



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**Inducción Experimental de Casos
de Aborto en Ganado Bovino por
la Ingestión de Nitratos y Nitritos**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

JOSE MANUEL ZERMEÑO IBARRA

ASESORES: M.V.Z. M. Sc.
M.V.Z.
M.V.Z.

RENE ROSILES MARTINEZ
TOMAS GAYTAN GARCIA
HUMBERTO RENDON F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

A MIS PADRES

SR. SALVADOR ZERMEÑO CABRERO

y

SRA. BEATRIZ IBARRA DE ZERMEÑO

Con todo cariño y eterno agradecimiento, por todo lo que han hecho por mí y a quien les debo lo que soy.

A mi hermano Salvador.
Con todo cariño y agradecimiento, que por tu ejemplo y ayuda te debo también lo que soy.

A mis hermanos y hermanos políticos.
Jorge y Flora, Beatriz y Jorge, Ana Elena y Alvaro y Martha Alejandra.
Con todo cariño y agradecimiento por todo lo que he recibido.

A mi novia Eugenia.
Con tu cariño, comprensión y ejemplo me has ayudado a seguir adelante.

Al Señor y Señora
José Antonio García Jimeno
Carmen Alcocer de García y familia.
Con agradecimiento por todas las atenciones recibidas, durante estos 12 años de amistad.

A mis familiares.

A los Médicos Veterinarios Zootecnistas.

Jorge C. Eversbusch Grauert.
Luis Jaramillo Bolaños
Adolfo Zermeño Pöhls.

Con toda admiración por haberme
indicado y guiado el camino du-
rante la carrera y la profesión.

A mis compañeros y amigos de trabajo
de la Central de Servicios Médicos -
Veterinarios del C.A.I.T.

A los Señores y Señora.

Lic. Christian Jean, SJ.
Lic. Jorge Vertiz Campero, SJ.
Psic. María Teresa Lartigue

Que me ayudaron a forjarme una profesión.

A MIS ASESORES.

M.V.Z. TOMAS GAYTAN GARCIA

M.V.Z. RENE ROSILES MARTINEZ, M.Sc.

M.V.Z. HUMBERTO RENDON FERNANDEZ.

Con gratitud ya que sin su colabora
ción no hubiera sido posible la rea
lización de este trabajo.

A TODOS LOS PROFESORES QUE
TUVE EN MI ESCOLARIDAD.

A MI FACULTAD
CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO

A TODOS LOS PROFESORES QUE
TUVE EN MI ESCOLARIDAD.

A MI FACULTAD
CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en los Establos de Capacitación y Experimentación de Prodel en la Cuenca Lechera de Tizayuca, Hgo., bajo el financiamiento del Fideicomiso " Fondo del Programa Descentralización de las Explotaciones-Lecheras del Distrito Federal " .

El autor desea hacer patente su reconocimiento a la colaboración de los MVZ. Tomás Gaytán García, René Rósiles Martínez M.Sc., Humberto Rendón Fernández y Robert Elliot, Ph. D. que sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de éste trabajo.

Las determinaciones de nitratos y nitritos en el forraje y líquido ruminal, y metahemoglobinemia fueron realizados en el Departamento de Toxicología del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Medicina Veterinaria y -- Zootecnia de la U.N.A.M. por los M.V.Z. René Rósiles Martínez, Alicia Pérez Hernández y la Q.F.B. María Teresa Leal Ascencio.

Los análisis bacteriológicos y serológicos, se realizaron en el Departamento de Bacteriología y Micología de dicha Facultad por los P.M.V.Z. José Ríos Vargas y Ana Leticia Romo García.

Los análisis de nitratos y nitritos en el forraje fueron realizados en el Laboratorio de Nutrición de dicha Facultad por la Q.F.B. María Ofelia González Meza.

El trabajo de mecanografía fué realizado por la Srita. Irma Rojas Casasola.

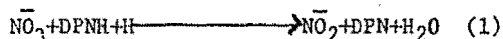
I N D I C E

	Págs.
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	14
DISCUSION	22
CONCLUSIONES	30
RESUMEN	31
BIBLIOGRAFIA	32

I. INTRODUCCION

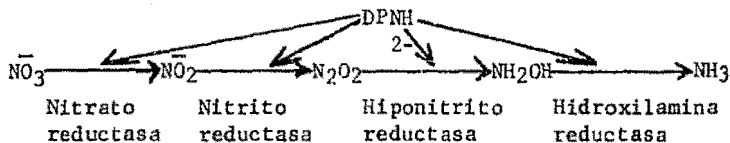
En los últimos años el creciente uso de la fertilización nitrogenada, altas densidades vegetales, cultivos precoces y otras prácticas agrícolas tendientes a elevar el rendimiento de los cultivos provocan un incremento en la concentración de NO_3^- (Case, 1957; Crawford, 1966; Blood y Henderson, 1969; Anónimo, 1972; Buck, 1973; Neumann, 1977).

Los nitratos son importantes para las plantas ya que ésta es la forma más importante en que las raíces absorben el N del suelo (Brill, 1977). El ion NO_3^- es la forma más abundante de nitrógeno en el suelo, para que las plantas puedan incorporar el nitrógeno inorgánico a compuestos orgánicos, deben primero reducir el NO_3^- a NH_3 por medio de los siguientes pasos:



La reacción (1) es catalizada por la enzima nitrato reductasa y como fuente de electrones para el proceso reductivo se emplea el piridín nucleótido reducidos. Estas enzimas son flavoproteínas que requieren como cofactores el FAD y el molibdeno, que se reducen durante la reacción.

Aparentemente el proceso de reducción se repite a través de los intermedios hiponitrito e hidroxilamina hasta NH_3

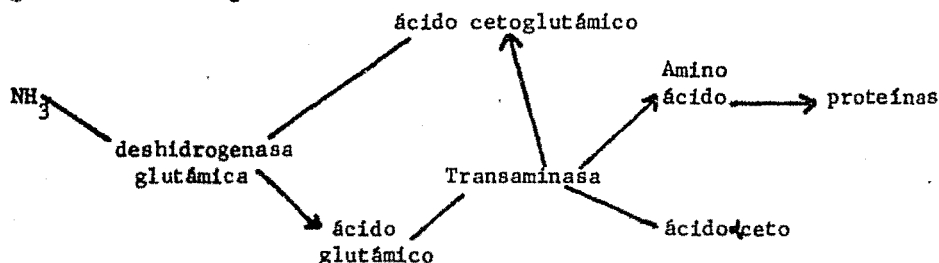


Cada reacción implica la adición de 2 electrones al átomo de nitrógeno suministrado por el piridín nucleótido reducido. Cada enzima requiere como cofactores, Flavín nucleótidos y metales.

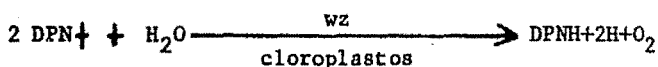
La molécula de NH_3 no puede acumularse en gran cantidad en la savia vegetal.

El NH_3 se incorpora a los compuestos nitrogenados orgánicos a través del ácido glutámico, el carbamil fosfato o en la formación de amidas.

La reacción con el ácido glutámico parece ser la más importante. Esta reacción es un puente entre los intermediarios de ácido carboxílico y el ácido glutámico como sigue:



Los piridín nucleótidos pueden ser reducidos por el agua en presencia de los cloroplastos y la luz por medio de la reacción de Hill (Conn y Stumpf, 1968).



De esta forma resalta el hecho de que el proceso de reducción del NO_3^- y su incorporación final a compuestos nitrogenados orgánicos depende de la actividad fotosintética de la planta.

