

**OBSERVACIONES HEMATOLÓGICAS DE VACAS GESTANTES DE LA
PREDOMINANCIA RACIAL CARORA Y HOLSTEIN**
Santos P., Roraima M.



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
NÚCLEO UNIVERSITARIO RAFAEL RANGEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRARIAS
TRUJILLO EDO TRUJILLO**

**OBSERVACIONES HEMATOLÓGICAS DE VACAS
GESTANTES DE LA PREDOMINANCIA
RACIAL CARORA Y HOLSTEIN**

TUTOR

Profesor: Lildo Ramírez

AUTOR:

Santos P., Roraima M.

C.I: 12.498.311

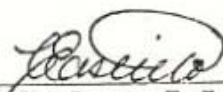
TRUJILLO, Junio de 2000

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
NUCLEO UNIVERSITARIO "RAFAEL RANGEL"
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRARIAS
TRUJILLO Edo. TRUJILLO.

ACTA DE EVALUACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

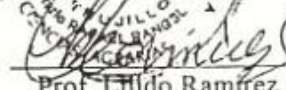
Los suscritos, miembros del Jurado designado por el Consejo de este Departamento en su sesión del día 14-06-2000, para conocer y evaluar el trabajo titulado: "**Observaciones Hematológicas en Vacas Gestantes de la Predominancia Racial Carora y Holstein**", presentado por la Bachiller Roraima M. Santos P., CI: 12.498.311, como credencial necesaria para cumplir con el requisito de grado para optar al título de **TECNICO SUPERIOR PECUARIO**. Siguiendo las normas establecidas para la presentación escrita, exposición oral y evaluación de estos trabajos, este Jurado emite el veredicto de **APROBADO CON RECOMENDACIÓN PARA SU PUBLICACION**.

En Trujillo a los diez días del mes de julio del dos mil.


Prof(a) Carmen E. Castillo
JURADO




Prof. Fernando Perea G.
JURADO


Prof. Lildo Ramirez
COORDINADOR DEL JURADO

DEDICATORIA

Una vez soñé, y quise alcanzar ese sueño pero no lo logré por completo, pero lo más importante es que tuve la valentía de intentarlo y sólo logré el comienzo de mis sueños. Ese acontecimiento, que me brindó la vida me hizo tomar una decisión y era la de aceptar que en esos momentos no se podía, hoy por hoy doy un dios se los pague a:

A Dios todopoderoso y a sus santos guardianes, por darme la fuerza, voluntad y sabiduría para lograr mi meta y espero siempre seguirte.

A mi madre, Ismelda Pernía por guiarme por el mejor camino y brindarme la oportunidad de ser lo que hoy soy, Te Amo. Y al señor Elio por ser una persona confiable y ser la persona que acompaña a mi madre en sus momentos .Gracias.

A mi padre, Rafael Santos por tus grandes consejos de la vida y quiero que sepas que eres el ejemplo de la valentía y voluntad que cualquier persona quisiera tener para vencer obstáculos. Te Amo.

A mis hermanos, Richard, Raiza, Ana, Coromoto, Rafael, Yunmary, Yuneisy, Ronald, Yasmin ,Yenny y mi futuro sobrino, que esto no sólo le sirva de ejemplo sino de entusiasmo y de fé, que el día de mañana serán ustedes quienes escribirán estas líneas, y espero que sea muy pronto, Gracias por confiar en mí. Los Amo.

A mis abuelos Herminia, Ana, Adán y Santiago, las enseñanzas y consejos que les inculcaron a mis padres me han servido de mucho, para ponerle empeño y perseverancia para la culminación de mis estudios. Los Amo.

A Ferdinand, una vez quise dejar este camino porque me parecía que estaba muy lejos, pero me hiciste

ver que yo podía; y es ahora que te invito a celebrar conmigo esta parte de mi vida quisiera decirte que la mayor felicidad y triste las he pasado a tu lado, gracias y dios te pague por estar siempre a mi lado y por ofrecerme tu mano y confianza para lograrlo. TCPRE.

A la Familia Fernández, no tengo que más decirles sino gracias, por todo la confianza que me han brindado en el transcurso de mi carrera, gracias por su amistad.

