



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
NUTRICIÓN ANIMAL

**EFFECTO DE LA BIOCOLINA A DIFERENTES DOSIS EN OVINOS
PRODUCTORES DE LECHE EN PASTOREO**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:
MVZ. ÁVILA ESTRADA MARIO IVÁN

Tutor Principal:
Dr. LIZARAZO CHAPARRO AUGUSTO CÉSAR FMVZ-UNAM

Comité Tutor:
MC. CASTREJÓN PINEDA FRANCISCO ALEJANDRO. FMVZ-UNAM
Dr. GONZÁLEZ RONQUILLO MANUEL FMVZ-UAEM

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

Enero, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

Para José y Catalina; mis abuelos que, aunque ya no están aquí seguramente están felices por mis logros; se que algún día los volveré a ver y podré contarles todas mis historias y experiencias de vida, tal como ellos me contaban cuando yo era pequeño.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia; Víctor y Alejandra mis padres y Armando, mi hermano; por siempre estar conmigo y apoyarme en este largo camino a pesar de la distancia.

Al Dr. Augusto, porque a pesar de no conocerme confío en mí para la realización de la presente investigación, siempre motivándome a seguir aprendiendo, brindándome el apoyo necesario.

Al rancho El Paraíso por las facilidades brindadas para la realización del presente trabajo permitiéndome acceder a sus instalaciones y trabajar con sus animales.

A Pablo, Lorena y Kevin, por hacerme mucho más agradable el trabajo día con día y permitirme haber vivido con ellos durante el periodo experimental.

A la empresa NUPROXA México por apoyar la investigación animal.

RESUMEN

Las ovejas durante el último tercio de gestación y primero de la lactancia aumentan su demanda energética, lo cual junto con la disminución del consumo de materia seca desencadena la movilización de las reservas corporales. La colina colabora en el metabolismo energético formando membranas para las lipoproteínas, encargadas de la movilización de lípidos del hígado e intestino delgado. Con el objetivo de evaluar el efecto de la suplementación con colina herbal en la producción y composición de la leche de ovejas en pastoreo se utilizaron 63 ovejas multíparas east friesland, las cuales fueron asignadas a tres tratamientos de acuerdo con la dosis diaria de biocolina 0, 4 y 8 g/d administrada vía oral de manera individual en comedero desde el día 39 preparto hasta el día 106 posparto. La alimentación consistió en germinado de trigo y alimento comercial (16% PC) además de pastoreo en pradera inducida con rye grass (*Lolium perenne*), orchard (*Dactylis glomerata*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). Se realizaron seis mediciones de peso y condición corporal y se tomó una muestra de sangre al día 113 posparto, para determinar química sanguínea y β -hidroxibutirato en suero. La producción de leche se registró cada 15 días y se colectó una muestra para el análisis de composición química. Se observó aumento en la producción de leche y leche corregida en grasa al 6.5% ($P < 0.05$), en el grupo de 4 g/día, e incrementó en la cantidad de proteína, lactosa y grasa en dicho grupo ($P < 0.05$). El peso vivo y condición corporal fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamientos. Se concluye que la suplementación con biocolina afectó la producción y componentes de la leche y tuvo un impacto menor sobre el perfil bioquímico ya que solo se registró un efecto cuadrático de disminución de los triglicéridos sanguíneos sin afectar la cantidad de grasa en leche.

Palabras claves: Ovinos; Colina; Fosfatidilcolina; VLDL's; Triglicéridos.

ABSTRACT

During the last third of gestation and first of lactation ewes increase their energy demand which together with the decrease in dry matter intake triggers the mobilization of body reserves. Choline collaborates in the energy metabolism forming membranes for lipoproteins, responsible for the mobilization of lipids from the liver and small intestine. To evaluate the effect of herbal choline supplementation on grazing milking sheep in 63 east friesian multiparous ewes were assigned to three treatments according to the daily dose of biocoline 0, 4 and 8 g/d administered orally individually in feeder from day 39 before calving to day 106 postpartum. The diet consisted of sprouted wheat and commercial feed (16% PC) in addition to grazing on induced grassland with Rye grass (*Lolium perenniale*), Orchard (*Dactylis glomerata*) and white clover (*Trifolium repens*). Six measurements of weight and body condition were made and a blood sample was taken at day 113 postpartum, to determine blood chemistry and serum β -hydroxybutyrate. Milk production was recorded every 15 days and a sample was collected for chemical composition analysis. There was an increase in the production of milk and milk corrected in 6.5% fat ($P<0.05$), in the group of 4 g / day and an increase in the amount of protein, lactose and fat in this same group ($P<0.05$). Live weight and body condition were similar ($P>0.05$) between treatments. It was concluded that biocoline supplementation affected milk production and composition since, and had a minor impact on the biochemical profile, as only a quadratic effect with a decrease in blood triglycerides was recorded without effects on the amount of fat in milk.

Keywords: ewes, choline, phosphatidylcholine, VLDL´s, triglycerides.

INDICE

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2
OBJETIVO PRINCIPAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 Producción ovina en México y el Mundo.....	5
2.2 Anatomía general del tracto digestivo de los rumiantes.....	6
2.3 Anatomía y metabolismo de la Glándula mamaria.....	7
2.4 Digestión ruminal de la proteína	8
2.5 Metabolismo de la glucosa en el rumiante.....	10
2.6 La colina	11
2.7 Metabolismo de la colina	13
2.7.1 Absorción	13
2.7.2 Síntesis endógena de fosfatidilcolina	13
2.7.3 Ciclo de la metionina	15
2.7.4 Vía de la transulfuración.....	16
2.7.5 Ciclo de los folatos	16
2.7.6 Oxidación de la colina	17
2.8 Lipoproteínas	18
2.8.1 Clasificación	18
2.8.2 Metabolismo.....	18

2.9 Investigaciones previas.....	19
CAPITULO III	22
MATERIAL Y MÉTODOS	22
3.1 Localización	22
3.2 Animales Experimentales	22
3.3 Periodo Experimental.....	23
3.4 Manejo	23
3.4.1 Gestación	23
3.4.2 Lactancia.....	24
3.5 Suplementación de biocolina	24
3.6 Dieta y alimentación.....	25
3.7 Mediciones.....	26
3.7.1 Peso y condición corporal	26
3.7.2 Producción y composición de leche	27
3.7.3 Perfil bioquímico.....	27
3.8 Diseño experimental y análisis estadístico	28
CAPITULO IV.....	30
RESULTADOS	30
4.1 Peso y condición corporal.....	30
4.2 Producción y composición de leche.....	31
4.3 Perfil bioquímico	32
CAPITULO V.....	33
DISCUSIÓN	33
5.1 Peso y condición corporal.....	33
5.2 Producción y composición de leche.....	34

5.3 Perfil bioquímico	35
CONCLUSIÓN	38
Referencias.....	39

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción mundial de carne de ovino.....	5
Figura 2. Producción mundial de leche de ovino	5
Figura 3. Sistema de conductos de la glándula mamaria.....	7
Figura 4. Metabolismo de la glucosa en rumiantes.....	11
Figura 5. Ruta PEMT	14
Figura 6. Ruta Kennedy	14
Figura 7. Ciclo de la Metionina.....	15
Figura 8. Vía de la transulfuración y ciclo de la metionina	16
Figura 9. Oxidación de la colina.....	17
Figura 10. Días de los pesajes con respecto al parto.	27
Figura 11. Metabolismo de los lípidos para la formación de grasa en leche.....	37

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química (%) de las lipoproteínas.....	18
Cuadro 2. Investigaciones previas en bovinos productores de leche	20
Cuadro 3. Investigaciones previas con pequeños rumiantes	21
Cuadro 4. Alimento por borrega en cada etapa productiva (Base húmeda)	25
Cuadro 5. Composición química (%) de los diferentes insumos utilizados en las dietas para ovejas gestantes y lactantes (Base Seca).....	26
Cuadro 6. Peso promedio de ovejas suplementadas con biocolina a diferentes dosis durante la etapa de transición y lactancia.....	30
Cuadro 7. Condición Corporal promedio de ovejas suplementadas con biocolina a diferentes dosis durante la etapa de transición y lactancia.	30
Cuadro 8. Producción y composición química de la leche de ovejas suplementadas con biocolina a lo largo de la lactancia.	31
Cuadro 9. Perfil bioquímico sérico de ovejas suplementadas con colina herbal a distintos niveles durante la lactancia.....	32

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La cría de ovinos a nivel mundial tiene como objetivo principal la producción de carne para consumo humano, también se obtiene la lana, la cual está siendo sustituida por fibras sintéticas en la industria textil y por ello su producción ha disminuido. Por último, la leche es otro producto derivado de la cría de estos animales y tiene mayor importancia en la zona del mediterráneo debido a su transformación a quesos y otros productos lácteos (SAGARPA, 2016).

La producción ovina en México es una actividad que se encuentra en crecimiento, y dentro de ella, la producción de leche de oveja es un rubro poco conocido y explotado, es un área con un gran potencial para los productores que deseen incursionar en la transformación de la leche a quesos de alto valor nutricional y económico, debido a la gran capacidad de adaptación de las ovejas a diferentes condiciones geográficas y climáticas (SAGARPA, 2016)

En el país el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) no tiene cifras oficiales para la producción nacional de leche de oveja, sin embargo, existe el interés por parte de los productores de incursionar en esta actividad, por ello el Sistema Producto Ovinos (SPO) y la anterior Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), ahora Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), desarrollaron un plan para mejorar e impulsar la producción ovina a nivel nacional (SAGARPA, 2016).

Sin embargo, FAO (2017), reporta una producción de 57,602 toneladas de leche de oveja para el año 2016-2017, lo que demuestra que existe un dinamismo en esta área de la producción ovina nacional. Algunos antecedentes recientes hablan que para el año 2010 se tenían documentadas 20 producciones dedicadas a la leche de oveja, ubicadas en los estados de Querétaro, Estado de México, Guanajuato, Coahuila, Puebla y Veracruz con un aproximado de 6000 animales, siendo

Querétaro el principal productor con 30,000 litros por año aproximadamente (Pérez-Rocha, 2010).

En este sentido, el estado de Querétaro destaca por la calidad de los quesos de oveja producidos, una demostración de lo anterior es el rancho San Josemaría en Santa Rosa Jáuregui, que obtuvo el 2° y 3° lugar en quesos cremoso y semiduro respectivamente en el *World Cheese Award 2011*, mientras que en el Estado de México Rancho Casa de Piedra obtuvo la medalla de oro por su queso maduro (gran reserva) en el año 2017 (Pérez-Rocha, 2010; SADER, 2012).

Lo anterior es un claro ejemplo que la producción de leche de oveja en México es un sector en crecimiento, con un alto potencial que debe de ser impulsado para cubrir la demanda de este tipo de productos a nivel nacional (SADER, 2012).