Los nitratos llegan a concentrarse en ciertas cosechas debido a que la raíz continúa absorbiendo nitrógeno, independientemente dicha actividad, en la planta. Entre los factores climáticos más importantes que provocan esta acumulación se encuentran:

1. Concentración y forma del nitrógeno en el suelo (Simon, 1959 A; Friedman y Shibko, 1969)
2. Condiciones de sequía o cualquier otro factor que reduzca el crecimiento (Anónimo, 1972)
3. Nublazón excesiva (Anónimo, 1972)
4. Alta densidad vegetal (Neumann, 1977)
5. Estado de madurez de la planta (Anónimo, 1972)

Garner, (1970) y Neumann, (1977) mencionan los principales cultivos en los

que se suelen encontrar altos niveles de NO_3^- . Entre los más importantes - se destacan la avena, el maíz, cebada y las variedades de los sorgos (Davison, 1965; Blood - Henderson, 1969; Sippel, 1970; Murdock, Hodgson y Baker, 1972; Foster, 1977; Hutjens, 1977).

- Durante varios años se han realizado estudios sobre la intoxicación por ni tratos en bovinos en virtud de una gran incidencia de casos de intoxica -- ción que se reporta (Prewitt, 1958). Esta intoxicación es debida a la - reducción del NO_3^- a NO_2^- por las bacterias del rumen (Eppson, 1960), con la subsecuente absorción de los nitratos a la circulación (Asbury, 1964). El nitrato ingerido en condiciones normales se reduce a nitrito y posterior -- mente a amoníaco por las enzimas de la flora ruminal (Annison y Lewis, 1966; NRC, 1976). Este proceso depende de la concentración de energía en - el rumen (Annison y Lewis, 1966) ya que la tasa de reducción está directa -- mente relacionada con el ritmo metabólico de la población total microbiana (James, Allison, Littledike, 1975). Sin embargo, parece ser que por arri -- ba de una determinada concentración de NO_3^- , la reducción de NO_2^- a amoní -- co llega a su límite, y en consecuencia el NO_2^- se acumula (Garner, 1970). No obstante, debe tenerse presente que el rumen posee una capacidad bastan -- te considerable para asimilar materias nitrogenadas simples (Hungate, 1969). El grado al que pueden desarrollar esta capacidad depende de que el rumian -- te sea suplido con los nutrientes requeridos por la flora r -- uminal, además de carbohidratos digestibles y nitrógeno asimilable (Eppson, 1960; Hungate, 1969). El amoníaco es el principal nutriente nitrogenado para el creci -- miento de los microbios ruminales (Winter, 1962; Hungate, 1969; Chalmers, 1971; Chalupa, 1972; NRC, 1976).

El nitrógeno amoniacal se incorpora a las células microbianas para formar proteína microbiana y de estas pasa a la de los protozoarios (Chalmers, - 1972).

Los microorganismos ruminales producen enzimas que hidrolizan el nitrógeno no protéico de la ración para producir amoníaco. Asimismo, existe una hidrólisis enzimática simultánea de los complejos carbohidratados dietarios para producir esqueletos de carbón, que se combinan con el amoníaco para formar aminoácidos y proteínas (NRC, 1976).

La mayor parte de las bacterias ruminales prefieren el nitrógeno amoniacal al que es proporcionado por los péptidos (Chalmers, 1971; NRC 1976), lo que sugiere que algo de nitrógeno no protéico en la ración es deseable para mantener un microflora ruminal viable (NRC, 1976).

Cuando los nitritos llegan a acumularse en el rumen y son absorbidos a la circulación sanguínea, provocan la reducción de hemoglobina a metahemoglobina (Simon, 1958; Diven, 1962; Blood y Henderson, 1969; Anónimo, 1972; - Buck, 1973). El resultado es una anoxia tisular, debido a que la hemoglobina no puede transportar el oxígeno a los tejidos que irriga (Winter, -- 1962; Asbury, 1964; Buck, 1973).

Garner, (1970) considera de mayor importancia los efectos vasodilatadores del ión nitrato, junto con una disminución de la presión sanguínea, aún -- cuando los niveles de metahemoglobina no sean muy elevados. El nivel crítico de metahemoglobina es alrededor del 70 al 90% en el ganado vacuno - - (Eppson, 1960; Blood y Henderson, 1969). El nivel máximo de metahemoglobina en esta especie ocurre cerca de 5 hrs. después de la ingestión de -- alimentos que contengan nitratos (Simon 1959 A; Jainudeen, 1964; Blood y - Henderson 1969).

Los signos clínicos que se presentan debido a la intoxicación por nitratos son:

disnea aguda, temblor muscular (Case, 1957; Blood-Henderson, 1969), pulso rápido, diarrea, ataxia, orina coloreada, debilidad (Garner, 1970; Anónimo

1972), incoordinación muscular, cianosis progresiva, despigmentación de la médula ósea (Davison, 1963; Blood y Henderson, 1969; Garner, 1970; Anónimo 1972), temperatura corporal normal (Blood y Henderson, 1969), salivación vómito, intolerancia al ejercicio (Buck, 1973), lágrimeo (Asbury, 1964) poliuria (Davison, 1964) y finalmente, puede ocurrir la muerte (Simon -- 1959; Davison, 1963; Jainudeen, 1964; Garner, 1970); A las 12 ó 14 hrs. -- después de haber ingerido la planta con niveles altos de NO_2 , aunque el envenenamiento agudo puede ser aún más corto, sin ni siquiera aparecer signos clínicos (Blood y Henderson , 1969; Buck, 1973).

Los cambios patológicos que se pueden observar a la necropsia son: la sangre de color café pardo y la coagulación retardada, petequias en el corazón y -- tráquea; congestión vascular en el rumen y abomaso (Blood y Henderson, 1969) gastroenteritis (Case, 1957, Blood y Henderson, 1969; Anónimo, 1972), ligera necrosis, nefritis hemorrágica (Case, 1957).

En el caso de las hembras gestantes de acuerdo con Simon (1959, a), la anoxia resultante de la metahemoglobinemia, provoca cambios vasculares en la -- placenta e interfiere con el intercambio entre la sangre fetal y la materna, provocando la muerte del feto por falta de O_2 y el aborto.

Los cambios patológicos observados a la necropsia en los fetos abortados, -- son: atelectasia (Davison, 1964), abomasitis (Simon, 1959 A) hemorragia perianal, marcada degeneración de los huesos del feto y lesiones necróticas en el área intercotiledonaria de la membrana fetal (Simon, 1958).

De acuerdo con Simon, (1959) los animales que abortaron, no mostraron distención de la glándula mamaria, descarga vaginal u otros signos de aborto, y la prevalencia de retención placentaria en los animales abortados fue baja (Si mon, 1958).

Diversos autores han encontrado casos de aborto por la ingestión de NO_3^- , - (Muher, 1956; Sund et-al, 1957 (citados por NRC, 1968); Case, 1957; Simon, 1959 A y B; Davison, 1965; NRC, 1968; Garner, 1970; Sippel, 1970; Anónimo -- 1972; Buck, 1973, Hutjens, 1977).

Sin embargo algunos autores consideran que los problemas de aborto son poco probable que ocurran por la ingestión de nitratos per se (Case, 1957, Simon 1959; Eppson, 1960; Crawford, 1966; Maynard y Loosli, 1969; Roberts 1971; -- Hillman, Huber y Emery, 1973).

No obstante, es importante recordar que el ión NO_3^- es un compuesto que interfiere con el metabolismo de la vitamina A en los rumiantes (Zintzen, 1972).

La deficiencia de vitamina A en animales gestantes está ampliamente reconocido que provoca aborto (NRC, 1968; Maynard y Loosli, 1969; Zintzen, 1972).

La vitamina A es destruida por oxidación y el nitrato es un agente oxidante, que en unión con el nitrito podría resultar en la destrucción de la vitamina A (Mitchell, 1967). Se han realizado varios experimentos para determinar - los efectos detrimentales de la vitamina A causados por la intoxicación de los nitratos (Weinental, 1963; Davison, 1964; Goodrich, 1964).