A mis tíos y primos, quisiera decirles que este es un ejemplo del esfuerzo de sus hermanos (mis padres) y que ahora sigan haciendo con sus hijos lo que ellos conmigo, y a mis primos que les sirva de ejemplo.

A mis amigas más queridas Yamaris y Doris que me han sabido comprender en los momentos en las que más las necesitaba, y han sido y será como mis hermanas, gracias por esa confianza y dedicación. Las quiero.

A mis compañeras, en especial Mary C, María Rea, Luzma, Evelin, Lorena, Sandra, Angélica, Julio, Jesús, Freddy, y demás que si ahora no les escribo su nombre no importa porque los tengo presentes. Gracias.

Roraima Santos. P.

AGRADECIMIENTO

Expreso mis más sinceros agradecimientos a los profesores: Lilido Ramírez y Adelina de Ramírez, por brindarme la oportunidad de obtener ricos conocimientos que me dejaron en el transcurso de mis pasantías. Gracias por confiar en mi y a la vez por su excelente asesoría académica.

A los profesores Fernando, Eric, Dario, Mario G, Doraida, por regalarme esos invalorable momentos de enseñanza académica y ayuda para el entusiasmo y ejemplo que me inculcaron en el transcurso de la culminación de mi carrera.

A la auxiliar María Escalona por su valiosa colaboración para conmigo gracias por su amistad.

A José Gregorio y Wilmer, gracias por brindarme la ayuda que necesitaba para seguir adelante con mis pasantías y gracias por este florecimiento que es nuestra amistad.

A los Srs. Propietarios de las diferentes fincas “Montesano” y “La Orquídea” sin más muchísimas gracias.

A los empleados de estas dos fincas ante mencionadas, gracias por su colaboración y confianza que nosotros como pasantes necesitamos al inicio del mismo que es la seguridad de lo que se está haciendo. Gracias.

A esta prestigiosa institución “Universidad de Los Andes”, Trujillo por darme la oportunidad de realizar mis estudios y de esa manera obtener el primer galardón de mi vida. Gracias.

Roraima Santos. P.

ÍNDICE

	Pagina.
DEDICATORIA.....	171
AGRADECIMIENTO.....	172
ÍNDICE.....	172
ÍNDICE DE LAS TABLAS.....	173
RESUMEN	173
INTRODUCCIÓN.....	174
Fecundación.....	174
Implantación	175
Placentación	175
Periodo de gestación	176
Periodo del óvulo	176
a) Periodo del Embrión	176
b) Periodo del Feto	177
Las Hormonas en la gestación.....	177
a) Gonadotropina	177
b) Estrógenos	178
c) Progesterona	179
Hematología y gestación	180
Hipótesis, Objetivo General y	
Objetivos Especificos	181
MATERIALES Y MÉTODOS	181
Finca A:	181
Ubicación	181
Alimentación y manejo	181
Plan sanitario.....	182
Sistema de manejo del	
rebaño en producción.....	182
Finca B:	182
Ubicación	182
Alimentación y manejo	182
Animales en estudio	183
Muestreo	183
Técnicas del laboratorio	183
Eritrocitos	183
Volumen Celular Aglomerado.....	184
Hemoglobina	184
Leucocitos	185
Plaquetas	186
Coprología	187
Soluciones	188
Principales materiales y reactivos.....	188
Análisis estadístico.....	188
RESULTADOS.....	190
DISCUSIÓN.....	195
Eritrocitos	195
Volumen Celular Aglomerado.....	195
Hemoglobina.....	195
Leucocitos.....	196
Plaquetas.....	196
CONCLUSIONES	196
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	197

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Estadística Descriptiva de las Características Animales Gestantes de Fincas Lecheras del Estado Trujillo..... 189

Tabla II. Estadística Descripción de Los Valores Hematológicos de Hembras Gestantes de Fincas Lecheras del Estado Trujillo..... 190

Tabla III. Estadística Descriptiva de los Valores Hematológicos en Bovinos (*Bos taurus*) Gestantes de Acuerdo a La Finca 190

Tabla IV. Estadística Descriptiva de los Valores Hematológicos en Bovinos (*Bos taurus*) Gestantes de Acuerdo a los Días de lactancia.....191