Se ha investigado el uso de aditivos, principalmente aminoácidos como metionina protegida de la digestión ruminal y colina, para mejorar la condición nutricional de las hembras durante este periodo, los cuales han mostrado efectos positivos en relación con la movilización de grasas del hígado, además de aumentar la producción y mejorar la composición química de la leche, En ovinos suplementados con colina, betaína y metionina se observó un aumento de la grasa y sólidos totales (Tsiplakou y col, 2016). En cabras se observó que la suplementación con colina herbal aumentó la producción de leche (Morales-López, 2018). Mientras que en bovinos suplementados con colina sintética se obtuvo un aumento de la producción de leche aunado a una disminución del colesterol y los triglicéridos en suero.

JUSTIFICACIÓN

Las ovejas de manera natural durante el último tercio de la gestación y el primer tercio de la lactancia, tienen una demanda nutricional mayor, principalmente de energía, debido al crecimiento fetal y la producción de leche. Sin embargo, el cubrir estas necesidades nutrimentales es difícil ya que, debido al tamaño del feto, la capacidad ruminal disminuye lo que limita el consumo de materia seca (CMS). Además, el tiempo que debe transcurrir para que el rumen aumente su capacidad

después del parto, también afecta el consumo durante el primer tercio de la lactancia, que como consecuencia de no cubrir sus necesidades energéticas los animales compensan las deficiencias mediante la movilización de sus reservas corporales, lo que puede llevar al animal a presentar hígado graso debido a la baja capacidad que los rumiantes tienen para la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL's) que son las encargadas del transporte de los Ácidos Grasos no Esterificados (AGNE's) a tejidos periféricos.

Lo anterior ocasiona un aumento en la producción de cuerpos cetónicos, por ello los animales pueden presentar signos de toxemia de la preñez los cuales son: disminución del CMS, bruxismo, letargia, pérdida de peso y deshidratación. Además, pueden mostrar signos nerviosos como ceguera, presión de la cabeza contra objetos y opistótonos. De no tener un tratamiento adecuado los animales permanecen echados y se puede presentar el aborto e incluso la muerte del animal.

Teniendo en cuenta lo anterior, se ha desarrollado investigación sobre el uso de aditivos, principalmente aminoácidos como metionina protegida de la digestión ruminal y colina, para mejorar la condición nutricional de las hembras durante este periodo, los cuales han mostrado efectos positivos en relación con la movilización de grasas del hígado, además de aumentar la producción y mejorar la composición química de la leche. Sin embargo, el uso de colina de origen herbal ha sido poco estudiada en ovejas lecheras.

OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar el efecto de la suplementación con biocolina a diferentes dosis en ovejas lecheras bajo un sistema de pastoreo, durante las etapas de transición y lactancia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la suplementación con biocolina en la producción y composición química de la leche de oveja.

- Evaluar los niveles de triglicéridos, colesterol, cuerpos cetónicos y glucosa en suero y en el peso.
- Determinar la condición corporal de las ovejas durante el periodo de transición y lactancia

HIPÓTESIS

La suplementación con biocolina aumenta el contenido de grasa en la leche y la producción de leche en ovinos.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Producción ovina en México y el Mundo.

Los ovinos son animales utilizados para la producción de diferentes bienes destinados al consumo humano, principalmente carne, datos de la organización para la alimentación y la agricultura (FAO) indican que la producción va en aumento a nivel mundial (Figura 1) (FAO, 2017).

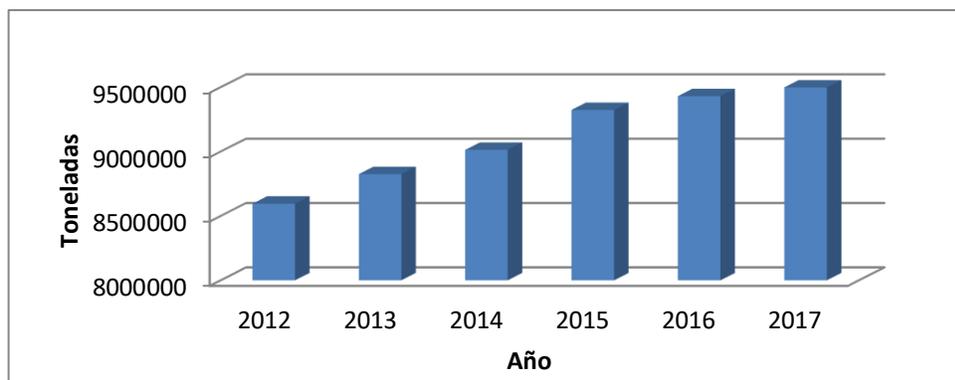


Figura 1. Producción mundial de carne de ovino.
Fuente: Adaptado de FAO, 2017

Por otro lado, la producción de leche de oveja a nivel mundial (Figura 2), tiene mayor importancia en la zona del mediterráneo, ya sea para el consumo de leche fresca o en diferentes productos lácteos. En Europa se da principalmente la producción de quesos finos (FAO, 2018)

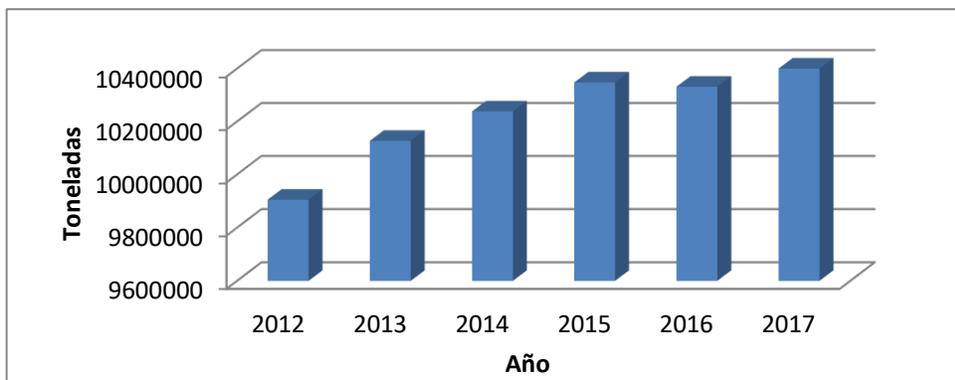


Figura 2. Producción mundial de leche de ovino
Fuente: Adaptado de FAO, 2017

A nivel mundial, hasta el 2017, México se encontraba en la posición número 38 respecto a la población ovina, teniendo 8,902,451 animales, siendo China, Australia y la India los países que poseen el mayor número de ovinos. A nivel continental, México ocupa el cuarto lugar en inventario ovino solo por debajo de Brasil, Argentina y Perú. En cuanto a producción de leche ovina México ocupa la posición 33 a nivel mundial con 57,754 toneladas de leche al año. (FAO, 2017).

2.2 Anatomía general del tracto digestivo de los rumiantes.

Al igual que los bovinos y caprinos, los ovinos son animales rumiantes, carecen de dientes incisivos superiores y caninos, por ello poseen un rodete dentario en oposición a los incisivos inferiores, el cual les ayuda al prensado de los alimentos. Cuando toman un bocado, manipulan el alimento con sus labios arrancando el alimento o cortándolo con los incisivos inferiores y rodete dentario, posteriormente lo mastican. Los movimientos masticatorios en los rumiantes son laterales, por ello es más un proceso de triturado que de corte, en el cual la partícula disminuye de tamaño para formar el bolo y poder ser deglutido, sin embargo, solo del 10% al 50% del alimento adquiere un tamaño menor a 1mm, dependiendo los componentes de la dieta, esto da lugar a la rumia que es la regurgitación del alimento desde el rumen a la boca para ser remasticado hasta adquirir el tamaño adecuado para tener así una mayor superficie de digestión para las bacterias. Las ovejas en promedio pasan cuatro horas por día comiendo y ocho horas rumiando, teniendo 71 movimientos masticatorios por bolo y 35, 482 movimientos masticatorios por día, sin embargo, esto depende de los ingredientes de la dieta. (Church, 1993; Caballero y Villa, 2010).

Debido a sus características anatómicas, el tránsito y digestión de los alimentos en los ovinos es diferente a los animales no rumiantes (monogástricos). Los ovinos poseen tres compartimientos pregástricos que son el rumen, el retículo y el omaso, los cuales les permiten aprovechar los nutrientes de alimentos fibrosos, ya que en dichos compartimientos existe una simbiosis con diversos microorganismos que además de digerir los alimentos altamente fibrosos, permiten el uso de otros insumos como el nitrógeno de origen no proteico, el aprovechamiento de proteína

de mala calidad y además se da la síntesis de vitaminas del complejo B (Dyce y col, 2011).

2.3 Anatomía y metabolismo de la Glándula mamaria.

En los ovinos, la glándula mamaria está formada por dos mamas ubicadas en la zona inguinal, estas son independientes entre sí y al ser de origen dérmico están separadas de la cavidad abdominal, solo teniendo comunicación por el anillo inguinal, lugar por donde pasan los nervios y vasos sanguíneos. Cada glándula tiene un pezón por el cual sale la leche (Caballero y Villa, 2010; Dyce y col, 2011).

La glándula mamaria en ovinos está formada por un sistema suspensorio de 6 elementos (Caballero y Villa, 2010).

1. *Piel cubierta de vello.* Para la protección contra agentes externos.
2. *Tejido areolar.* Sujeción de la piel con tejidos glandulares.
3. *Cordón areolar.* Unión de glándula al abdomen.
4. *Tendón subpélvico.* Origen del ligamento suspensorio lateral.
5. *Ligamento suspensorio lateral.*
6. *Ligamento suspensorio medio.*

En la Figura 3 se muestra el arreglo interno de la glándula mamaria, la cual se constituye de (Dyce y col, 2011):

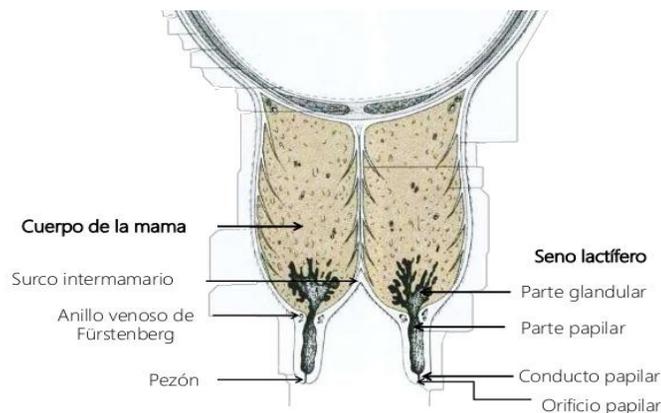


Figura 3. Sistema de conductos de la glándula mamaria

Fuente: Adaptado de Dyce y col, 2011.

La síntesis de lactosa tiene como precursor a la glucosa. Dentro de la célula la glucosa es fosforilada formando glucosa 6-fosfato y posteriormente glucosa 1-fosfato, la cual es unida a una uridina trifosfato, originando glucosa-uridin-difosfato (UDP-glucosa) la cual, mediante una epimerasa formará UDP-galactosa, posteriormente mediante la lactosa sintasa, se libera el UDP y la galactosa se une con una glucosa formando la lactosa (Murray y Col, 2013).

Para la síntesis proteica, los aminoácidos se absorben a la célula y se unen para formar proteínas en los polirribosomas, ya formadas pasan al retículo endoplásmico rugoso y al aparato de Golgi, donde se procesan para poder ser expulsadas de la célula mediante la membrana apical en vesículas secretoras las cuales se fusionan con la membrana celular liberando su contenido el alveolo (Caballero y Villa, 2010).