Sin embargo no se ha determinado el mecanismo por el que el nitrato interfiere en el metabolismo de vitamina A, ya que aunque se reconoce que el consumo de cantidades subletales de nitratos provocan deficiencia de vitamina A (Case, 1957; Davison, 1963), no hay indicios que el nitrato interfiera en la -- utilización de la vitamina A en los tejidos animales (Davison 1965) ó en - el caroteno de las plantas (Weinental , 1963). Aunque no se ha aclarado la forma por lo que NO_3^- interfiere en el metabolismo de la vitamina A, existen evidencias suficientes del antagonismo estan estos dos compuestos.

La intoxicación por NO_3^- , aunque ha sido extensivamente estudiada, esta lejos de ser aclarada en todas sus partes y continúa siendo un campo activo de in-

- investigación, especialmente en lo que se refiere a la interrelación con otros nutrientes como la vitamina A.

En el año de 1976, en el Centro de Recría de Tepetzotlán, Edo. de México, se presentaron 90 casos de abortos en vaquillas, cuya etiología se atribuyó a una elevada ingestión de nitratos y nitritos y una probable deficiencia de vitamina A (Queijeiro, 1977) .

En el transcurso del año de 1977, en el C.A.I.T. se presentaron 100 casos de abortos en diferentes establos, en una población de 8,000 animales. La mayor parte de las vacas que abortaron no manifestaron signos clínicos aparentes de ninguna enfermedad y la mayoría de éstos corresponden a vacas que tenían de 3 a 6 meses de gestación.

Los fetos abortados se recuperaron para practicarles la necropsia correspondiente solo en algunos de ellos se encontró aparente cianosis. Los análisis realizados por el laboratorio, fueron negativos a Brucelosis y Leptospirosis, habiendo solamente un caso positivo a Rinotraqueítis viral bovina (IBR). En los demás casos solamente se encontraron niveles muy bajos de micotoxinas (0.010 a 0.015 ppm en hígado fresco) (Cárdenas, - J; Zermeño, J. M., 1977, datos inéditos).

El Distrito de Riego 03 (Mixquiahuala, Hgo.) está ubicada a 65 km. de Tizayuca, en donde el principal forraje que se cultiva es la alfalfa, y el Distrito de Riego 88 (Chiconautla, Edo de México), está ubicado a 29 km. de Tizayuca, especializado en la producción de maíz forrajero, de donde se abastece de forrajes el C.A.I.T. Ambos Distritos son regados con -- aguas negras provenientes del Distrito Federal. Adicionalmente se lleva a cabo un programa de fertilización a base de sulfato de amonio (450 kg/ha) y superfosfato de calcio (90 kg/ha), con objeto de lograr mejores rendimientos en el caso del forraje de maíz (Programa Descentralización de -- las Explotaciones Lecheras del Distrito Federal, Programa de Organización de Productores, 1977 datos inéditos).

Algunos de estos forrajes, como la alfalfa verde y el ensilaje de maíz procedentes de esta zona, se han venido analizando tanto por el método de difenilamina (Coles, 1968) como el de la A.O.A.C (1975) y los resultados muestran niveles elevados de nitratos y nitritos como aparece en el cuadro I.1.

CUADRO I.1.

DETERMINACIONES CUANTITATIVAS DE NO_3^- Y NO_2^- DE ENSILAJE DE MAÍZ Y AVENA CONSUMIDA EN EL C.A.I.T ^{1/}

Forraje	$\text{NO}_3\%$ Base Nat.	$\text{NO}_2\%$ Base Nat.	Equivalente a NO_3 en % de materia seca ^{2/}
Ensilaje de Maíz	200	54.23	0.125
Avena Verde	80	36.92	0.092

^{1/} Gaytán, T; Zermeño, J.M. 1977, datos inéditos Complejo Agropecuario - Industrial de Tizayuca, Hgo.

^{2/} Este equivalente resulta de multiplicar el NO_2 por 1.35 (Anónimo, - 1972).

De los datos anteriormente expuestos, se concluye que los animales del -- C.A.I.T. consumen raciones potencialmente tóxicas, sin que a la fecha hayan sufrido signos clínicos marcados por intoxicación de nitratos y nitritos siendo la única manifestación que se ha encontrado en los abortos de -- esos animales.

Cabe destacar que la incidencia de abortos sobre el total de los animales expuestos es relativamente baja, siendo inferior al 2% de las vacas susceptibles.

No obstante, en virtud que el C.A.I.T. manejará un número mayor de animales que pueden padecer de este problema se hace necesario investigar el efecto de la fertilización nitrogenada en los campos de cultivo y el efecto de los niveles de nitratos y nitritos en la ración de los animales.

El propósito del presente trabajo consiste en corroborar si los NO_3 y NO_2 - pueden inducir el aborto en el ganado, sin que concurra la presentación de signos clínicos.

II. MATERIAL Y METODOS

- Para la realización de este estudio se utilizaron 12 vacas con gestación de 3 a 6 meses, que tenían antecedentes de problemas reproductivos pero que -- nunca sufrieron de aborto previamente, cuya identificación aparece en el -- cuadro II. 1.

Estos animales fueron alojados en un corral colectivo, y se identificaron individualmente por medio de un arete y cinta de color. Al inicio del ex - perimento se diagnosticó la gestación en todos los animales y recibieron - 2.5 millones de U.I de vitamina A (Vigantol, Bayer), y se secaron. Al -- inicio y al final del experimento, todos los animales se pesaron individual mente en condiciones de 24 hrs. de ayuno y 12 hrs. sin agua de bebida.

Todos los animales recibieron una alimentación a base de ensilaje de maíz a libre acceso durante todo el experimento, ya que en este forraje se en - cuentran cantidades relativamente uniformes de nitratos. Se concedió un pe - riodo de adaptación de 15 días y posteriormente se dividieron al azar en - tres grupos de cuatro vacas cada uno, de acuerdo como aparece en el cuadro II. 2.

El lote A se consideró como testigo, el cual consumió únicamente el NO_3 con - tenido en el ensilaje. A los lotes B y C se les administró por vía oral - forzada las cantidades de Na NO_3 que aparecen en el cuadro II. 2.

El Na NO_3 (grado reactivo analítico, J.T. Baker) se diluyó previamente en agua destilada a razón 600 g/litro para facilitar la dosificación.

CUADRO II. 1
IDENTIFICACION DE LAS VACAS UTILIZADAS EN EL EXPERIMENTO

ARETE	PERIODO DE GESTACION EN DIAS AL INICIO DEL EXPERIMENTO	PESO INICIAL EN KG.
194	143	535
273	135	525
278	94	549
288	69	525
296	141	498
1365	143	521
1747	127	452
2218	108	483
3427	140	549
3831	105	512
4031	135	570
4087	120	474

CUADRO II. 2

DISEÑO EXPERIMENTAL

DIAS DE EXPERIMENTACION	Nº ADMINISTRACIONES DE Na NO ₃	DOSIS DE Na NO ₃ EN mg/kg. P.V ADICIONAL		
		A	B	C
1-15	-	-	-	-
16	I	-	100	200
20	II	-	200	300
23	III	-	300	400
27	IV	-	400	500
30	V	-	500	600

- Dos horas después de administrar cada dosis, se obtuvo una muestra de sangre de la vena yugular utilizando como anticoagulante EDTA (Jainudeen, 1964; Davison, 1965), al mismo tiempo se procedió a observar la coloración de la -- sangre y se realizó la prueba de difenilamina (Houscholder, 1966; Coles, 1968) poniendo una gota de sangre en una caja de petri y una gota de reactivo para determinar el cambio de color en la misma. Las muestras de sangre se conservaron en refrigeración para posteriormente determinar colorimétricamente me--tahemoglobina de acuerdo con el método de Clinical Laboratory (1970).
- El día 27 del experimento, se procedió a tomar una muestra de líquido rumi--nal de todos los animales por medio de una sonda estomacal para determinar - la cantidad de nitratos y nitritos utilizando el método de Saltzman (1954) y el pH por medio de un potenciómetro electrónico (Corning Digital, 109).
- Durante los 32 días del experimento se observó diariamente el estado general de las vacas y se determinaron las constantes fisiológicas cuando se presentó algún cambio significativo en algún animal.

