Suplementación y metabolismo de hierro en neonatos bovinos en condiciones de trópico

Supplementation and iron metabolism in bovine calfs in tropical conditions

Paola Andrea Páez¹, Rómulo Campos Gaona²y Leonidas Giraldo Patiño³

Rec.: 19.10.11 Acep.: 12.08.13

Resumen

Se estudió el efecto del suministro de hierro en la dinámica hemática y su metabolismo en terneros; para el efecto se seleccionaron 72 neonatos bovinos pertenecientes a tres grupos raciales: dos de origen *Bos taurus* (Hartón de Valle y Holstein Friesian) y uno de origen *Bos indicus* (Cebú Brahmán) para un total de 24 animales por raza y ocho animales por grupo experimental. Los animales del grupo 1 recibieron 500 mg de hierro dextran intramuscular (T1), al grupo 2 se le suministraron 100 mg de espirulina oral (T2) y el grupo 3 permaneció como control (T3). El suministro de hierro se hizo cada mes desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad de los terneros, mensualmente se tomaron muestras de sangre mediante venipunción yugular y sistema vacutainer en tubos con y sin anticoagulante (EDTA). El promedio de ganancia de peso vivo animal fue 509 ± 0.40 g/día. El número de leucocitos/mm³ fue de 16,059. El promedio de hemoglobina en sangre fue de 12.11 ± 2.8 g/dl, el hematocrito presentó un valor de $38.4\% \pm 7.6$ y la concentración promedio de hemoglobina corpuscular fue de $31.62\% \pm 4.7$. La proteína sérica presentó un valor promedio de 5.55 ± 0.7 g/dl, el valor promedio de hierro sérico fue de 18.70 ± 11.8 µmol/lt. Los análisis estadísticos mostraron que el factor mes de muestreo y raza fueron significativos para los valores séricos de los metabolitos analizados, mientras que los valores de la concentración promedio de hemoglobina corpuscular lo fueron para tratamiento (P < 0.01).

Palabras clave: Cuadro hemático, hemoglobina corpuscular, hierro, proteína total, rumiante, suplementos, ternero.

Abstract

72 calves were selected in growth phase which belonged to three breeds groups, two of origin *Bos tau-rus* and one of origin *Bos indicus*. Three treatments were subjected in each one of breeds (8 animals per group), one group was injected with 500 mg of Iron Dextran (intramuscularly), and the other was 100 mg oral Spirulina and a third was defined as the control group. The main idea of this research was study metabolism dynamics in hematic and iron under the effect of two supplements. The experimental period lasted the first six months of life of the calves. Samples for hematic analysis were collected by jugular venipuncture technique in vacutainer tubes with anticoagulant (EDTA) and others tubes without it. Using commercial reagents for specific colorimetric techniques for serum iron and hemoglobin were analyzed. Total protein was analyzed by direct reading refractometer. The average of weight gain was 509 ± 0.40 g/d. Cell count showed 16059.96 leukocytes by mm³. Hemoglobin showed value of 12.11g/dl ± 2.8 whereas the hematocrit had a value of $38.40\% \pm 7.6$ and the corpuscular hemoglobin concentration showed a mean value of $31.62\% \pm 4.7$. Serum protein showed a mean value of 5.55 g/dl

¹ Consultora particular, paito14@yahoo.com. 2 Profesor Asociado, Departamento de Ciencia Animal, Universidad Nacional de Colombia, rcamposg@unal.edu.co, Autor para contactos.

³Profesor Asistente, Departamento de Ciencia Animal, Universidad Nacional de Colombia, Igiraldopa@unal.edu.co

 \pm 0.7 and the serum iron mean value was 18.70 μ mol/L \pm 11.8. Statistical analysis of variance showed that the month factor sampling and the breed factor of all analyzed metabolites showed significant differences for serum levels, whereas the treatment factor of showed statistical differences only mean corpuscular hemoglobin concentration values.

Key words: Calves, complete blood count, growth, mean corpuscular hemoglobin concentration, Serum iron, total protein.

Introducción

El hierro participa en varios procesos biológicos y celulares incluido el transporte de oxígeno, la transferencia de electrones y la síntesis de DNA en animales, además actúa como cofactor en varios sistemas enzimáticos Hem (Ježek *et al.*, 2009).