Tabla V. Estadística Descriptiva de los Valores Hematológicos en Bovinos (*Bos taurus*) Gestantes de Acuerdo a la Condición Corporal..... 191

Tabla VI. Estadística Descriptiva de los Valores Hematológicos en Bovinos (*Bos taurus*) Gestantes de Acuerdo al Número de Partos... 192

Tabla VII. Estadística Descriptiva de los Valores Hematológicos en Bovinos (*Bos taurus*) Gestantes de Acuerdo a la Carga Parasitaria.....192

Tabla VIII. Estadística Descriptiva de los Valores Hematológicos en Bovinos (*Bos taurus*) Gestantes de Acuerdo a la Gestación.....193

RORAIMA M. SANTOS P. 2000 “Observaciones Hematológicas de Vacas Gestantes de la Predominancia Racial Carora y Holstein” Universidad de los Andes – Trujillo. Departamento de Ciencias Agrarias. Trabajo de grado para optar al título de Técnico Superior Pecuario.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en dos fincas, ubicadas en una zona de bosque seco tropical, municipio Pampán del estado Trujillo, con el propósito de determinar las concentraciones de los valores hematológicos: eritrocitos (ERI), el volúmen celular aglomerado (VCA), la hemoglobina (Hb), leucocitos (LEU) y las plaquetas (PQA) y la prevalencia huevos de parásitos. Se estudiaron 159 hembras bovinas gestantes de la predominancia racial Carora (PCA) (n=88) y Holstein (PH) (n=71) en tubos de ensayo adicionados con EDTA se les tomó una muestra de sangre de la vena yugular. Dentro de las 18 horas, se procesaron para determinar los valores ERI, VCA; Hb, LEU y PQA las células fueron contadas en una cámara de Neubauer. Se usaron como diluyente solución salina fisiológica al (0,85%), (ERI) ácido acético glacial al 1% (LEU) y oxalato de amonio al 1% (PQA) y se usó la técnica de la cianometahemoglobina (Hemoglownier) para hemoglobina y el microhematocrito para el VCA. Los animales se evaluaron por predominancia racial, condición corporal, número de partos, gestación, carga parasitaria, días de lactancia. De acuerdo al número de partos su clasificación en animales ≤ 2 partos (n=122), y > 2 partos (n=37). De acuerdo a la cantidad de huevos por gramos de heces (HPG) se clasificaron en infestación baja ≤ 200 HPG (n=145) y moderada > 200 HPG (n=14); de acuerdo a los días de gestación se clasificaron en ≤ 90 días (n=35), $> 90 \leq 180$ días (n=44), > 180 días (n=80). De acuerdo a la condición corporal al momento de la toma de muestra se clasificaron en $\leq 2,5$ (n=104) y $> 2,5$ (n=55). De acuerdo a los días de lactación en ≤ 90 días (n=40) y > 90 días (n=119). Los promedios obtenidos fueron: $6.363.154 \pm 1017650$ ERI/ μ l, $32,21 \pm 3,97\%$ de VCA, $10,81 \pm 1,71$ Hb g/100ml, 12.444 ± 3806 LEU/ μ l, 412.327 ± 72232 PQA/ μ l. Los valores de ERI, VCA, Hb, no variaron significativamente (P<0,05) en tanto que LEU y PQA si mostraron diferencias significativas.

INTRODUCCIÓN

El período de gestación, se extiende desde la fecundación del óvulo hasta la expulsión del feto. Las fases sucesivas son las de fecundación, por la unión del espermatozoide con el óvulo; nidación o implantación del embrión en la pared uterina; placentación o formación de las membranas fetales, y crecimiento gradual del feto. (Frandsen, *et al.*, 1992).

Los periodos normales de gestación varían mucho según las especies y aún entre los animales de una misma especie; en la vaca, ella dura unos 282 días (poco más de 9 meses). Si las crías se mantienen en el cuerpo materno el tiempo necesario se habla de la gestación a término. Con la interrupción prematura se trata de aborto. (Frandsen *et al.*, 1992).