En los casos de aborto, se realizaron los análisis bacteriológicos y seroló--gicos de laboratorio, utilizando los medios de gelosa sangre, Mc. Conkey y - verde brillante.

Asimismo se realizaron las tinciones de Gram y Macchiavello (tinción elemen--tal para IBR) en los tejidos del feto. Se llevaron a cabo las pruebas sero--lógicas para descartar las posibilidades de aborto para Brucella (Huddlesson, Card Test), Leptospirosis (por medio de pool 1; pool 2; pool 3), Rinotraquei--tis viral bovina (IBR) por medio de la prueba de fijación de complemento, Leptospirosis por la prueba de aglutinación, además de la necropsia de los - fetos abortados para la observación de cambios patológicos aparentes.

- Diariamente se recolectaron muestras del ensilaje de maíz y se conservaron en refrigeración a 5 grados centígrados para acumularse como muestras compuestas para la determinación semanal de nitratos y nitritos por el método de la A.O.A.C. (1975), al mismo tiempo se determinó las micotoxinas que se encontraron en el ensilaje de maíz por el método de Stoloff (1971). La materia seca (MS) del ensilado se determinó diariamente usando un horno de resistencias a 100°C durante 24 hrs. La muestra seca se utilizó para realizar un análisis bromatológico completo por el método de la A.O.A.C. - (1975).

La diferencias entre los promedios se analizaron estadísticamente por el método de la "t" de Student (Spiegel, 1961).

III. RESULTADOS.

El consumo voluntario de ensilaje de maíz durante el período de adaptación y en el transcurso del experimento aparece en el cuadro III.1
Los resultados del análisis bromatológico de dicho ensilado figuran en el cuadro III.2

CUADRO III. 1

RESULTADOS DEL CONSUMO DE ENSILAJE DE MAÍZ DURANTE
LA ADAPTACION Y EL EXPERIMENTO

PERIODO	CONSUMO DE m.s. EN X EN KG/VACA/DIA.	$\bar{N}O_3$ EN % DE m.s.
Adaptación	7.31	.036
Experimento	7.59	.059

Los cambios del peso corporal de las vacas antes y después del experimento aparece en el cuadro III. 3 . En él se apreciaba que hubo una gran variación en la ganancia diaria de peso (GDP) entre los diferentes lotes. Los casos más notorios fueron la vaca 4087 del lote B que tuvo una pérdida de 34 kg. durante los 32 días del experimento, sin embargo no se encontraron diferencias significativas a un nivel de $p < 0.05$ en la ganancia de peso diario promedio entre los grupos.

CUADRO III. 2

ANALISIS BROMATOLOGICO DEL ENSILAJE DE MAIZ

Materia seca		22.66
Proteína cruda (N x 6.25) %	*	6.60
Extracto etéreo %	*	2.93
Cenizas	*	7.80
Fibra cruda	*	33.28
Extracto libre de nitrógeno	*	49.39
TND estimado	*/**	62.61
Calcio	*	1.30
Fósforo	*	0.11

* / Datos en base de materia seca (en porcentaje)

** / Estimación realizada utilizando la fórmula de Schneider y Flatt (1975).

CUADRO III. 3

CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL DE LAS VACAS ANTES Y
DESPUES DEL EXPERIMENTO

Lotes	A	B	C
Nº animales	4	4	4
Peso inicial / promedio	518.8	502.3	527.8
Peso final / promedio	519.0	492.0	513.3
G.D.P. <u>1</u> / kg.	0.008 ^a	- 0.320 ^a	-0.438 ^a

^a Valor en el mismo renglón con diferente literal difieren significativamente al nivel $p < 0.05$

1/ Ganancia diaria promedio.

- Las cantidades de nitratos administradas a las vacas de los lotes A, B, y C. aparecen en el cuadro III.4 Puede notarse que la cantidad de nitratos suministrado a las vacas crece proporcionalmente al expresarse en mg/ kg de P.V., sin embargo, existen variaciones al expresarse en base a la concentración total en la materia seca consumida.

- Los signos clínicos aparentes que se observaron en los animales figuran en el cuadro III.5. Entre lo más significativo de estos signos, se encuentra, en primer lugar, el cambio de la coloración de la sangre, ya que mientras en las vacas testigo la coloración de la sangre se mantuvo de un color rojo brillante, en los lotes B y C, esta coloración varió significativamente tomando un color rojo oscuro a las 2 horas después de haber administrado cada dosis en todos los animales expuestos. La sialorrea, poliuria, tremor muscular y la diarrea fueron observados aproximadamente en el 30% de los animales expuestos después de haber administrado cada dosis de Na NO_3 .

CUADRO III. 4.
CANTIDADES DE $\overline{\text{NO}}_3$ ADMINISTRADAS A LAS VACAS

Lote	En mg/kg de P.V.	En % de M.S.	En mg/kg de P.V.	En % de M.S.	En mg/kg de P.V.	En % de M.S.	En mg/kg de P.V.	En % de M.S.	En mg/kg de P.V.	En % de M.S.
A <u>1</u> /	6.40	.056	7.07	0.056	5.16	0.056	10.10	0.056	14.17	0.056
B	80.38	0.674	154.79	1.173	226.50	2.356	305.05	1.622	383.30	1.451
C	154.25	1.353	228.85	1.815	300.87	3.275	379.74	2.113	457.72	3.486

1/ el tratamiento es testigo, la cantidad reportada corresponde a la ingestión de $\overline{\text{NO}}_3$ en el ensilaje de maíz.

La ligera cianosis en las mucosas conjuntival y vaginal de las vacas, se presentó en el 11.4% de los animales expuestos, independientemente del momento en que se administró cada dosis. La intolerancia al ejercicio, en un 29% y la disminución de la frecuencia respiratoria en un 13.6% se observaron en el corral independientemente de cada dosis .

Se presentó un caso de aborto aproximadamente a las 72 horas después de haber administrado la V y última dosis en el lote C. A las 48 horas después de haberse presentado el aborto se observó retención placentaria, por lo cual fue necesario extraerle la placenta y aplicar un tratamiento.

CUADRO III. 5

SIGNOS CLINICOS OBSERVADOS EN LAS VACAS DE LOS
LOTES A,B Y C DURANTE EL EXPERIMENTO. 1/

Lote	Arete	N°DE DOSIS				
		I	II	III	IV	V
A	278					
	288					
	1747					
	3427					
B	273		1,2,3	1,2,3,5,7,	1,4,7	
	296		1,6	1,5	1,7	1,2
	3831	1,2,3	1,3,	1,5	1,	1,3
	4087	1,	1,3,	1,2,3,	1,4,7	1,2
C	194	1,3	1,2	1,2,3,5	1,2,3,4	1,3
	1365	1,2	1,6,2,	1,2,3,5,7,	1	1,2,6,
	2218	1	1,2	1,2,3,5,	1,2,4,7	1,2
	4031	1,6	1,2,	1,5	1,3,4	1

- 1/ Los signos clínicos aparentes observados en las vacas:

- | | |
|--------------------------------|--|
| 1.- color obscuro en la sangre | 6.- ligera cianosis de las mucosas con |
| 2.- sialorrea | juntival y vaginal |
| 3.- poliuria | 7.- bradipnea |
| 4.- intolerancia al ejercicio | 8.- diarrea |
| 5.- tremor muscular | 9.- aborto |
| | 10.- retención placentaria |
| | 11.- vómito y opistótonos. |

- Los niveles de metanemoglobina encontrados 2 hrs. después de haber administrado cada dosis aparecen en el cuadro III. 6 . Se observa que la mayor parte de los resultados obtenidos en la sangre, resultando únicamente positiva la presentación de metanemoglobinemia en la IV administración en el lote B; la cual fue estadísticamente significativa a $p < 0.001$.