Los terneros alimentados solo con leche presentan deficiencia de hierro, debido al bajo contenido de este mineral en el calostro, el cual es alto en los contenidos de calcio y globulinas (Heinrinchs, 2009). La absorción de hierro por bovinos se inicia con el consumo de forraje verde, por tanto, en los primeros días después del nacimiento es posible que se requiera una suplementación estratégica de este mineral (Atyabi et al., 2006). No obstante en algunos casos, con el fin de producir carnes bovinas blancas y tiernas es frecuente evitar el consumo temprano de forraje por los animales (Webb et al., 2011). Páez et al. (2009), al analízar el metabolismo de hierro mediante la dinámica hemática y la ganancia de peso vivo de terneros encontraron deficiencias del mineral por observación de hipocromía en los extendidos, lo cual sugiere una deficiencia del mineral en la ración. Eisa y Elgebaly (2010) y Mohri et al. (2010) en bovinos con bajos contenidos de hematocrito y hemoglobina al nacimiento, encontraron que raciones bajas en hierro pueden acentuar la deficiencia de estos metabolitos por varias semanas. Un bajo consumo de hierro resulta en anemia v causa alteraciones endocrinas y metabólicas, aumenta la utilización de la glucosa dependiente de insulina y reduce la respuesta de ésta a la hormona del crecimiento, lo que puede desencadenar dificultades fisiológicas y reducción en la ganancia de peso vivo animal (Mohri et al., 2010). Los compuestos de hierro dextrán se utilizan con frecuencia para tratar la deficiencia de hierro y la anemia y aumentar los valores hematológicos y la ganancia de peso vivo animal. Las dosis y forma química de los suplementos férricos son variables (Eisa y Elgebaly, 2010; Moosavian *et al.*, 2010; Mohri *et al.*, 2007).

La deficiencia de hierro ocasiona en los animales una baja significativa de este mineral en las reservas en hígado, riñones y bazo; disminución de ferritina en suero y aumento en la actividad eritropoyética, por lo que el animal presenta disminución de la actividad enzimática, en la síntesis de mioglobina y hemoglobina y aumento de la glicólisis anaeróbica. Lo anterior desencadena cuadros de anemia microcítica o hipocrómica, causando reducidas ganancias de peso vivo por baja conversión alimenticia, retraso en el crecimiento e incremento de la susceptibilidad del animal a infecciones (Volker y Rotermund, 2000; Mohri *et al.*, 2004).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la dinámica hemática y el metabolismo de hierro en terneros neonatos de los grupos raciales Hartón del Valle, Holstein-Friesian y Cebú-Brahmán suplementados con este mineral en pasturas tropicales bajo un sistema de uso semi-intensivo.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en fincas ganaderas localizadas entre 3° 25' N y 4° 25' N y entre 76° 09' O y 76° 14' O en el Valle del Cauca (Colombia), en un ecosistema de bosque seco montano bajo con una temperatura promedio de 20 - 28 °C, entre 650 - 1057 m.s.n.m., humedad relativa entre 70 y 80%, zona clasificada como termo-neutra según el índice temperatura humedad (ITH) (Espinoza *et al.*, 2011).

En total fueron seleccionados 72 terneros machos y hembras, pertenecientes a tres grupos raciales: dos de origen *Bos taurus* (Hartón de Valle en sistema doble propósito y HolsteinFriesian en cría intensiva) y uno de origen *Bos indicus* (Cebú Brahman en amamantamiento con la madre) para un total de 24 animales por grupo formado por ocho animales de cada raza.

Los animales del grupo 1 recibieron la aplicación de 500 mg de hierro dextrán intramuscular (T1) a los del grupo 2 se les suministraron 100 mg de espirulina oral (T2) la cual tiene una biodisponibilidad cinco veces mayor que el hierro dextrán, y los del grupo 3 permanecieron como control (T3). La suplementación de hierro se hizo cada mes desde el nacimiento hasta 6 meses de edad de los terneros, tiempo durante el cual con una frecuencia igual se tomaron muestras de sangre mediante venipunción yugular y sistema vacutainer en tubos con y sin anticoagulante (EDTA). El hierro sérico y la hemoglobina se midieron por técnicas colorimétricas y la proteína total por refractrometría directa. En cada período los animales fueron suplementados, pesados y valorados para determinar las constantes fisiológicas.

