



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD, CALIDAD DE LA CARNE Y
PARÁMETROS HEMÁTICOS EN CORDEROS SUPLEMENTADOS CON TRES
CONCENTRACIONES DE ZINC**

RAYMUNDO LIRA CASAS

T E S I S

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

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

La presente tesis titulada “**Evaluación de la digestibilidad, calidad de la carne y parámetros hemáticos en corderos suplementados con tres concentraciones de zinc**”, realizada por el alumno **Raymundo Lira Casas**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. J. EFRÉN RAMÍREZ BRIBIESCA

ASESOR



DRA. REYNA I. ROJAS MARTÍNEZ

ASESOR



DRA. MA. ELIZABETH TEJERO BARRERA

ASESOR



DR. SERGIO S. GONZÁLEZ MUÑOZ

ASESOR



DR. SERAFÍN CRUZ IZQUIERDO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, mayo 2016.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**-México, por la beca otorgada para realizar los estudios de doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados (COLPOS)** campus Montecillo, por haberme brindado la oportunidad de prepararme profesionalmente.

A todos los profesores investigadores y laboratoristas que me brindaron tiempo y conocimientos.

A mis compañeros de cursos y laboratorio de los que aprendí y conocí a lo largo de mi estancia en el COLPOS.

A todas las personas que me alentaron durante todos estos años.

DEDICATORIA

A la vida y naturaleza por la salud, retos, sabiduría y logros que me pone en cada momento.

A mis padres Irene Casas Rodríguez y Raymundo Lira Ortiz por darme la vida, guiarme y apoyarme siempre.

A mis hermanas por alentarme e impulsarme en todo momento.

Delia Lira Casas

Norma A. Lira Casas

Belén Lira Casas

A mi pequeño sobrino por toda su gracia e inspiración.

Jorge Palomares Lira

A mi abuelo.

Carlos Casas Ávila por los consejos sabios que me diste.

A mi preciosa novia.

Marisol Luna Carrillo por iluminar mi vida con su amor y dedicación.

...más sabia es la que sabe lo que no sabe...

Sócrates

**EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD, CALIDAD DE LA CARNE Y
PARÁMETROS HEMÁTICOS EN CORDEROS SUPLEMENTADOS CON TRES
CONCENTRACIONES DE ZINC**

Raymundo Lira Casas, MC. Colegio de Postgraduados, 2016

RESUMEN

La deficiencia de Zinc (Zn) es un problema de importancia en el crecimiento y la salud de los ovinos (*Ovis aries*). Los requerimientos que recomienda la National Research Council son bajos. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de tres dosis de Zn suplementado: a) 21 mg Zn/Kg de materia seca (MS) proveniente de la dieta solamente, b) Zn80 (dieta + ZnSO₄) y c) Zn400 (dieta + ZnSO₄). Se usaron 12 corderos de raza Katahdin repartidos aleatoriamente en tres grupos, con peso de 29.72 ± 2.16 Kg y edad de 9 ± 1 meses. Se les implementaron cánulas en el rumen y en la parte proximal del duodeno. La MS consumida fue restringida para todos los corderos a 718.62 ± 10.84 g. Durante el desarrollo del experimento, el flujo y la digestión de materia orgánica (MO) a lo largo del tracto digestivo no presentó efectos significativos ($P > 0.05$). El flujo ruminal de fibra detergente neutra (FDN) al duodeno osciló entre 67.58 y 74.12 g/d y la digestión ruminal de FDN varió entre 41.67 y 46.01 %. El flujo y la digestión de FDN en el tracto digestivo no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$). El flujo ruminal de nitrógeno (N) amoniacal al duodeno varió entre 10.87 y 11.78 g/d y no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$). El flujo duodenal del N microbiano que proviene del rumen osciló entre 7.50 y 8.50 g/d y no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$). La eficiencia microbiana de N osciló entre 11.5 y 12 % y tampoco presentó diferencias significativas ($P > 0.05$). La excreción fecal del N no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$). La digestión y el flujo del Zn en rumen, intestino y excreción, también

tuvieron un incremento con las dosis de Zn suplementado (efecto lineal $P < 0.01$). El suplemento de Zn no tuvo diferencias significativas ($P > 0.05$) sobre el pH de heces, líquido ruminal y duodenal. La luminosidad del músculo *psoas major* fue Zn21 = 36.50, Zn80 = 38.14 y Zn400 = 35.35 (efecto cuadrático, $P < 0.01$). El enrojecimiento del músculo *psoas major* fue entre 18.81 a 19.72 y la intensidad del color amarillo fue de 3.63 a 3.82. El pH de los músculos *gracilis* y *psoas major* variaron entre 6.21 y 6.91 y no presentaron efectos significativos ($P > 0.05$) en el pH, luminosidad y dureza. La capacidad de retención de agua del músculo *gracilis* fue Zn21 = 63.68 %, Zn80 = 65.32 % y Zn400 = 83.80 % (efecto lineal, $P < 0.05$). La concentración de Zn en plasma sanguíneo fue Zn21 = 1.97 mg/L, Zn80 = 5.77 mg/L y Zn400 = 13.21 mg/L (efecto lineal, $P < 0.01$). La concentración de Zn en hígado y músculo presentaron incremento con las concentraciones de Zn suplementado (efecto lineal, $P < 0.01$). Los pesos de los testículos fueron Zn21 = 157.80 g, Zn80 = 211.86 g y Zn400 = 201.78 g (efecto cuadrático, $P < 0.05$). Los valores de ácido acético fueron Zn21 = 59.88 %, Zn80 = 56.03 % y Zn400 = 55.10 % (efecto lineal, $P < 0.01$). los valores de ácido propionico fueron Zn21 = 25.85 %, Zn80 = 26.92 % y Zn400 = 32.60 % (efecto lineal, $P < 0.01$). Los valores del ácido butírico fueron Zn21 = 14.27 %, Zn80 = 17.05 % y Zn400 = 12.30% (efecto cuadrático, $P < 0.05$). El consumo de Zn presentó una correlación con el consumo de agua, excreción de orina, flujo duodenal de Cu, excreción de Cu en heces y excreción de Cu en orina ($P < 0.05$). La creatinina en orina varió de 6184.64 a 9838.04 y la creatinina en sangre de 67.82 a 78.14; ambas mediciones no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). Conclusión: La dosis de 80 mg/kg de Zn mejoró la digestibilidad total del mineral y el contenido de Zn en tejido muscular y peso testicular.

Palabras clave: Zinc, digestibilidad, dosis, corderos y calidad de la carne.

**EVALUATION OF THE DIGESTIBILITY, QUALITY OF MEAT AND
HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN SHEEP SUPPLEMENTED WITH THREE
ZINC CONCENTRATIONS**

Raymundo Lira Casas, MC. Colegio de Postgraduados, 2016

ABSTRACT

Zinc deficiency (Zn) is a major problem in the growth and health of sheep (*Ovis aries*). The requirements recommended by the National Research Council are low. The aim of the study was to evaluate the effect of three doses of Zn supplemented: a) 21 mg Zn / kg of dry matter (DM) from diet alone, b) Zn80 (diet + ZnSO₄) and c) Zn400 (diet + ZnSO₄). Twelve male Katahdin breed lambs were used randomly divided into three groups, with weight of 29.72 ± 2.16 kg and age of 9 ± 1 months. Cannulas were implemented in the rumen and in the proximal part of the duodenum. The DM intake was restricted for all lambs to 718.62 ± 10.84 g. During the course of the experiment, the flow and digestion of organic matter (OM) throughout the digestive tract no significant effect ($P > 0.05$). Neutral detergent fiber (NDF) in the ruminal flow to the duodenum ranged between 67.58 and 74.12 g / d and ruminal digestion of NDF varied between 41.67 and 46.01%. The flow and digestion of NDF in the digestive tract showed no significant differences ($P > 0.05$). The ruminal flow of ammonia-nitrogen (N) in duodenum varied between 10.87 and 11.78 g / d and no had significant differences ($P > 0.05$). The duodenal flow of microbial N that comes from the rumen ranged between 7.50 and 8.50 g / d without significant difference ($P > 0.05$). N microbial efficiency ranged from 11.5 to 12% without significant difference ($P > 0.05$). Fecal excretion of N was not significantly different ($P > 0.05$). Digestion and flow of Zn in rumen,

intestine and excretion were also increased with dose supplemented Zn (linear effect $P < 0.01$). Zn supplementation had no significant difference ($P > 0.05$) on fecal pH, ruminal and duodenal liquid. The brightness of the psoas major was Zn21 = 36.50, 38.14 and Zn400 Zn80 = = 35.35 (quadratic effect, $P < 0.01$). Redness of the major psoas muscle was between 18.81 to 19.72 and intensity in yellow was 3.63 to 3.82. The pH of the *gracilis* muscle and psoas major ranged between 6.21 and 6.91 and no significant effect ($P > 0.05$) in pH, brightness and hardness. The water holding capacity of the *gracilis* muscle was Zn21 = 63.68%, 65.32% Zn80 = and = 83.80% Zn400 (linear effect, $P < 0.05$). Zn concentration in blood plasma was Zn21 = 1.97 mg / L, Zn80 = 5.77 mg / L and Zn400 = 13.21 mg / L (linear effect, $P < 0.01$). The concentration of Zn in liver and muscle showed increased concentrations of Zn with supplemented (linear effect, $P < 0.01$). Testis weights were Zn21 = 157.80 g, 211.86 g and Zn80 = Zn400 = 201.78 g (quadratic effect, $P < 0.05$). Acetic acid values were Zn21 = 59.88%, Zn80 = 56.03% and Zn400 = 55.10% (linear effect, $P < 0.01$). propionic acid values were Zn21 = 25.85%, 26.92% and Zn80 = Zn400 = 32.60% (linear effect, $P < 0.01$). Butyric acid values were Zn21 = 14.27%, 17.05% and Zn80 = Zn400 = 12.30% (quadratic effect, $P < 0.05$). Zn consumption showed a correlation with the water intake, urine output, duodenal flow of Cu, Cu excretion in faeces and urine excretion Cu ($P < 0.05$). Urine creatinine ranged from 6184.64 to 9838.04 and blood creatinine 67.82 to 78.14; both measurements were not significantly different ($P > 0.05$). Conclusion: The dose of 80 mg / kg of total digestibility improved Zn ore and the Zn content in muscle tissue and testicular weight.

Keywords: Zinc, digestibility, dose, lambs and meat quality.

Abreviaciones: Zn, zinc; Cu, cobre; Cr, cromo; Se, selenio; MS, materia seca; MO, materia orgánica, PC, proteína cruda; NT, nitrógeno total, FDN, fibra detergente neutra; AGVs, ácidos grasos volátiles; MT, metalotioneinas.

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. HIPÓTESIS	5
4. OBJETIVOS.....	5
4.1. Objetivos generales	5
4.2. Objetivos específicos	5
5. MARCO TEÓRICO	7
5.1. El Zn como elemento químico y su abundancia en el mundo	7
5.2. El Zn en el funcionamiento del organismo animal.....	7
5.3. Zn y las metaloenzimas	8
5.4. Función catalítica	10
5.5. Función estructural.....	10
5.6. Función co-catalítica	11
5.7. El Zn como inhibidor de la motilidad del espermatozoide.....	12
5.8. La función del Zn en el proceso de apoptosis	12
5.9. Acción del Zn a nivel de sistema nervioso.....	12
5.10. Acción del Zn en el sistema inmunológico	13
5.11. Patologías causadas por la deficiencia del Zn	14
5.12. Metalotioneinas y dedos de Zn	14
5.13. La ingeniería genética y el diseño de dedos de Zn	15
5.14. Estudios de Zn en los mexicanos	16

5.15.	Variación de las constantes hematológicas por efecto del Zn.....	17
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
6.1.	Animales.....	19
6.2.	Dieta y alimentación.....	19
6.3.	Muestreos	22
6.3.1.	Muestreos para el balance metabólico	22
6.3.2.	Muestreos complementarios y medición.....	23
6.4.	Análisis del laboratorio.....	24
6.4.1.	Primer procedimiento de las muestras	24
6.4.2.	Hidrólisis de las muestras para calcular Zn, Cu y Cr.	24
6.4.4.	Cuantificación de los ácidos grasos volátiles	25
6.4.5.	Purinas	25
6.4.6.	Fibra detergente neutra.....	26
6.4.7.	Nitrógeno total.....	26
6.4.8.	Nitrógeno amoniacal.....	27
6.5.	Calidad de la carne.....	27
6.5.1.	El pH de la carne.....	27
6.5.2.	Dureza de la carne	27
6.5.3.	Capacidad de retención de agua en la carne	28
6.5.4.	Análisis de colorimetría en la carne	28
6.6.	Análisis hematológico.....	28
6.7.	Cálculos del experimento.....	29
6.8.	Diseño experimental y análisis estadístico	30

7. RESULTADOS.....	32
7.1. Materia orgánica	32
7.2. Fibra detergente neutra	32
7.3. Digestión del nitrógeno	32
7.4. Digestión del Zn.....	33
7.5. Digestibilidad del Cu.....	33
7.6. pH de los fluidos y excreciones.....	36
7.7. Calidad de la carne.....	37
7.8. Concentración de Zn en tejidos	39
7.9. Pesos de riñones y testículos	40
7.10. Ácidos grasos volátiles	40
7.11. Balance hídrico.....	41
7.12. Coeficiente de correlación de Pearson entre consumo de Zn y excreción de Cu..	42
7.13. Estudio hematológico.....	43
8. DISCUSIÓN.....	46
8.1. Materia orgánica	46
8.2. Fibra detergente neutra	46
8.3. Digestión del nitrógeno	47
8.4. Digestibilidad del Zn	47
8.5. pH de los fluidos	49
8.6. Calidad de la carne.....	49
8.7. Concentración de Zn en tejidos	50
8.8. Peso de riñones y testículos.....	51

8.9. Ácidos grasos volátiles	51
8.10. Coeficiente de correlación de Pearson entre el consumo Zn y la excreción de Cu	52
8.11. Estudio hematológico.....	53
9. CONCLUSIONES.....	54
10. LITERATURA CITADA	55

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Ejemplos de metaloenzimas relacionadas al Zn.....	9
Cuadro 2. Constantes hematológicas de corderos.	18
Cuadro 3. Composición de la dieta experimental para los corderos.	21
Cuadro 4. Medias generales del efecto del Zn sobre la digestión en los corderos por tratamiento.	35
Cuadro 5. Medias generales del efecto del Zn sobre el pH de fluidos y excreciones de los corderos por tratamiento.	36
Cuadro 6. Medias del efecto del consumo de Zn sobre la calidad de la carne de los corderos por tratamientos.	38
Cuadro 7. La media de la concentración de Zn por tratamiento en tejidos de los corderos suplementados con Zn.....	39
Cuadro 8. Efecto por tratamientos del consumo de Zn sobre las medias del peso de los riñones y testículos de corderos.	40
Cuadro 9. Efecto del consumo de Zn sobre las medias de las concentraciones de AGVs en rumen, por tratamientos.....	41
Cuadro 10. Efecto por tratamiento del consumo de Zn sobre las medias del consumo de agua, excreción de orina, excreción de Zn y Cu.	42
Cuadro 11. Relación entre los promedios por tratamiento de consumo de Zn, el flujo y excreción del Cu.	43