CUADRO III. 6
NIVELES DE METAHEMOGLOBINA ENCONTRADOS DURANTE EL EXPERI
MENTO DESPUES DE CADA DOSIS ADMINISTRADA

Lotes	A	B	C
Dosis I	- 9.85 ^a	- 10.0 ^a	- 5.725 ^a
Dosis II	- 6.80 ^a	- 5.175 ^a	- 6.975 ^a
Dosis III	-14.70 ^a	- 13.11 ^a	- 7.26 ^a
Dosis IV	- 5.425 ^a	+ 1.757 ^b	- 1.81 ^{a, b}
Dosis V	- 4.975 ^a	- 2.59 ^a	- 5.35 ^a

a, b Valores en el mismo renglón con diferente literal difieren significativamente al nivel $p < 0.001$

- Los niveles de nitratos en el líquido ruminal antes y después de la administración de la IV dosis del día 27 del experimento aparece en el cuadro III.7 Se encontró que solamente entre los lotes A y B existen diferencias significativas al nivel $p < 0.001$

- En el ensilaje de maíz se determinó un pH promedio de 4.40 y en la dilución de NaNO_3 en agua destilada era de 5.00.

El pH del líquido ruminal como aparece en el cuadro III.7 era alcalino antes de la administración de la IV dosis y después de haber administrado esta dosis, se encontró con una ligera acidificación, pero no fue estadísticamente significativo a un nivel $p < 0.05$.

NITRATOS (ppm)				pH		
TRATAMIENTO	A	B	C	A	B	C
Antes de la toma	159.05	10	147.18	8.6	7.72	8.15
Después de la toma	373.75 ^a	4131.25 ^b	8306.25 ^b	7.26 ^a	7.51 ^a	7.44 ^a

a, b Valores en el mismo renglón con diferente literal difieren significativamente al nivel de $P < 0.001$

a, Valor en el mismo renglón con diferente literal difieren significativamente al nivel $P < 0.05$

- Los análisis serológicos efectuados a la vaca abortada fueron negativos para Brucelosis y Leptospirosis, sin embargo fué positivo a Rinotraqueítis viral bovina, en una dilución 1 - 160.

Los análisis Bacteriológicos efectuados al feto abortado sólo reportaron crecimiento de *Staphylococcus epidermis*.

- Los exámenes de micotoxinas efectuados en el ensilaje de maíz durante diferentes días del experimento aparecen en el cuadro III.8 . Se aprecian niveles de aflatoxinas B₁ .

CUADRO III. 8

EXAMENES DE MICOTOXINAS DEL ENSILAJE DE MAIZ DURANTE
DIFERENTES DIAS DEL EXPERIMENTO.

DIA	AFLATOXINAS	PPM
3	B ₁	2
4	B ₁	5
6	B ₁	5
8	B ₁	5
10	B ₁	5
13	B ₁	1
15	B ₁	0.5
17	B ₁	1
19	B ₁	2
21	B ₁	2
23	B ₁	2
25	B ₁	0.5
27	B ₁	5
29	B ₁	2
32	B ₁	5

IV. DISCUSION

El método seleccionado de diluir el nitrato de sodio en agua destilada para suministrarlo por vía oral forzada se escogió en virtud de que permite un control más preciso de las cantidades de NO_3^- . Aunque produce una concentración de NO_3^- en sangre casi 3 veces mayores a las que produce el NO_3^- mezclado en el alimento (Crawford, 1966), con este último deben superarse los problemas de las variaciones en el consumo de alimento y el alimento rechazado.

Las dosis seleccionadas de nitrato de sodio, que aparecen en el cuadro II.2 se seleccionaron en virtud de que no existe acuerdo entre los diferentes autores sobre la cantidad de NO_3^- que es tóxico para el ganado (NRC, 1968). Esto es debido, al menos en parte, al método seleccionado (NRC, 1968; Neumann, 1977), a la susceptibilidad de los animales (Blood y Henderson, 1969) a las características de la ración basal (Annison y Lewis, 1966; James, Allison y Littledike, 1975) y a la adaptación de los animales a consumir este compuesto (Murdock, Hodgson y Baker, 1970).

Adicionalmente, no existe uniformidad de criterio entre los diversos autores en cuanto a la forma de reportar las dosis tóxicas y los compuestos de NO_3^- utilizados.

En el cuadro IV.1 y IV.2. aparecen las dosis letales reportadas por diferentes autores. Puede notarse que, para la dosis letal 50%, varían desde 0.15 a 1.0 g/kg de peso vivo, no obstante, a partir de estos datos puede estimarse que 500 a 700 mg/kg son potencialmente tóxicas.

En virtud de que el propósito del estudio fue determinar la presencia de abortos en ganado sin la presencia de signos clínicos en los animales, se

consideró razonable una dosis máxima de 600 mg de NaNO_3 /kg de P.V. Sin embargo, ya que no existe un acuerdo sobre las dosis mínimas, se realizaron diferentes dosificaciones hasta alcanzar la dosis establecida como máxima de manera de determinar la dosis a la que eventualmente se presentará el aborto.

- En estas condiciones, al suministrar cantidades crecientes de NO_3^- , los animales se adaptan gradualmente a recibir este compuesto, por lo que fue necesario espaciar por un mínimo de dos días la dosificación con objeto de reducir este efecto.

El ensilaje de maíz se escogió como ración basal, ya que en este forraje la concentración de NO_3^- es relativamente uniforme. No se suplementó esta ración con concentrado, con objeto de mantener un pH ruminal cercano a la neutralidad o ligeramente alcalino, y de esta forma el efecto de la ración sobre la dosis necesaria para provocar eventualmente el aborto, queda reducido.

CUADRO IV.1

DOSIS TOXICAS DE NITRATO REPORTADAS POR DIFERENTES AUTORES

Dosis tóxica mg/kg de P.V.	Compuesto	Referencia
650 - 750 mg	NaNO_3	Garner, 1970
44.1 mg <u>b/</u>	NaNO_3	Asbury, 1964
992 mg <u>a,d/</u>	KNO_3	Simon, 1959
150 - 170 mg	NaNO_3	Garner, 1970
600 mg	KNO_3	Blood y Henderson, 1969
500 - 1000 mg <u>e/</u>	KNO_3	Simon y col., 1959
1000 mg <u>a,d/</u>	NO_3^-	Crawford, 1966
441 mg	NO_3^-	Hillman, Huber y Emery 1973
80 - 100 mg	NO_3^-	Blood y Henderson, 1969
440 - 600 mg <u>a/</u>	NO_3^-	Jainudeen, 1964
150 mg <u>a,c/</u>	NO_3^-	Bradley y col., 1939
330 mg <u>a,d/</u>	NO_3^-	Davison, 1964

CUADRO IV. 2

CONCENTRACION TOXICA DE NITRATOS EN LA RACION REPORTADA POR DIFERENTES AUTORES.

Dosis tóxica en % de la ración en M.S <u>d/</u>	Compuesto	Referencia
2 %	NO_3^-	Hillman, Huber y Emery 1973
5 %	KNO_3	NRC, 1968
2 a 3 %	NO_3^-	Davison, 1964
1.5 %	KNO_3	Case, 1957
0.4 %	KNO_3	Neumann, 1977
1.5 %	KNO_3	Sippel, 1970
0.9 %	NO_3^-	Guyer, Flowerday y Hogg 1974
7.5 %	N-NO_3	Pilgram y col., 1976

a/ Dosis letal 50%

c/ Por vía oral forzada

b/ Por vía intravenosa

d/ Mezclado en el alimento

e/ Por fístula ruminal

- De esta forma, la capacidad de los animales para reducir el NO_3^- hasta aminoácidos se ve notablemente reducida por el efecto de la ración, ya que el pH ruminal encontrado antes y después de la IV dosificación tendió a la alcalinidad, lo que produce una disponibilidad reducida de H_2 para los procesos reductivos que deben ocurrir normalmente (Annison y Lewis, 1966; James, Allison y Littledike, 1975) aunada a la baja disponibilidad de energía para los procesos de síntesis de proteína microbiana a partir de compuestos nitrogenados

dos simples (Hungate, 1969; Chalmers, 1971; Chalupa, 1972; NRC, 1976) .