Las muestras fueron conservadas en refrigeración a 4 - 7 °C para su traslado a laboratorio donde se realizaron: extendido para cuadro hemático completo manual, determinación de hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hto), recuento diferencial de serie blanca, formas inmaduras y relaciones de las observaciones específicas como hipocromía. El suero fue separado por centrifugación a 2500 r.p.m. durante 15 min, dividido en fracciones, identificado y congelado a -20°C antes de los análisis. El hierro sérico y la hemoglobina se determinaron mediante técnicas colorimétricas específicas para equipo de lectura óptica

automatizada Rayto (analizador de química semiautomático) utilizando reactivos comerciales (Human® e IHR®).

Para cada uno de los animales en el estudio se llevaron registros de peso vivo al nacimiento y cada 30 días, estado fisiológico y de componentes sanguíneos en pruebas de laboratorio que fueron almacenados en una base de datos Excel y analizados a través del programa estadístico SAS 9.1 (Cary, NC, 2001). Se realizaron análisis descriptivos y de varianza en un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 3 x 3 x 6 (3 razas, 3 tratamientos y 6 períodos de muestreo). Para la comparación de medias de tratamientos se empleó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de P < 0.01.

Resultados y discusión

Indicadores metabólicos

Sólo en el grupo control se encontraron diferencias (P < 0.05) en los valores de la concentración promedio de hemoglobina-corpuscular (Cuadros 1 y 2). En las razas estudiadas la aplicación parenteral de hierro dextrán no aumentó los niveles de los metabolitos analizados, probablemente debido a la dosis única aplicada (500 mg); una situación similar ocurrió con el suministro de espirulina, no obstante su mayor disponibilidad y absorción cuando se suministra en forma oral (Chamorro et al., 2002), posiblemente debido a la baja palatabilidad en el suplemento y a la aplicación de una dosis única mensual (100 mg).

Cuadro 1. Promedios y desviaciones estándar para hematocrito, hemoglobina y hierro sérico en terneros de tres razas bovinas sin suplementación de hierro, durante los primeros 6 meses de vida.

Edad (meses)	Hematocrito (%)			Hemoglobina (g/dl)			Hierro sérico (µmol/lt)		
	HV	HF	BR	HV	HF	BR	HV	HF	BR
1	35.8a* ± 6.7	33.3a ± 6.2	36.2a ± 6.6	10.2a ± 1.6	10.7a ± 2.7	11.8a ± 2.2	16.9a ± 10.4	18.1a ± 11.03	21a ± 11.4
2	39.0b ± 4.2	41.8b ± 6.4	43.9b ± 5.5	11.2a ± 1.7	$15.9b \pm 2.7$	14.4b ± 1.6	18.5a ± 7.5	24.3b ± 10.8	25.6c ± 12.6
3	33.7a ± 4.7	39.8b ± 6.9	44.8b ± 7.8	11.1a ± 1.5	10.7a ± 1.8	13.3b ± 2.3	18.4a ± 12.4	22.6b ± 8.7	23.8b ± 9.4
4	33.2a ± 6.9	35.9a ± 4.6	40.1b ± 8.1	10.1a ± 1.4	10.2a ± 1.4	10.2a ± 2.3	16.7a ± 5.9	17.3a ± 9.7	18.2a ± 8.3
5	34.1a ± 6.0	32.5a ± 5.1	45.5b ± 6.1	12.5b ± 2.4	$7.2c \pm 1.5$	13.5b ± 1.9	20.8b ± 8.3	12.9a ± 11.4	$24b \pm 7.6$
6	$34.6^{a} \pm 7.9$	34.2a ± 6.0	43.8b ± 5.0	14.1b ± 2.7	8.3c ± 1.7	14.4b ± 2.7	23.3b ± 11.7	13.3a ± 10.8	25.5c ± 13.2

Razas: HV = Hartón del Valle, HF = Holstein Friesian, BR = Brahmán.

^{*} Promedios en una misma columna seguidos de letras diferentes difieren en forma significativa (P < 0.01).

Cuadro 2. Promedios y desviaciones estándar de los indicadores metabólicos analizados en los grupos raciales y promedio general de las tres razas estudiadas.