Los ácidos grasos de cadena larga (C16 y C18) provienen, en mayor proporción, de los quilomicrones y lipoproteínas, mientras que los ácidos grasos de cadena corta son sintetizados en el alveolo siendo el β -hidroxibutirato (BHB) utilizado como punto de inicio de un ácido graso y el acetato el medio de incorporación de carbonos para la elongación de ácido graso. Mientras tanto el glicerol se forma principalmente a partir de la glucosa mediante la glucólisis que forma glicerol 3-P. Sin embargo, también los triglicéridos se pueden hidrolizar y absorber aumentando la cantidad de glicerol. En el retículo endoplásmico liso se forman pequeñas gotas de grasa que se van uniendo y migran hacia la membrana apical de la célula, al seguir creciendo la gota, la membrana se rompe rodeando a la gota de grasa, estas salen al lumen del alveolo donde los lípidos están envueltos por la membrana, denominándose glóbulos de grasa (Caballero y Villa, 2010).

2.4 Digestión ruminal de la proteína

Las proteínas, al estar formadas por aminoácidos, son las principales encargadas del aporte de nitrógeno en la dieta de los animales, sin embargo, en rumiantes la proteína de la dieta no es completamente aprovechada de manera directa (Cheeke y Dierenfield, 2010)

En estos animales la digestión proteica puede dividirse en dos fases:

- *Digestión aloenzimática*: la cual implica enzimas producidas por los microorganismos presentes en el rumen.
- *Digestión autoenzimática*: en la que solo las enzimas producidas por el mismo animal actuarán sobre los alimentos, esta se lleva a cabo en el abomaso e intestino delgado (Cheeke y Dierenfeld, 2010).

El uso de la proteína por parte de los rumiantes, de manera general, se realiza de la siguiente manera:

- 1) A través del paso de la proteína por el rumen, se pueden diferenciar dos partes, la Proteína Degradable en Rumen (PDR) y la Proteína No Degradable en Rumen (PNDR). La primera fracción al momento de entrar al rumen se degrada hasta péptidos, por acción de las proteasas bacterianas y estos son catabolizados para formar aminoácidos libres, amoníaco y dióxido de carbono (CO₂).
- 2) Los productos formados en el rumen, especialmente el amoníaco y los aminoácidos pueden ser utilizados por los microorganismos para su síntesis de proteínas, siempre y cuando exista la cantidad suficiente de energía.
- 3) No todo el amoníaco formado en el rumen es aprovechado por los microorganismos, una parte es absorbida por el epitelio del rumen y transportado hacia el hígado vía sanguínea, donde es transformado a urea la cual tiene dos vías, una es la excreción mediante la orina y la segunda es el reciclaje de nitrógeno (N) mediante el transporte de la urea hacia el rumen, donde es catabolizada a amoníaco y CO₂.
- 4) Los microorganismos junto con la PNDR pasan hacia el abomaso e intestino delgado, donde se da la digestión autoenzimática y la absorción de los aminoácidos (Bondi, 1989; Church, 1993).

Las bacterias ruminales producen proteasas que se localizan en la membrana celular, las cuales requieren un pH entre 6 y 7 para su óptima acción, estas actúan

de manera similar a las proteasas pancreáticas, su función es la formación de oligopéptidos, dipéptidos y aminoácidos. También existen las desaminasas que producen ácidos grasos volátiles, CO₂, NH₃ y favorecen un ambiente anaerobio, por ello la digestión de proteína por parte de las bacterias que usan péptidos y aminoácidos como fuente de energía son las responsables de la mayor parte del amoníaco producido en el rumen (Dryden, 2008).

Debido a estos procesos de digestión, la proteína que llega al intestino delgado donde puede ser absorbida es la proteína microbiana, la cual aporta del 40% al 80% de los aminoácidos al intestino delgado y contiene un perfil de aminoácidos más o menos constante, junto con la PNDR que aporta del 20% al 60% de los aminoácidos (Erasmus y col, 1992).

2.5 Metabolismo de la glucosa en el rumiante

La absorción intestinal de glucosa se da en pequeñas cantidades, debido a la fermentación ruminal, por lo cual, sus niveles sanguíneos son menores que en monogástricos, el principal recurso de glucosa en rumiantes proviene de la gluconeogénesis hepática a partir de diferentes sustratos, en la Figura 4 se muestra el metabolismo general de la glucosa en los rumiantes (Church, 1993).

El propionato es el precursor principal de glucosa, este se forma a partir de la fermentación ruminal de los carbohidratos solubles y es absorbido por el epitelio ruminal, para posteriormente, mediante diferentes reacciones formar succinil CoA y entrar al ciclo de Krebs como succinato y cuando forma oxalacetato sale del ciclo para formar fosfoenolpiruvato, precursor de la gluconeogénesis. Otro precursor de glucosa es el lactato, ya que la enzima lactato deshidrogenasa forma piruvato el cual terminará en la gluconeogénesis, algunos aminoácidos también son glucogénicos entrando el ciclo de Krebs a diferentes niveles para terminar formando oxalacetato, el glicerol proveniente de los triglicéridos, puede formar glucosa a partir de gliceraldehído 3-P o dihidroxiacetona-P (Koster y Opsomer, 2013).

La glándula mamaria es el principal consumidor de glucosa utilizando alrededor de un 80% de la glucosa total, esta es utilizada para formar lactosa la cual genera presión osmótica ayudando a aumentar la producción de leche (Church, 1993 y Koster y Opsomer, 2013).

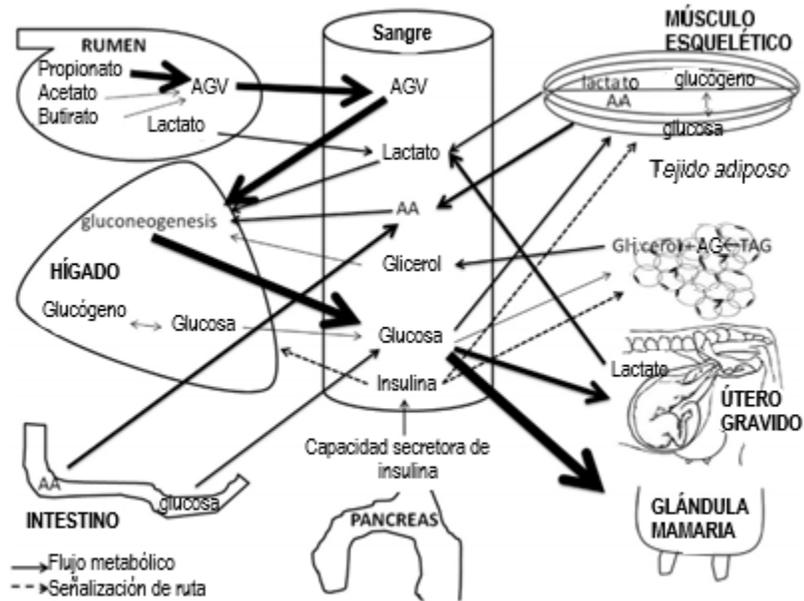


Figura 4. Metabolismo de la glucosa en rumiantes.

El grosor de la flecha indica la importancia en la producción y/o uso del metabolito. Los ácidos grasos volátiles (VFA) del rumen son los principales precursores de la gluconeogénesis hepática, sin embargo, el lactato, el glicerol y los aminoácidos también contribuyen. El origen de la glucosa sanguínea es la absorbida a nivel intestinal y la liberada por el hígado. La ubre de un animal en lactación y el útero gravido son los órganos con mayor demanda de glucosa, por ello, el músculo esquelético y tejido adiposo absorbe poca cantidad de glucosa. La insulina suprime la gluconeogénesis hepática y la glucogenólisis en hígado y músculo esquelético, estimulando la absorción de glucosa en tejido adiposo y músculo esquelético
Fuente. Koster y Opsomer, 2013

2.6 La colina

La colina es una amina trimetilada altamente degradable en el rumen involucrada en el transporte de lípidos del hígado que de manera natural se encuentra en tejidos vegetales y animales, además de sus derivados, en forma de fosfatidilcolina, pero también como colina libre, acetilcolina, esfingomielina, fosfocolina, y glicerofosfocolina, tanto en tejidos vegetales como animales, además de sus derivados. Una de las formas de suplementación es el cloruro de colina, sin embargo, este tiene una alta capacidad higroscópica, lo cual es un problema para la adición a premezclas de vitaminas y minerales, debido a que pone en riesgo la

función de los otros compuestos de las premezclas, se puede encontrar con un excipiente vegetal, por lo general olote de maíz molido, o mineral, el más empleado es el dióxido de silicio (Baldi y Pinotti, 2006; FEDNA, 2019; Pinotti y col, 2002).

De acuerdo a lo anterior, se hace necesario suplementarla con productos que la protejan de la degradación ruminal para así permitir su liberación y absorción en el intestino delgado (Sales y col, 2010).

La colina tiene tres funciones primordiales en los animales

- I. *Estructura de la membrana celular.* Forma parte de la fosfatidilcolina, que es el fosfolípido más importante de la membrana celular externa, también es parte de la esfingomielina, el segundo fosfolípido más abundante que forma parte de las membranas lisosomales y del aparato de Golgi (Cortijo-Gorriño, 2015).
- II. *Trasporte de lípidos.* La fosfatidilcolina es un componente esencial de las lipoproteínas, encargadas de la distribución de triglicéridos a los tejidos periféricos, si hay una deficiencia de colina, la cantidad de fosfatidilcolina disminuirá y con ello la formación de lipoproteínas, ocasionando una acumulación de triglicéridos en el hígado provocando hígado graso (Cortijo-Gorriño, 2015).
- III. *Neurotransmisión.* Una parte de la colina es metabolizada y llevada a la formación de acetilcolina, la cual es un importante neurotransmisor en el Sistema Nervioso Central (Cortijo-Gorriño, 2015)

Todos los tejidos disponen de colina, pero su asimilación es más importante en el hígado, cerebro, riñón, glándula mamaria y placenta, sabiendo que no hay un mecanismo de almacenamiento de la colina en las células, es importante suplementarla, ya que la homeostasis se consigue regulando la tasa de adquisición (ingesta y síntesis endógena) y la tasa de depleción (oxidación y secreción biliar) (Fernández-Roig, 2012).

2.7 Metabolismo de la colina

2.7.1 Absorción

La fosfatidilcolina se encuentra en las membranas celulares y debido a la acción de las fosfolipasas A1, A2 y B se cataboliza a lisofosfatidilcolina, la cual es absorbida por difusión simple. Una vez dentro del enterocito se debe volver a formar la fosfatidilcolina, esto se da mediante la unión de un grupo acilo, una vez ya formada se integra a los quilomicrones (Cortijo-Gorriño, 2015).

Otra forma en que la colina está presente en las células es la esfingomielina, que es catabolizada hacia ceramida y fosfocolina hasta liberar colina libre, esta es absorbida mediante transporte activo al interior del enterocito (Cortijo-Gorriño, 2015).