Cuadro 12. Medias por tratamientos de las variables hematológicas en los corderos tratados con Zn. 44

Cuadro 13. Cuantificación de creatinina en sangre y orín de los corderos tratados con Zn. 45

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ejemplo de la función catalítica del Zn y modelo en la forma en que actúa la anhidrasa carbónica, esquema adaptado de (Vallee y Auld, 1993).....	10
Figura 2. El esquema muestra dos dedos con cuatro pares de unión al ADN de un modo canónico y pone de relieve las limitaciones de ingeniería y consideraciones principales (Isalan, 2012). ..	16

1. INTRODUCCIÓN

La deficiencia de zinc es un problema relevante de salud para los animales, plantas y humanos (Nielsen, 2012). Hace 53 años que se conoce la deficiencia de Zn y se calcula que afecta alrededor de dos billones de personas en países en vías de desarrollo (Prasad, 2012). Las proteínas están estrechamente relacionadas con el Zn y el 69 % de las proteínas consumidas por las personas son de origen animal (Camilleri *et al.*, 2013), esto indica que no se cumplen los requerimientos de Zn, cuando la dieta carece de proteínas o algún suplemento mineral. La deficiencia de Zn afecta el metabolismo enzimático, sistema reproductivo, sistema inmunológico, balance oxido-reducción, sistema neurológico y el crecimiento de los animales destinados al consumo humano (Maret y Kre, 2007). El Zn es uno de los elementos traza o micronutrientes más abundantes en el cuerpo animal, incluyendo al humano (Radford y Lippard, 2013). El metabolismo de los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, son procesados por enzimas (Maret, 2013). El Zn tiene tres funciones principales en las enzimas: catalítica, co-catalítica y estructural (Vallee y Auld, 1993). Se sabe que el Zn tiene un papel de segundo mensajero en células nerviosas (Yamasaki *et al.*, 2007), inhibidor del canal de protones del espermatozoide (Lishko *et al.*, 2010), modulador del sistema inmune (Stenberg y Roth, 2015), actúa en la transcripción, transducción y modificaciones post-traduccionales en proteínas tales como los dedos de Zn (Maret, 2013), además de otras funciones no explicadas, como la formación de complejos con péptidos de actividad protectora y antioxidante durante la digestión (Wang *et al.*, 2015), Factores como la baja concentración de microelementos minerales, alta concentración de fitatos, fósforo y calcio son causa de deficiencia de Zn (Bel-Serrat *et al.*, 2013). Los síntomas que presentan los animales con deficiencia de Zn son raquitismo, caída de pelo, hiperqueratosis, hipogonadismo e insuficiencia del sistema inmunológico (Pechin, 1999; Nielsen, 2012)

Los requerimientos de Zn en la dieta para corderos en crecimiento va de los 20 a 24 mg Zn/kg de MS (NRC, 2007). Este rango de requerimiento se considera bajo, debido a que el Zn tiene funciones metabólicas indispensables para las bacterias del rumen y del propio animal, considerando que la dieta de los rumiantes contiene agentes quelantes y antagonistas de la absorción del Zn. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue analizar la digestibilidad y la concentración del Zn en tejido hemático, muscular, fluidos y excreciones, usando tres concentraciones de Zn en la dieta de los corderos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México y en países en vías de desarrollo prevalece la deficiencia moderada o subclínicas de Zn en humanos (Villalpando *et al.*, 2003). Dietas ricas en fitatos, calcio, fósforo y hierro antagonizan la absorción del Zn, estos compuestos forman quelatos que modifican la biodisponibilidad evitando la absorción del Zn y otros micronutrientes. La población mexicana, principalmente la que habita en zonas rurales, consume cantidades altas de maíz (*Zea mays*) nixtamalizado con altas concentraciones de calcio que interfiere con la absorción de Zn (Rosado, 1998; Villalpando *et al.*, 2003) Hay escasos reportes contundentes de deficiencia de Zn en corderos. Sin embargo, es evidente que el ganado de rumiantes sufre deficiencia de Zn, incluso es más frecuente que en los humanos debido a que consumen alimentos de bajo valor nutricional, alto contenido de calcio, fósforo y fitatos. En general, la deficiencia de Zn afecta la producción pecuaria, las concentraciones de Zn recomendadas en la dieta por la NRC (2007), para corderos son bajas, considerando que la dieta contiene agentes quelantes o que antagonizan la absorción del Zn, No existen reportes contundentes que especifiquen que el Zn se absorbe en rumen o intestino. Aumentar la dosis de Zn en la dieta de los rumiantes aumentaría las concentraciones del mineral en la carne de rumiantes mejorando la biodisponibilidad de Zn en el humano a través del consumo de la carne.

La deficiencia de Zn afecta la expresión de genes, síntesis de proteínas y modificaciones postraduccionales, causando desequilibrio homeostático en el organismo, alteraciones en el ciclo celular y la meiosis (Sun *et al.*, 2007) y es el componente principal de la estructura de los dedos de Zn (Island, 2012). La deficiencia de Zn en animales y humanos causa infertilidad, absorción embrionaria, abortos, muertes de neonatos, lento desarrollo, mal funcionamiento del sistema

inmunológico, etc. (Nielsen, 2012). El Zn está presente en cientos de metaloenzimas indispensables para el metabolismo con funciones catalíticas (anhidrasa carbónica), estructurales (superóxido dismutasa) y co-catalíticas (1-6 difosfatasa) (Pedrosa *et al.*, 1977; Vallee y Falchuk, 1993), Por otro lado, la acción inhibitoria del canal de protones Hv1 en los espermatozoides que causa infertilidad masculina (Lishko *et al.*, 2010).

3. HIPÓTESIS

Los requerimientos de Zn de los corderos son mayores a los que recomienda la NRC (2007), el incremento de la ingestión de Zn mejora los parámetros fisiológicos y favorece la acumulación de este nutrimento en el tejido muscular, mejorando la biodisponibilidad del mineral en la carne destinada al consumo humano.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivos generales

Evaluar los efectos de la suplementación de 25, 80 y 400 mg Zn/Kg de MS en la diata, en el balance metabólico de nutrientes en fluidos digestivos, calidad de la carne y constantes hematológicas de los corderos de la raza Katahdin, durante 6 semanas.

4.2. Objetivos específicos

- 1.- Evaluar el balance metabólico del Zn y el efecto con otros nutrimentos como la MO, FDN, Cu y N, en la fermentación ruminal, digestión post-ruminal y digestión total en los corderos.
- 3.- Determinar la concentración de Zn en plasma sanguíneo, tejido muscular, hepático, renal y testicular de los corderos.
- 4.- Analizar las proporciones de AGVs en el líquido ruminal, 3 horas después de alimentar a los de los corderos.
- 4.- Analizar el efecto de la suplementación de Zn sobre el color, textura, capacidad de retención de agua y contenido de Zn en la carne de cordero.

5.- Analizar el efecto de la suplementación de Zn sobre el peso de los riñones y testículos de los corderos.

6.- Analizar el efecto del suplemento de Zn sobre las constantes hemáticas de los corderos.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. El Zn como elemento químico y su abundancia en el mundo

El Zn con número atómico 30, de peso atómico de 65, 37 g/mol localizado al final de la serie de los elementos de transición, en el grupo IIB, es un catión divalente, sus propiedades químicas dependen de la posesión de la órbita d completa. Debido a eso no participa como aceptor o donante de electrones en procesos de óxido reducción en los sistemas biológicos (Lenntech, 2016; Vallee y Falchuk, 1993). El Zn es el 23^{avo} elemento más abundante en la corteza terrestre y constituye aproximadamente 0.004 % de sustancias en la tierra. El compuesto mineral dominante que lo contiene es la blenda de Zn, también conocido como esfalerita (ZnS), el Zn igual está presente en la calamina (ZnCO₃) encontrada en los sedimentos de carbonato, otros compuestos importantes que lo tienen son la wurtzite, smithsonita y hemimorfita (Lenntech, 2016; Gonçalves, 2001).

Los países principales con zonas mineras de Zn son Canadá, Rusia, Australia, EE. UU. y Perú. La producción mundial supera 7 millones de toneladas por año. Más del 30 % de la necesidad mundial de Zn se cumple mediante el reciclaje (Asociación Latinoamericana de Zinc, 2016). En México en el 2010 se produjeron 570,004 toneladas con un valor de 15,571 millones de pesos (Servicio Geológico Mexicano, 2014).

5.2. El Zn en el funcionamiento del organismo animal

El Zn desempeña una función indispensable tanto en cinética como en termodinámica, es un elemento traza esencial para el organismo animal, juega un papel especial en el funcionamiento de la respuesta inmune, es un elemento estructural de las proteínas, funciona como un neurotransmisor y como un mensajero intracelular, los cambios en su biodisponibilidad temporales o espaciales pueden influir en la actividad de varias enzimas, incluyendo las quinasas,

fosfatasas, etc. (Yu *et al.*, 2011). El Zn está presente en alrededor de trescientas enzimas y varias proteínas de vías de señalización y factores de transcripción en el organismo de los animales (Vallee y Auld, 1993). El Zn tiene efectos sobre el sistema inmunológico y nervioso que dependen de la concentración de Zn en el organismo (Frederickson *et al.*, 2005). En estudios recientes indican que el Zn actúa como un nuevo segundo mensajero intracelular capaz de traducir estímulos extracelulares en eventos de señalización (Yamasaki *et al.*, 2007). Por lo tanto, si la disponibilidad de este elemento es baja, se altera la homeostasis del organismo, ya que múltiples procesos celulares dependen de la presencia del Zn.

5.3. Zn y las metaloenzimas

El panorama del sistema enzimático en el metabolismo animal se muestra en el Cuadro 1, donde el Zn tiene una estrecha relación con metabolismos de los lípidos, carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos, crecimiento (ciclo celular), reproducción (meiosis), síntesis y transporte de vitamina A, control de radicales libres y regulación de la expresión génica modulado por factores de transcripción y nucleasas o dedos de Zn, afectando el sistema reproductor, inmunológico y nervioso (Vaquerizas *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2011; Nielsen, 2012). El Zn con las enzimas cumple tres funciones básicas: catalítica, estructural y co-catalítica (Vallee y Falchuk, 1993).

Cuadro 1. Ejemplos de metaloenzimas relacionadas al Zn.

Enzima	Función
Anhidrasa carbónica	Transporte de CO ₂
Alcohol deshidrogenasa	Oxidación de alcoholes
Retinol deshidrogenasa	Oxidación de retinol (Vitamina A)
Fosfatasa alcalina	Hidrolisis de grupos fosfato
D-gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa	Glucólisis
Fructosa 1-6 difosfatasa	Gluconeogénesis
Málico deshidrogenasa	Ciclo de Krebs (Malato \leftrightarrow oxalacetato)
Láctico deshidrogenasa	Piruvato \leftrightarrow lactato (anaerobiosis)
Alfa manosidasa	Hidrolisis de polímeros de manosa (glicoproteínas)
Glutamato deshidrogenasa	Alfa-ceto glutamato + NH ₄ ⁺ \rightarrow glutamato
Ácido aminolevolimico deshidratasa	Síntesis del grupo hemo
Leucín aminopeptidasa	Degradación de polipéptidos
Dipeptidasa	Degradación de dipéptidos
Colágenasa	Degradación de la matriz extracelular
Carboxipeptidasa A y B pancreática	Digestión de las proteínas
ADN polimerasa	Síntesis de DNA
RNA polimerasa	Síntesis de RNA
Timina quinasa	Síntesis de timidina 5'-fosfato
Ribonucleasa	Degradación de RNA
Cu-Zn superóxido dismutasa	Antioxidantes citosolicos

Adaptado de (Pechin, 1999); (Vallee y Auld, 1993); (Vallee y Falchuk, 1993); (Mccall *et al.*, 2000).

5.4. Función catalítica

Estas enzimas contienen un simple átomo de Zn catalítico que identifica sus ligandos. El Zn forma complejos con tres nitrógenos y oxígeno de la histidina y residuos de glutamato His>>Glu. Cuando los sitios de Zn catalítico incluyen sitios co-catalíticos como en la enzima alcohol deshidrogenasa, entonces los ligandos abarcan aspartato y cisteína. El agua es un ligando adicional del Zn y puede ser activada para ser ionizada, polarizada o desplazada. Los sitios de Zn de la enzima alcohol deshidrogenasa son únicos, incluyendo una sola histidina y dos cisteínas (Cys-46 y Cys-174) (Vallee y Falchuk, 1993). La anhidrasa carbónica cumple con una función catalítica en los eritrocitos, contiene un átomo de Zn que corresponde al 0.33 % y la ausencia de este metal causa la inactivación total de la enzima (Pechin, 1999).

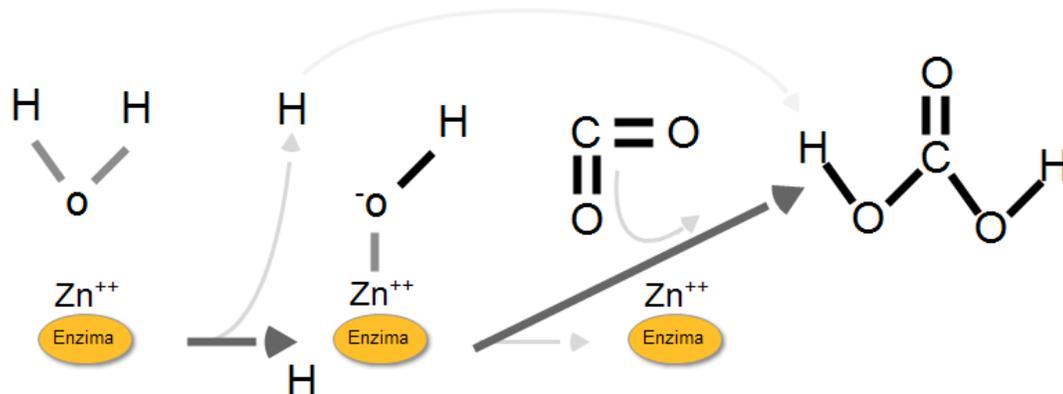


Figura 1. Ejemplo de la función catalítica del Zn y modelo en la forma en que actúa la anhidrasa carbónica, esquema adaptado de (Vallee y Auld, 1993).