Indicador metabólico		Promedio general		
	Cebú	Hartón del Valle	Holstein	
	n =137	n =98	n =131	
Hb (g/dl)	13.21a*± 2.5	10.98c± 2.3	11.56b± 3.1	12.11 ± 2.8
Hto (%)	42.37a± 6.8	$34.30c \pm 6.3$	36.41b± 6.9	38.40 ± 7.6
CMHC (%)	31.29c± 4.5	32.14a ± 4.4	31.66b± 5.2	31.62 ± 4.7
Hierro sérico (µmol/lt)	21.00a± 11.4	16.96c± 10.4	18.15b± 11.03	18.70 ± 11.8
Proteína total (g/dl)	5.83a± 0.8	5.50b± 0.6	5.24c± 0.6	5.55 ± 0.7

Hb: Hemoglobina, Hto: Hematocrito, CMCH: Concentración promedio de hemoglobina corpuscular.

Los valores promedio de los parámetros sanguíneos analizados –hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), concentración media de la hemoglobina corpuscular (CMHC) y hierro sérico– se encontraron dentro del rango de valores propuestos para bovinos en condiciones tropicales (Kerr, 2002; Kaneko *et al.*, 2008).

Para los terneros de los grupos raciales Cebú y Hartón del Valle, en el cuarto mes del muestreo (Cuadro 1) se observó una disminución significativa en los niveles de hemoglobina y hematocrito. Mohri et al. (2010) encontraron cambios temporales en las constantes hemáticas de bovinos debido, posiblemente, a los procesos adaptativos que sufren los animales como resultado de alteraciones en el ambiente que incluyen déficit de hierro en la dieta, especialmente en los forrajes (Heinrinchs, 2009), o cuando tienen altos requerimientos para homeostasis o por desafíos externos ocasionados por ecto- y endoparásitos en condiciones de trópico (Campos et al., 2009).

A partir del quinto mes de edad, las terneras Holstein presentaron reducción en los niveles de hemoglobina y hematocrito en sangre. Como se sabe, entre el tercero y quinto mes de edad de los terneros se suprimen los consumos de leche y concentrado iniciador y empieza un período de adaptación a la nueva dieta con base en forrajes y heno (Quigley, 2007). La reducción en el suministro de leche puede afectar el consumo de alimentos lo que incide en bajas tasas de crecimiento y en un aumento de la susceptibilidad a infecciones (Quigley, 2007).

El descenso en los valores de hemoglobina durante el período posterior al parto conduce a anemia microcítica hipocrómica, atribuida parcialmente al alto consumo de leche por los terneros en las primeras semanas de vida (Ježek *et al.*, 2009), lo que puede conducir a una deficiencia nutricional de hierro debido a los bajos niveles de este mineral en la leche (Walstra y Jenness, 1986). Esta deficiencia se acentúa por la baja oferta y consumo limitado de alimento y por cambios fisiológicos asociados con la edad de los terneros (Moosavian *et al.*, 2010; Heinrinchs, 2009).

El promedio general de proteína sérica total para los animales en los tres grupos raciales (Cuadro 2) fue inferior al rango de valores considerados como normales para bovinos (Kaneko et al., 2008). La disminución en los niveles de proteínas totales en sangre puede ser debida al bajo consumo de cantidades adecuadas de este nutriente en la dieta (Heidarpour et al., 2008), o a un mayor requerimiento y gasto proteico para crecimiento (Campos et al., 2009). Además, la síntesis de proteínas plasmáticas puede ser afectada por factores ambientales, nutricionales y enfermedades agudas o crónicas (Kaneko et al., 2008) así como por factores fisiológicos, entre ellos: edad y cambios hormonales y estrés (Russell y Roussel, 2007). Teniendo en cuenta la condición física y sanitaria de los animales en el presente estudio, se considera que sus bajos niveles de proteína sérica fueron consecuencia del escaso suministro en la dieta.

Los resultados mostraron diferencias (P< 0.01) entre los animales de las dis-

^{*} Promedios en una misma fila seguidos de letras diferentes difieren en forma significativa (P < 0.00).

tintas razas evaluadas en los parámetros sanguíneos (hemoglobina, hematocrito y concentración promedio de hemoglobina corpuscular) y en los metabolitos (hierro sérico y proteína total), lo cual es debido a las condiciones específicas de manejo y a la respuesta diferencial de cada raza a las condiciones del medio ambiente (Heinrinchs, 2009; Ježek et al., 2009). Por otra parte, el período de muestreo también afectó (P < 0.01) la concentración de los metabolitos evaluados (Cuadro 1). Durante este periodo se observaron cambios en precipitación y temperatura que afectaron la calidad de las pasturas, como aumento de la FDN total, lo cual ocasiona pérdidas de nutrientes en el forraje (Underwood y Suttle, 2003) y afecta el estado fisiológico y sanitario del animal, principalmente en el patrón de hidratación evidenciado por el hematocrito y por la prueba de elasticidad dérmica y la ganancia de peso vivo.