2.7.2 Síntesis endógena de fosfatidilcolina

Existen dos rutas diferentes para la formación de la fosfatidilcolina:

1) Ruta PEMT (Hígado y Riñón)

1. En esta hay una metilación secuencial de la fosfatidiletanolamina por la S-adenosilmetionina (SAM), debido a la enzima Fosfatidiletanolaminametiltransferasa (PEMT) (Figura 5), formando la fosfatidilcolina (Mckee & Mckee, 2003).

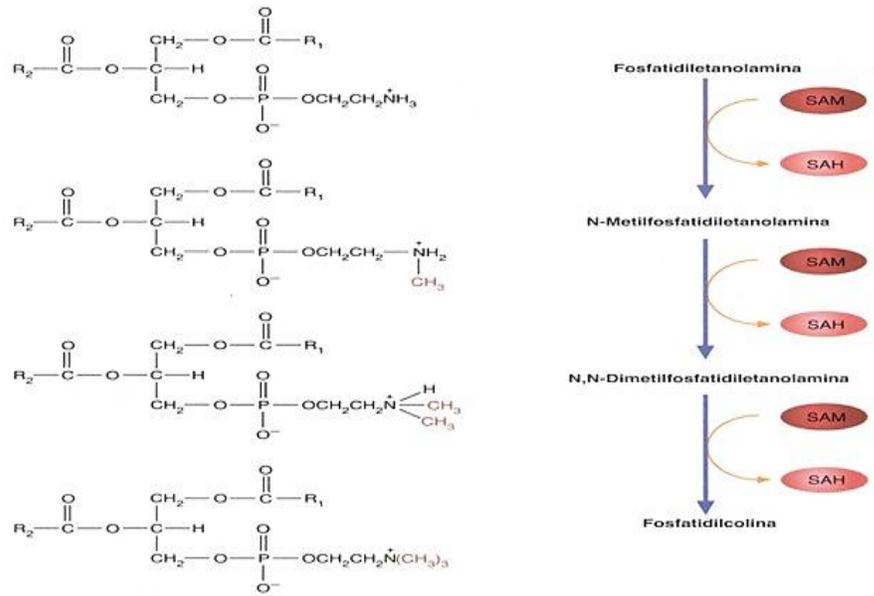


Figura 5. Ruta PEMT
Fuente: McKee & Mckee, 2003

2) Ruta Kennedy

Consta de los siguientes pasos (Figura 6)

1. Fosforilación de la colina formando Fosfocolina
2. Transferencia de Citidina Monofosfato (CMP) desde una Citidina trifosfato (CTP) formando Citidina difosfocolina CDP-colina)
3. Transferencia de un diacilglicerol formando la fosfatidilcolina.

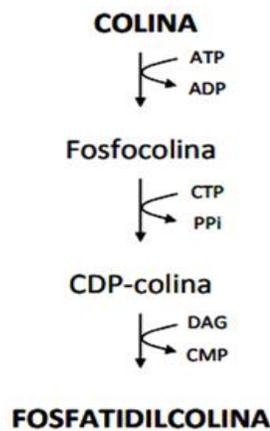


Figura 6. Ruta Kennedy
Fuente: Adaptado de Fernández-Roig, 2012.

Una vez formada la fosfatidilcolina puede ser hidrolizada a ácido fosfatídico y colina por la Fosfolipasa D (Cortijo-Gorriño, 2015).

2.7.3 Ciclo de la metionina

Para la formación del aminoácido Metionina existen dos diferentes vías (Figura 7):

1. Mediante la Betaína Homocisteína Metiltransferasa (BHMT) únicamente en hígado y riñón, la cual transfiere el grupo metilo de la betaína a la homocisteína formando metionina y dimetilglicina, esta última va al proceso de oxidación para la formación de glicina (Cortijo-Gorriño, 2015).
2. Mediante la Metionina Sintasa (MS) que cataliza la reacción de la homocisteína transfiriéndole un grupo metilo del 5 metiltetrahidrofolato (5-MTHF) formando metionina y tetrahidrofolato (THF), el cual va al ciclo de los folatos (Fernández-Roig, 2012).

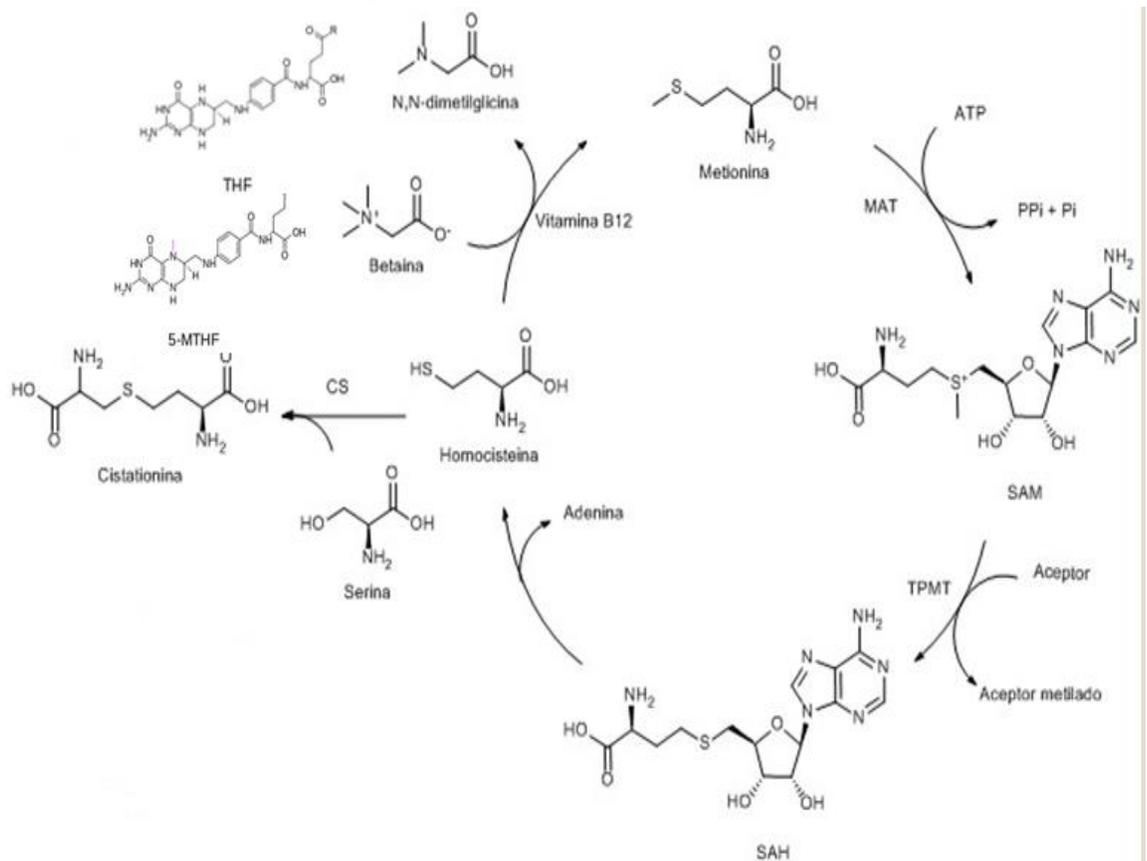


Figura 7. Ciclo de la Metionina
Fuente: Adaptado de Menor-Salván, 2016

2.7.4 Vía de la transulfuración

La formación de cisteína a partir de homocisteína, solo se presenta en hígado, riñón, intestino delgado y páncreas. Esta se da a partir de dos reacciones consecutivas (Figura 8) (Fernández-Roig, 2012).

1. Homocisteína + Serina = Cistationina + Agua, mediante la enzima Cistationina β -sintasa (CBS).
2. La enzima Cistationina γ -liasa (CGL) rompe la cistationina formando Cisteína y α -cetobutirato (Fernández-Roig, 2012).

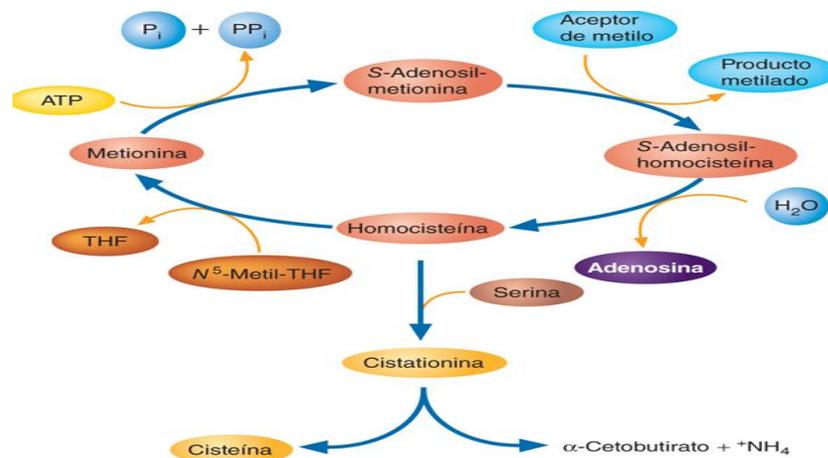


Figura 8. Vía de la transulfuración y ciclo de la metionina

Fuente: Mckee y Mckee, 2003.

2.7.5 Ciclo de los folatos

Se relaciona con el ciclo de la metionina debido a la remetilación de la homocisteína por la metionina sintasa.

1. El folato (ácido Fólico, Vitamina B9) se reduce a Dihidrofolato (DHF) y luego la enzima Dihidrofolato reductasa (DHFR) forma el tetrahidrofolato (THF) el cual entra al ciclo (Fernández-Roig, 2012).
2. El THF reacciona con una serina por la serina Hidroximetiltransferasa (SHMT) formando 5,10 metil THF, este puede salir del ciclo para la síntesis de purinas (Adenina, Guanina) (Fernández-Roig, 2012).

- Posteriormente la metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR) lo transforma a 5 metil THF (sustrato para la formación de metionina) que donará su grupo metilo a la homocisteína, quedando como THF para comenzar el ciclo de nuevo (Fernández-Roig, 2012).

2.7.6 Oxidación de la colina

La colina en la mitocondria se oxida por la Colina Deshidrogenasa (CHDH) a betaína aldehído y la enzima Betaína Aldehído Deshidrogenasa (BADH) genera la betaína la cual regresa al citoplasma y por acción de la BHMT junto con la homocisteína genera metionina y dimetilglicina (DMG) (Fernández-Roig, 2012).

La DMG regresa a la mitocondria y por la Dimetilglicina Deshidrogenasa (DDH) genera sarcosina, posteriormente la enzima Sarcosina Deshidrogenasa (SDH) actúa en la sarcosina generando glicina (Figura 9) (Fernández-Roig, 2012).

En las reacciones de la DDH y la SDH se genera 5,10 MTH que puede ir al ciclo de los folatos o a la síntesis de purinas (Fernández-Roig, 2012).