El tiempo de fertilización parece ser importante. Los espermatozoides deben permanecer en el conducto reproductor femenino, denominado útero o trompa uterina, por cierto período a fin de fertilizar los óvulos efectivamente. Esto se denomina capacitación de los espermatozoides. Dicha capacitación implica la desintegración parcial del acrosoma externa y las membranas plasmáticas, de modo que puedan liberarse las enzimas acrosómicas. Estas a su vez, pueden penetrar en la zona pelúcida. (Frandsen *et al.*, 1992).

Fecundación:

Las fimbrias del oviducto están estrechamente asociadas con el ovario, y al ocurrir ovulación, el óvulo o huevo penetra al infundíbulo de la trompa

uterina. El óvulo es entonces transportado hacia abajo por el oviducto hasta el interior del útero, mediante la acción combinada de los cilios de la superficie de la mucosa de las células epiteliales y de contracciones que ocurren en las paredes musculares de la trompa uterina. Las contracciones, a su vez, son influidas por: 1) variando según la raza, la proporción de las hormonas estrógeno y progesterona (niveles elevados de estrógeno incrementan las contracciones); 2) el nivel presente de prostaglandinas, y 3) el grado de estímulo del oviducto por la división simpática del sistema nervioso autónomo. Los óvulos permanecen viables en el oviducto cerca de 12 horas. Durante este tiempo puede ocurrir la fecundación, y ésta normalmente se verifica en la ampolla del oviducto. (Frandsen *et al.*, 1992).

En la vaca, el cuerpo polar suele encontrarse en el espacio perivitelino entre el huevo y la zona pelúcida hasta que se desintegra. La segunda división ocurre después de que ha sido fertilizado por el espermatozoide. Inmediatamente después de la ovulación, el óvulo contenido en su membrana vitelina (membrana celular del óvulo) se rodea de una gruesa membrana de mucopolisacáridos, la zona pelúcida, con viable cantidad de células granulosa, las que forman la corona radiada, por fuera de la anterior. (Frandsen *et al.*, 1992).

En la zona pelúcida penetran microvellosidades de la membrana vitelina del óvulo; se supone que esa zona pelúcida es una membrana semipermeable que sirve como protección al óvulo, la cual también logra por una capa de moco aplicada al óvulo al migrar por el

oviducto. Esto ayuda al proceso de implantación. (Frandsen *et al.*, 1992).

Durante la penetración, el espermatozoide se fija a la membrana vitelina. Esto estimula la segunda meiosis del óvulo y da por resultado la formación del segundo cuerpo polar; en este momento los cromosomas del huevo forman el pronúcleo. (Frandsen *et al.*, 1992).

Implantación:

Después de la fertilización, el nuevo cigoto es transportado hacia abajo por el oviducto hacia el interior del útero, mientras se forma el blastocisto. En la vaca y la oveja, el nuevo embrión llega al útero cuatro días después del estro. La velocidad de transporte varía con los niveles de secreciones endocrinas, particularmente la proporción estrógeno-progesterona. En la vaca, tarda alrededor de ocho días en alcanzarse la etapa de blastocisto. (Frandsen *et al.*, 1992).

La implantación (nidación) es el proceso mediante el cual el nuevo embrión se establece en un lugar del endometrio del útero, donde se desarrolla y convierte en feto. Hasta que ocurre la implantación, el vitelo (yema) del huevo y ciertas secreciones del útero proporcionan los nutrientes necesarios para las divisiones y el crecimiento celulares. A partir del momento de la placentación, los nutrientes son aportados por la sangre materna a través de la unión materno-fetal (placenta). (Frandsen *et al.*, 1992).

La zona pelúcida se desprende del blastocisto antes de la implantación, y el endometrio uterino prolifera, se hace más vascular y produce más secreciones, en preparación para alimentar y aceptar al embrión.

Las relaciones entre el endometrio y las membranas fetales en desarrollo son complejas y variables según la especie. (Frandsen *et al.*, 1992).

Placentación:

En tanto que el embrión aumenta de tamaño, el proceso de difusión que nutrió al cigoto resulta insuficiente para mantener la vida y fomentar el crecimiento. Por lo mismo, se desarrollan las membranas extraembrionarias (placenta), como medio de llenar esta necesidad cada vez mayor de nutrientes; este fenómeno recibe el nombre de placentación. (Frandsen *et al.*, 1992).