5.5. Función estructural

El Zn está colocado en un lugar no esencial para la catálisis, pero actúa de forma estructural en la enzima superóxido dismutasa. En esta función el Zn se une tetraédricamente a los átomos de azufre

de cuatro residuos de cisteína para mantener la estructura cuaternaria de la holoenzima y el rol catalítico está a cargo del Cu (Vallee y Auld, 1993), Los sitios estructurales de Zn son dominios compactos cuya construcción se basa solamente en ligandos de cisteínas organizadas en coordinación tetrahedrica. La enzima aspartato carbamiltransferasa es la única que contiene solo un átomo de Zn localizado en la unidad reguladora. La enzima alcohol deshidrogenasa, además de su átomo catalítico de Zn también tiene un segundo átomo de Zn estructural (Vallee y Auld, 1993).

5.6. Función co-catalítica

Los sitios co-catalíticos de Zn están solo en enzimas multimetal, antes de determinar los sitios de unión del Zn por medio de rayos X, la función de esos átomos metálicos fue denominada “modulación” o “regulatorio”. Todas estas enzimas contienen 2 o más átomos de Zn y otros metales (usualmente magnesio). La estructura fosfatasa alcalina y leucina aminopéptidasa tiene motivos de unión con Zn dando la función “co-catalítica” o “co-activadora” (Vallee y Auld, 1993). La función co-catalítica también está presente en la fructosa 1-6 difosfatasa que es una metaloenzima donde el Zn tiene una función de regulación alostérica sin ser esencial para la actividad catalítica (Pedrosa *et al.*, 1977).

Sitios catalíticos de unión con Zn cuentan con dos o más átomos metálicos, están físicamente cerca uno del otro y son una unidad funcional. Un aminoácido, ya sea aspartato o glutamato, simultáneamente se une a dos átomos del Zn. Así, es característico para las enzimas multi-Zn en el que el aspartato proporciona un puente entre átomos Zn₂ y Zn₃ o entre Zn₂ y un átomo de magnesio (Vallee y Auld, 1993).

5.7. El Zn como inhibidor de la motilidad del espermatozoide

La modificación del pH en el medio evita la activación del canal Hv1 presente en el flagelo de los espermatozoides, en el tracto reproductor masculino este permanece bloqueado por la presencia de Zn en el epidídimo, de manera contraria el flagelo del espermatozoide es muy activo en el tracto reproductor femenino, esto es atribuido al pH y la cantidad de Zn que hay en el medio. Otros cationes divalentes como el Ca bloquean la actividad del canal, pero ninguno lo hace como el Zn, este canal también es bloqueado por la proteína anandamida endocannabinoide que se produce en la superficie del óvulo, sistema nervioso y está presente en la marihuana que es considerada una de las causas de infertilidad masculina (Lishko *et al.*, 2010).

5.8. La función del Zn en el proceso de apoptosis

Por otra parte, el Zn mismo es citotóxico, ya que induce la apoptosis en células T y B (Yanagisawa, 2004). La deficiencia de Zn en ratas (*Rattus norvegicus*) aumenta la proliferación de células del esófago y la incidencia de tumores esofágicos inducida por N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA), la reposición de Zn en el tratamiento con NMBA en ratas, induce la apoptosis de las células epiteliales del esófago reduciendo sustancialmente el desarrollo de cáncer de esófago (Fong *et al.*, 2001).

5.9. Acción del Zn a nivel de sistema nervioso

La deficiencia de Zn también es causa de enfermedades neuronales (Yamasaki *et al.*, 2007). Existe una cantidad importante de Zn dentro de las vesículas sinápticas del subgrupo de neuronas glutamatérgicas en el cerebro, de esta forma puede ser liberado por estímulos eléctricos y sirve para modular la respuesta de los receptores de diferentes neurotransmisores. Estos incluyen tanto

los receptores excitadores e inhibidores, en particular los receptores NMDA y GABA(A). Los cambios en el metabolismo del Zn, que se producen durante el estrés oxidativo puede ser importante en las enfermedades neurológicas, tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y la esclerosis lateral amiotrófica (ALS) (Cuajungco y Lees, 1997). El Zn es un componente estructural de la enzima superóxido dismutasa 1, en el que las mutaciones dan lugar a una forma de ALS familiar (McCords y Fridovich, 1969). El Zn es también un inhibidor muy potente de la sintetasa de óxido nítrico que desempeña un papel fundamental como un agente vasodilatador y su deficiencia se asocia con enfermedades isquémicas del corazón (Cuajungco y Lees, 1997; Pinelli *et al.*, 2001).

5.10. Acción del Zn en el sistema inmunológico

Durante años se sabía que el Zn solo era un componente estructural de muchas enzimas, las actuales evidencias suman una función adicional de la concentración de iones libres de Zn o unido débilmente dando una señal intracelular (Haase y Rink, 2009). La actividad de todas las células inmunitarias se modula por medio del Zn. Es esencial para la transducción de señales que son inducidas por lipopolisacáridos en los monocitos, también para influir en la expresión del interferón gamma (INF- γ) en células-T activadas y en los mastocitos, además el Zn lábil juega un papel en la regulación de la activación de las caspasas y translocación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B). Los experimentos demuestran que la función del sistema inmunológico decrece después de que el Zn se reduce en el organismo, en ratones se ha observado que se reduce la actividad citotóxica de las células natural killer (NK) y la respuesta mediada por anticuerpos. Por lo tanto, se reducen las defensas del huésped en contra de los patógenos y tumores (Yamasaki *et al.*, 2007). Al aumentar la

biodisponibilidad de Zn extracelular facilita la inducción de respuestas proliferativas de células T. El Zn actúa como una molécula iónica de señalización después de la activación de las células T donde aumentan las concentraciones citoplasmáticas de Zn en 1 min después de la activación del receptor de las células T (RCT) (Yu *et al.*, 2011).

5.11. Patologías causadas por la deficiencia del Zn

Acrodermatitis enteropática, paraqueratosis, dermatitis, alopecia, enanismo, retraso del crecimiento, hipogonadismo y compromiso de la función gonadal, retraso en la maduración de los órganos sexuales, reducción del crecimiento de pelo, inflamación de articulaciones, baja tolerancia a la glucosa, disminución de la movilidad de reservas hepáticas de vitamina A, hipogeusia, hiposmia, la susceptibilidad a las infecciones y retraso en la cicatrización, es evidente la disfunción del sistema inmune y trastornos mentales (Wang *et al.*, 2004; Yanagisawa, 2004).

5.12. Metalotioneínas y dedos de Zn

El Zn está relacionado en múltiples procesos celulares, existen proteínas especializadas en el almacenamiento del Zn y corresponden a las metaloenzimas de eflujo (Znt genes: Slc30a) y de absorción (Zip Genes: Slc39A) (Lichten y Cousins, 2009). Actualmente los estudios revelan que el Zn puede ser almacenado y liberado en vesículas intracelulares y pueden funcionar como un nuevo segundo mensajero intracelular (Yamasaki *et al.*, 2007). Por lo tanto, la concentración intracelular de Zn está controlada por los importadores de Zn ZIPs/SLC39s y el exportador de Zn transportadores/SLC30s (Lichten and Cousins, 2009; Liuzzi and Cousins, 2004), que se encuentran en el aparato de Golgi de las células. Las MT tienen la capacidad de unirse a metales pesados tanto fisiológicos como (el Zn, Cu y Se) o como xenobióticos como (cadmio, mercurio,

plata y arsénico) a través del grupo tiol (-SH) de los residuos de cisteína, que representan casi el 30% del resto de sus aminoácidos (Cherian *et al.*, 2003).

5.13. La ingeniería genética y el diseño de dedos de Zn

Actualmente se diseñan nucleasas dedos de Zn (ZFNs), es un nuevo y emocionante campo de la ciencia donde se diseñan proteínas artificiales que se unen al DNA que contienen tres o cuatro ápices o dedos de Zn que se unen al dominio nucleasas FokI, estas nucleasas se pueden usar en cromosomas mutantes para romper la doble cadena del DNA. A pesar del poder de este método del que hay bastantes publicaciones, grupos de investigadores mencionan que es difícil diseñar un dedo de Zn funcional, principalmente hacerlo llegar a su objetivo, sin embargo, es de interés para la ciencia. En la actualidad hay empresas que apoyan el diseño de dedos de Zn, colaborando con academias formando consorcios, ahora las nucleasas son más baratas que los propios reactivos. El consorcio usa herramientas computacionales como ZiFiT5 para ayudar al diseño de los dedos de Zn, aunque esto aún es desafiante para usuarios inexpertos y el diseño de dedos de Zn a la carta aun suelen fallar (Isalan, 2012).

El factor más limitante es que los dedos de Zn actúen sobre un solo objetivo en el DNA, la ingeniería ha desarrollado extensamente los dedos de Zn sobre andamios o secuencias consenso ricas en guaninas (G). Por ejemplo, la Zif268: 5'-GCG(G/T)GGGCG-3'; Sp1: 5'-GGGGCGGGG-3', el bosquejo del diseño de muestra en la Figura 2. Se ha empeñado porque los dedos de Zn actúen sobre otros sitios que no sean ricos en G (Isalan *et al.*, 2009). En primer lugar, las secuencias ricas en G son la preferencia natural de los dedos de Zn, otras regiones en su mayoría no tienen éxito y se debe a la fuerte interacción entre proteínas-DNA que se da entre los residuos

de argininas y las bases de guaninas en el surco mayor. En segundo lugar, el contacto de superposición entre dedos adyacentes tienen una configuración en la que las guaninas son particularmente estables a la primera y la tercera base de cada sitio de reconocimiento del dedo (Isalan *et al.*, 1997).

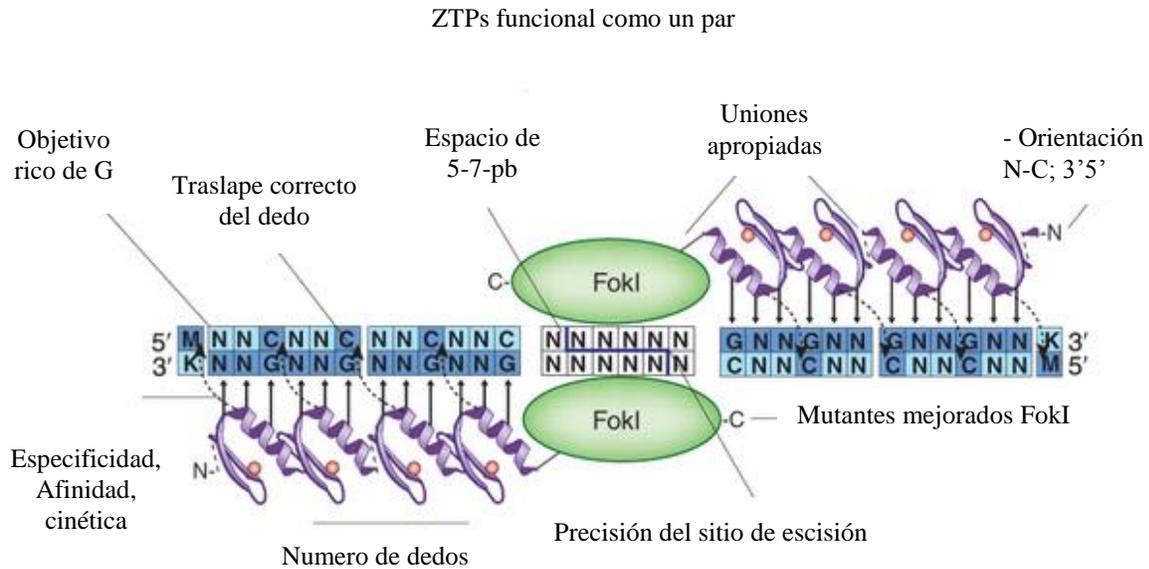


Figura 2. El esquema muestra dos dedos con cuatro pares de unión al ADN de un modo canónico y pone de relieve las limitaciones de ingeniería y consideraciones principales (Isalan, 2012).

5.14. Estudios de Zn en los mexicanos

En México y en países en vías de desarrollo aún prevalece la deficiencia moderada de Zn en las poblaciones urbanas y rurales, debido a un desequilibrio en la dieta diaria que causa deficiencias de micro minerales y sin duda repercute en el desarrollo corporal, reproductivo, inmunológico y cognoscitivo. Existen estudios donde se evalúa el consumo individual mediante una adecuación de cada uno de los nutrientes y resulta que la demanda de Zn no se cumple. Por otra parte, se

evaluaron los niveles de Zn plasmático en ambas poblaciones y como resultado las personas de la población rural absorben menor cantidad de Zn a pesar del mismo consumo que la población urbana (Villalpando *et al.*, 2003).

La baja ingestión de Zn no parece ser el único problema que predispone a la deficiencia. La dieta rural se compone en su mayoría de alimentos de origen vegetal, los cuales contienen potentes inhibidores de la absorción de Zn, tales como el ácido fítico, la fibra dietética y el calcio. El fósforo fítico es abundante en los vegetales y el calcio elevado en la dieta, principalmente la tortilla debido al proceso de nixtamalización del maíz con hidróxido de calcio. (Rosado, 1998).

5.15. Variación de las constantes hematológicas por efecto del Zn

El Zn modula al sistema inmunológico (Stenberg y Roth, 2015). Cuando hay un exceso de Zn puede haber una disminución en la absorción de Fe, disminución de Cu en el organismo y su consecuencia pueden ser anemia y neutropenia (Sutton *et al.*, 2009). Al aumentar la biodisponibilidad de Zn extracelular facilita la inducción de respuestas proliferativas de células T (Yu *et al.*, 2011). En el Cuadro 2 se muestran las constantes hematológicas de los corderos.

Cuadro 2. Constantes hematológicas de corderos.