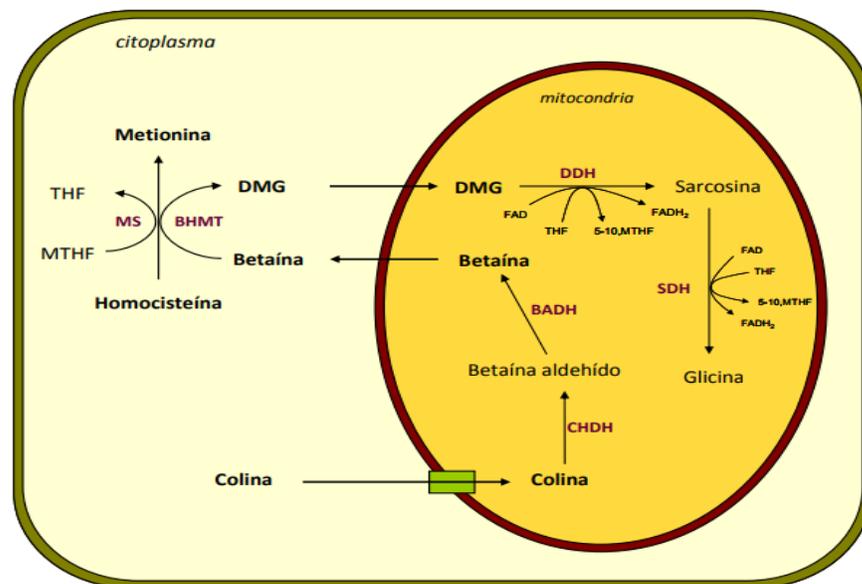


Figura 9. Oxidación de la colina
Fuente: Fernández-Roig, 2012.

2.8 Lipoproteínas

2.8.1 Clasificación

Las lipoproteínas se clasifican de acuerdo con su densidad, la cual varía en función del porcentaje de lípidos y proteínas que contenga (Tabla 1). En intestino delgado e hígado se producen las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL´s) y lipoproteínas de alta densidad (HDL´s). De origen exclusivamente hepático tenemos las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL´s), lipoproteínas de baja densidad (LDL´s) y de origen únicamente intestinal se encuentran los quilomicrones (Laguna y Piña, 2009).

Los quilomicrones son las lipoproteínas más grandes, están formadas por un 99% de lípidos y se encargan del transporte de todos los lípidos de la dieta hacia la circulación (sistema linfático), estos van hacia tejido adiposo, corazón y músculo, ya que el hígado no los puede metabolizar, solo metaboliza los remanentes de quilomicrones (Gurr y col, 2016).

Cuadro 1. Composición química (%) de las lipoproteínas

	Quilomacrón	VLDL	LDL	HDL
Proteínas	2	7	20	50
Triglicéridos	83	50	10	8
Colesterol	8	22	48	20
Fosfolípidos	7	20	22	22
Rango de densidad (g/ml)	<0.95	0.95-1.006	1.019-1.063	1.063-1.210
Diámetro (nm)	100	30-90	18-22	5-12

VLDL – Lipoproteína de muy baja densidad; LDL - Lipoproteína de baja densidad; HDL - Lipoproteína de alta densidad.

Adaptado de Gurr y col, 2016

2.8.2 Metabolismo

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL´s), producidas principalmente por el intestino delgado y de manera limitada en el hígado en rumiantes, van a tejidos extrahepáticos donde suministran principalmente triglicéridos a los adipocitos

formando así el remanente de VLDL's también conocido como IDL's (Bauchart, 1993).

Las IDL's son el resultado de la acción de la lipoproteína lipasa (LPL) sobre las VLDL's, estas en grandes cantidades se unen formando lipoproteínas de baja densidad LDL's, estas transportan la mayor cantidad de colesterol y se forman por la unión de las IDL's, es decir, se originan a partir de las VLDL's y su alta concentración de colesterol se debe a que los triglicéridos que originalmente contenía la VLDL's fueron depositados en los adipocitos (Bauchart, 1993).

Las HDL's son las más pequeñas, su densidad alta se debe a la gran cantidad de proteínas que poseen y que son secretadas por el hígado e intestino delgado, y por acción de la Lecitín-Colesterol Aciltransferasas (LCAT) usan colesterol libre formando esteroides de colesterol los cuales son almacenados su núcleo, la función principal de estas lipoproteínas es llevar el colesterol de las paredes arteriales al hígado para excretarlo en la bilis (Bauchart, 1993).

2.9 Investigaciones previas

Las investigaciones se han hecho principalmente en bovinos productores de leche, en la Tabla 2 se muestran algunos trabajos de importancia con diferentes fuentes de colina. Para el caso de pequeños rumiantes la investigación se ha realizado en menor cantidad, en la Tabla 3 se describen algunos de estos trabajos.

Cuadro 2. Investigaciones previas en bovinos productores de leche

Autor	Producto	Animales (n)	Tratamientos	Resultados		
				Producción	Peso	Sangre
Leiva y col (2015)	Cloruro de colina*	23 vacas	- 0 g/día - 50 g/día preparto y 100 g/día posparto	↑% de Proteína ↑% Solidos totales	Sin cambios	Sin cambios
Mohsen y col (2011)	Cloruro de colina	12 vacas	- 0 g/día - 15 g/día - 30 g/día	↑ Producción de leche ↑ % Grasa ↑ % Solidos totales ↑ g de grasa ↑ g de proteína ↑ g de lactosa ↑ g de solidos totales	N/A	↓ Colesterol ↓ Triglicéridos
Guretzky y col (2006)	Cloruro de colina ⁺	42 vacas	- 0 g/día - 60 g/día	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios

↑ Aumento
↓ Disminución
N/A – Sin información

* CholiPearl® 18.8%, Kemin industries, Iowa, USA.

+ Reashure®, Balchem corporation, NY, USA.

Cuadro 3. Investigaciones previas con pequeños rumiantes

Autor	Producto	Animales (n)	Tratamientos	Resultados		
				Producción	Peso	Sangre
Tsiplakou y col (2015)	DL- metionina Cloruro de colina Betaína	45 ovejas	- 0 g/día - 2.75 g/día DL-Met - 2.2 g/día DL- Met, 1 g/día Cloruro de Colina y 0.3 g/día Betaína.	↑% de grasa ↑% Solidos totales	N/A	↓ BHB
Baldi y col (2011)	Cloruro de colina*	8 cabras	- 0 g/día - 4 g/día	Sin cambios	N/A	↑ BHB
Morales-López (2019)	Colina herbal ⁺	18 cabras	- 0 g/día - 4 g/día - 8 g/día	↑ Produccion (kg) ↑ g de grasa ↑ g de lactosa ↑ g de proteína ↑ g de solidos totales	↑ Peso	↓ Glucosa

↑ Aumento

↓ Disminución

N/A – Sin información, BHB – β-hidroxibutirato

*Sta-choi[®], KW Alternative foods, West Yorkshire, UK.

⁺Biocholine Powder[®], Nuproxa México, Querétaro, México.

CAPITULO III

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Localización

La investigación se llevó a cabo en una unidad de producción pecuaria con un fin comercial dedicada a la producción y transformación de leche de oveja: “El Paraíso”, quienes producen quesos semimaduros y maduros bajo el nombre de “Casa de Piedra”. Ubicado en el municipio de Jilotepec, en el Estado de México, el cual se encuentra a 2440 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media de entre 14 y 16°C y una precipitación anual promedio de 750 mm (Castillo-Martínez, 2013).

3.2 Animales Experimentales

Inicialmente se realizó ultrasonografía vía rectal a 118 borregas *east friesland* las cuales, estuvieron en un proceso de inducción del estro y monta natural, de las cuales 86 se diagnosticaron como gestantes.

Posteriormente, de las borregas gestantes se seleccionaron 75, las cuales eran multíparas y estaban clínicamente sanas, las cuales fueron pesadas antes del comienzo de la suplementación para formar, de manera aleatoria y con el mismo número de animales, los tres grupos experimentales:

- 0 g/día de biocolina
- 4 g/día de biocolina
- 8 g/día de biocolina

Al momento de organizar los grupos experimentales, se realizó una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza (Ducoing, 2009) con los pesos obtenidos y asegurar que los datos tenían un comportamiento normal y no existieran diferencias estadísticas entre los grupos seleccionados.

De las 75 borregas una murió por complejo respiratorio y otra debido a una sepsis, además se presentó un aborto, quedando 72 borregas en el estudio, de las cuales

solo 63 parieron, quienes se mantuvieron durante todo el periodo experimental, por lo cual los tres grupos quedaron integrados de la siguiente manera:

- 20 animales en el grupo de 0 g/día
- 23 animales en el grupo de 4 g/día
- 20 animales en el grupo de 8 g/día

A lo largo del experimento una oveja del grupo testigo presentó mastitis gangrenosa a los 25 días de ordeño saliendo del grupo experimental, posteriormente una oveja del grupo de 8 g/día presentó dificultades motoras debidas presuntamente a maltrato animal, siendo sacada del grupo a los 90 días de ordeña.

3.3 Periodo Experimental

El periodo de suplementación comenzó el 20 de julio del 2018 y finalizó el 20 de diciembre del 2018, teniendo una duración de 153 días.

3.4 Manejo

3.4.1 Gestación

Las borregas se alojaban por la tarde en un corral con techo, el cual contaba con comederos suficientes y bebederos automáticos, el cual tenía capacidad para 96 animales. Durante los primeros 31 días de suplementación las ovejas eran sacadas a las 10:00 h a la pradera y se mantenían por 5 horas, a las 15:00 h eran llevadas a la sala de ordeño para ofrecer de manera individual la dosis de biocolina en los comederos y los 100 g de alimento para oveja gestante que le correspondía a cada animal, cuando todas las borregas ya habían consumido su suplementación eran regresadas a su corral donde se encontraba 1 kg de ensilado de maíz y 900 g de alimento comercial para oveja gestante por animal servido en los comederos del corral. Posteriormente a esos 31 días y hasta el parto las borregas eran llevadas a la sala de ordeña a las 9:30 h para recibir la suplementación, luego de ello salían a la pradera y al cabo de las 5 horas de pastoreo eran llevadas al corral de encierro donde se encontraba su alimento servido en los comederos.

*Sala de ordeño Flacco®; +Pulsador electrónico Flatronic®; °Medidor de leche AfiFree® 155; ¯Unidades de ordeño ultramilk® max.
Biocholine Powder®, Nuproxa México, Querétaro, México.

3.4.2 Lactancia

Las borregas eran ordeñadas dos veces al día, 9:00 h y 15:30 h por lo que el intervalo entre ordeños fue de 6.5 horas, en una sala de ordeño semiautomática* con línea baja, pulsador electrónico+ y medidor electrónico de leche°, la cual constaba de dos líneas para 24 ovejas y 12 unidades de ordeño⁻ cada una, se utilizaba un software de administración para el registro de la información de cada borrega ya que contaban con lector de chip para medir en cada ordeño la producción de leche, además de retirar de manera automática la unidad de ordeño al momento de detectar que el flujo de leche había terminado. La rutina de ordeño consistía en el pre sellado con solución yodada que se dejaba actuar alrededor de 60 segundos para posteriormente realizar la limpieza con toallas de papel, se colocaba la unidad de ordeño y al finalizar el ordeño se colocaba el sello con base yodada para evitar infecciones.

