analizada (A.O.C.S.1985a), (A.O.C.S.1985b) para gosipol libre (0.31%) y gosipol total (1.27%) previo al comienzo del experimento y el consumo de ambos fue estimado basados en análisis bromatológicos de las dietas completas hechas cada 15 días durante el periodo experimental. La ración completa fue suministrada 5 veces al día, donde 2 veces fueron ofrecidas en la sala de ordeña en una cantidad fija para todos los animales, para todos los tratamientos y 3 veces en sus corrales respectivos. El alimento utilizado se determinó en función de los requerimientos nutricionales en el periodo de adaptación y se ofreció en el corral a los animales entrampados por 45 min a llenar consumo. El consumo de materia seca (ofrecido menos rechazado) fue medido y ajustado cada 7 días de acuerdo a un rechazo del 3 al 5%. Las cabras se pesaron cada 15 días para observar pesos totales y cambios de peso durante el periodo de investigación.

Cuadro 6. Análisis bromatológico de la mezcla de triticales y gramíneas utilizadas en las dietas experimentales.

Concepto (%)		B.S%
Humedad	9.72	--
Proteína	11.79	13.06
Extracto Etéreo	1.43	1.58
Cenizas	10.57	11.71

Las cabras lactantes fueron ordeñadas dos veces al día y su producción fue registrada semanalmente por 9 semanas (60 días). Las muestras de leche fueron tomadas de dos ordeñas consecutivas (a.m y p.m) cada 15 días y analizadas para grasa, proteína y lactosa .A todas las crías se le suministro la misma cantidad de leche de acuerdo a su edad y requerimientos nutricionales, de sus respectivos grupos.

Análisis de Sangre

Se tomaron muestras de sangre de 6 ml de la vena yugular con tubos Vacutainer sin anticoagulante los días 30 y 65 del experimento, las muestras fueron puestas en hielo para su conservación y transportadas al laboratorio \pm 2 horas después de la recolección. Se centrifugaron a 1500 rpp por 10 minutos cada muestra. El suero recolectado fue puesto en congelación a -20°C . Las muestras de suero al momento de ser utilizadas se descongelaron un día antes y fueron puestas en refrigeración para analizar por colorimetría con un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys 20 UV-Vis) utilizando kits comerciales marca Randox para bilirrubina, colesterol, creatinina, glucosa, proteínas totales y urea. Su discusión posterior se analizó de acuerdo a los estándares del Plumb's Veterinary Drug Handbook (2005).

Análisis Estadístico

El comportamiento animal y los metabolitos en sangre de las cabras fueron analizados por medio de un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones con el modelo fijo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde la Y ()= la variable dependiente para producción de leche, consumo de materia seca y metabolitos en sangre, μ = promedio general, T_i = Efecto fijo de la dieta i th, E_{ij} (ij) =Efecto residual. Las diferencias entre tratamientos fueron separadas por Fisher's, DMS cuando los valores F - fueron significantes ($P < 0.05$) para metabolitos y para comportamiento animal.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de Sangre

El consumo estimado de gossipol libre fue de .65 g y 1.30 g y total de 2.66 y 5.34 g, para las cabras de los tratamientos T2 y T3, respectivamente. Al analizar los metabolitos en sangre (Cuadro 7.) se encuentra que el único diferente ($P < 0.05$) fue la Creatinina a los 60 días del experimento con 3.41, 3.87 y 5.01 para tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente; donde el control (T1) fue inferior y existió similitud estadística ($P > 0.05$) entre los tratamientos con diferentes niveles de HSA. Dentro del análisis de creatinina los tres tratamientos se encuentran por arriba del rango sugerido (0.7-1.5 mg/dL) por Plumb's (2005) y arriba de lo reportado por Soloiman *et al.* (2008) en borregos machos con semilla de algodón, Dinev *et al.* (2007) cabras secas tratadas con antibióticos y Nagalakshmi *et al.* (2000) en cabritos con HSA. También Soloiman *et al.* (2008), reporta un incremento lineal de la Creatinina al incrementar el nivel de gossipol en la dieta. Sin embargo Mena *et al.* (2004) no encontró efecto en la creatinina en vacas lecheras con productos de algodón.