La placenta consiste en un grupo de membranas, de modo que los medios nutritivos de la madre puedan llegar al feto, y en reciprocidad, los productos de desecho de éste son excretados por aquélla. En los animales domésticos se emplean indistintamente los términos placenta y membranas fetales, aunque en forma estricta éstas equivalen a la porción de la placenta fetal. En algunas especies, una capa de endometrio se expulsa durante el parto, la cual se llama placenta materna o decidua. En la placenta fetal están comprendidos corion, alantoides, amnios y vestigios del saco vitelino. (Frandsen *et al.*, 1992).

El corion es la membrana más externa, en contacto con el útero materno. El amnios es la interna, adyacente al feto. El saco alantoide es un espacio formado por dos capas de alantoides, entre el amnios y el corión, también conocido como la "primera bolsa de las aguas"; se continúa con la extremidad anterior de la vejiga por el uraco, el cual transita por el cordón

umbical. (Frandsen *et al.*, 1992).

El saco amniótico que inmediatamente rodea al feto se llama también “segunda bolsa de las aguas”; se refiere a las membranas fetales en el momento del parto, pues el saco alantoideo se expulsa en primer lugar y el saco amniótico en segundo. Las arterias umbilicales y sus ramas llevan sangre no oxigenada desde el feto hacia la placenta, en tanto que las tributarias de la vena umbilical llevan sangre oxigenada desde la placenta hacia el feto. (Frandsen *et al.*, 1992).

De manera general, se puede mencionar que la sangre del feto nunca se mezcla con la de la madre. Sin embargo, las dos circulaciones, en la unión del corion y el endometrio, están lo bastante próximas para que el oxígeno y las materias nutritivas pasen de la sangre materna a la del feto. (Frandsen *et al.*, 1992).

La gestación comienza desde la fecundación y termina normalmente con el nacimiento de un animal vivo. La unión del espermatozoide y el óvulo indica una serie de reacciones químicas y físicas que, partiendo de una simple célula, conduce a una larga serie de divisiones celulares que continúan a lo largo de la vida del individuo, aunque varía en intensidad conforme el individuo madura y envejece. (Salisbury *et al.*, 1982).

Periodo de la Gestación

El crecimiento y desarrollo del nuevo individuo durante la gestación son las consecuencias de la multiplicación y crecimientos celulares y las alteraciones en la forma, estructura y funciones de la célula. Aunque el desarrollo antes del nacimiento es un proceso continuo, se considera a veces en la

gestación tres periodos: el periodo del óvulo, el periodo del embrión y el periodo del feto. (Salisbury *et al.*, 1982).

a) Periodo del Óvulo:

El periodo va desde la fecundación hasta el 12° día de la gestación en la vaca, se designa así porque la mayor parte del tiempo de esta fase el cigoto conserva su forma original. Al principio desciende lentamente por el oviducto; se ha iniciado la división celular y se producen las modificaciones de una a dos células, de dos a cuatro a sí sucesivamente. Alrededor del estadio de 16 células (cuarto día), el cigoto llega al útero, que está debidamente preparado para ello como consecuencia de la acción hormonal, durante este tiempo el cigoto se alimenta de sustancias almacenadas en su interior, de nutrientes absorbidos del oviducto y de los líquidos uterinos. Al octavo día aproximadamente la zona pelúcida comienza a desintegrarse y se eliminan las células. Se forman capas de células y a partir de estas capas aparecen membranas que muy pronto alimentaran al embrión en desarrollo. (Salisbury *et al.*, 1982).

b) Periodo del Embrión:

En la vaca comienza entre los días 13° y 14°, se caracteriza principalmente por el comienzo de la formación de la mayoría de los órganos y partes corporales. Se forman las membranas extra embrionarias, que asumen el papel de proteger y alimentar al embrión. Una de estas membranas, el amnios es una estructura sacciforme que mantiene al

embrión y sirve de receptáculo urinario. La membrana extraembrionaria más externa recibe el nombre de serosa. Se prolonga juntamente con el alantoides, a lo largo del cuerno uterino gestante y del no gestante. La serosa y la alantoides juntas forman cuando se ha completado cuatro capas de tejido y su conjunto reciben el nombre de corion cuando el embrión tiene 30 a 35 días el corion comienza a fijarse a los cotiledones que revisten el útero.