La interacción período de muestreo x grupo racial fue significativa (P<0.01) para los valores de los metabolitos analizados, debido a que los bovinos presentan modificaciones temporales en sus constantes hemáticas y en los niveles de hierro sérico y hemoglobina, lo que explica los cambios en los procesos adaptativos cuando los terneros enfrentan variaciones del ambiente que incluyen baja calidad de la dieta (Mohri *et al*, 2010) basada en forrajes y cambios en la condición sanitaria por ecto – endoparásitos que pueden afectar los parámetros sanguíneos y los metabolitos que intervienen en el metabolismo de hierro.

Los requerimientos de hierro por los animales domésticos dependen de la edad, la tasa de crecimiento y la disponibilidad del mineral en la dieta. Las necesidades de hierro de los rumiantes aún no están bien establecidas y la mayoría de las dosis recomendadas son estimaciones aproximadas (Heidarpour *et al.*, 2008); sin embargo, se sabe que son más altas en rumiantes jóvenes que en adultos, siendo, aproximadamente de 100 ppm (Heinrinchs, 2009; NCR, 2001). Las deficiencias de este mineral ocurren con mayor frecuencia en animales jóvenes, en especial los alimentados con solo leche. Las reservas de hierro en los forrajes y en heno generalmente son suficientes para prevenir la anemia nutricional (Heinrichs, 2009).

Cuadro hemático

Los terneros de las razas Cebú y Hartón del Valle presentaron incrementos en la concentración de leucocitos superiores a los valores de referencia (Cuadro 3), Es posible que los animales en pastoreo expuestos a ecto y endoparásitos presenten una mejor respuesta celular. En el recuento de leucocitos se pueden presentar variaciones fisiológicas como consecuencia de estrés, ejercicio, alimentación, edad, raza y el manejo del animal al momento de la toma de muestras para análisis (Kerr, 2002). Según Montejo et al. (2007) los cambios en los recuentos totales de leucocitos sólo son significativos cuando presentan altas desviaciones en relación con los valores normales; cuando esto ocurre se debe sospechar la presencia de un proceso patológico. En la presente investigación, las desviaciones del recuento leucocitario no fueron altas, por tanto, no se valoran como un proceso clínico patológico si no que se atribuyen a factores fisiológicos como estrés y ejercicio debido a la sujeción del animal en el momento de la toma de las muestras. En algunos extendidos de los grupos control se observó la presencia de de-

Cuadro 3. Promedio y desviación estándar de los recuentos de la serie blanca en los grupos raciales estudiados.

Cuadro hemático	Cebú	Hartón del Valle	Holstein	
	n=167	n=98	n=131	
Leucocitos x mm ³	12171.32a* ± 7377.12	12100.52a ± 4940.34	11820.03b ± 4549.16	
Neutrófilos (%)	28.6a ± 15.25	$19.31c \pm 14.09$	$25.2b \pm 17.24$	
Linfócitos (%)	69.7c ± 15.53	80.51a ± 14.03	$74.4b \pm 17.42$	
Eosinófilos (%)	0.90a ± 1.5	$0.21b \pm 0.5$	$0.32b \pm 0.61$	
Monocitos (%)	0.52a ± 1.4	$0.03c \pm 0.1$	$0.22b \pm 0.65$	
Basófilos (%)	0.01 ± 0.15	0	0	
Plaquetas (miles/mm ³)	525.000c	640.000a	620.000b	

^{*} Promedios en una misma fila seguidos de letras diferentes son significativamente diferentes (P < 0.01).

coloración marcada o hipocromía en la región central del eritrocito, siendo la deficiencia de hierro la causa más común de esta situación (Páez *et al.*, 2009).