Cuando las borregas entraban a ser ordeñadas, se les ofrecía la suplementación de biocolina de manera individual en el comedero junto con 100 g de alimento para oveja lechera, posteriormente salían a la pradera para pastoreo hasta las 15:30 h cuando se les llevaba de nuevo a la sala para el segundo ordeño del día, momento en el cual se les ofrecían otros 100 g de alimento, los cuales eran restados a la ración total de cada oveja. Al finalizar este ordeño eran llevadas a su corral de encierro, el cual contaba con superficie, bebederos y comederos para 72 ovejas.

3.5 Suplementación de biocolina

Se utilizó biocolina[#] un producto elaborado con base en plantas (*Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Trachyspermum ammi*, *Citrullus colocynthis*, *Andrographis paniculata*), siendo una fuente natural de colina y fosfatidilcolina, la cual inicialmente se ofreció peletizada con una fracción de alimento durante tres meses, sin embargo luego de que los animales se acostumbraron a consumir la biocolina, ésta se mezcló directamente con el alimento ofrecido en el comedero durante el ordeño de la mañana, hasta el final del experimento.

*Sala de ordeño Flacco®; +Pulsador electrónico Flatronic®; °Medidor de leche AfiFree® 155; ⁻Unidades de ordeño ultramilk® max.

Biocholine Powder®, Nuproxa México, Querétaro, México.

3.6 Dieta y alimentación

Tomando en cuenta que la unidad de producción pecuaria tiene un fin comercial, los animales se alimentaron mediante pastoreo extensivo en praderas inducidas con rye grass (*Lolium perenne*), orchard (*Dactylis glomerata*) y trébol blanco (*Trifolium repens*), estas praderas no contaban con riego y además no se habían renovado al menos en dos años.

El pastoreo se llevó a cabo por la mañana y parte de la tarde. En la etapa de gestación los animales se mantenían en pastoreo por cinco horas, mientras que los animales en producción de leche permanecían alrededor de 6.5 horas.

El alimento de tipo comercial que se servía en el corral dependía de la etapa productiva en la que se encontraban los animales, en la Tabla 4 se especifica la cantidad de alimento por animal. Al alimento comercial se le restaban los 100 o 200 g, los cuales eran ofrecidos en los comederos individuales en la sala de ordeña.

Cuadro 4. Alimento por borrega en cada etapa productiva (Base húmeda)

Etapa	Pradera horas de pastoreo	Ensilado de maíz	Germinado de trigo	Alimento Gestante	Alimento Lechero 16%
Último 1/3 gestación	5	1.00 kg		1.00 kg	
20 días preparto	5		1.15 kg	1.00 kg	
Lactancia natural			2.3 kg	0.50 kg	0.50 kg
Ordeña	6.5		1.15 kg		0.90 kg

Después del parto, durante cinco días, la biocolina se les ofreció en el corral durante la lactancia natural de los corderos y posteriormente se proporcionó en el alimento durante la ordeña matutina.

A lo largo del experimento se colectaron muestras de la pradera, el germinado de trigo, el alimento lechero, el alimento gestante y el ensilado, las cuales fueron llevadas al Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, de la UNAM, para la realización del análisis químico proximal (AOAC, 1990), los resultados (Tabla 5) se utilizaron para calcular el aporte de energía metabolizable según el *National Research Council* (NRC) de pequeños rumiantes 2007.

Cuadro 5. Composición química (%) de los diferentes insumos utilizados en las dietas para ovejas gestantes y lactantes (Base Seca)

	Ensilado	Germinado	Alimento Gestante	Alimento Lechero 16%	Pradera
Materia Seca*	44.67	17.11	90.35	89.67	36.15
Proteína Cruda	6.91	11.10	22.75	15.90	9.62
Fibra Cruda	18.06	22.25	19.85	19.60	25.10
Extracto Etéreo	6.00	6.26	0.60	1.99	1.80
ELN	59.57	58.22	48.71	54.66	54.74
Cenizas	9.45	2.16	8.09	7.86	8.75
EM Kcal/kg	2568.47	2740.18	2340.07	2412.60	2330.16

*Materia seca expresado de la materia fresca; ELN – Extracto Libre de Nitrógeno, EM – Energía Metabolizable

3.7 Mediciones

3.7.1 Peso y condición corporal

Las borregas fueron pesadas antes del comienzo de la suplementación (pesaje inicial), en una báscula digital* con capacidad para 3000 kg, además se les midió la condición corporal (CC) mediante la técnica de Russel (1969), este manejo se realizó dentro de los corrales antes de que los animales ingirieran alimento. El segundo pesaje y registro de la CC se realizó el día que las ovejas entraron a la producción de leche, después de los cinco días de lactancia natural, los siguientes pesajes y mediciones de la CC se llevaron a cabo los días 36, 66, 96 y 106 posparto (Figura 10), estos se realizaron después de la ordeña de la mañana cuando a cada

* Bascula Eziweigh 2®, Tru-Test Group, Southland, NZ.

oveja se le ofrecieron 100 g de alimento y la suplementación correspondiente por animal.



Figura 10. Días de los pesajes con respecto al parto.

3.7.2 Producción y composición de leche

Se realizó una medición de la producción individual de leche, los días 21, 36, 51, 66, 81, 96 y 106 posparto, por medio de un software computacional* que registró la producción diaria, además ese mismo día se colectaba una muestra de leche de 50 mL, la cual era congelada (-20°C) hasta su análisis para composición química (Grasa, proteína, lactosa, sólidos totales y sólidos no grasos) mediante ultrasonografía+.

3.7.3 Perfil bioquímico

Para determinar los cambios en los metabolitos asociados al transporte de lípidos, se tomó una muestra de sangre a 61 borregas, aproximadamente el día 113 posparto.

La extracción de sangre se realizó mediante venopunción yugular, el suero se separó por centrifugación (3500 rpm durante 10 min) y se congeló hasta el análisis, dichas muestras fueron enviadas para el análisis de glucosa, colesterol, triglicéridos (Método Fotometría automatizada) y β -hidroxibutirato (Método Espectrofotometría de luz visible) al laboratorio de análisis clínicos veterinarios (LACLIVET) en la Ciudad de México.

*AfiSheep® Versión 4.1.0.4. AfiMilk. Afikim, Israel.

+Lactoscan® SL60. Milkotronic LTD. Nova Zagora, Bulgaria.

3.8 Diseño experimental y análisis estadístico

Las borregas fueron organizadas en un diseño completamente al azar con tres grupos experimentales: 0 (20 animales); 4 (23 animales) y 8 (20 animales) gramos de biocolina por día. Las variables respuesta analizadas fueron las siguientes:

- Peso vivo (PV, kg).
- Condición Corporal (CC).
- Grasa en leche (GL, % y g/d).
- Proteína en leche (PL, % y g/d).
- Lactosa en leche (LL, % y g/d).
- Sólidos No Grasos en leche (SNG, %y g/d).
- Producción de leche (PrL, Kg/d).
- Leche corregida en grasa 6.5% (LCG 6.5%, Kg/d).
- Leche corregida en grasa al 6.5% y proteína al 5.8% (LCGP 6.5,5.8%, Kg/d)
- Glucosa en suero (GS, mg/dL).
- Triglicéridos en suero (TS, mg/dL).
- β -hidroxibutirato en suero (BHB, mmol/L).
- Colesterol (mg/dL).

El modelo estadístico utilizado para las variables de producción, composición y peso fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + \tau\alpha_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} = Valor de la variable respuesta observada en la j-esima repetición del i-esimo tratamiento en el k-esimo tiempo
- μ = Efecto de la media general.
- τ_i = Efecto del i-esimo tratamiento.
- α_j = Efecto de k-esimo tiempo.

- $\tau_{\alpha_{ij}}$ = Efecto de la interacción del i-esimo tratamiento con el k-esimo tiempo
- ε_{ijk} = Error experimental.

Para las variables sanguíneas el modelo utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde

- Y_{ij} = Valor de la variable respuesta observada en la j-esima repetición del i-esimo tratamiento en el k-esimo tiempo
- μ = Efecto de la media general.
- τ_i = Efecto del i-esimo tratamiento.
- ε_{ij} = Error experimental.

El análisis de datos se realizó con el programa SPSS® versión 18, mediante el análisis de comparación de medias ANOVA de un factor, para las medias se usó el modelo de comparación múltiple de medias de Tukey, los efectos lineal y cuadrático se obtuvieron mediante contrastes polinómicos en el mismo programa, declarando un nivel de significancia cuando el valor de P era <0.05 y una tendencia cuando los valores de P eran entre 0.05 y 0.10.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1 Peso y condición corporal

Los resultados de la suplementación con biocolina sobre el peso (Figura 12) y la condición corporal (Figura 13) muestran que no hubo efecto ($P>0.05$) debido al tratamiento.

Cuadro 6. Peso promedio de ovejas suplementadas con biocolina a diferentes dosis durante la etapa de transición y lactancia.

	Colina herbal (g/d)			EEM	P-value		
	0	4	8		Trat	L	Q
Día 39 preparto	56.36	57.08	57.42	1.179	0.731	0.786	0.462
Día 6 posparto	54.18	56.46	58.33	1.136	0.777	0.919	0.483
Día 36 posparto	54.86	54.83	57.62	1.185	0.946	0.934	0.747
Día 66 posparto	55.39	55.46	57.62	1.244	0.999	0.966	0.976
Día 96 posparto	56.00	55.96	57.68	1.374	0.969	0.856	0.859
Día 106 posparto	56.50	57.21	57.54	1.478	0.925	0.796	0.772

Cuadro 7. Condición Corporal promedio de ovejas suplementadas con biocolina a diferentes dosis durante la etapa de transición y lactancia.

	Colina herbal (g/d)			EEM	P-value		
	0	4	8		Trat	L	Q
Día 39 preparto	3.01	3.23	2.91	0.082	0.264	0.607	0.125
Día 6 posparto	2.49	2.57	2.47	0.046	0.657	0.924	0.365
Día 36 posparto	2.71	2.70	2.62	0.045	0.697	0.465	0.687
Día 66 posparto	2.72	2.64	2.64	0.045	0.721	0.461	0.721
Día 96 posparto	2.72	2.72	2.68	0.053	0.954	0.791	0.877
Día 106 posparto	2.73	2.86	2.61	0.058	0.224	0.407	0.125

Los animales del grupo control ganan peso desde el momento del parto, en comparación con los grupos suplementados, los cuales, pierden peso para posteriormente registrar una recuperación a partir del día 96 posparto. En cuanto a la condición corporal el grupo control muestra un aumento de la misma hasta el día 36, para posteriormente no mostrar cambios significativos, el grupo suplementado con 4 g/d de biocolina muestra variaciones por día de medición sin ser diferente a los demás grupos, el grupo suplementado con 8 g/d de biocolina manifiesta un ligero aumento de su condición corporal pero nunca llega a alcanzar el nivel de recuperación de los otros grupos.

4.2 Producción y composición de leche.

La composición de leche para grasa, proteína, lactosa y SNG, fue similar entre tratamientos ($P>0.05$). Sin embargo, al transformar el porcentaje de cada uno de los componentes a producción (g/d) fue manifiesta la superioridad del grupo que recibió 4 g/d de biocolina ($P<0.05$) (Cuadro 8). La producción de leche aumentó 139 mL por día y la LCG 6.5% aumentó en comparación con el grupo control, la LCGP 6.5,5.8% también fue mayor en el mismo grupo con respecto al control ($P<0.05$).