A los 25 a 30 días después de la concepción aparecen las yemas de las extremidades y de la cola se hayan claramente definidas. En este momento el embrión tiene una longitud de unos 3,3cm y pesa alrededor de 2,5g. (Salisbury *et al.*, 1982).

c) El Periodo del Feto:

Desde el 46° día hasta el nacimiento, se halla caracterizado por el crecimiento diferencial, formación de tejido ósea y del pelo y otras diversas modificaciones.

Durante la gestación, el aumento del peso total del útero y de su contenido puede ser de unos 68kg, dependiendo de la raza, edad y tamaño de la vaca. El feto representa alrededor del 60% del peso final y más de la mitad de este aumento se hace en los dos últimos meses de la gestante. Alrededor del 25% del peso final se debe a los líquidos acumulados. El resto se debe a las membranas fetales 5% del peso final y al crecimiento del útero propio. (Salisbury *et al.*, 1982).

Las hormonas en la gestación:

Las variaciones en los niveles de hormonas sexuales de la vaca durante el ciclo estrual proporcionan las bases endocrinas para la evolución, transporte de espermatozoide y óvulos y preparación del útero para nutrir y albergar al cigoto. (Salisbury *et al.*, 1982).

Entre las hormonas del ovario figuran los estrógenos, originados en los folículos, y la progesterona, del cuerpo lúteo. La secreción del ovario es regulada por la acción de las hormonas gonadotrópicas del lóbulo anterior de la hipófisis, las cuales son a su vez parcialmente reguladas por las hormonas hipotalámicas denominadas Gn RH y aquellas secretadas por los ovarios a través del mecanismo de retroalimentación negativa. (Frandsen *et al.*, 1992).

a) Gonadotropina:

Con la denominación de gonadotropinas u hormonas gonadotropas se agrupan diversas hormonas cuya acción principal consiste en un efecto de estímulo directo sobre las gónadas masculinas y femeninas, independientemente de toda la acción intermediaria sobre otro receptor. Tienen su origen en el lóbulo anterior de la hipófisis, en el tejido coriónico de la placenta.

Las principales gonadotropinas de origen hipofisaria son:

- a) La hormona folículo-estimulante (F-S-H) (follicle-stimulating- hormona), cuya principal acción en las hembras es provocar el crecimiento y maduración del folículo, e inducir, en unión con la L.H., la secreción de estrógenos, y en los machos el favorecer la

espermatogenesis.

- b) La hormona luteinizante u hormona estimulante de las células intersticiales (LH o I.C.S.H. interstitial- cell-stimulating-hormone): esta actúa sólo sobre el ovario previamente preparado por la F.S.H, desencadenando la ovulación y posteriormente la luteinización de los folículos.
- c) La hormona luteotrópica (L.T.H), probablemente idéntica a la prolactina u hormona lactogénica, que fuera de la acción sobre la glándula mamaria condiciona, al menos en algunas especies, no en la vaca la actividad funcional del cuerpo lúteo. (Derivaux 1976).
- d) En la hembra, la FSH estimula el crecimiento y la maduración de los folículos de Graff, y luego en asociación con la LH favorece la producción de estrógenos, la ovulación y la formación del cuerpo amarillo. La actividad de este último es mantenida en ciertas especies por la LH (bovinos, porcinos) y en otras por la LTH (rata, ratona, oveja). (Derivaux. 1976).

La secreción de hormonas gonadotropas por el lóbulo anterior de la hipófisis, está regulada por un mecanismo de retroalimentación por las hormonas secretadas por el ovario y el cuerpo lúteo los estrógenos producen una disminución en la secreción de la FSH y estimular la liberación de LH, mientras que la progesterona intervendría de una manera inversa. (Derivaux, 1976).