La creatinina en plasma puede ser un indicador de la presencia de un funcionamiento anormal renal sin embargo en todos estos trabajos mencionados no se reporta ningún efecto de toxico causado por gossipol de la HSA u otro producto de semilla de algodón. Es importante establecer posiblemente niveles de precaución para la creatinina en rumiantes alimentados con productos de semilla de algodón en condiciones de manejo lechero de alta

intensidad (alimentación y producción) sin afectar los niveles productivos y fisiológicos. En la primera observación (30 días del experimento) los niveles de creatinina estuvieron muy cerca del mínimo sugerido (0.7-1.5 mg/dL) por Plumb's (2005) en todos los tratamientos indicando que la creatinina se estableció conforme avanzó el estudio.

Cuadro 7. Metabolitos sanguíneos de cabras con dos niveles de HSA en la dieta (días 30 y 60).

Metabolitos	% HSA	Días de muestreo			
		30	EE	60	EE
Bilirrubina (mg/dL)	0	0.098	0.007	0.130	0.037
	15	0.097	0.006	0.085	0.012
	30	0.141	0.062	0.108	0.011
Colesterol (mg/dL)	0	114	12.61	207.39	16.610
	15	136.2	12.80	210.75	9.130
	30	129	14.11	207.41	16.830
Creatinina (mg/dL)	0	0.623	0.124	3.41 _a	0.558
	15	0.519	0.088	3.87 _b	0.363
	30	0.659	0.097	5.005 _b	0.466
Glucosa (mg/dL)	0	33.23	5.650	64.1	4.730
	15	41.81	4.660	74.4	6.150
	30	34.09	2.830	80.0	13.210
Proteínas totales (g/	0	14.64	3.090	6.78	0.062
	15	13.78	3.170	6.61	0.087
	30	13.47	3.310	6.84	0.204
Urea (mg/dL)	0	61.71	11.880	43.55	5.220
	15	82.38	9.460	35.70	4.740
	30	71.35	6.450	35.28	4.300

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$)

Para bilirrubina (Cuadro. 7) no se observó ninguna anomalía. La bilirrubina se puede acumular en la sangre, cuando los ductos biliares son dañados y puede utilizarse como un indicador de daño hepático ya que afecta

negativamente las funciones hepáticas de los animales como gallinas, cerdos y vacas (Calhoun *et al.* 1990, Lindsey *et al.* 1980, Gray *et al.* 1990, Lindsey *et al.* 1980, Mena *et al.*, 2004, Sagiya *et al.* 1984, Nagalaksami *et al.* 2007).

El comportamiento de colesterol (Cuadro. 7) en la segunda observación (60 días) mostro un incremento arriba del rango establecido (64.6-136.4 mg/dl) por Plumb's (2005) sin mostrar diferencia significativa ($P>0.05$) entre niveles de HSA. Estos resultados, en la segunda observación de colesterol, podrían explicarse debido a que las dietas eran de un nivel energético alto que coincidían con una disminución de producción en todos los tratamientos, debido a que las cabras estaban entrando a media lactancia. Por lo tanto el exceso energético se puede traducir en un incremento de colesterol en sangre (Rios *et al.* 2006). También Mena (2004) reporta que los niveles altos de colesterol se pueden estar relacionados con almidones más degradables de las dietas de maiz tipo flake, como el que se suministro en las dietas experimentales, debido a una mayor producción de glucosa por el hígado.

La glucosa (Cuadro. 7) un metabolito indicador de la energía se reporta dentro de los parámetros normales en todos los tratamientos en el segundo muestreo (60 d), sin embargo en el primero los niveles están por debajo del límite inferior. Esto se explica considerando que el total de las cabras en investigación estaban alrededor de 60 días post parto o dentro de un periodo de balance energético negativo característico de los primeros 60 días de lactancia en animales lecheros de alta producción.