Cuadro 8. Producción y composición química de la leche de ovejas suplementadas con biocolina a lo largo de la lactancia.

	Colina herbal (g/d)			EEM	P-value		
	0	4	8		Trat	L	Q
Producción, kg/d	0.682 ^b	0.821 ^a	0.787 ^{ab}	0.019	0.010	0.032	0.027
LCG, kg/d	0.502 ^b	0.609 ^a	0.587 ^a	0.012	0.001	0.006	0.008
LCGP, kg/d	0.489 ^b	0.592 ^a	0.568 ^a	0.012	0.001	0.009	0.007
Composición, %							
Grasa	4.14	4.19	4.37	0.077	0.156	0.057	0.773
Proteína	4.17	4.14	4.10	0.032	0.069	0.042	0.279
Lactosa	4.82	4.84	4.74	0.033	0.098	0.061	0.298
SNG	9.78	9.77	9.62	0.040	0.091	0.056	0.293
Producción de componentes, g/d							
Grasa	25.75 ^b	31.47 ^a	30.51 ^a	0.614	0.001	0.003	0.008
Proteína	28.43 ^b	34.19 ^a	32.12 ^{ab}	0.840	0.014	0.100	0.015
Lactosa	33.62 ^b	40.28 ^a	38.38 ^{ab}	1.082	0.031	0.076	0.049
SNG	67.52 ^b	81.03 ^a	76.79 ^{ab}	2.036	0.022	0.082	0.029

a. Medias en las filas con los mismos superíndices (a, b) no son diferentes

4.3 Perfil bioquímico

No hubo diferencias ($P>0.05$) en los componentes de la bioquímica sanguínea y en el contenido de BHB en suero (Cuadro 9). En cuanto a los triglicéridos se registró tendencia hacia un efecto cuadrático ($P=0.058$) en el que al grupo suplementado con 4 g/d de biocolina correspondió el menor valor, comparado con los otros grupos.

Cuadro 9. Perfil bioquímico sérico de ovejas suplementadas con colina herbal a distintos niveles durante la lactancia

	Colina herbal (g/d)			EEM	P-value		
	0	4	8		Tratamiento	L	Q
B-hidroxibutirato (mmol/L)	0.162	0.175	0.193	0.0166	0.744	0.447	0.953
Glucosa (mg/dL)	19.08	17.17	14.50	1.335	0.367	0.163	0.897
Triglicéridos (mg/dL)	45.15	33.58	43.50	2.594	0.158	0.787	0.058
Colesterol (mg/dL)	70.62	71.67	75.64	2.382	0.662	0.393	0.782

CAPITULO V

DISCUSIÓN

5.1 Peso y condición corporal

En cuanto al peso y condición corporal la respuesta de las ovejas a la suplementación con biocolina fue similar a la reportado por Davidson y col, (2008) quienes indicaron que la suplementación con 45 g/día de cloruro de colina* en vacas holstein en ordeño no causó variaciones en estos parámetros, posiblemente debido a la función de la colina como fosfatidilcolina para la formación de membranas y no como molécula donadora de grupos metilo. En otro estudio, Piepenbrink y Overton (2003), en vacas holstein no registraron diferencias administrando cloruro de colina+ a diferentes dosis (45, 60 y 75 g/día) desde 21 días antes del parto hasta el día 63 posparto. Por su parte, Zom y col, (2011), en vacas de la misma raza, encontraron que no se obtienen cambios en el peso y condición corporal con la suplementación de cloruro de colina+ a dosis de 60 g/día, ellos indican que esto se debe a que la energía necesaria para la producción de leche corregida en grasa es mayor en los animales que se encuentran suplementados que en los del grupo control, los animales suplementados con colina tuvieron un aumento en el CMS, sin embargo la producción de LCGP también aumentó, explicando la falta de un efecto en el peso corporal y la CC. Esto nos puede indicar que el gasto energético de las borregas suplementadas es mayor debido a un mayor requerimiento para la producción de leche, ya que durante el primer tercio de la lactancia, la producción alcanzará su pico más alto, sin embargo el consumo se ve limitado debido a que la capacidad ruminal se restablece poco a poco después del parto, obligando al animal a movilizar sus reservas energéticas, por ello no ganan peso ni recuperan su condición corporal de la misma forma que el grupo control (Piepenbrink y Overton, 2003).

*By Pass Choline®, American Calan Inc., Northwood, NH.

+ Reashure®, Balchem corporation, NY, USA.

5.2 Producción y composición de leche

La producción de leche, grasa, lactosa y SNG registró un incremento lineal en el grupo que recibió 4 g/día de colina herbal (Cuadro 8). Esto concuerda con Tsiplakou y col, (2016) quienes suplementando a ovejas del día 15 preparto al 60 posparto con 2.2 g de DL-metionina, 1 g de cloruro de colina y 0.30 g de betaína protegida de rumen, obtuvieron aumento significativo del porcentaje de grasa en leche, a pesar que este no se vio reflejado de manera significativa en la producción de grasa ni en la producción de leche corregida en grasa, sin embargo, se observó aumento de 22 g de grasa por día y 200 g de leche corregida en grasa en comparación con el grupo control; debido la incorporación de la colina como fosfatidilcolina y al uso de los aminoácidos, como fuente de energía para el ciclo de Krebs (Bionaz y col, 2012); en el cual se forma NADPH que se puede usar para la síntesis de grasa (Tsiplakou y col, 2016). Este efecto de la suplementación con colina difiere del registrado por Montoya-Aguirre y col, (2015) quienes evaluaron en bovinos holstein suplementados a partir del día 260 de gestación diferentes niveles de metionina* y colina+ indicando que la suplementación no genera efectos en la producción de leche, grasa y proteína, debido a la gran cantidad de rutas metabólicas que involucran a la metionina, lo cual hace que sea uno de los principales aminoácidos limitantes para la producción de leche, ya que a pesar de que exista una mayor disponibilidad a nivel intestinal, no se garantiza una mayor absorción. Baldi y col (2011) en un experimento con cabras suplementadas con 4 g de colina-, no registraron efecto sobre la producción de leche y la cantidad de grasa y proteína que esta contenía, sin embargo, mencionan el efecto de la colina para mejorar la movilización lipídica, indicando que sus resultados se obtuvieron de un número limitado de animales. Morales-López (2019) al evaluar la suplementación con biocolina° a 18 cabras durante el periodo de transición observó un aumento en la cantidad de leche producida y en la cantidad de grasa, proteína y lactosa atribuyendo el aumento de estos componentes de la leche al incremento de la

*Reashure®, Balchem corporation, NY, USA.

+Aminoshure®, Balchem corporation, NY, USA.

-Sta-chol®, KW Alternative foods, West Yorkshirre, UK.

°Biocholine Powder®, Nuproxa México, Querétaro, México.

producción debido a la función de la colina como fosfatidilcolina incorporándose a las VLDL´s para la movilización de grasas.

La diferencia en la producción de grasa y leche corregida en grasa en los animales suplementados con 4 g/día en el presente trabajo se puede atribuir a una mayor generación de VLDL´s a nivel intestinal y hepático debido a la fosfatidilcolina presente en el producto suplementado, lo cual genera la capacidad de transportar una mayor cantidad de triglicéridos que al momento de llegar a la glándula mamaria, por medio de la LPL, libera ácidos grasos los cuales entran a la célula por medio de difusión simple o mediante proteínas transportadoras, a estos se les añaden los AGNE´s que la glándula mamaria toma directamente de la circulación los cuales se encuentran en cantidades elevadas debido a la lipólisis que se lleva a cabo en el organismo por la mayor demanda de energía para la producción de la leche y lo anterior en la presente investigación se puede ver reflejado en que los animales suplementados no recuperaron la condición corporal de la misma forma que el grupo control. Por otro lado, se da la *síntesis de novo* de ácidos grasos en la glándula mamaria, la cual toma como sustrato los cuerpos cetónicos, generados por la saturación del hígado con AGNE´s los cuales mediante la β -oxidación generan Acetil CoA la cual; esta no puede ingresar al ciclo de Krebs por la falta de oxalacetato; el cual sale del ciclo para la glucogénesis; se condensa para formar acetoacetil CoA y en la mitocondria formar acetoacetato, BHB y acetona, los cuales son liberados al torrente sanguíneo y la glándula mamaria puede captarlos para la generación de ácidos grasos; el BHB será el precursor de un nuevo ácido graso y el acetato se usará para la elongación, esto favorece la producción de ácidos grasos de 6 a 14 carbonos. (Bauchart, 1993; Bauchart y col, 1996; Laguna y Piña, 2009; Martínez-Galindo, 2012; Martínez-Marín y col, 2010).

5.3 Perfil bioquímico

En cuanto a los componentes de la bioquímica sanguínea no hubo diferencia en ninguno de los tratamientos, lo cual es consistente con los resultados de Leiva y col, (2015) quienes en vacas holstein no obtuvieron diferencias en BHB ni glucosa

cuando suplementaron con 100 g de cloruro de colina* por día. En otro estudio realizado con vacas holstein Davidson y col, (2008) tampoco observaron un efecto en BHB, triglicéridos ni colesterol cuando suplementaron 40 g/día de cloruro de colina+ a bovinos holstein. Sin embargo, en otras pruebas al evaluar el efecto de la suplementación con colina se registró una disminución de los triglicéridos y la glucosa junto con un aumento en el BHB, un ejemplo es el estudio de Atkins y col, (1987) los cuales suplementando a bovinos Holstein una ración con 6g de cloruro de colina por kg de MS obtuvieron disminución de los triglicéridos plasmáticos en comparación con el grupo control; ese mismo efecto se demostró en el trabajo de Mohsen y col, (2011) en el que las vacas fueron suplementadas con 30 g/día de cloruro de colina presentaron menores cantidades de triglicéridos en el suero. En la presente evaluación, la disminución en la concentración de triglicéridos en los grupos suplementados se puede relacionar con la baja concentración de glucosa que también se presentó en estos grupos. Debido a la alta demanda de energía en la etapa de producción de leche, la glucosa en el suero es utilizada por diferentes órganos y gran parte de esa glucosa es utilizada por la glándula mamaria para la producción de lactosa, sin embargo, también tiene otra función que es la glucólisis con el fin de formar glicerol 3-fosfato y dihidroxiacetona-fosfato, ambas moléculas son precursoras de los triglicéridos, ya que forman el glicerol donde se esterifican los AGNE's que se están formando por la *síntesis de novo*, además de los AGNE's que son captados del suero y los que son transportados en las VLDL's. Por ello, al ser la glándula mamaria el órgano con mayor demanda de glucosa, utiliza la mayor parte de este metabolito dejando cantidades limitadas para el hígado con lo cual, no puede formar las suficientes cantidades de glicerol 3-fosfato y dihidroxiacetona-fosfato para la formación de triglicéridos, por ello la cantidad de estos en el suero es menor que en el grupo control, además el hígado al no poder formar triglicéridos para su exportación en VLDL's los ácidos grasos se acumulan entrando en la β -oxidación, debido a la demanda de energía por el animal, generando Acetil-CoA la cual no entra al ciclo de Krebs por la salida del oxalacetato para la glucogénesis, por lo tanto se va hacia la formación de cuerpos cetónicos

*CholiPearl® 18.8%, Kemin industries, Iowa, USA.