Característica	Mínimo	Máximo
Hematocrito L/L	0.27	0.47
Eritrocitos X10 ¹² /L	9	15
VGM fL ^c	28	40
Plaquetas X10 ¹² /L	250	750
Solidos totales X10 ¹² /L ^d	60	80
Fibrinógeno g/L ^b	2	5
Relación Pt/Fb g/L ^b	>12	
Leucocitos X10 ⁹ /L	4	12
Neutrófilos X10 ⁹ /L	0.7	6
Linfocitos X10 ⁹ /L	2	9
Monocitos X10 ⁹ /L	0	0.8
Basófilos X10 ⁹ /L	0	3
Eosinófilos X10 ⁹ /L	0	1

Fue adaptado de (Thrall *et al.*, 2012) y (Thrall *et al.*, 2012).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Animales

Se utilizaron 12 corderos de la raza Katahdin con un peso de 29.72 ± 2.16 Kg, edad de 9 ± 1 meses equipados con cánulas, una en rumen y otra en la parte proximal del duodeno. Las cirugías en los corderos se realizaron ocho semanas antes de iniciar el experimento. Los animales fueron adaptados 21 días antes de iniciar el experimento a las jaulas metabólicas 0.62 x 0.80 m, con piso perforado. Las jaulas metabólicas permanecieron dentro de la unidad metabólica en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Los borregos fueron vacunados contra enfermedades clostridiales (Triangle® Bac 8 V, Fort Dodge Animal Health, S. de R.L. de C.V.) y fueron tratados contra parásitos internos y externos (Ivomec-F® Merial Argentina S. A. y Valbazen® 2.5 %, Pfizer, S.A. de C.V.), antes de iniciar el experimento. Los cuidados de los animales durante las cirugías y el experimento se realizaron de acuerdo a las siguientes directrices del Consejo Mexicano sobre Cuidado de los Animales: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio NOM-062-ZOO-1999. Trato humanitario en la movilización de animales NOM-051-ZOO-1995. Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres NOM-033-ZOO-1995, (SENASICA, 2015). Los animales fueron alimentados dos veces al día a las 8:00 y 20:00 h y tomaron agua bidestilada a libre acceso.

6.2. Dieta y alimentación

Las dietas experimentales se muestran en el Cuadro 3, para la elaboración de la dieta se utilizaron los valores tabulados de cada uno de los ingredientes (NRC, 2007). Los corderos de los tres tratamientos fueron alimentados con una dieta general con 11.189 % de PC/kg de MS y 21 mg Zn/kg de MS, a la cual se adaptaron durante 21 días. Los tratamientos fueron Zn21 (con 21 mg

Zn/kg de MS proveniente de la dieta solamente); Zn80 (con 21 mg Zn/kg de MS proveniente de la dieta y el resto fue agregado en 14 **mL** de una solución con 8.11 mg de ZnSO₄ monohidratado/**mL**); Zn400 (21 mg Zn/kg de MS proveniente de la dieta y el resto fue agregado en 14 **mL** de una solución con 52.12 mg ZnSO₄ monohidratado/**mL**. La solución fue suministrada vía cánula ruminal dos veces al día a lo largo del experimento 7 **mL** a las 8:00 h y 7 **mL** a las 20:00 h. La suplementación de ZnSO₄ se realizó ocho días antes del primer muestreo. Para calcular la digestibilidad se utilizó 0.4 % de óxido de Cr en la dieta como marcador de la digestión.

Cuadro 3. Composición de la dieta experimental para los corderos.

Ingrediente (%)	Concentraciones mg Zn/kg de MS		
	21	80	400
Melaza de caña (<i>Sacharum officinarum</i>)	7.13	7.13	7.13
Maíz amarillo	31.59	31.59	31.59
Harina de trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	26.82	26.82	26.82
Aceite de maíz	1.83	1.83	1.83
Urea	1.38	1.38	1.38
Paja de trigo	12.67	12.67	12.67
Pulpa de cítricos (<i>Citrus sinensis</i>)	15.80	15.80	15.80
Sales minerales totales ^b	2.77	2.77	2.77
Sulfato de Zn mg	0.00	113.59	729.65
Composición nutritiva en base MS			
<i>Energía Neta, Mcal/Kg^c</i>			
Mantenimiento	1.82	1.82	1.82
Ganancia	1.21	1.21	1.21
Proteína cruda, (%)	11.19	11.19	11.19
Extracto etéreo, (%)	4.70	4.70	4.70
Fibra detergente neutra, (%)	17.22	17.22	17.22
Calcio, (%)	0.46	0.46	0.46
Fosforo, (%)	0.31	0.31	0.31
Magnesio, (%)	0.10	0.10	0.10
Potasio, (%)	0.28	0.28	0.28
Sodio, (%)	0.04	0.04	0.04
Azufre, (%)	0.25	0.25	0.25

^aOxido de cromo, 0.4 % fue adicionado como marcador de la digestión.

^bMicroelementos contenidos en las sales minerales totales: FeSO₄ heptahidratado 0.0128 %, CuSO₄ pentahidratado 0.053 %, CoCl₂ hexahidratado 0.022 %, MnO₂ 0.055 %, Etilendiaminohidroxiodide (EDDI) 0.003 %, y Na₂SeO₃ monohidratado 0.005 %.

^cBasado en los valores de los ingredientes individuales tabulados (NRC,2007).

6.3. Muestreos

6.3.1. Muestreos para el balance metabólico

En general los muestreos postprandiales fueron cada 2 horas distribuidos en tres días. El esquema de muestreo fue 09:00, 11:00, 01:00, 03:00 05:00 y 07:00 horas. Los grupos de animales Zn21, Zn80 y Zn400 fueron muestreados alternados, uno a la vez y rotados a lo largo de los tres días. Cada animal fue muestreado 6 veces en cada periodo de muestreo, después se formó una muestra compuesta por cada periodo. Al final se obtuvieron 6 muestras compuestas de plasma sanguíneo, orines, alimento, heces, líquido ruminal y duodenal para cada animal, todas las muestras fueron congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta completar el análisis.

Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos con heparina de sodio (BD Vacutainer®), las muestras fueron centrifugadas a 11,000 rpm por 5 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el plasma sanguíneo fue colocado dentro de tubos de 2 mL SafeSeals micro tubos (Sarsted®) para su almacenamiento. Las muestras de orines fueron recolectadas en bolsas plásticas sostenidas a un aro en la base del prepucio, el aro fue fijado por resortes textiles y vertidas en tubos falcón de 50 mL (Labolan®) para su almacenamiento. Las muestras de alimento fueron recolectadas de cada lote semanal en bolsas de plástico para su almacenamiento. Las muestras de heces fueron recolectadas en bolsas de tela sostenidas con resortes textiles y después transferidas a bolsas de plástico para su almacenamiento. Las muestras de líquido ruminal se recolectaron con una bomba de succión manual dentro de tubos falcón de 50 mL (Labolan®) mismos en los que se almacenaron. El líquido duodenal fue recolectado en bolsas de plástico sostenidas a la cánula con ligas y después vertidos en tubos falcón de 50 para su almacenamiento.

6.3.2. Muestras complementarios y medición

El pH fue medido a cada muestra de orines, heces, líquido ruminal y duodenal. Para la medición se colocó 1 gramo de muestra en tubos de 2 mL SafeSeals micro tubos (Sarsted®) a los que se les introdujo el electrodo del potenciómetro pH 1100®. Los muestreos de líquido ruminal para cuantificar los AGVs y los muestreos de alimento fueron realizados en cada uno de los 6 periodos y la masa microbiana solo se obtuvo en el tercer y sexto periodo de muestreos. Para cuantificar los AGVs se tomaron 30 mL de líquido ruminal fresco 3 horas después de alimentar a los animales por la mañana, las muestras fueron filtradas y se mezclaron 4 mL de líquido ruminal clarificado y 1 mL de ácido meta-fosfórico al 25 % (p/v). Se obtuvo 1 kg de muestra de alimento por semana para su posterior análisis. Para obtener la masa microbiana, un litro de líquido ruminal fue diluido en 1 litro de NaCl a 0.16 N, la mezcla fue centrifugada a 2750 rpm por 10 min y el sobrenadante fue recuperado. Nuevamente el líquido sobrenadante fue centrifugado a 13500 rpm por 20 minutos para obtener un pellet que fue secado a 65 °C por 24 horas. Los muestreos para las pruebas hematológicas se realizaron en tubos con ácido etilendiaminotetracético (EDTA). durante las seis semanas seguidas a las 7 de la mañana en ayunas. Antes de iniciar el experimento a los animales se les retiró el pelo de la región cervical lateroventral media, para hacer más visible la vena yugular y en cada muestreo la piel fue desinfectada antes y después de cada extracción de sangre.

6.4. Análisis del laboratorio

6.4.1. Primer procedimiento de las muestras

Las muestras de hígado, riñón, músculos (*psaos major* y *gracilis*), alimento, heces, masa microbiana y líquido duodenal fueron descongeladas toda la noche a temperatura ambiente. Para determinar la MS parcial, todas estas muestras fueron colocadas en contenedores de plástico individuales dentro de una estufa a 60 °C por 3 días, las muestras fueron pesadas antes y después de secarlas. Después de determinar la MS parcial las muestras se molieron y tamizaron con una criba de 1 mm de espesor en un molino (Christy y Norris Ltd., Chelmsford, England®). La MS total fue determinada para calcular el porcentaje de MO en hígado, riñones, músculos, alimento, heces, masa microbiana y fluido duodenal. Para determinar la MO se colocó 0.1 g de muestra en un crisol dentro de una estufa a 95 °C por 12 horas y los residuos se pesaron. Los crisoles con los residuos de MS de las muestras de alimento, heces y fluido duodenal se utilizaron también para determinar cenizas, y para ello se colocaron en una mufla a 600 °C durante 12 horas y por último los restos de las muestras fueron pesadas después de incinerarlas para realizar los cálculos. Las muestras de líquido ruminal fueron centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos para obtener el sobrenadante.

6.4.2. Hidrólisis de las muestras para calcular Zn, Cu y Cr

Las muestras fueron hidrolizadas para medir las concentraciones de Zn, Cu, y Cr. El Zn y Cu fueron medidos en plasma sanguíneo, orines, alimento, heces, masa microbiana, sobrenadante de líquido ruminal y líquido duodenal. El Cr fue medido en heces y líquido duodenal. Para hidrolizar 0.5 g de plasma sanguíneo, orina y fluido sobrenadante de líquido ruminal se utilizaron 10 mL de

agua desionizada 3 mL de ácido nítrico (HN_3) y 1 mL de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) a 120 °C por 3 horas. Para realizar la hidrólisis del alimento, heces, líquido duodenal y masa microbiana las muestras fueron incineradas a 600 °C en la mufla por 12 h y los residuos fueron hidrolizados con 10 mL de agua desionizada, 4 mL de HN_3 a 120 °C por 8 horas.

6.4.3. Cuantificación de Zn Cu y Cr

La cuantificación de Zn, Cu y Cr se realizó por medio de absorción atómica con el equipo Varian SpectrAA 220®. Para el Zn se hizo una curva en un rango de 0 hasta 2 mg/L en una matriz de H_2O y se leyó a una longitud de onda de 214 nm. Para el Cu se hizo una curva en un rango de 0 hasta 5 mg/L en una matriz de H_2O y se leyó a una longitud de onda de 325 nm y para la lectura del Cr se hizo una curva en un rango de 0 hasta 10 mg/L en una matriz de H_2O y se leyó a una longitud de onda 358 nm.

6.4.4. Cuantificación de los ácidos grasos volátiles

La mezcla de sobrenadante de líquido ruminal y el ácido metafosfórico al 25 % (p/v) fue centrifugado a 13000 rpm por 15 min y el sobrenadante se colocó en los viales del cromatógrafo de gases. Se usó el cromatógrafo HP 6890®, este tiene una columna capilar 19091F-433. Se preparó el estándar con 62.50 Mm de ácido acético, 18.75 Mm de ácido propionico y 12.50 de ácido butírico.

6.4.5. Purinas

Las purinas se cuantificaron en el líquido duodenal para estimar la síntesis de proteína microbiana en rumen. Los nucleótidos y las muestras se hidrolizaron con ácido perclórico (HClO_4).

Procediendo con la precipitación de purinas libres con nitrato de plata, el ácido con las purinas solubilizadas 1:20 fue cuantificado por espectrofotometría a 269 nm y la proteína microbiana fue estimada por proporción de purinas y N cuantificado en la masa microbiana (Zinni y Owens, 1986).

6.4.6. Fibra detergente neutra

Para medir la FDN se utilizaron bolsas filtro, solución para determinar FDN y alfa amilasa termoestable, sulfato de sodio anhidro y el analizador de fibra AMKON²⁰⁰⁰®. se colocaron 0.5 g de muestras dentro de las bolsas filtro, se deshidrataron a 95 °C, cada una de las corridas se realizaron con 11 muestras y 1 bolsa filtro blanco, suspendidas en 2000 mL de solución para determinar FDN y las condiciones fueron 100 °C, 20 libras de presión, durante 75 min. Las muestras se lavaron 3 veces a 80 °C por 5 min. Después, las muestras fueron escurridas del exceso de agua, lavadas en acetona y por ultimo secadas a peso constante a 95 °C para calcular el porcentaje de fibra degradada.

6.4.7. Nitrógeno total

El NT fue determinado en 0.5 g de muestra por medio del método Microkjeldahl. Las muestras fueron hidrolizadas con 3 mL de H₂SO₄, después el producto de hidrólisis fue destilado con 100 mL de hidróxido de sodio al 40 %. El amonio fue conducido por 300 mL de vapor a 50 mL de una solución de ácido bórico al 4 % con solución indicadora de (verde de bromocresol y rojo de metilo) para titular se consideró que 1 mL de ácido clorhídrico al 0.1 N neutraliza 0.014 g de N en forma de amoniaco.

6.4.8. Nitrógeno amoniacal

El nitrógeno amoniacal fue determinado en 2 g de líquido duodenal por medio de la técnica Macrokjeldahl. La muestra fue mezclada con 1.25g de MgO, 1 mL de CaCl₂ y 75 mL de agua destilada, después de mezclarla fue puesta en ebullición y el amonio fue acarreado por 600 mL de vapor a un matraz con 100 mL de solución al 2.9 % de H₃BO₃, con una solución indicadora (verde de bromocresol y rojo de metilo) y para titular se consideró que 1 mL de ácido clorhídrico al 0.1 N neutraliza 0.014 g de N como amoniaco.

6.5. Calidad de la carne

6.5.1. El pH de la carne

Los pHs de la carne fueron medidos 4 horas después de matar a los corderos con un potenciómetro pH 1100®, en los músculos *gracilis* y *psoas major*, y se realizaron tres mediciones por cada muestra.

6.5.2. Dureza de la carne

La dureza de la carne del músculo *gracilis* fue medida dos días después de matar a los corderos. Para esta técnica se utilizó el texturómetro TA-XT2, Texture Technologies® y una navaja Warner-Bratzler®. Las muestras de carne fueron cortadas en tiras con un espesor de 1 cm de alto y de ancho con una velocidad de corte de 5.0 mm/s.

6.5.3. Capacidad de retención de agua en la carne

La capacidad de retención de agua fue determinada en 2 g de músculo *gracilis* finamente picado mezclado con 5 mL de una solución de NaCl 0.6 M dentro de tubos Falcon®. Las muestras fueron mezcladas con el vortex por 1 min, la mezcla se dejó reposar por 30 min a 4 °C, y después se centrifugo por 15 minutos a 10,000 rpm y el sobrenadante fue medido con una probeta. El análisis se realizó por triplicado y la cantidad de agua retenida fue calculada y reportada para 100 g de carne.