Ganancia de peso vivo animal

La ganancia de peso vivo es un indicador zootécnico de importancia en animales y en la práctica constituve una forma útil de medir el crecimiento, la habilidad materna v la eficiencia de la nutrición (Di Marco et al., 2007). El promedio de ganancia de peso vivo animal de los terneros en el presente estudio fue de 509 ± 0.40 g/día y las variaciones a través del tiempo mostraron claramente los cambios drásticos en el manejo de la nutrición durante la fase de cría. Las ganancias de peso vivo fueron evaluadas utilizando un arreglo factorial completo al azar, encontrando diferencias (P < 0.01) para los factores principales (raza, período de muestreo y tratamiento) y la interacción entre ellos (datos no presentados). Las diferencias se explican por el tipo de manejo en cada sistema de producción, la suplementación durante el período experimental, la dieta y las restricciones nutricionales, el tipo de forraje, el ambiente y el efecto materno, factores que influyen sobre las ganancias de peso vivo por animal y en el crecimiento y desarrollo de los terneros.

En las razas estudiadas se presentaron diferencias en las ganancia de peso vivo, siendo más altas en la raza Cebú (590 g/día) posiblemente debido al efecto materno y al sistema de cría (amamantamiento completo), seguido de la raza Holstein (507 g/día) en la cual se esperaba la mayor ganancia debido al consumo de iniciador, lo que no ocurrió debido posiblemente a un desbalance en la dieta; la raza Hartón del Valle presentó la menor ganancia de peso (370 g/día).

En los terneros que recibieron la aplicación parenteral de 500 mg de hierro dextrán el promedio de la ganancia diaria de peso vivo fue de 535 g/día, siendo este tratamiento una alternativa efectiva para incrementar este parámetro en el período de desarrollo (Obispo *et al.*, 2001). Los animales en el grupo control presentaron una ganancia de 506 g/día y los suplementados en forma oral con 100 mg

espirulina ganaron 485 g/día. En este último grupo la baja absorción de hierro puede llegar hasta 50%, dependiendo del estado nutricional del individuo (Heinrinchs, 2009); además, la presencia de promotores e inhibidores de absorción de hierro en la dieta y la reacción cruzada con otras sustancias pueden causar cambios químicos y mecánicos que disminuyen su absorción cuando se suministra por vía oral (Chua *et al.*, 2007).

Conclusiones

- La aplicación parenteral de hierro dextrán y la suplementación oral de espirulina no aumentaron los niveles de los metabolitos analizados, en especial el hierro sérico. En consecuencia, se recomienda que las dosis suministradas se ajusten periódicamente en los primeros meses de edad, de acuerdo con el peso del animal.
- En los animales de los grupos control, los parámetros sanguíneos y los metabolitos que comprenden la dinámica del hierro disminuyeron durante el segundo y el tercer periodo (mes) de muestreo. Este descenso sugiere que la leche no llena los requerimientos del animal durante este primer periodo de vida del ternero.
- La presencia de hipocromía en algunos extendidos analizados indica deficiencia de hierro, bien sea por alteraciones clínicas o de origen nutricional, o por bajo nivel sérico de proteína total.
- Se encontró que la aplicación de hierro dextrán (500 mg/mes) favoreció la mayor ganancia de peso vivo en comparación con el grupo control, lo que sugiere una alternativa de manejo durante la fase de cría de terneros.

Referencias

Atyabi, N.; Gharagozloo, F.; y Nassiri, S. 2006. The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves. Comp. Clin. Pathol. 15:165 -168.

Campos, R.; Pineda, M.E.; y Giraldo, L. 2009. Indicadores fisiológicos en bovinos criollos Hartón del Valle en condiciones del Valle del Cauca. En: Memorias X Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, Palmira, Colombia.171-174 p.