+By Pass Choline® American Calan Inc., Northwood, NH.

aumentando la cantidad de estos en el suero (Figura 11) (Bauchart, 1992; Martínez-Marín y col, 2010).

En cuanto al BHB en la presente evaluación los niveles de los grupos suplementados fueron mayores en comparación con el grupo control, esto es consistente con el estudio de Leiva y col (2015) quienes al suplementar vacas Holstein del día 21 antes del parto hasta el 45 posparto con 15 g de metionina y 15 g de colina protegida de rumen registraron que el nivel de BHB fue mayor en el grupo suplementado con respecto al grupo control. Esto de acuerdo con Duque-Quintero y col (2011) puede deberse a una mayor acumulación de ácidos grasos en el hígado debido a una mayor necesidad de glucosa en la glándula mamaria lo cual deja con una baja capacidad de formar la molécula precursora para la formación de triglicéridos, además de estimular la glucogénesis a partir del oxalacetato, lo cual genera que la Acetil-CoA formada por la β -oxidación genere cuerpos cetónicos y con ello el BHB en el suero aumente.

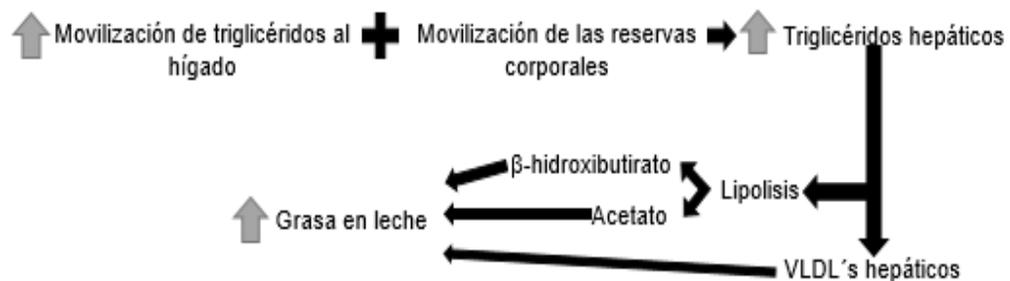


Figura 11. Metabolismo de los lípidos para la formación de grasa en leche

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones de la presente investigación el grupo que recibió 4 g de biocolina por día registró incremento en la producción de leche, así como en la producción de proteína, lactosa, grasa y solidos no grasos, además de una tendencia cuadrática hacia la disminución de triglicéridos en suero.

Referencias

- Atkins KB, Erdman RA, Vandersall JH. Dietary choline effects on milk yield and duodenal choline Flow in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1987; 71(1): 109-116.
- Baldi A, Bruckmaier R, D'Ambrosio F, Campagnoli A, Pecorini C, Rebutti R, et al. Rumen-protected choline supplementation in periparturient dairy goats: effects on liver and mammary gland. *J Agric Sci.* 2011; 149(05): 655-661.
- Baldi A, Pinotti L. Choline metabolism in high-producing dairy cows: Metabolic and nutritional basis. *Can J Anim Sci.* 2006; 86(2): 207-212.
- Bauchart D. Lipid absorption and transport in ruminants. *J Dairy Sci.* 1993; 76(12): 3864-3881.
- Bauchart D, Gruffat D, Durand D. Lipid absorption and hepatic metabolism in ruminants. *Proc Nutr Soc.* 1996; 55(1B): 39-47.
- Bionaz M, Periasamy K, Rodriguez-Zas SL, Lewin RE, Hurley WL, Looor JJ. Old and new stories: revelation from functional analysis of the bovine mammary transcriptome during the lactation cycle. *PLoS ONE.* 2012; 7(3): 1-14.
- Bondi AA. *Nutrición animal.* Zaragoza, España: Acribia; 1989.
- Caballero CS, Villa GA. *Fisiología veterinaria e introducción a la fisiología de los procesos productivos.* México D.F, México: Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2010.
- Cal-Pereyra L, Acosta-Dibarrat J, Benech A, Silva S, Martin A, González-Montaña JR. Ewe pregnancy toxemia. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2012; 3(2): 247-264.
- Castillo-Martínez E (Ayuntamiento constitucional de Jilotepec, Estado de México, México). *Plan de desarrollo municipal 2013 – 2015.* Dirección de planeación; 2013.
- Cheeke PR, Dierenfeld ES. *Comparative animal nutrition and metabolism.* Londres, Reino unido: CABI; 2010.

- Church CD. El rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza, España: Acribia; 1993.
- Cortijo-Gorriño BP. Ingesta de colina, implicaciones en la salud. (Tesis de licenciatura). Madrid (España): Universidad complutense; 2015.
- Davidson S, Hopkins BA, Odle J, Brownie C, Fellner V, Whitlow LW. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2008; 91(4): 1552-1559.
- Dryden, Gordon ML. Animal nutrition science. Oxfordshire, UK: CABI, 2008.
- Ducoing WAM. Introducción a la estadística. México D.F, México: Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2009.
- Duque-Quintero M, Olivera M, Rosero-Noguera R. Protected fat supplementation and energy metabolism in cows during early lactation. *Rev Col Cienc Pecu.* 2011; 24(1): 74- 82.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Anatomía veterinaria. 4° edición, México D.F, México: El Manual Moderno; 2011.
- Erasmus JL, Botha PM, Kistner A. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen Flow in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1992; 75(11): 3056-3065.
- FAO. 2017. [citado el 25 de agosto de 2019] En FAOSTAT-base de datos ganadería [Internet]. Roma, Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data>
- FAO. 2018. Pequeños rumiantes. [citado el 19 mayo de 2018) En Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [Internet]. Roma. Italia. Disponible en <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/productiondairy-animals/productiondairy-animals-small-ruminants/es/>

FEDNA. Fuentes de colina. [citado el 21 de mayo de 2019] En Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal [Internet]. Madrid, España. Disponible en http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/fuentes-de-colina

Fernández-Roig S, Contribución de la colina y la betaína al metabolismo de la homocisteína durante la gestación. [Tesis de Doctorado]. Reus (España): Universitat Rovira I Virgili; 2012

Gurr MI, Harwood JL, Frayn KN, Murphy DJ, Michell RH. Lipids: Biochemistry, biotechnology and health. 6° edición. Oxford, Reino Unido: Wiley Blackwell; 2016.

Guretzky NA, Carlson DB, Garrett JE, Drackley JK. Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 2006; 89(1): 188-200.

Koolman J, Röhm KH. Bioquímica texto y atlas. 3° edición. Madrid, España: Panamericana; 2004.

Koster JD, Opstomer G. Insulin resistance in dairy cows. *Vet Clin Food Anim.* 2013. 29(2): 299-322.

Laguna J, Piña E. Bioquímica de Laguna y Piña. 6° edición. México D.F, México: El Manual moderno; 2009.

Leiva T, Cooke RF, Brandao AP, Marques RS, Vasconcelos JL. Effects of rumen-protected choline supplementation on metabolic and performance responses of transition dairy cows. *J Anim Sci.* 2015; 93(4): 1896-1904.

Martínez-Galindo LA. Efecto del nivel de colina protegida del rumen en el desempeño y características de la canal de corderos de engorda. [Tesis de Maestría] Nuevo León (México): Universidad Autónoma de Nuevo León; 2012.

Martínez-Marín AL, Pérez-Hernández M, Pérez-Alba L, Gómez Castro G, Carrión-Pardo D. Lipid metabolism in ruminants. *REDVET.* 2010; 11(8): 1-21.

Mckee T, Mckee J. Bioquímica la base molecular de la vida. 3° edición. Madrid, España: Mc Graw Hill; 2003.

Menor-Salván C. Entre la esclerosis múltiple y el origen de la vida. 2016 2 de agosto [citado el 16 de abril de 2019]. En: Fotomicrografía y divulgación en astrobiología, bioquímica y ciencias de la tierra [Internet]. Alcalá de Henares: Universidad de Alcalá. Disponible en: <http://espiadellabo.com/2016/08/tpmt-y-origen-de-la-vida/>.

Mohsen MK, Gaafar HMA, Khalafalla MM, Shitta AA, Yousif AM. Effect of rumen protected choline supplementation on digestibility, rumen activity and milk yield in lactating Friesian cows. Czech J Anim Sci. 2011; 44(1): 13-20.

Montoya_Aguirre JA, Correa-Cardona HJ, Galvis-Gómez RD. Effect of choline and methionine protected on intake, lipid mobilization, production and composition of milk in Holstein cows. CES MVZ. 2015; 10(2): 179-192.

Morales-López AL. Suplementación con colina herbal: efecto sobre el comportamiento productivo de cabras lecheras durante el periodo de transición. [Tesis de maestría] CDMX (México): Universidad Autónoma Metropolitana; 2019.

Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harper bioquímica ilustrada. 29° edición. México D.F, México: McGraw-Hill Interamericana, 2013.

National Research Council. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goat, cervids and new world camelids. Washington, Estados Unidos de America: The National Academies Press; 2007.

Pérez-Rocha J. Producción de leche de oveja y su valor agregado. 2010 22 de noviembre [citado el 14 de junio de 2018] En: Sistema producto ovinos [Internet]. México D.F, México. Disponible en http://spo.uno.org.mx/wp-content/uploads/2011/07/jprm_producciondelecheyvaloragregado.pdf

Piepenbrink MS; Overton TR. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 2003; 86(5): 1722-1733.

Pinotti L, Baldi A, Dell'Orto V. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. *Nutr Res Rev.* 2002; 15(2): 315-332.

Russel AJF, Doney JM, Gunn RG. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci.* 1969; 72(3): 451-454.

SADER. Querétaro reconocido por su producción de quesos de alta calidad internacional. 2012 17 de mayo [citado el 14 de junio de 2018] En Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [Internet]. México D.F, México. Disponible en http://www.sicde.gob.mx/portal/bin/nota.php?from=20&accion=buscar&subrutina=pagina_1&column=2&busqueda=&orderBy=Notas.MedioComunicacion&order=ASC¬ald=12781243924fb5bbd49fdb2

SAGARPA. Plan rector sistema producto ovinos (2015-2024). [Citado el 14 de junio de 2018] En Sistema producto ovinos [Internet]. http://spo.uno.org.mx/wp-content/uploads/2016/05/plan_rector_ovinos2016.pdf.pdf

Sales J, Homolka P, Koukolová V. Effect of dietary rumen-protected choline on milk production of dairy cows: a meta-analysis. *J Dairy Sci.* 2010; 93(8): 3746-3754.

Tsiplakou E, Mavrommatis A, Kalogeropoulos T, Chatzikonstantinou M, Koutsouli P, Sotirakoglou K, et al. The effect of dietary supplementation with rumen-protected methionine alone or in combination with rumen-protected choline and betaine on sheep milk and antioxidant capacity. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2016; 101(5): 1004-1013.

Zom RL, Van Baal J, Goselink RM, Bakker JA, de Veth MJ, Van Vuuren AM. Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2011; 94(8): 4016-4027.