6.5.4. Análisis de colorimetría en la carne

La luminosidad de la carne, rojez y amarillez fue medida con un cromómetro portable Cr-410 Konica Minolta®, el cromómetro fue calibrado con un mosaico de referencia $L^* = 94.70$, $a^* = 0.31$, $b^* = 0.32$ y las mediciones se realizaron por triplicado sobre la superficie del músculo desprovisto de grasa y tejido conjuntivo fibroso.

6.6. Análisis hematológico

Para la medición del microhematocrito se utilizaron tubos de 75×1.5 mm, después de llenar por capilaridad se centrifugaron a 11,000 rpm por 5 min, después se confrontó con la tabla lectora para obtener el valor en unidades L/L. El conteo de glóbulos rojos se realizó de manera manual con una cámara de Neubauer, para preparar la muestra se colocaron 0.05 mL de sangre en una pipeta de dilución para glóbulos rojos con 1.05 mL de solución Harem (0.5 g cloruro de mercurio, 1.0 g cloruro de sodio, 5.0 g sulfato de sodio, y agua destilada 200 mL), se contaron los glóbulos rojos y se expresó en unidades X^{10}/L . Para calcular el volumen corpuscular medio (VGM) se empleó la Formula 3. Para hacer el conteo de plaquetas se usó la cámara de Neubauer, las muestras se

prepararon usando una pipeta de dilución para glóbulos rojos con sangre fresca y solución de oxalato de amonio al 1 %, obteniendo una dilución 1:100 y los resultados se expresaron en $\times 10^{12}/L$. Para la medición de sólidos totales se utilizó plasma sanguíneo y un refractómetro Golberg®, los valores fueron expresados en $\times 10^{12}/L$. Para calcular el fibrinógeno fue basado en el método de Clauss, donde se empleó una solución a base de trombina o reactivo A y el calibrador o reactivo B a base de imidazol 0.05 M a pH 7.3, fue indispensable el tiempo de coagulación y la curva de calibración para estimar la concentración de fibrinógeno expresado en g/L. En cuanto a la relación plaquetas-fibrinógeno solamente se dividen y las unidades se expresan en g/L. Para el conteo de leucocitos totales se utilizó la cámara de Neubauer, con una pipeta para fórmula blanca se agregaron 0.5 mL de sangre fresca y se le agregaron 1.05 mL de la solución de Turk (3 mL ácido acético glacial, 1 mL violeta de genciana al 1 %, agua destilada c.b.p. 100 mL), después se procedió a realizar el conteo en el microscopio de contraste de fases, con la ayuda de un contador manual y los resultados fueron expresados en $\times 10^9 / L$. Para realizar el conteo relativo de cada tipo de células (neutrófilos, linfocitos, monocitos basófilos y eosinófilos) se realizó un frotis fijado con metanol y teñidos con Wright en el que se contaron 100 células, después se hicieron los cálculos absolutos mediante el conteo de linfocitos en la cámara de Neubauer y los resultados fueron expresados en $\times 10^9 / L$.

6.7. Cálculos del experimento

Como marcador de la digestión se utilizó el CrO_6 y la digestión aparente fue calculada por medio de las fórmulas de Maynard y Loosli (1969).

$$\text{Digestión aparente de materia seca (\%)} = 100X[1 - \frac{(\%)\text{marcador en la dieta}}{(\%)\text{marcador en las heces}}]$$

(1)

$$\text{Digestión aparente de nutrientes en la dieta (\%)} = 100 \times \left[1 - \left(\frac{(\%)\text{marcador en la dieta}}{(\%)\text{marcador en las heces}} \right) \times \left(\frac{\text{concentración de nutriente en las heces}}{\text{concentración de nutriente en la dieta}} \right) \right] \quad (2)$$

Para calcular el valor hematológico del volumen corpuscular medio se utilizó la siguiente fórmula.

$$\text{VCM fL} = \frac{\text{Hematocrito L/L}}{\text{Recuento de eritrocitos } \times 10^{12}/\text{L}} \times 1000 \quad (3)$$

6.8. Diseño experimental y análisis estadístico

Los análisis se realizaron con un diseño completamente al azar y un diseño estadístico mixto con mediciones repetidas en el tiempo, procedimiento MIXED (SAS, 2003). El modelo estadístico para el experimento fue el siguiente: $Y_{ijk} = \mu + \lambda x_{ij} \alpha_j + d_{ij} + \tau_k + (\alpha\tau)_{ik} + e_{ijk}$, Donde Y_{ijk} es la variable respuesta, k es el tiempo, J los sujetos, i el grupo. μ es una constante común de todas las observaciones, λ es un coeficiente fijo en la covariable $x_{ij} = \text{Tratamiento por animal } j \text{ en el grupo } i$ (concentración de Zn), α_j es un parámetro correspondiente al grupo i (concentración de Zn), τ_k es el parámetro correspondiente al tiempo k , y $(\alpha\tau)_{ik}$ es la interacción correspondiente a la concentración de Zn i y tiempo k ; d_{ij} es una variable aleatoria distribuida normalmente con media cero y varianza σ_d^2 que corresponde al animal j y el grupo i (concentración de Zn) y e_{ijk} es una variable de distribución normal con media cero y varianza σ_e^2 independiente de d_{ij} que corresponde al animal j en el grupo concentración de Zn i en el tiempo k , para analizar las covariables se utilizó el método autoregresivo, orden 1 (AR (1)) donde las covariables fueron las mediciones del mismo individuo en diferentes tiempos (Littell *et al.*, 2000). Los efectos experimentales fueron analizados por efectos lineales o cuadráticos con polinomios ortogonales (SAS, 2003). Con este diseño estadístico fueron analizados las muestras de pH, FDN, AGVs, el balance metabólico y las variables hematológicas.

Se utilizó un segundo diseño experimental completamente al azar, donde los datos fueron sometidos a un análisis de varianza con el procedimiento GLM. El modelo estadístico fue el siguiente: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$, donde Y_{ij} es la variable respuesta correspondiente al i -ésimo tratamiento en la j -ésima repetición, μ es la media general, τ_i efecto i -ésimo tratamientos, ε_{ij} error experimental del tratamiento i en la repetición j , teniendo en cuenta que $\varepsilon_{ij} = \sim NID(0, \sigma^2)$. Los efectos experimentales fueron analizados por efectos lineales o cuadráticos con polinomios ortogonales (SAS, 2003). Ese diseño estadístico fue utilizado para analizar la calidad de la carne, peso de algunos órganos y concentraciones de Zn en tejidos.

7. RESULTADOS

La MS consumida fue restringida para los borregos a 718.62 ± 10.84 g, a lo largo del experimento. Los animales no tuvieron problemas de salud. El balance metabólico de MO, FDN, N, Zn y Cu se muestran en el Cuadro 4.

7.1. Materia orgánica

El flujo ruminal de MO al duodeno varió de 256.55 a 268.17 g/d y la digestión de MO en el rumen osciló entre 60.27 y 61.87 %. La digestión post-ruminal de MO osciló entre 48.47 y 51.15 %. La MO excretada en heces varió de 118.24 a 124.03 g/d. La digestión de MO de todo el tracto digestivo osciló entre 80.96 y 82.17 %. El flujo y la digestión de MO a lo largo del tracto digestivo no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$).

7.2. Fibra detergente neutra

El flujo ruminal de FDN al duodeno osciló entre 67.58 y 74.12 g/d. La digestión ruminal de FDN varió entre 41.67 y 46.01 %. La digestión post-ruminal de FDN osciló entre 12.86 y 18.82 %. La excreción fecal de FDN varió entre 57.79 y 59.91 g/d. La digestión de FDN a lo largo de todo el tracto digestivo osciló entre 52.34 y 53.86 %. El flujo y la digestión de FDN a lo largo de todo el tracto digestivo no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$).

7.3. Digestión del nitrógeno

El flujo ruminal de N amoniacal al duodeno, el flujo duodenal del N microbiano que proviene del rumen, la eficiencia microbiana de N. La eficiencia post-ruminal del N y la excreción fecal del N no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). El flujo ruminal de N amoniacal al duodeno

varió entre 10.87 y 11.78 g/d. El flujo duodenal del N microbiano que proviene del rumen osciló entre 7.50 a 8.50 g/d. La eficiencia microbiana de N osciló entre 11.5 y 12.24 %. La eficiencia post-ruminal del N varió de 0.84 a 0.91 %. Excreción fecal del N osciló de 2.91 a 3.27 g/d. El flujo ruminal de nitrógeno alimenticio al duodeno fue Zn21 = 4.04 g/d, Zn80 = 3.36 g/d, Zn400 = 3.50 g/d (efecto cuadrático, $P < 0.01$). La digestión post-ruminal del N que provenía del abomaso fue Zn21 = 71.37 %, Zn80 = 73.01 %, Zn400 = 71.37 % (efecto cuadrático, $P < 0.05$). La digestión total de N a lo largo de todo el tracto digestivo Zn21 = 73.97%, Zn80 = 77.29%, Zn400 = 77.45% (efecto cuadrático, $P < 0.04$).

7.4. Digestión del Zn

El flujo ruminal de Zn al duodeno fue Zn21 = 0.03 g/d, Zn80 = 0.06 g/d y Zn400 = 0.26 g/d (efecto lineal, $P < 0.01$). La digestión ruminal de Zn fue Zn21 = -72.35 %, Zn80 = -3.48 % y Zn400 = 6.59 % (efecto lineal, $P < 0.01$). La digestión post-ruminal del Zn fue Zn21 = 51.49 %, Zn80 = 44.98 %, Zn400 = 22.14 % (efecto lineal, $P < 0.01$). La excreción fecal de Zn fue Zn21 = 0.01 g/d, Zn80 = 0.30 g/d, Zn400 = 0.20 g/d. (efecto lineal, $P < 0.01$). La digestión de Zn a lo largo de todo el tracto digestivo fue Zn21 = 21.41 %, Zn80 = 47.30 %, Zn400 = 27.15 % (efecto cuadrático, $P < 0.01$). El Zn iónico en el líquido ruminal clarificado fue Zn21 = 5.56 %, Zn80 = 7.54 %, Zn400 = 16.55 % (efecto lineal, $P < 0.05$).

7.5. Digestibilidad del Cu

El flujo ruminal del Cu al duodeno fue Zn21 = 0.005 g/d, Zn80 = 0.008 g/d, Zn400 = 0.009 g/d (efecto lineal, $P = 0.001$). La digestión ruminal del Cu fue Zn21 = 35.55 %, Zn80 = 12.58 % y Zn400 = 3.72 % (efecto lineal, $P = 0.003$). La digestión post-ruminal del Cu fue Zn21 = 27.71 %, Zn80 = 12.58 %, Zn400 = 3.72 % (efecto lineal, $P = 0.003$).

Zn80 = 49.71 %, Zn400 = 46.15 % (efecto lineal, $P < 0.10$). La excreción fecal del Cu fue Zn21 = 0.002 g/d, Zn80 = 0.003 g/d, Zn400 = 0.004 g/d. (efecto lineal, $P < 0.01$). La digestión de Cu a lo largo de todo el tracto digestivo fue Zn21 = 63.65 %, Zn80 = 62.04 %, Zn400 = 54.50 % (efecto cuadrático, $P < 0.01$).

Cuadro 4. Medias generales del efecto del Zn sobre la digestión en los corderos por tratamiento.

Características	Tratamientos mg/kg Zn.			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
Peso de borregos, Kg	30.77	29.31	30.37	0.52		
No. animales	4	4	4			
Consumo por componente g/d						
MS	708.26	717.68	729.89	8.67		
MO	655.55	664.07	675.36	8.02		
MI	52.91	53.62	54.53	0.65		
FDN	123.36	125	127.12	1.51		
N	12.68	12.84	13.06	0.15		
Zn	0.015	0.054	0.278	0.0002		
Cu	0.008	0.008	0.01	0.001		
Flujo al duodeno, g/d						
MO	256.55	253.49	268.17	7.98	0.33	0.39
FDN	70.36	67.58	74.12	5.81	0.29	0.14
N no amoniacal	11.53	10.87	11.78	0.36	0.63	0.11
N microbiano	7.5	8.51	8.25	0.31	0.11	0.12
N alimenticio	4.04	3.36	3.5	0.23	0.13	<0.01
Zn	0.03	0.06	0.26	0.005	<0.01	<0.01
Cu	0.005	0.008	0.009	0.0004	<0.01	0.34
Digestión ruminal, (%) del consumo						
MO	60.64	61.87	60.27	1.13	0.83	0.33
FDN	42.59	46.01	41.67	1.89	0.73	0.12
Zn	-72.35	-3.48	6.59	5.7	<0.01	<0.01
Cu	35.55	12.58	3.72	5.71	<0.01	0.34
Eficiencia microbiana N	11.5	12.8	12.24	0.49	0.31	0.15
Eficiencia del N	0.91	0.84	0.9	0.03	0.73	0.09
Digestión post-ruminal, (%) que proviene del abomaso						
MO	51.15	48.47	49.60	2.08	0.61	0.47
FDN	18.81	12.86	18.82	4.03	0.93	0.27
N	71.37	73.01	71.37	1.17	0.83	0.04
Zn	51.49	44.98	22.14	3.12	<0.01	0.06
Cu	27.71	49.71	46.15	7.16	0.10	0.17
Excreción fecal, g/d						
MO	124.03	118.24	118.55	4.24	0.39	0.57
FDN	56.61	58.08	60.45	2.21	0.25	0.87
N	3.27	2.91	2.94	0.19	0.07	0.21
Zn	0.01	0.30	0.20	0.005	<0.01	<0.01
Cu	0.002	0.003	0.004	0.0001	<0.01	0.22
Digestión total del tracto, (%) del consumo						
MO	80.96	82.17	82.41	0.73	0.19	0.59
FDN	53.86	53.49	52.34	1.99	0.60	0.87
N	73.97	77.29	77.45	1.02	0.04	0.23
Zn	21.41	47.30	27.15	2.62	0.15	<0.01
Cu	63.65	62.04	54.50	1.19	0.01	0.24

^aBasado en contrastes ortogonales por tratamiento.

7.6. pH de los fluidos y excreciones

La suplementación de Zn no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) sobre el pH de heces, líquido ruminal y duodenal. El pH promedio en heces fluctuó entre 7.39 y 7.56, en líquido ruminal de 6.06 a 6.23 y en líquido duodenal de 2.28 a 2.40. Los valores del pH en orines fueron Zn21 = 5.76 %, Zn80 = 5.78 % y Zn400 = 5.68 % (efecto lineal, $P < 0.05$). Los valores se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Medias generales del efecto del Zn sobre el pH de fluidos y excreciones de los corderos por tratamiento.