Para urea (Cuadro.7) en ambas observaciones los niveles en todos los tratamientos estuvieron arriba del límite superior (12.6-25.8 mg/dl) sugerido por Plumb's *et al.* 2005, sin mostrar diferencia ($P>0.05$) observándose que el primer muestreo (30 días) fue superior en todos los tratamientos al segundo muestreo (60 días); la tendencia fue a una reducción de urea en sangre. Los valores de exceso de urea en sangre es un signo de exceso de proteína en las dietas (Rios *et al.* 2006). También el maíz tipo flake por su nivel de almidón ruminal fermentable pueden afectar los niveles de urea N en plasma (Mena 2004).

Así mismo las proteínas totales (Cuadro.7) en sangre se mostraron en forma similar para el primer muestreo, arriba del rango (6.1-7.1gr/dl) sugerido por (Plumb's *et al.* 2005) siendo superiores al segundo mostrando que los niveles de proteína totales en sangre tendieron a reducirse regresando a un rango normal.

Para metabolitos, a excepción de la creatinina, realizados en esta investigación se puede concluir que los niveles de glucosa, urea, proteínas totales, bilirrubina y colesterol, no fueron afectados por el nivel de gosispol ($P>0.05$) suministrado a través de HSA al 15 y 30% del concentrado. En los casos de la urea, proteínas totales y glucosa cuando las concentraciones no se encontraban dentro de los parámetros normales el efecto se considera que era homogéneo a las tres dietas experimentales.

Comportamiento Animal

El comportamiento animal medido en producción de leche diaria y consumo diario de materia seca corroboran con la mayoría los resultados de los metabolitos en sangre (Cuadro 8), ya que ninguno de estos parámetros fueron diferentes ($P>0.05$) observándose un efecto homogéneo a todos los tratamientos y una producción arriba de 2 litros. Los consumos diarios de materia seca promedio por grupo fueron: T1 (2.73), T2 (2.74), T3 (2.75kg) y la producción de leche promedio fue T1(2.6), T2 (2.32) y T3 (2.24) con ajuste de la grasa (4%) fue: T1 (2.10), T2 (2.28) y T3 (30% 2.28 l) sin mostrar diferencia significativa ($P>0.05$). Para composición de leche, grasa, proteína y lactosa no hubo diferencia significativa.

Cuadro 8. Consumo Nutricional, Producción y Composición de la Leche, Peso Total y Cambio de Peso.

Concepto	Tratamientos					
	0%(HSA)		15%(HSA)		30%(HSA)	
	\bar{X}	EE	\bar{X}	EE	\bar{X}	EE
Consumo Diario de Materia Seca(kg)	2.73	0.017	2.74	0.014	2.75	0.014
Producción de Leche	2.16	0.065	2.32	0.063	2.24	0.074
Producción Láctea Ajustada al 4 % (Its)	2.10	0.18	2.28	0.17	2.28	0.21
Composición de la Leche :						
Grasa (%)	3.87	0.26	3.96	0.29	4.19	0.22
Proteína (%)	4.06	0.14	4.05	0.13	3.96	0.19
Lactosa (%)	4.24	0.15	4.05	0.16	4.24	0.24
Cambio de Peso (kg)	0.72 a	0.51	-0.04	0.51	0.15b	0.51
Peso Total (kg)	51.79	0.89	51.08	0.89	49.72	0-89

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($P<0.05$)

Los resultados de este trabajo en producción de leche no coinciden con Rodríguez *et al.* (2013) que trabajando con HSA suplementada con urea y sin urea comparado con la harina de soya encontrando mayor producción de leche

para la soya (2.05 l/ día). Sin embargo, Min *et al.* (2005) trabajando con 44 cabras alpinas en pastoreo suplementado con un concentrado mezclado de semilla de algodón, soya y maíz a diferentes niveles encontraron un rango de producción de 2.09 a 3.59 l/d. Por su parte, Lu *et al.* (1990) reporta un rango de 2.50 a 2.67 l/d. Para consumo de materia seca los reportados para este trabajo son mayores a Lu *et al.* (1990), Sarwiyono *et al.*, y Rodriguez *et al.* 2013. Un factor, que normalmente se estima constante, es la calidad del forraje pero su variabilidad nutricional puede influir en la producción de leche de cabras y vacas lecheras.