- En efecto, el consumo estimado de TND por los animales es ligeramente superior al requerimiento mínimo de mantenimiento establecido por NRC (1971) -
- Cabe entonces esperar que los animales sujetos a dosificaciones crecientes de NaNO_3 metabolizaron una buena proporción del NO_3^- ingerido en los tejidos corporales y que el proceso reductivo del NO_3^- en el rumen desempeña un papel de menor importancia, especialmente a dosis mayores.

Este punto es conflictivo con los resultados obtenidos por otros investigadores, especialmente con los autores que reportan dosis letales relativamente bajas (600 mg NO_3^- /kg de P.V.), ya que, debido al método seleccionado de suministro del NaNO_3 y las características de la ración que recibieron -- los animales, los signos clínicos que se presentaron en el estudio, tienden a confirmar las hipótesis de Murdock, Hodgson y Baker (1970, 1972) y Crawford (1966) en el sentido de que las dosis consideradas como potencialmente peligrosas son demasiado bajas; especialmente para ganado adaptado a recibir estos compuestos en la ración.

Los signos clínicos que presentaron los animales se resumen en el cuadro -- IV. 3, y estos revelan una ligera intoxicación al compararse con los reportados previamente por Blood y Henderson (1969), Garner, (1970), Anónimo, -- (1972) y Buck, (1973), . Estos signos fácilmente pueden pasar desapercibidos en condiciones prácticas y con grupos mayores de animales en los que no puede seguirse un control estricto de las manifestaciones clínicas.

Cabe destacar que la ingestión de NO_3^- por los animales sujetos al estudio, al expresarse el consumo como % de la ración sobre materia seca fue aproximadamente del 3.5%, contra un 0.12% que se presentó en los casos en que se registraron casos de abortos en los establos del C.A.I.T.

Esto representa un consumo de $\overline{\text{NO}}_3$ casi 30 veces mayor y en una sola dosificación.

CUADRO IV. 3
RESUMEN DE LOS SIGNOS CLINICOS OBSERVADOS DURANTE EL EXPERIMENTO.

	Nivel de dosificación de NO_3/kg de P.V.						
	8.6	80.4	154.3	227.7	303.0	381.6	457
Nº animales expuestos	4	8	8	8	8	8	4
Nº animales con: coloración normal de la sangre	4	-	-	-	-	-	-
coloración oscura	-	4	8	8	8	8	4
Nº animales con sialorrea	-	1	1	6	3	4	2
Nº animales con poliuria	-	1	5	2	3	3	1
Nº animales con intoleran cia al ejercicio	-	-	2	2	4	3	2
Nº animales con tremor muscular	-	-	-	3	4	-	-
Nº animales con ligera cianosis	-	-	3	1	-	-	1
Nº animales con Bradipnea	-	-	-	1	4	1	-
Nº animales con diarrea	-	-	1	-	-	-	-

- Generalmente se acepta que el consumo prolongado de cantidades subletales de NO_3 interfiere con el metabolismo de la vitamina A (NRC, 1968; Maynard y Loosli, 1969; Zintzen, 1972; Buck, 1973), lo que fácilmente puede proveer una deficiencia de este nutriente, y cuyo resultado puede provocar, entre otras cosas, el aborto (NRC, 1968; Maynard y Loosli, 1969; Faulkner, 1970; Roberts, 1971; NRC, 1971). Por esta razón, se consideró necesario suplementar a los animales con vitamina A preformada antes de iniciar el experimento, ya que el ensilaje de maíz se considera tradicionalmente pobre en carotenos (Maynard y Loosli, 1969).
 - Los análisis realizados de micotoxinas para este ensilaje, revelaron el crecimiento de aflatoxinas B_1 , sin embargo la concentración de éstas se considera demasiado baja (Stoloff, 1971). El caso de aborto registrado puede atribuirse a un problema de Rinotraqueítis Viral Bovina, ya que la respuesta al examen serológico muestra una dilución 1:160 fuertemente positiva a IBR en su forma abortiva (Rosner, 1970). Posteriormente 20 días después del aborto, se tomó una segunda muestra de sangre para un segundo examen serológico, dando como resultado una dilución 1:40. Esto es debido a que el nivel de anticuerpos a IBR disminuyó en este período de tiempo.
- Ha sido postulado con anterioridad que el consumo continuo de cantidades --- subletales de NO_3 /kg de P.V. puede provocar el aborto con o sin la presentación de signos clínicos en el ganado (Simon, 1958, 1959; Case, 1957; Davison, 1965; NRC, 1968; Sippel, 1970; Garner, 1970; Anónimo, 1972; Buck, 1973; Guyer, Flowerday y Hogg, 1974; Wing, 1977). Sin embargo, en la mayor parte de los casos no se ha producido una prueba concluyente de la etiología del aborto, ya que fácilmente pueden ocurrir otras causas concurrentes (Case, 1957). No obstante, Simon y col., (1959) produjo el aborto en tres hembras

- gestantes al dosificar 440 mg de NO_3^- /kg de P.V. por fistula ruminal, y Davison (1954), con 660 mg de NO_3^- /kg de P.V.
- Sin embargo, Eppson, (1960); Winter y Hokanson (1964); Crawford y col., (1966) no pudieron comprobar que puede provocarse el aborto por el NO_3^- per se. Esto guió a Maynard y Loosli (1969) y Roberts (1971) a considerar que el aborto es sumamente difícil que sea provocado por el NO_3^- .

Faulkner (1970), al revisar la literatura sobre los casos de abortos atribuidos al consumo de NO_3^- concluye que, la intoxicación por NO_3^- , en los rumiantes no causa el aborto en animales sanos que reciben una ración bien balanceada. La relación del NO_3^- con la vitamina A, aún cuando no se encuentra totalmente comprendida, puede desempeñar un papel de primordial importancia en muchos de los casos de aborto reportados previamente en la literatura.

Los mecanismos asociados a la intoxicación por NO_3^- no se hayan completamente --- aclarados, y existen evidencias disponibles que la ingestión de estos compuestos no es el único factor involucrado (Murdock, Hodgson y Baker, 1972). Los resultados que se obtienen al realizar estudios sobre esta intoxicación se ve severamente afectados por las condiciones que se elijen para investigar este problema. Entre estos factores destacan el método para dosificar el NO_3^- , la adaptación de los animales a recibir NO_3^- y las características de la ración.

- gestantes al dosificar 440 mg de NO_3 /kg de P.V. por fístula ruminal, y Davi son (1954), con 660 mg de NO_3 /kg de P.V.
- Sin embargo, Eppson, (1960); Winter y Hokanson (1964); Crawford y col., (1966) no pudieron comprobar que puede provocarse el aborto por el NO_3 per se. Esto guió a Maynard y Loosli (1969) y Roberts (1971) a considerar que el abor to es sumamente difícil que sea provocado por el NO_3 .

Faulkner (1970), al revisar la literatura sobre los casos de abortos atribuí dos al consumo de NO_3 concluye que, la intoxicación por NO_3 , en los ruminantes no causa el aborto en animales sanos que reciben una ración bien balanceada. La relación del NO_3 con la vitamina A, aún cuando no se encuentra totalmente comprendida, puede desempeñar un papel de primordial importancia en muchos de los casos de aborto reportados previamente en la literatura.