Características	Tratamientos mg/kg Zn			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
Líquido ruminal	6.26	6.07	6.13	0.07	0.21	0.16
Líquido duodenal	2.40	2.26	2.30	0.10	0.50	0.48
Heces	7.59	7.69	7.57	0.08	0.91	0.31
Orines	5.76	5.78	5.68	0.05	0.19	0.04

^aBasado en contrastes ortogonales por tratamiento.

7.7. Calidad de la carne

Los estudios de calidad de la carne fueron realizados en los músculos *psoas major* y *gracilis*. El pH y la reflectancia fue analizada en los dos músculos, pero la capacidad de retención de agua y dureza solo se analizaron en el músculo *gracilis*. Los datos de calidad de la carne se muestran en el Cuadro 6.

Músculo *psoas major* no presentó efectos significativos ($P > 0.05$) en los valores del pH, enrojecimiento y amarillamiento. El pH del músculo *psoas major* varió entre 6.21 y 6.91, el enrojecimiento entre 18.81 y 19.72 y el amarillamiento de 3.63 a 3.82. La luminosidad del músculo *psoas major* fue $Zn_{21} = 36.50$, $Zn_{80} = 38.14$ y $Zn_{400} = 35.35$ (Efecto cuadrático, $P < 0.01$).

El músculo *gracilis* no tuvo efectos significativos ($P > 0.05$) en el pH, luminosidad, enrojecimiento amarillamiento y dureza de la carne. El pH del músculo *gracilis* varió entre 6.21 y 6.30, la luminosidad de 28.48 a 39.27 El enrojecimiento del músculo *gracilis* varió de 19.93 a 21.97. El amarillamiento del musculo *gracilis* osciló de 2.62 a 3.96. y la dureza de la carne varió de entre 2145.4 a 2362.8 kg. Capacidad de retención de agua del musculo *gracilis* fue $Zn_{21} = 63.68 \%$, $Zn_{80} = 65.32 \%$ y $Zn_{400} = 83.80 \%$ (efecto lineal, $P < 0.05$).

Cuadro 6. Medias del efecto del consumo de Zn sobre la calidad de la carne de los corderos por tratamientos.

Características	Tratamientos mg/kg Zn			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
<i>Músculo Psoas major</i>						
pH	6.21	5.91	5.90	0.12	0.11	0.37
Color reflectancia						
Luminosidad	36.507	38.14	35.35	0.49	0.11	<0.01
Enrojecimiento	19.72	19.46	18.81	0.48	0.19	0.74
Amarillamiento	3.62	3.73	3.82	0.50	0.78	0.99
<i>Músculo gracilis</i>						
pH	6.30	6.22	6.21	0.11	0.64	0.75
Color reflectancia						
Luminosidad	39.27	38.94	38.48	0.70	0.43	0.95
Enrojecimiento	21.97	21.47	19.93	0.72	0.06	0.56
Amarillamiento	3.96	3.62	2.62	0.50	0.07	0.59
CRA ^b	63.68	65.32	83.80	6.06	0.03	0.27
Dureza (Fuerza media kg)	2.36	2.21	2.14	0.09	0.25	0.22

^aBasado en contrastes ortogonales por tratamiento.

^bCapacidad de retención de agua.

7.8. Concentración de Zn en tejidos

La concentración de Zn en los tejidos se muestra en el Cuadro 7. La concentración de Zn en riñones y testículos no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). La concentración de Zn en riñones varió de 134.85 a 174.89 mg/kg. La concentración de Zn en testículos osciló de 116.80 a 130.359 mg/kg. La concentración de Zn en plasma sanguíneo fue Zn21 = 1.97 mg/L, Zn80 = 5.77 mg/L y Zn400 = 13.21 mg/L (efecto lineal, $P < 0.01$). La concentración de Zn en hígado fue Zn21 = 151.67 mg/kg, Zn80 = 152.97 mg/kg y Zn400 = 292.11 mg/kg (efecto lineal, $P < 0.01$). La concentración de Zn en músculo fue Zn21 = 180.18 mg/kg, Zn80 = 219.64 mg/kg y Zn400 = 242.59 mg/kg (efecto lineal, $P < 0.01$).

Cuadro 7. La media de la concentración de Zn por tratamiento en tejidos de los corderos suplementados con Zn.

Características	Tratamientos mg/kg Zn.			EEM	<i>P value</i> ^a	
	25	80	400		Lineal	Cuadrático
Plasma sanguíneo, mg/L	1.97	5.77	13.21	0.82	<0.01	0.04
Riñón mg/kg	134.85	149.38	174.89	14.17	0.08	0.75
Hígado mg/kg	151.67	152.97	292.11	20.85	<0.01	0.02
Testículo mg/kg	116.80	127.58	130.359	4.47	0.06	0.48
Músculo mg/kg	180.18	219.64	242.59	14.07	0.01	0.64

^aBasado en contrastes ortogonales por tratamiento.

7.9. Pesos de riñones y testículos

Los pesos de riñones y testículos se muestran en el Cuadro 8. La suplementación de Zn no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) en el peso de los riñones y los valores variaron entre 44.35 y 44.85 g. Los pesos de los testículos fueron Zn21 = 157.80 g, Zn80 = 211.86 g y Zn400 = 201.78 g (efecto cuadrático, $P < 0.05$).

Cuadro 8. Efecto por tratamientos del consumo de Zn sobre las medias del peso de los riñones y testículos de corderos.

Características	Tratamientos mg/kg Zn			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
P. riñones g	44.85	44.45	45.35	2.93	0.91	0.86
P. testículos g	157.80	211.86	201.78	13.32	0.08	0.04

^aBasado en contrastes ortogonales por tratamiento.

7.10. Ácidos grasos volátiles

Los valores de los AGVs se muestran en el Cuadro 9. Los porcentajes de ácido acético fueron Zn21 = 59.88 %, Zn80 = 56.03 % y Zn400 = 55.10 % (efecto lineal, $P < 0.01$). los valores de ácido propionico fueron Zn21 = 25.85 %, Zn80 = 26.92 % y Zn400 = 32.60 % (efecto lineal, $P < 0.01$). Los valores del ácido butírico fueron Zn21 = 14.27 %, Zn80 = 17.05 % y Zn400 = 12.30% (efecto cuadrático, $P < 0.05$).

Cuadro 9. Efecto del consumo de Zn sobre las medias de las concentraciones de AGVs en rumen, por tratamientos.

Características	Tratamientos mg/kg Zn.			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
Acético (%)	59.88	56.03	55.10	0.99	<0.01	0.25
Propionico (%)	25.85	26.92	32.60	2.25	0.01	0.26
Butírico (%)	14.27	17.05	12.30	1.58	0.24	0.02

^a Basado en contrastes ortogonales por tratamiento.

7.11. Balance hídrico

Los valores del consumo de agua, volumen de orina, excreción de Zn y Cu se muestran en el Cuadro 10. El consumo de agua fue Zn21 = 1941.50 mL/d, Zn80 = 2324.38 mL/d y Zn400 = 2359.81 mL/d (efecto lineal, $P < 0.05$). La excreción de orina fue Zn21 = 614.66 mL/d, Zn80 = 918.50 mL/d y Zn400 = 1146.89 mL/d (efecto lineal, $P < 0.01$). La excreción de Zn en orina fue Zn21 = 3.27 mL/d, Zn80 = 4.64 mL/d y Zn400 = 4.82 mL/d (efecto lineal, $P < 0.05$). La excreción de Cu en orina fue Zn21 = 1.98 mL/d, Zn80 = 3.16 mL/d y Zn400 = 4.42 mL/d (efecto lineal, $P < 0.01$).

Cuadro 10. Efecto por tratamiento del consumo de Zn sobre las medias del consumo de agua, excreción de orina, excreción de Zn y Cu.

Características	Tratamientos mg/kg Zn			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
Excreción de orina mL/d	614.66	918.50	1146.89	108.82	<0.01	<0.01
Consumo de agua mL/d ^b	1941.50	2324.38	2359.81	119.38	0.05	0.15
Excreción de Zn mg/d	3.27	4.64	4.82	0.44	0.03	0.30
Excreción de Cu mg/d	1.98	3.16	4.42	0.38	<0.01	0.94

^aBasado en contrastes ortogonales por tratamiento (n = 4 por tratamiento).

7.12. Coeficiente de correlación de Pearson entre consumo de Zn y excreción de Cu.

Los coeficientes de correlación de Pearson entre diferentes variables relacionadas con la excreción de Cu se muestran en el Cuadro 11. El consumo de Zn tiene una correlación con el consumo de agua, excreción de orina, flujo duodenal de Cu, excreción de Cu en heces y excreción de Cu en orina ($P < 0.05$). El promedio de consumo de agua 2209 ± 445.34 mL, excreción de orina 0.89 ± 0.45 mL, flujo duodenal de Cu 7.25 ± 3.87 g/d, excreción de heces de Cu 3.49 ± 0.09 g/d, excreción urinaria de Cu 3.20 ± 1.36 g/d.

Cuadro 11. Relación entre los promedios por tratamiento de consumo de Zn, el flujo y excreción del Cu.

Características	Media	DEM	<i>P value</i> ^a
Consumo de agua mL/d	2209.00	445.34	0.04
Excreción de orina mL/d	893.35	347.49	<0.01
Flujo duodenal de Cu mg/d	7.25	3.87	<0.01
Excreción de Cu en heces mg/d	3.49	0.09	<0.01
Excreción urinaria de Cu mg/d	3.20	1.36	<0.01

^a Significancia del coeficiente de correlación de Pearson.

7.13. Estudio hematológico

Las variables hemáticas se muestran en el Cuadro 12. El hematocrito osciló de 0.28 a 0.30 L/L, el conteo de eritrocitos de 9.24 a 9.52 X10¹²/L, plaquetas de 718.08 a 808.25 X10¹²/L, sólidos totales de 64.40 a 69.67 X10¹²/L, leucocitos de 7.21 a 7.63 X10⁹/L, neutrófilos de 2.86 a 4.09 X10⁹/L, linfocitos de 2,95 a 3.73 X10⁹/L, monocitos de 0.32 a 0.49 X10⁹/L, basófilos de 0.03 a 0.5 X10⁹/L, eosinófilos de 0.10 a 0.15 X10⁹/L. Las variables anteriores no presentaron diferencias significativas por efecto del consumo de Zn. Los valores del VGM fueron Zn21 = 32.88, Zn80 = 32.42, Zn400 = 29.61 fL presentaron diferencias significativas (efecto lineal, P < 0.10). Los valores del fibrinógeno fueron Zn21 = 6.31, Zn80 = 4.85, Zn400 = 6.11 g/L^b (efecto cuadrático, P < 0.03). Los valores de la relación entre Pt/Fb fueron Zn21 = 9.98, Zn80 = 13.37 Zn400 = 11.21 (efecto cuadrático, P < 0.07).

Cuadro 12. Medias por tratamientos de las variables hematológicas en los corderos tratados con Zn.

Características	Tratamientos mg Zn/kg			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
Hematocrito L/L	0.29	0.30	0.28	0.01	0.53	0.43
Eritrocitos X10 ¹² /L	9,24	9.52	9.51	0.62	0.77	0.86
VGM fL ^b	32.88	32.42	29.61	1.27	0.10	0.47
Plaquetas X10 ¹² /L	772.42	718.08	808.25	67.41	0.71	0.41
Sólidos totales X10 ¹² /L	69.67	64.40	66.78	1.50	0.25	0.08
Fibrinógeno g/L	6.31	4.85	6.11	0.41	0.73	0.03
Relación Pt/Fb g/L ^c	9.98	13.37	11.21	1.09	0.44	0.07
Leucocitos X10 ⁹ /L	7.63	7.21	7.39	0.79	0.81	0.75
Neutrófilos X10 ⁹ /L	4.09	2.86	3.38	0.57	0.41	0.24
Linfocitos X10 ⁹ /L	2,95	3.73	3.44	0.52	0.51	0.42
Monocitos X10 ⁹ /L	0.41	0.49	0.32	0.18	0.75	0.60
Basófilos X10 ⁹ /L	0.03	0.05	0.05	0.21	0.47	0.69
Eosinófilos X10 ⁹ /L	0.11	0.10	0.15	0.02	0.25	0.15

^a Basado en contrastes ortogonales por tratamiento (n = 4 por tratamiento).

^b Volumen globular medio.

^c Relación plaquetas/fibrinógeno.

La creatinina en orina varió de 6184.64 a 9838.04 $\mu\text{mol/L}$ y la creatinina en sangre de 67.82 a 78.14 $\mu\text{mol/L}$, ambas mediciones no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. Los valores se muestran en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Cuantificación de creatinina en sangre y orín de los corderos tratados con Zn.

Características	Tratamientos mg Zn/kg			EEM	<i>P value</i> ^a	
	21	80	400		Lineal	Cuadrático
Creatinina orina $\mu\text{mol/L}$	7902.68	6184.64	9838.04	2792.75	0.63	0.45
Creatinina sangre $\mu\text{mol/L}$	74.32	67.82	78.14	5.27	0.62	0.22

^a Basado en contrastes ortogonales por tratamiento (n = 4 por tratamiento).

8. DISCUSIÓN

8.1. Materia orgánica

La digestibilidad de la MO depende de la composición de la dieta. Por ejemplo, los forrajes tienen una menor degradación en comparación con los cereales. En esta investigación los animales consumieron una dieta con el 92 % de MO, 70 % de cereales, el promedio de la digestión de MO ruminal fue de 61 %, la digestión total de MO fue 82 %. Mallaki *et al.* (2015) con 20 mg de Zn/kg MS y con una dieta del 65 % de cereal obtuvieron una digestibilidad total de 69 % de MO en corderos. Garg *et al.* (2008) con 20 mg Zn /kg de MS y con una dieta del 60 % de cereal obtuvieron una digestión total de 64 % de MO en corderos. Zinn *et al.* (1997) con una dieta del 85 % de cereal obtuvieron una digestión ruminal de 61 % de MO y una digestión total de 83 % de MO en bovinos (*Bos indicus*). En este trabajo el flujo duodenal, la digestión ruminal y la excreción fecal de MO no fueron diferentes.

8.2. Fibra detergente neutra

En la dieta de los rumiantes siempre está presente la FDN y su degradación depende del tipo de ingredientes, bacterias, condiciones y sustratos en el rumen (Wang *et al.*, 2012). En este experimento se utilizó una dieta 70 % de cereales, y debido a estas condiciones la cantidad de la población de bacterias celulolíticas decrece cuando hay altas concentraciones de Zn en el rumen (Eryavuz y Dehority, 2009). En esta investigación los animales consumieron una dieta con el 17 % de FDN, el promedio de la digestión ruminal de FDN fue de 43 %, la digestión total de FDN fue 53 %. Mallaki *et al.* (2015) reportaron una digestión total de 43 % de FDN cuando los corderos consumieron 20 mg Zn/kg MS. En este trabajo el flujo duodenal, digestión ruminal y excreción fecal de la FDN es igual en los tres tratamientos.