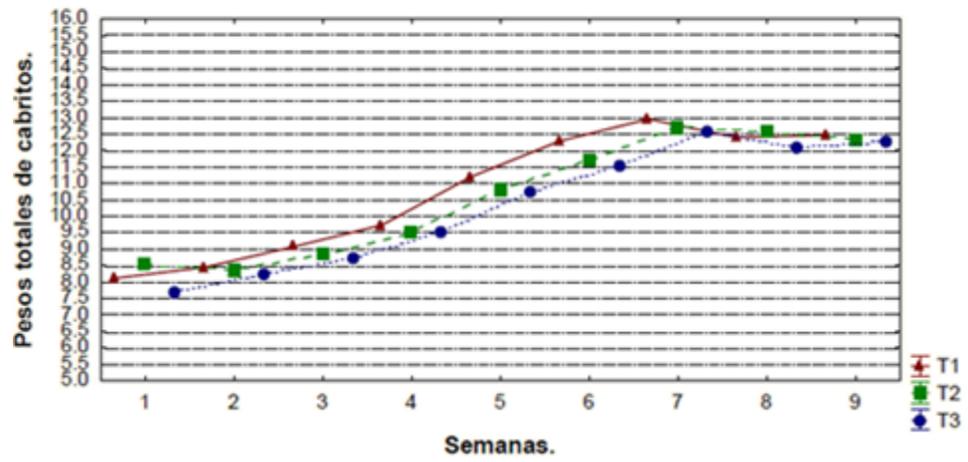
Para pesos totales de las cabras de todos los tratamientos (Cuadro 8.) no hubo diferencia ($P>0.05$), sin embargo para cambios de peso si hubo diferencia ($P<0.05$), donde el grupo testigo obtuvo menos pérdida de peso pero a la vez es el que obtuvo menor producción de leche. Para los cabritos sometidos a las leches extraídas de las dieta experimentales en esta investigación no existió diferencia ($P>0.05$) en aumentos de peso diario y peso total (Cuadro 9). Este crecimiento se considera dentro de los parámetros normales de crecimiento para esta etapa (cuadro 10).

Cuadro 9. Pesos Totales y Aumento de Peso de Crias Alimentadas con Leche Provenientes de los Tratamientos

	0%(HSA)		15%(HSA)		30%(HSA)	
	\bar{X}	EE	\bar{X}	EE	\bar{X}	EE
Aumento de Peso Diario (kg)	0.086	0.007	0.066	0.027	0.085	0.009
Peso Total (kg)	10.74	0.34	10.6	1.16	10.38	0.50

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($P<0.05$)

Figura 6. Pesos Totales de Crias Alimentadas con Leche Provenientes de los Tratamientos



5. CONCLUSIÓN

Para metabolitos, a excepción de la creatinina, realizados en esta investigación se puede concluir que los niveles de glucosa, urea, proteínas totales, bilirrubina y colesterol, no fueron afectados por los niveles de harina de semilla de algodón ($P>0.05$) al 15 y 30% del concentrado y 7.65 y 15.30 % de la ración completa.

Para comportamiento animal no hubo ningún efecto en consumo de materia seca, producción de leche y desarrollo de los cabritos.