Los mecanismos asociados a la intoxicación por NO_3 no se hayan completamente --- aclarados, y existen evidencias disponibles que la ingestión de estos compues tos no es el único factor involucrado (Murdock, Hodgson y Baker, 1972). Los resultados que se obtienen al realizar estudios sobre esta intoxicación se ve severamente afectados por las condiciones que se elijen para investigar este problema. Entre estos factores destacan el método para dosificar el NO_3 , la adaptación de los animales a recibir NO_3 y las características de la ración.

V. CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la intoxicación por NO_3^- es un proceso complejo, en el que intervienen una serie de variables, algunas de ellas todavía no identificadas, que pueden afectar determinantemente los resultados obtenidos. Entre estas variables, la adaptación de los animales a consumir cantidades crecientes de NO_3^- y el estado nutricional previo a la exposición a cantidades potencialmente tóxicas, especialmente en lo que se refiere a las reservas de Vitamina A, parecen desempeñar un papel de primordial importancia.

En ganado bien alimentado y que se adapta gradualmente a consumir NO_3^- en la ración las cantidades reportadas como tóxicas en la literatura disponible parecen ser demasiado bajas, y se presentan evidencias de que los animales pueden tolerar fácilmente cantidades superiores a las reportadas como peligrosas.

Actualmente, continúa faltando una evidencia experimental suficiente que apoye la tesis de que el consumo de cantidades subletales de NO_3^- pueden provocar el aborto. No obstante, se ha reportado en diversas ocasiones el aborto como parte de los signos clínicos de intoxicación por NO_3^- , sin embargo este hecho no ha podido ser confirmado a la fecha. En la mayor parte de los casos de campo, el determinar la etiología del aborto es una labor bastante compleja, y requiere de cuidadosos estudios antes de determinar un agente causal, ya que existe numerosas causas por las que un animal puede abortar.

VI. RESUMEN

La exposición de nitratos se realizó en 12 vacas gestantes de 3 a 6 meses, cuya alimentación durante el experimento fue a base de ensilaje de maíz, - divididas en 3 lotes, 2 expuestos y un testigo de 4 animales cada uno. La administración de nitratos por vía oral forzada se desarrolló en 5 ocasiones con intervalo de 3 días empezando con 100 mg/kg de peso corporal hasta 500 mg/kg en un grupo y con 200 mg/kg de peso vivo corporal en el otro grupo, dejando uno como control.

Los parámetros estudiados durante el experimento fueron los siguientes: la ganancia de peso, el color de la sangre, signos clínicos, porcentaje de metahemoglobina y los niveles de nitratos en el ensilaje de maíz. Los niveles de nitratos en el líquido ruminal se realizó solo en una sola ocasión después de administrar 300 y 400 mg/kg de peso corporal.

La ganancia de peso en los 3 grupos no fué significativamente estimable. El color rojo brillante de la sangre en los lotes expuestos viró a un color rojo oscuro a las 2 horas después de la administración de los nitratos. La sialorrea, poliuria, tremor muscular y la diarrea fueron observados aproximadamente en el 30% de los animales expuestos después de haber administrado cada dosis de nitrato de sodio. La formación de metahemoglobina apareció solo después de la 4a. administración en uno de los lotes expuestos cuya diferencia con los otros fue estadísticamente diferente a $p < 0.001$. Los resultados negativos en el presente experimento indican que las dosis de nitratos consideradas por otros autores como tóxicas, en nuestro caso no indujeron enfermedad alguna. Suponemos que la adaptación gradual de los animales a los nitratos es factible y consecuentemente los efectos nocivos producidos por los nitratos en otros experimentos en este caso no se observaron.

VII.- Bibliografía

- 1.- A.O.A.C. : Official Methods of Analysis Ass, Offic, Agric. Chem, 11 Ed. Washington, U.S.A, 1975 .
- 2.- Annison, E.F. y Lewis. : El metabolismo en el rumen, UTEHA, México, 1966 .
- 3.- Anónimo. : Diseases of digestion and metabolism. University of Florida, Departament of Veterinary Science, pp : 40 - 43, (1972).
- 4.- Asbury, A.C. and Rhode, E.A. : Nitrite intoxication in cattle, The effects off Lethal doses of nitrite on blood pressure. Am. J. Vet. Res. 25 : 1010 - 1013, (1964) .
- 5.- Blood y Henderson. : Medicina Veterinaria, II ed, pp : 887 - 890 Ed.. Interamericana, México, 1969 .
- 6.- Bradley, W.B, Eppson, H.F. and Beath, O.A. : Methylen blue as on antidote for poisoning by oat hay and other plants containing nitrates. J. Am. Vet. Med. Assoc. 96 : 41 - 42, (1940) .
- 7.- Brill, J.W. : Fijación biológica del Nitrógeno Atmosférico, Cien cia y Desarrollo, Conacyt, 17 : 30, (1977) .
- 8.- Buck, B.W, Osweiler, G.Y. and Van Gelder, A. : Clinical and Diag nostic Veterinary Toxicology, Nitrates, Nitrites and Related problems, pp : 55 - 59 . Kendall, Publishing Company, Dubuque, Iowa, U.S.A, 1973 .
- 9.- Case, A.A. : Some aspects of nitrate intoxication in Livestock - J. Am. Vet. Med. Assoc. 130 : 323 - 328, (1975) .
- 10.- Crawford, R.F, Kennedy, W.K. and Davison, K.L. : Factors influen cing the toxicity of forages that contain nitrate when fed to ca ttle. Cornell, Vet. 56 : 1 - 17, (1966) .
- 11.- Clinical Laboratory. : II th Edition of Medico- Chemical Investi gations Methods E. Merck, Darmstadt, Federal Republic of Germany , pp : 208 - 209, 1970 .
- 12.- Conn, E.E. y Stumpf. : Bioquímica Fundamental, II Ed, pp : 359 - 386, Limusa, Willey, México , 1969 .
- 13.- Coles, E.H. : Patología y Diagnósticos Veterinarios. Ed. Inter americana, México, 1968 .
- 14.- Chalmers, M.I. : Nitrogen nutrition for lactation, in lactation, pp : 379, Ed. I.R. Falconer, Butterworths, U.S.A, 1971 .
- 15.- Chalupa, W. : Metabolic Aspects of Non Protein nitrogen in rumi ant animals, Fed. Proc. 31 : 1152, (1972) .

- 16.- Davison, K.L. and Seo, J. : Influence of nitrate upon carotene destruction during in vitro fermentation with rumen liquor. J. Dairy. Sc. 46 : 862 - 863, (1963) .
- 17.- Davison, K.L, Hansel, L. Krook, Mc. Entee and Wright, M.J. : Nitrate toxicity in dairy heifers. I Effects on Reproduction, Growth, Lactation, and Vitamin A Nutrition. J. Dairy. Sc. 47 : 1065 - 1073, (1964) .
- 18.- Davison, K.L, Mc. Entee, K. and Wrioth. : Responses in pregnant ewes fed forages containing various levels of nitrate. J. Dairy. Sc. 48 : 968 - 977, (1965) .
- 19.- Diven, R, Pistor. H, Reed, W.J, Trautman, R.E. and Watts. R.E. : The determination of serum or plasma nitrate and nitrite. Am. J. Vet. Res. 23 : 497 - 499, (1962) .
- 20.- Diven, R, Pistor. H, Reed, W.J, Trautman, R.E. and Watts. R.E. : Experimentally Induced nitrite Poisoning in Sheep. Am. J. Vet. Res. 23 : 494 - 496, (1962) .
- 21.- Emerick, R.J. and Embry, L.B. : Effect of clortetracycline on methemoglobinemia resulting from the ingestion of sodium nitrate by ruminants. J. Anim. Sc. 20 : 844 - 847, (1961) .
- 22.- Eppson, H.F, Glen, M.W, Ellis, W.W. and Gilbert, C.S. : Nitrate in the diet of pregnant ewes. J. Am. Vet. Med. Assoc. 137 : 611 - 613, (1960) .
- 23.- Faulconer, L.C. : Abortion Diseases of Livestock, C.C. Thomas Pbl. ILL. U.S.A, 1968 .
- 24.- Friedman, L. and Shibko, I. : Advection toxic factors in proseeded , in Toxic constituents of plants foodstuffs. I.E. Liener Te. Academic Press. U.S.A, 1969 .
- 25.- Foster, O.G. : Comunicación personal, University of Nebraska, U.S.A , 1977 .
- 26.- Garner, R.J. : Toxicología Veterinaria, pp : 114 - 118 Ed. Acribia, España, 1970 .
- 27.- Guyer, P.Q, Flowerday, D. and Hogg, A. : Nitrates in Livestock Feed. Neb. University- Lincoln. U.S.A. Ext-Bull 74 - 170, (1974) .
- 28.- Goodrich, P.D, Emerick, R.J. and Embry, L.B. : Effects of sodium nitrate on Vitamin A status of Sheep. J. Anim. Sc. 21 : 997, (1962).
- 29.- Hillman, D, Huber, J.T. and Emery. : Basic Dairy Cattle Nutrition , Michigan State University. U.S.A. Bulletin E - 702, (1973) .