8.3. Digestión del nitrógeno

El Zn es abundante en cereales con alta concentración de PC, por esta razón la dieta basal fue elaborada con cereales y forrajes con bajo contenido de Zn y a la vez bajo en proteína. Las heces tienen nitrógeno relacionado con la fracción C de proteína (Sniffen *et al.*, 1992), proteína bacteriana y descamación celular (Tamminga, 1992) y como consecuencia el NT de la dieta en este experimento solo fue degradado en un 76 %. El N amoniacal, N microbiano y la eficiencia de N son iguales en los tres tratamientos. El N alimentario que fluye al duodeno, la digestión post-ruminal y la digestión total del N fueron afectados por los tratamientos con 80 y 400 mg Zn/kg MS. La deficiencia afecta la digestibilidad del nitrógeno y la suplementación de Zn tuvo efecto en la digestión total del N y es probable que se deba al mejor funcionamiento enzimático que metaboliza el nitrógeno como tal o a las propias proteínas (Maret, 2013).

8.4. Digestibilidad del Zn

El flujo del Zn incrementó con 80 y 400 mg Zn/kg de MS, sin embargo, la proporción de Zn digerido a nivel ruminal fue mayor cuando el animal consumió 400 mg Zn/kg de MS. Los tratamientos con 21 y 80 mg Zn/kg de MS presentaron una digestión negativa, pero la digestión post-ruminal para los mismos tratamientos fue mayor en comparación al tratamiento de 400 mg Zn/kg de MS; la posible causa del porcentaje de digestibilidad negativo de Zn es que el páncreas y los enterocitos del duodeno contribuyen al incremento en la concentración del Zn en el fluido duodenal (Geiser *et al.*, 2013). La homeostasis del Zn en animales aun no es clara, Sin embargo, diferentes proteínas llamadas MT como la ZnT3 tiene la función de transportar del lumen intersticial al interior de la célula (afluencia) y ZnT4 que tiene la función de transportar Zn del

interior de la célula al lumen intersticial (flujo de salida) (Lichten y Cousins, 2009). También la ZIP5, es otra MT relacionadas con la homeostasis del Zn en la membrana bilateral de los enterocitos del intestino y células acinares del páncreas (Geiser *et al.*, 2013).

La digestión fecal en este experimento varió desde un 21 a 47%. En otras investigaciones la digestión aparente en corderos ha variado de 15 a 36 % (Spears, 1988), de 60 a 70 % (NRC, 2007), en cabras de 18 a 24 % (Jia *et al.*, 2009). La excreción fecal varió de 72 a 79 % cuando los corderos consumieron 21 y 400 mg Zn/kg de MS, pero con 80 mg Zn/kg de MS, la digestibilidad incrementa a 47 %. Cuando los corderos consumieron 21 mg Zn/kg de MS, la digestión total de Zn fue 21.41 % y la posible explicación de la baja digestión de Zn, es que el Zn tiene una estrecha relación con las fracciones proteínicas C, descamación celular y proteína bacteriana del ciego, colon y recto. Además, el Zn y otros elementos traza son quelados por fitatos, calcio y fósforo (Bel-Serrat *et al.*, 2013). La excreción fecal del calcio y fósforo representan alrededor del 85 % (NRC, 2007), de esta manera, con altas concentraciones de calcio, fósforo y fitatos, en humanos se reporta que se pierde entre el 48 y 94 % del Zn (Bel-Serrat *et al.*, 2013). Cuando los corderos consumieron 400 mg Zn/kg de MS el porcentaje de digestibilidad ruminal fue menor debido al exceso. El consumo recomendado de Zn para corderos en engorda es entre 20 y 24 mg Zn/kg de MS (NRC, 2007). Sin embargo, los animales sometidos a un tratamiento de 80 mg Zn/kg de MS presentaron una mejor digestibilidad del Zn en base a estos resultados. Por otra parte, se deben considerar diversos factores para asegurar la adecuada absorción del Zn y otros micronutrientes.

8.5. pH de los fluidos

Los microorganismos son sensibles al pH y de este depende su sobrevivencia, además es un buen indicador de los metabolitos que se están produciendo (Wang *et al.*, 2012), el Zn no modificó el pH de los fluidos digestivos, sin embargo, si afectó el pH de la orina. Cuando los animales consumieron 80 y 400 mg Zn/kg de MS, el pH de la orina fue alrededor de 5.7, además los borregos consumieron más agua y excretaron más orina cuando consumieron 400 mg Zn/kg de MS. El pH del ZnSO₄ monohidratado que podría afectar oscila entre 4 y 6.6 (en una solución de 5 g/L, en H₂O a 20 °C). En este experimento el pH varió entre 6.07 y 6.13, esto nos indica que los animales muestreados no sufrieron de acidosis durante el experimento. El pH de la acidosis subaguda oscila entre 5.4 y 5.6, la acidosis aguda menos de 5 (Hernández *et al.*, 2014). El ácido propionico y butírico incremento en corderos que consumieron 80 mg Zn/kg de MS. Estos resultados, confirman que el uso de Zn en la dieta tiene un efecto similar a los ionoforos (Ellis *et al.*, 2012).

8.6. Calidad de la carne

El pH promedio del músculo *psoas major* y *gracilis* fue de 6.2, Karabacak *et al.* (2015) reportaron un pH de 5.56. El pH en la carne fue medido cuatro horas después de haber muerto los corderos, el pH es variable y se considera que decrece desde 7.1 hasta 5.6 alrededor de las 24 h y depende de la maduración de la carne (Boles y Pegg, 1999). Para los corderos que fueron alimentados con 80 mg Zn/Kg de MS, la luminosidad del músculo *psoas major* incrementó hasta 38% en comparación a los tratamientos de 21 y 400 mg Zn/kg de MS. Con el uso de Zn aumentó la capacidad de retención de agua en el músculo *gracilis*. Esto significa que la carne de corderos alimentados con dietas con al menos con 80 mg Zn/kg de MS, la carne es más jugosa y brillante.

Estas dos características que son afectadas por la suplementación de Zn, son virtudes en la aceptabilidad de la carne (Cheng and Sun, 2008).

8.7. Concentración de Zn en tejidos

En general los datos presentaron una tendencia lineal, donde a mayor consumo de Zn, causa mayor concentración de Zn en tejidos y plasma. La concentración de Zn en plasma sanguíneo varió de 1.97 a 13 mg/L. Vilela *et al.* (2012) reportaron 10.3 mg Zn/L en plasma cuando los corderos consumieron 600 mg ZnO/kg de MS. Grace (1972) reportó casos de deficiencia severa en borregas con 0.53 a 0.89 mg Zn/L en plasma sanguíneo. En este experimento las concentraciones de Zn en riñones se mantuvieron en un rango de 135 hasta 175 mg/kg, Rojas *et al.* (1995) reportaron que con el uso de diferentes fuentes de Zn como el ZnO, ZnSO₄, ZnMet y ZnLis obtuvieron concentraciones de Zn en riñón entre 127 y 581 mg/kg Las concentraciones de Zn en hígado oscilaron entre 152 y 292 mg/kg; Rojas *et al.* (1995) obtuvieron en hígado concentraciones de 127 a 389 mg Zn/kg con un consumo de 360 mg Zn/kg de MS. Las concentraciones de Zn en testículo se mantuvieron de entre 116.8 hasta 130 mg/kg y aunque el tratamiento de 400 mg Zn/kg de MS fue el que tuvo una mayor concentración de Zn en testículo, los corderos que tuvieron mayor peso testicular fueron los del tratamiento de 80 mg Zn/kg de MS. Los resultados indican que la deficiencia de Zn causa hipogonadismo (Prasad, 2013), y no es muy claro, pero el exceso de Zn también causa reducción del tamaño testicular. La concentración de Zn en músculo incrementó de 180 hasta 242 mg/kg con el consumo de Zn, aunque la mayor concentración de Zn fue para el tratamiento 400 mg Zn/kg de MS, el músculo de los corderos que consumieron 80 mg Zn/kg de MS contuvieron 219.64 mg/kg de Zn, Rojas *et al.* (1995) obtuvieron en promedio 207 mg de Zn/Kg cuando los corderos consumieron 360 mg Zn/kg de MS. Es importante tener mayores

concentraciones de Zn en músculo ya que esto mejora la biodisponibilidad de este mineral para el consumidor final que es el humano y también es probable que aumente la vida de anaquel de la carne.

8.8. Peso de riñones y testículos

El Zn en la dieta modifica el tamaño de los testículos y la producción de testosterona (Liu et al., 2015) que a la vez aumenta la producción de hormonas como la IFG1 para estimular el crecimiento de los animales (Yoshizawa and Clemmons, 2016). La concentración de Zn en los testículos fue mayor en los corderos que consumieron 400 mg Zn /kg de MS, pero los corderos con testículos de mayor peso fueron los que consumieron 80 mg Zn/kg de MS. Los animales con deficiencia incluyendo a los humanos presentan hipogonadismo (Prasad, 2013; Omu *et al.*, 2015). Aunque, en este experimento nos muestra que la concentración alta de Zn en la dieta podría causar también reducción en el peso de los testículos. Los pesos de los riñones de los corderos fueron iguales y tuvieron en promedio 44 g.

8.9. Ácidos grasos volátiles

Los AGVs contribuyen en un 70 % del total de la energía metabolizable en rumiantes (Li *et al.*, 2012). La producción de AGVs es afectada por los componentes de la dieta, la población de microorganismos y sus vías metabólicas. Por ejemplo, cuando la composición de la dieta que consumen los animales es alta en almidón el ácido acético disminuye y el ácido propionico incrementa (Wang *et al.*, 2012). El porcentaje de ácido acético decreció cuando los corderos consumieron 80 y 400 mg Zn/kg de MS, el ácido acético es metabolizado por las bacterias que usan celulosa, almidón, lactato y pectina (Wang *et al.*, 2012). Resultados de Eryavuz y Dehority (2009) mencionan que la población de bacterias celulolíticas decrece cuando hay altas

concentraciones de Zn en el rumen. El porcentaje de ácido propionico incrementó entre 6.95 y 8.43 %, cuando los corderos consumieron 80 y 400 mg Zn/kg, resultados similares fueron obtenidos por Arelovich *et al.* (2000), cuando usaron 250 mg Zn/kg de Zn en la dieta el ácido propionico incrementó, de manera similar como cuando se utilizan ionoforos, como la monensina que inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas y de la misma manera hubo un incremento del ácido propionico (Ellis *et al.*, 2012). El porcentaje de ácido butírico incrementó cuando los corderos consumieron 80 mg Zn/kg de MS, el ácido butírico es metabolizado por bacterias que usan celulosa, almidón, lactato y xileno. Cuando el ácido propionico y butírico incrementan la producción de ácido acético decrece y podría haber una disminución en la producción de metano (Wolin, 1960).

8.10. Coeficiente de correlación de Pearson entre el consumo Zn y la excreción de Cu

El zinc antagoniza la absorción de Cu (Ao et al., 2007). El exceso de Zn puede disminuir el Cu y el hierro en el organismo causando anemia y neutropenia (Sutton *et al.*, 2009), sin embargo en este trabajo solo se pudo identificar el aumento en la excreción del Cu. El consumo de Zn tiene correlación entre diferentes variables relacionadas con la excreción del Cu, estos valores se muestran en el Cuadro 11. Mientras el cordero consume más Zn, el consumo de agua, volumen de orina, flujo duodenal de Cu, excreción fecal de Cu y excreción de Cu en orina aumentaron. Los datos obtenidos confirman que el uso de Zn estimula la pérdida de Cu. La acumulación del Zn en el cuerpo es una característica común de la enfermedad de Wilson y Parkinson, una de las alternativas es antagonizar y estimular la pérdida de Cu por medio del mayor consumo de Zn (Hoogenraad, 2011).

8.11. Estudio hematológico

Las variables de hematocrito, eritrocitos, VGM, plaquetas, sólidos totales, leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos, eosinófilos se encontraron dentro de los rangos normales en corderos (Thrall *et al.*, 2012; Weiss y Wardrop, 2010) y no fueron afectadas por los tratamientos de Zn. Los valores del fibrinógeno variaron entre 5 y 6 g/L, se presentó un efecto cuadrático ($P < 0.05$) en el tratamiento 80 mg Zn/kg de MS y permaneció dentro de los valores normales (Thrall *et al.*, 2012), en comparación a los tratamientos 21 y 400 mg Zn/kg de MS. Los valores de la relación entre Pt/Fb son iguales entre tratamientos. Los corderos del tratamiento 80 mg Zn/kg de MS con 13 g/L estuvieron dentro del rango normal, pero los valores de los otros dos tratamientos permanecieron ligeramente por debajo de lo normal. El exceso o déficit de Zn no causó algún tipo de anemia, neutropenia (Sutton *et al.*, 2009). Alteraciones en la cantidad de células T u otros linfocitos (Yu *et al.*, 2011).

9. CONCLUSIONES

La dosis de 80 mg Zn/kg de MS en la dieta, mejoró la digestibilidad total del Zn, hubo mayor absorción del mineral en la región intestinal. El contenido de Zn en tejido muscular y testicular incrementó. Con las dosis de 80 y 400 mg Zn/kg de MS en la dieta, mejoraron la disponibilidad de Zn en carne e incrementó el peso testicular en comparación al tratamiento con 21 mg Zn/kg de MS en la dieta. El ZnSO₄ resultó una fuente apropiada que mejora la disponibilidad de Zn para los corderos. Con 80 mg Zn/kg de MS en la dieta, el ácido acético disminuyó, el ácido propionico y butírico incrementaron. Es probable que el Zn funcionó como biocida para algunos microorganismos del rumen, con una probable disminución en la producción de gas metano. Con 80 mg Zn/kg de MS en la dieta, el brillo y jugosidad de la carne aumentaron. El Zn en exceso antagonizó y promuevió la eliminación del Cu.