6. LITERATURA CITADA

- A.O.C.S. 1985a. Determination of free gossypol. Official Method Ba 7-58. In: Official and Tentative Methods of Analysis, 3rd ed., Amer. Oil Chem. Soc., Chicago.
- A.O.C.S. 1985b. Determination of total gossypol. Official Method Ba 8-78. In: Official and Tentative Methods of Analysis, 3rd ed., Amer. Oil Chem. Soc., Chicago.
- Abou-Donia., M.B.,C.M. Lyman and J.W. Dieckert.1969. Metabolic Fate of Gossypol: The Metabolism of 14 C- Gossypol in Rats.
- Barraza, M.L.,C.E. Coppock, K.N. Brooks, D.L.Wilks, R.G. Saunders, and G.W. Latimer, Jr. 1990. Iron Sulfate and Feed Pelleting to Detoxify Free Gossypol in Cottonseed Diets for Dairy Cattle. Journal of Dairy Science. 74: 3457-3467.
- Basini,G. S. Bussolati, L.Baioni, F.Grasselli. 2009. Gossypol, A Polyphenolic Aldehyde from Cotton Plant, interferes with Swine Granulosa Cell Function. Domestic Animal Endocrinology. 37: 30-36.
- Blanchfield, J.T., D.P.A. Sands., C.H. Kennard, K.A.Byriel and W. Kitching. 2010. High performance Liquid chromatography in phytochemical analysis.
- Blevins, S.R. 2009.Characterizing Compensatory Effects of Silymarin on Gossypol Toxycosis in lines of Chikens Divergently Selected for Humoral Immune Response. Thesis. Master of Science. Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Calhoun, M.C., J.E. Huston, S.W. Kuhlmann, B.C. Baldwin, Jr., B.S. Engdahl and K.W. Bales. 1990a. Comparative toxicity of gossypol acetic acid and free gossypol in cottonseed meal and Pima cottonseed to lambs. Tex. Agric. Exp. Sta. Prog. Rep. 4779.
- Calhoun, M.C., J.E. Huston, B.C. Baldwin, Jr., S.W. Kuhlmann, B.S. Engdahl and K.W. Bales. 1990b. Effects of cottonseed meal source and dietary crude protein on the performance of early-weaned lambs: with observations on gossypol toxicity. Tex. Agric. Exp. Sta. Prog. Rep. 4790.

- Calhoun, M.C. and C.A. Holmberg. 1991. Safe use of cotton by-products as feed ingredients for ruminants. In: L.A. Jones, D.H. Kinard and J.S. Mills. (Ed.) Cattle Research with Gossypol Containing Feeds: A Collection of Papers Addressing.
- Calhoun, M.C., P.J. Wan, S.W. Kuhlmann B.C. Baldwin. 2004. Variation in the nutrient and gossypol content of whole cottonseed and processed cottonseed. Mid-South Ruminant Nutrition Conference.
- Gossypol Effects in Cattle. p 97. National Cottonseed Products Assoc., Memphis, TN.
- Calhoun, M.C. 1995. Assessing the gossypol status of cattle fed cotton feed products. Proc. Pacific Northwest Animal Nutrition Conference. pp. 147A-158A. Portland.
- Calhoun, M.C, R.N. Silva. 2004. Variación en los nutrientes y contenido de gossypol en la semilla de algodón y harinolina. Memorias de Conferencias DIGAL 2004, Delicias, Chihuahua.
- Calhoun, M.C, R.N. Silva. 2004. Harinolina y Semilla de Algodón. Optimizando su uso en raciones de ganado lechero. Memorias de Conferencias DIGAL 2004, Delicias, Chihuahua.
- Chauncey R. Benedict., J.Liu, R.D. Stipanovic. 2006. The peroxidative coupling of hemigossypol to (+) and (-) gossypol in cottonseed extracts. Phytochemistry 67. 356-361.
- Coppock, C.E. Feeding Value, 1989. Use and Abuse of Cottonseed Products in Cattle diets: A 1989 Perspective. A Workshop for Cattlemen, May 5, 1989. Informational Report. NO.89-1. Texas Agricultural Experiment Station.
- Das Chagas, F.D.N., D.A.Frezza Villar. M. Barbosa Bezerra and B. Soto-Blanco.2010.
Journal of Animal and Veterinary Advances 9 (1): 75-78.
- Dinev., T.,D.Zapryanova and L.Lashev. 2007. Changes in some blood biochemical and haematological parameters in goats after aminoglycoside and aminocyclitol treatment in therapeutic doses. Turk. J.Vet. Anim.Sci.: 31(3), 179-188.