- 30.- Housholder, G.T. Dollowwhite, J.W. and Hulse. : Diphenylamine of nitrate intoxicatio. J. Ame. Vet. Med. Assoc. 130 : 662 - 665, (1966).
- 31.- Hungate, R.E. : Ruminal fermentation; Handbook of Physiology, alimentary canal Am. Physiol. Soc. Chapter 130 : pp : 2775, 1969 .
- 32.- Hutjens, M. : Comunicación personal. University of Minnesota. U.S.A ., 1977..
- 33.- James, J.P, Allison, M.J. and Littledike, E.T. : Production and Modification of Toxic substances in the Rumen; in Digestion and Metabolism in the Ruminant, Mc. Donald, I.W. and Warner A.C.I. (Ed.) University New England Publ. U.S.A. pp : 576, 1975 .
- 34.- Jainudeen, M.R, Hansel, W. and Davison, K.L. : Nitrate Toxicity in dairy heifers 2. Erythropoietic responses to nitrate ingestion during pregnancy. J. Dairy. Sci. 47 : 1368 - 1382, (1964) .
- 35.- Kroman, R.P, Weikel, J.M. and Falen, L.F. : Nitrate toxicity in dairy and beef cattle, Ext - Bull - 821 pp : 1 - 3 Washington State University, U.S.A, (1976) .
- 36.- Maynard, J.L. y Loosli, J.K. : Nutrición Animal. UTEHA, México, 1970 .
- 37.- Mitchell, G.E, Little, C.O. and Hayers. : Pre- Intestinal destruction of Vit A by Ruminants fed nitrates. J. Anim. Sc. 26 : 829 , (1967) .
- 38.- Murdock, F.R, Hodgson, A.S. and Baker. : Effect of High Nitrate - Corn Forage and milk production and Blood metahemoglobin levels. J. Dairy. Sci. 53 : 664, (1970) .
- 39.- Murdock, F.R, Hodgson, A.S. and Baker. : Utilization of Nitrate by Dairy cows. J. Dairy. Sci. 51 : 640, (1972) .
- 40.- Murray, R. Spiegel. : Estadística . Mc. Graw- Hill, México, 1961 .
- 41.- Neumann, A.L. : Beef Cattle, VII Ed. John Wiley. U.S.A. pp : 827, 1977 .
- 42.- NRC. : Prenatal and Postnatal Mortality in Cattle, National Academic of Science, Nat. Res. Counc. U.S.A. pp : 86 - 87, 1968 .
- 43.- NRC. : Nutrient Requiriments of Dairy Cattle, IV Ed. National Academic of Science, Nat. Res. Counc. U.S.A, 1971 .
- 44.- NRC. : Requiriments of Dairy Cattle, Urea and other non protein - nitrogen compounds in animal nutrition. National Academic of Science, National, Res. Counc. U.S.A, 1976 .
- 45.- Prewitt, R.D. and Marilan, C.P. : Effect of Potasium nitrates intake on Dairy Calves. J. Dairy. Sci. 41 : 807 - 811, (1958) .

- 46.- Pilgram, E.F, Bates, A. Hasbargen, P. Hicks, A. Huttiens, M. and Martin, N. : Using Drought - Stressed Corn, Agric. Ext. Ser. University of Minnesota. U.S.A. Special Report 54, (1976) .
- 47.- Queijeiro, M. : Estudio de 69 abortos en un centro de Recría de becerros Holstein de Tepozotlán, México. Tesis de Licenciatura Fac. Med. Vet y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, 1977.
- 48.- Roberts, S.J. : Veterinary Obstetrics and Genital Diseases, II Ed, pp : 124, Edward Brothers, Inc. Ann. Arbor, Michigan. U.S.A, 1971.
- 49.- Rosner, S.F. and Bittle. : Viral Diseases, Bovine Medicine and Surgery, I Ed, pp : 17 - 20 American Veterinary Publications. U.S.A, 1970 .
- 50.- Saltzman, B.E. : Nitrates, In Biological samples (Manual Method) pp : 7.0 - 7.5 Anal. Chem. 26 : 1949, 1954 .
- 51.- Schneider, B.H. and Flatt, W.P. : The evaluation of feeds trough digestibility experiments, Academic. Press. U.S.A, 1975 .
- 52.- Simon, J. Sund, J.M. Wroth. and Douglas, F.D. : Pathological changes associated with the lowland abortion Syndrome in Wisconsin. J. Ame. Vet. Med. Assoc. 132 : 164 - 169, (1958) .
- 53.- Simon, J. Sund, J.M. Douglas, F.D. : Prevention on noninfectus abortion in cattle by weed control and fertilization practices on Lowland pastures. J. Am. Vet. Med. Assoc. 135 : 315 - 317, (1959 a) .
- 54.- Simon, J. Sund, J.M. Douglas, F.D, Wirth and Kowalczyk. : The effect of nitrate, nitrite when placed in the rumen of pregnant dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 135 : 311 - 314, (1959 b) .
- 55.- Sippel, W.L. : Diseases caused by physical and chemicals agents, Nitrate poisoning, Bovine Medicine and Surgery, I Ed, pp: 261 - 262 American Veterinary Publications. U.S.A, 1970 .
- 56.- Stoloff, N. Rodriks, J.V. Stack. and Campbell. : A Multimycotoxin - Detection Method for Aflatoxins, Ochratoxins, Zearalenone, Sterigmatocystin, and Patulin, (Division of Food Chemistry and Technology Food and Drug Administration Washington, D.C. 20204), U.S.A, 1971 .
- 57.- Weichental, B.A; Embry, L.B. Emerick, R.J. and Whetzal. : Influence of sodium nitrate. Vit A. and protein level on feedlot performance -- and Vit A status of fattening cattle. J. Anim. Sc. 22 : 979 - 984, (1963) .
- 58.- Wing, J.M. : Comunicación personal. University of Florida, Dairy Science Departament. U.S.A, 1977 .
- 59.- Winter, A.J. : Studies on nitrate metabolism in cattle. Ame. J. Vet. Res. 23 : 500 - 505, (1962) .

- 60.- Winter, A.J. and Hokanson, J.E. : Effects of long- term feeding of nitrate, nitrite or hidroxilamine on pregnant dairy heifers. Ame. J. Vet. Res. 25 : 353 - 361, (1964) .
- 61.- Zintzen, H. : Fertility and Nutrition in Dairy cows, Laboratorios - Roche. Proc. II th. Congr. South Africa. Soc. Anim. Prod, (1972) .