10. LITERATURA CITADA

- Ao, T., Pierce, J.L., Power, R., Pescatore, A.J., Cantor, A.H., Dawson, K.A., Ford, M.J., 2007. Effects of feeding different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks. *Poult. Sci.* 88, 2171–2175. doi:10.3382/ps.2009-00117
- Arelovich, H.M., Owens, F.N., Horn, G.W., Vizcarra, J.A., 2000. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation , forage intake , and digestion by cattle fed prairie hay and urea. *J. Anim. Sci.* 78, 2972–2979.
- Asociación Latinoamericana de Zinc, 2016. Reciclaje del Zinc [WWW Document]. URL <http://www.latiza.com/pagina.php?pag=12&prin=2>
- Bel-Serrat, S., Stammers, A.-L., Warthon-Medina, M., Moran, V.H., Iglesia-Altaba, I., Hermoso, M., Moreno, L.A., Lowe, N.M., 2013. Factors that affect zinc bioavailability and losses in adult and elderly populations. *Nutr. Rev.* 72, 334–352. doi:10.1111/nure.12105
- Boles, J.A., Pegg, R., 1999. Meat Color. University of Saskatchewan Dept. Appl. Microbiol. Food Sci. Tech. Bull. Saskatoon. SK.
- Camilleri, M., Verger, E.O., Carpentier, F., 2013. Plant and Animal Protein Intakes Are Differently Associated with Nutrient Adequacy of the Diet of French Adults. *J. Nutr.* 143, 1466–1473. doi:10.3945/jn.113.177113.requirements
- Cheng, Q., Sun, D., 2008. Factors Affecting the Water Holding Capacity of Red Meat Products : A Review of Recent Research Advances. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 48, 37–41. doi:10.1080/10408390601177647
- Cherian, M.G., Jayasurya, A., Bay, B., 2003. Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. *Mutat. Res.* 533, 201–209. doi:10.1016/j.mrfmmm.2003.07.013
- Cuajungco, M.P., Lees, G.J., 1997. Zinc Metabolism in the Brain: Relevance to Human

- Neurodegenerative Disorders. *Neurobiol. Dis.* 4, 137–169. doi:10.1006/nbdi.1997.0163
- Ellis, J.L., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E., Hook, S.E., Archibeque, S., France, J., 2012. Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. *J. Anim. Sci.* 90, 2717–2726. doi:10.2527/jas2011-3966
- Eryavuz, A., Dehority, B.A., 2009. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 151, 175–183. doi:10.1016/j.anifeedsci.2009.01.008
- Fong, L.Y.Y., Nguyen, V.T., Farber, J.L., 2001. Esophageal Cancer Prevention in Zinc-Deficient Rats : *J. Natl. Cancer Inst.* 93, 11–13.
- Frederickson, C.J., Koh, J., Bush, A.I., 2005. The neurobiology of zinc in health and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 449–462. doi:10.1038/nrn1671
- Garg, A.K., Mudgal, V., Dass, R.S., 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth , nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 144, 82–96. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.10.003
- Geiser, J., Lisle, R.C. De, Andrews, G.K., 2013. The Zinc Transporter Zip5 (Slc39a5) Regulates Intestinal Zinc Excretion and Protects the Pancreas against Zinc Toxicity. *PLoS One* 8, 1–11. doi:10.1371/journal.pone.0082149
- Gonçalves, de J.C.A., 2001. Zinco, Balanço Mineral Brasileiro.
- Grace, N.D., 1972. New Zealand journal of observations on plasma zinc levels in sheep grazing New Zealand pastures. *New J. Agric. Res. Agric. Res.* 12, 37–41. doi:10.1080/00288233.1972.10421256
- Haase, H., Rink, L., 2009. Functional Significance of Zinc-Related Signaling Pathways in Immune Cells. *Annu. Rev. Nutr.* 29, 133–152. doi:10.1146/annurev-nutr-080508-141119

- Hernández, J., Benedito, J.L., Abuelo, A., Castillo, C., 2014. Ruminant Acidosis in Feedlot : From Aetiology to Prevention. *Sci. World J.* 2014, 1–8.
- Hoogenraad, T.U., 2011. Paradigm Shift in Treatment of Alzheimer ' s Disease : Zinc Therapy Now a Conscientious Choice for Care of Individual Patients. *Int. J. Alzheimers. Dis.* 2011, 1–6. doi:10.4061/2011/492686
- Isalan, M., 2012. Zinc-finger nucleases : how to play two good hands. *Nat. Methods* 9, 32–34. doi:10.1038/nmeth.1805
- Isalan, M., Choo, Y., Klug, A., 1997. Synergy between adjacent zinc fingers in sequence-specific DNA recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 5617–5621.
- Isalan, M., Klug, A., Choo, Y., 2009. Europe PMC Funders Group Europe PMC Funders Author Manuscripts A rapid , generally applicable method to engineer zinc fingers illustrated by targeting the HIV-1 promoter. *Nat. Biotechnol.* 19, 7–16. doi:10.1038/90264.A
- Jia, W., Zhu, X., Zhang, W., Cheng, J., Guo, C., Jia, Z., 2009. Effects of Source of Supplemental Zinc on Performance , Nutrient Digestibility and Plasma Mineral Profile in Cashmere Goats. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 22, 1648–1653.
- Karabacak, A., Aytekin, I., Boztepe, S., 2015. Fattening performance and carcass characteristics of Akkaraman lambs in different housing systems. *Indian J. Anim. Res.* 49, 515–522. doi:10.5958/0976-0555.2015.00055.2
- Lenntech, 1993. Zinc (Zn) - Chemical properties, Health and Environmental effects [WWW Document]. URL www.lenntech.com/periodic/elements/zn.htm
- Li, R.W., Wu, S., Vi, R.L.B., Li, W., Li, C., 2012. Perturbation Dynamics of the Rumen Microbiota in Response to Exogenous Butyrate. *PLoS One* 7, 1–11. doi:10.1371/journal.pone.0029392

- Lichten, L. a, Cousins, R.J., 2009. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu. Rev. Nutr.* 29, 153–176. doi:10.1146/annurev-nutr-033009-083312
- Lishko, P. V., Botchkina, I.L., Fedorenko, A., Kirichok, Y., 2010. Acid Extrusion from Human Spermatozoa Is Mediated by Flagellar Voltage-Gated Proton Channel. *Cell* 140, 327–337. doi:10.1016/j.cell.2009.12.053
- Littell, R.C., Pendergast, J., Natarajan, R., 2000. Tutorial in biostatistics, Modelling covariance structure in the analysis of repeated measures data. *Statistics Med.* 19, 1793–1819.
- Liu, H.Y., Sun, M.H., Yang, G.Q., Jia, C.L., Zhang, M., Zhu, Y.J., Zhang, Y., 2015. Influence of different dietary zinc levels on cashmere growth , plasma testosterone level and zinc status in male Liaoning Cashmere goats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. 99, 1–7. doi:10.1111/jpn.12292
- Liuzzi, J.P., Cousins, R.J., 2004. Mammalian zinc transporters. *Annu. Rev. Nutr.* 24, 151–172. doi:10.1146/annurev.nutr.24.012003.132402
- Mallaki, M., Norouzzian, M.A., Khadem, A.A., 2015. Effect of organic zinc supplementation on growth , nutrient utilization , and plasma zinc status in lambs. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 4, 75–80. doi:10.3906/vet-1405-79
- Maret, W., 2013. Zinc Biochemistry : From a Single Zinc Enzyme to a Key Element of Life. *Adv. Nutr.* 4, 82–91. doi:10.3945/an.112.003038.82
- Maret, W., Kre, A., 2007. Cellular Zinc and Redox Buffering Capacity of Metallothionein / Thionein in Health and Disease. *Mol. Med.* 3, 371–375. doi:10.2119/2007
- Mccall, K.A., Huang, C., Fierke, C.A., 2000. Zinc and Health : Current Status and Future Directions Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes. *J. Nutr.* 130, 1437S–1446S.
- McCords, J.M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte

- (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244.
- Nielsen, F.H., 2012. History of zinc in agriculture. *Adv. Nutr.* 3, 783–789.
doi:10.3945/an.112.002881
- NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids, The Nation. ed. Washington, D C.
- Omu, A.E., Al-Azemi, M.K., Al-Maghrebi, M., Mathew, C.T., Omu, F.E., Kehinde, E.O., Anim, J.T., Oriowo, M.A., 2015. Molecular basis for the effects of zinc deficiency on spermatogenesis : An experimental study in the Sprague - dawley rat model Full Text. *Indian J. Urol.* 31, 2–6.
- Pechin, G., 1999. El zinc en la nutrición de los rumiantes. *Fac. Ciencias Vet. UNLPam* 50–79.
- Pedrosa, F. O., Pontremoli, S., Horecker, B.L., 1977. Binding of Zn²⁺ to rat liver fructose-1,6-bisphosphatase and its effect on the catalytic properties. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 2742–2745.
- Pinelli, A., Trivulzio, S., Tomasoni, L., Bertolini, B., Brenna, S., Bonacina, E., 2001. Low Nitric Oxide Values Associated with Low Levels of Zinc and High Levels of Cardiac Necrosis Markers Detected in the Plasma of Rabbits Treated with L -NAME. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 37, 310–316.
- Prasad, A.S., 2013. Discovery of Human Zinc De fi ciencia : Its Impact on. *Adv. Nutr.* 4, 176–190.
doi:10.3945/an.112.003210.176
- Prasad, A.S., 2012. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 26, 66–69. doi:10.1016/j.jtemb.2012.04.004
- Radford, R.J., Lippard, S.J., 2013. Chelators for investigating zinc metalloneurochemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 17, 129–136. doi:10.1016/j.cbpa.2013.01.009

- Rojas, L.X., McDowell, L.R., Cousins, R.J., Martin, F.G., N S Wilkinson, Johnson, A.B., J B Velasquez, 1995. Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 1202–1207.
- Rosado, J.L., 1998. Zinc deficiency and its functional implications. *Salud Publica Mex.* 40, 181–188.
- SENASICA, 2015. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [WWW Document]. URL <http://www.senasica.gob.mx/> (accessed 6.8.14).
- Servicio Geológico Mexicano, 2014. Panorama Minero del Estado de Querétaro.
- Sniffen, C.J.J., Connor, D.O., Russell, J.B., 1992. A Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Cattle Diets : 11 . Carbohydrate and Protein Availability. *J. Anim. Sci.* 70, 3562–3577.
- Spears, J.W., 1988. Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *J. Anim. Sci.* 67, 835–843.
- Stenberg, P., Roth, B., 2015. Zinc is the modulator of the calcium-dependent activation of post-translationally acting thiol-enzymes in autoimmune diseases. *Med. Hypotheses* 84, 331–335. doi:10.1016/j.mehy.2015.01.022
- Sun, L.U., Chai, Y., Hannigan, R., Bhogaraju, V.K., 2007. Zinc Regulates the Ability of Cdc25C to Activate MPF / cdk1. *J. J. Cell. Physiol.* 213, 98–104. doi:10.1002/JCP
- Sutton, L., Vusirikala, M., Chen, W., Sam, C.M.E., 2009. Hematogone Hyperplasia in Copper Deficiency. *Am. J. Clin. Patol.* 132, 191–199. doi:10.1309/AJCPS3ENUQ5LKBSB
- Tamminga, S., 1992. A Review on Environmental Impacts of Nutritional Strategies in Ruminants. *J. Anim. Sci.* 74, 3112–3124.
- Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, R., Campbell, T.W., 2012. *Veterinary Hematology and Clinical*

Chemistry, 2nd edition.

- Vallee, B.L., Auld, D.S., 1993. Cocatalytic zinc motifs in enzyme catalysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 2715–2718. doi:10.1073/pnas.90.7.2715
- Vallee, B.L., Falchuk, K.H., 1993. The Biochemical Basis of Zinc Physiology. *Physiol. Rev.* 73, 79–118.
- Vaquerizas, J.M., Kummerfeld, S.K., Teichmann, S.A., Luscombe, N.M., 2009. A census of human transcription factors: function, expression and evolution. *Nat. Rev. Genet.* 10, 252–263. doi:10.1038/nrg2538
- Vilela, F.G., Zanetti, M.A., Netto, A.S., Freitas, J.E. De, 2012. Supplementation of diets for Santa Ines sheep with organic and inorganic zinc sources. *Rev. Bras. Zootec.* 41, 2134–2138.
- Villalpando, S., García-guerra, A., Ramírez-silva, C.I., Mejía-rodríguez, F., Matute, G., Shamah-levy, T., Rivera, J.A., 2003. Iron , zinc and iodide status in Mexican children under 12 years and women 12-49 years of age . A probabilistic national survey. *Salud Publica Mex.* 45, S520 – S529.
- Wang, C., Li, B., Wang, B., Xie, N., 2015. Degradation and antioxidant activities of peptides and zinc–peptide complexes during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem.* 173, 733–740. doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.066
- Wang, F., Kim, B., Dufner-beattie, J., Petris, M.J., Andrews, G., Eide, D.J., 2004. Acrodermatitis enteropathica mutations affect transport activity , localization and zinc-responsive trafficking of the mouse ZIP4 zinc transporter. *Hum. Mol. Genet.* 13, 563–571. doi:10.1093/hmg/ddh049
- Wang, X., Li, X., Zhao, C., Hu, P., Chen, H., Liu, Z., Liu, G., Wang, Z., 2012. Correlation between Composition of the Bacterial Community and Concentration of Volatile Fatty Acids in the

- Rumen during the Transition Period and Ketosis in Dairy Cows. *Appl. environmental Microbiol.* 2386–2392. doi:10.1128/AEM.07545-11
- Weiss, D.J., Wardrop, K.J., 2010. *Schalm's veterinary hematology*, 6th edition.
- Wolin, M.J., 1960. A Theoretical Rumen Fermentation Balance. *J. Dairy Sci.* 43, 1452–1459. doi:10.3168/jds.S0022-0302(60)90348-9
- Yamasaki, S., Sakata-Sogawa, K., Hasegawa, A., Suzuki, T., Kabu, K., Sato, E., Kurosaki, T., Yamashita, S., Tokunaga, M., Nishida, K., Hirano, T., 2007. Zinc is a novel intracellular second messenger. *J. Cell Biol.* 177, 637–645. doi:10.1083/jcb.200702081
- Yanagisawa, H., 2004. Zinc Deficiency and Clinical Practice. *J. Japan Med. Assoc.* 129, 359–364.
- Yoshizawa, A., Clemmons, D., 2016. Testosterone and Insulin-like Growth Factor (IGF) I Interact in Controlling IGF-Binding Protein Production in Androgen-Responsive Foreskin Fibroblasts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 1627–1633.
- Yu, M., Lee, W., Tomar, D., Pryshchep, S., Czesnikiewicz-guzik, M., Lamar, D.L., Li, G., Singh, K., Tian, L., Weyand, C.M., Goronzy, J.J., 2011. Regulation of T cell receptor signaling by activation-induced zinc influx. *J. Exp. Med.* 208, 775–785. doi:10.1084/jem.20100031
- Zinn, R.A., Alvarez, E., Mendez, M., Montan, M., Ramirez, E., Shen, Y., 1997. Influence of Dietary Sulfur Level on Growth Performance and Digestive Function in Feedlot Cattle. *J. Anim. Sci.* 75, 1723–1728.
- Zinn, R.A., Owens, F.N., 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66, 157–166.