- Chamorro, G.; Salazar, M.; Gomes, K.; Pereira, C.; Ceballos, G.; et al. 2002. Actualización en la farmacología de Spirulina (Arthrospira), un alimento no convencional. ALAN 52(3):232-240.
- Chua, C.G.; Graham, R.M.; Trinder, D.; y Olynyk, J.K. 2007. The regulation of cellular iron metabolism. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 44(5 6):413 459.
- Di Marco, O.N.; Barcelo, J.O.; Da Costa, E.C. 2007. Crescimento de bovinos de corte. Ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (RS). 276p.
- Eisa, A del M. yElgebaly, L.S. 2010. Effectof ferrous sulphate on haematological, biochemical and immunological parameters in neonatal calves. Vet. Ital. 43(3):329-335.
- Espinoza, J.; Ortega, R.; Palacios, A.; Guillén, A. 2011. Tolerancia al calor y humedad atmosférica de diferentes grupos raciales de ganado bovino. Rev. MVZ Córdoba (Col.) 16(1):2302-2309.
- Heidarpour, M.; Mohri, M.; Seifi, H.; y Alavi, A. 2008. Effects of parenteral supply of iron and copper on hematology, weight gain, and health in neonatal dairy calves. Vet. Res.Commun.32:553 561.
- Heinrinchs, A.J. 2009. Managing calf health through nutrition. En: Ruminant formula for the future: ¿Nutrition or pathology? Edit by: Sylvie Andrieu and Helen Warren. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. P. 25-32.
- Ježek, J.; Starič, J.; Nemec, M.; Zadnik, T.; y Klinkon, M. 2009. Relationship between blood haemoglobin and serum iron concentrations and heart girth in pre-weaned dairy calves. Ital. J. Anim. Sci. 8(3s):151 153.
- Kaneko, J.; Harvey, J.; y Bruss, M. 2008.Clinical biochemistry of domestic animals, 6a.ed. San Diego.: Academic Press.916p.
- Kerr, M.G. 2002. Veterinary laboratory medicine: Clinical Biochemistry and Haematology. Second Edition.Blackwell Science, W. Sussex, ReinoUnido.386p.
- Mohri, M.; Poorsina, S.; y Sedaghat, R. 2010. Effects of parenteral supply of iron on RBC parameters, performance, and health in neonatal dairy calves. Biol. Trace Element Res. 136(1):33 39.
- Mohri, M.; Sharifi, K.; y Eidi, S. 2007. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. Res. Vet. Sci. 83:30 39.
- Mohri, M.; Sarrafzadeh, F.; Seifi, H.A.; y Farzaneh, N. 2004. Effects of oral iron supplementation on some hematological parameters and iron biochemistry in neonatal dairy calves. ComparativeClinicalPathology 13:39 42.

- Montejo, E.; Martínez, O.; Pérez, F.; Mendoza, O.; Duvergel, J.; Ramirez, W.; y Sosa, W. 2007. Reacción leucocitaria ante el estrés nutricional provocado por la sequía en bovino. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Granma. Redvet. Revista electrónica de veterinaria. 8(6):1695-7504. En: http://www.veterinaria.org/revistas/redvet. 12-09-2010.
- Moosavian, H.; Mohri, M.; y Seifi, H. 2010. Effects of parenteral over-supplementation of vitamin A and iron on hematology, iron biochemistry, weight gain, and health of neonatal dairy calves. Food Chem. Toxicol. 48:1316 1320.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. National Academy of Science.National Research Council. Washington; DC.p. 405.
- Obispo, N., Pares, P., Hidalgo, C., Palma, J., y Godoy, S. 2001. Consumo de forraje y ganancia diaria de peso en bovinos de carne en crecimiento suplementados con fuentes proteicas. Zoot.Trop. 19(3):423-442. Páez, P.; Campos, R.; Giraldo, L.; y Hernández, E. 2009. Dinámica hemática en terneros HolsteinFriesian en sistemas semiintensivos en condiciones de trópico bajo. Rev. Col.Cien.Pec. 22(3):440.
- Quigley, J. 2007. Microbial protein synthesis in the rumen. Calf Notes No 31. Disponible en: http://Calf Notes.com. 12-09-2010.
- Russell, K.E., Roussel, A.J. 2007. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. Vet.Clin.Food Anim. 23:403 426.
- SAS Statistics Institute Inc. 2001. Statistical Analysis System 9.3.1 User Procedures Guide. Cary (NC).
- Underwood, E.J. y Suttle, N.F. 2003. Los minerales en la nutrición del ganado. 3nd. Ed. Acribia. Zaragoza. España. 637p.
- Volker, H. yRotermund, L. 2000. Possibilities of oral iron supplementation for maintaining health status in calves.DtschTierarztlWochenschr 107:16 22.
- Wastra, P. yJenness, R. 1986. Química y física lactológica. Zaragoza. Acribía. 423p.
- Webb, L.E.; Bokkers, E.A.; Engel, B.; Gerrits, W.J.; Berends, H.; y van Reenen, C. 2011. Behavior and welfare of veal calves fed different amounts of solid feed supplemented to a milk replacer ration adjusted for similar growth. Appl. Anim. Behavior Sci. 136(2):108 116.