- Duong, T.L., N.V. Man, and N.V. Hao. 2000. Cotton seed meal as protein supplements for lactating goats. Workshop- Seminar on making better use of local feed resources. SAREC-UAF.
- Forster, L.A., and M.C. Calhoun. 1995. Nutrients values for cottonseed products deserve a new look. *Feedstuffs*. 67. No.44
- Gray, M.L., L.W. Greene and G.L. Williams. 1993. Effects of Dietary Gossypol Consumption on Metabolic Homeostasis and Reproductive Endocrine Function in Beef Heifers and Cows. *Journal of Animal Science*. 71: 3052-3059.
- Huang, Yw, C.J. R.W. Brueggemeir, Y.C. Lin. 1994. Presence of Antihumor activities in the milk collected from gossypol- treated dairy cows. Disponible en:
<http://ncorreo.terre.com.mx/72.2trr/reademail.php?id=5497%&folder=Spam&print=1&cac>. 15/06/09.
- <http://es.wikipedia.org/wiki/Terpeno> 2013
- Lindsey, T.O. G.E. Hawkins and L.D. Guthrie. 1980. Physiological Responses of Lactating Cows to Gossypol from Cottonseed Meal Rations. *Journal of Dairy Science*. 63: 562-573.
- Lu, C.D., M.J. Potchoiba, T. Sahlu, and J.R. Kawas. 1989. Performance of dairy goats fed soybean meal or meat and bone meal with or without urea during early lactation. *J Dairy Science*: 726-734.
- Mena, H, 1998. Efectos de la Alimentacion de Semilla de Algodón a Vacas lecheras en lactación. Presentada en Guadalajara para National Cottonseed Products Association.
- Mena, H., J.E.P. Santos, J.T. Huber, J.M. Simas, M. Tarazon, M.C. Calhoun. The effect of feeding varying amounts of gossypol from whole cottonseed meal in lactating dairy cows. *J. Dairy Science*: 84: 2231-2239.
- Min, B.R., S.P. Hart., T. Shalu and L.D. Satter. 2005. The effects of diets on milk production and composition, and on lactation curves in pastured dairy goats. *J Dairy Sci*. 88:2604-2615.

- Mohamed, B., A. Donia, C.M. Lyman y J.W. Dieckert. 1970. Metabolic fate of gossypol: the metabolism of ^{14}C -gossypol in rats. *Lipids*: 5 No. 11.
- Muge, S., P. Canturk, S. Zencir, Y. Baran, Z. Topcu. 2013. Gossypol interferes with both Type I and II Topoisomerase activities without generating strand breaks. *Cell Biochemistry Biophysics*: 66: 199-204.
- Nagalakshmi, D., V.R.B. Sastry, A. Pawde. 2003. Rumen fermentation patterns and nutrient digestion in lambs fed cottonseed meal supplemental diets. *Animal Feed Science and Technology*. 103. 1-14.
- NCPA. 2012-2013. Trading Rules. National Cottonseed Products Association, Memphis, TN.
- NCPA. 2004. Statistical Database of the Cottonseed Processing Industry. National Cottonseed Products Association, Memphis, TN.
- Plumb's Veterinary Drug Handbook. 5th Edition. Pp 49-1241. Duncan and Prasse. The Merc Veterinary Manual.
- Rodríguez, A. R., A.N. De Medeiros, J.S. de Oliveira, R.G. Costa, M.G. Costa, R. C. Ramos do Egypto Queiroga, D.L. Souza. 2013. Soybean meal or cotton by products associated with urea as a source of nitrogen in the diet of lactating goats. *R. Bras. Zootec.* Vol.42. No.4 Vicosa
- Sarwiyono, B.K., M.H. McIlroy, R.M. Dixon and J.H.G. Holmes. 1992. Urea-molasses supplements for dairy goats. *AJAS*: Vol.5, No.4, 653-658.
- Solaiman., S.G., N.K. Gurung, Q. McCrary, H. Goyal, W.H. McElhenney. 2009. Weaning Performance and Blood Parameters of Male Goat Kids fed EayFlo cottonseed. *Small Ruminant Research*. 81 (2009) 137- 145.
- Waldroup, P.W. and J.H. Kersey. 2002. Nutrient composition of cottonseed meal. *Feedstuffs* 74(45):11-12