Una amplia revisión de las hormonas gonadotropinas presentes en los tejidos y fluidos de los animales domésticos reitera el concepto en los que los niveles de gonadotropina de la vaca gestante son extraordinariamente bajos. Estudios recientes han demostrado que los niveles sanguíneos de la hormona

luteinizante (LH) disminuyen marcadamente durante los primeros días después del estro; manteniéndose posteriormente bajos a lo largo de la gestación. Aunque la LH parece ser la principal hormona luteotrópica de los bovinos no se han hallado variaciones en los niveles circulantes de gonadotropinas que coincidan con la prolongación del cuerpo lúteo por el tiempo de duración de la gestación: si algo debe citarse, existe una pequeña relación inversa entre los niveles de LH y de progesterona, que sugiere que la LH puede ejercer una regulación tónica de la secreción de progesterona de la preñez.

Los niveles de hormonas estimulantes del folículo (FSH) en la sangre circulante de la vaca preñada son muy bajas. Aunque la placenta humana y el útero de la yegua gestante son fuentes ricas en hormonas gonodotrópicas, no existen datos evidentes de origen similar, no pituitario de gonadotropina en la vaca. (Salisbury *et al.*, 1982).

b) Estrógenos:

Esta hormona estimula el crecimiento y la actividad secretora de los órganos femeninos y estimulan el instinto sexual.

Su intervención en la gestación es distinta según la especie considerada. En los casos en que se produce aborto foliculínico, es fácil poner en evidencia un antagonismo frente a la acción progestacional sobre el útero. Tiene una acción abortiva en la coneja hasta el fin de la gestación y hasta un período avanzado de preñez en la vaca y en la cabra; producen el mismo efecto en la perra, en la gata y en la rata a condición de ser administrados antes de la implantación. (Derivaux,

1976).

La acción de los estrógenos sobre las glándulas accesorias puede ser bien relacionada con la conducta peculiar del estro; estimulan por ejemplo, la actividad muscular de los conductos uterinos y el útero, a los que sensibiliza también la progesterona. El recubrimiento epitelial de vagina y vulva, estimulado por los estrógenos, en algunas especies sé cornifica durante el estro. Los estrógenos más abundantes sin duda son el factor importante en la ocurrencia de la libido, impulso sexual en la que la hembra se relaciona con su consentimiento. (Frandsen *et al.*, 1992).

Los estrógenos también sensibilizan al útero gestante para la acción de la oxitocina elaborada en el lóbulo posterior de la hipófisis. Los caracteres sexuales secundarios relacionados con la feminidad resultan en gran medida de la acción de los estrógenos. En los mamíferos domésticos esos caracteres son ante todo la hipertrofia de las glándulas mamarias, la más reducida musculatura y el esqueleto más grácil. (Frandsen *et al.*, 1992).

El nivel de estrógeno durante la preñez es bajo en el primer mes, elevando después para alcanzar un máximo transitorio durante la sexta semana. Tras el primer trimestre de gestación, los niveles de estrógenos comienzan a aumentar de nuevo y suben continuamente hasta 8 meses. Cuando el nivel baja durante unas dos semanas y después se incrementan rápidamente hasta el parto.

Dichos cambios son estrechamente paralelos con el incremento en peso de las membranas fetales y hacen suponer que todos los aumentos importantes en los niveles de estrógenos se deben a la producción de estas

hormonas en la placenta. Se ha demostrado concluyentemente que la placenta es una importante fuente de estrógenos en la vaca. (Salisbury *et al.*, 1982).

c) Progesterona:

Como se ha indicado recientemente, datos abrumadores indican que cuerpo lúteo de los bovinos segrega cantidades relativamente grandes de progesterona durante la gestación. Sin embargo, concentraciones de progesterona en la sangre venosa ovárica disminuyen durante la gestación, mientras que la de sangre periférica muestra un aumento total hasta último mes antes del parto: la ovariectomía en la vaca preñada da lugar a una acusada disminución en los niveles circulante de progesterona, aunque dichos niveles permanecen por encima de los que se encuentran en la vaca no gestantes. Estas observaciones sugieren que existe en la vaca un origen extraovarico de progesterona. Es probable que la placenta produzca cantidades relativamente bajas de progesterona, pero no se tienen datos concluyentes.

La necesidad del cuerpo lúteo para el mantenimiento de la gestación en la vaca es un punto algo controvertido.

En la vaca la eliminación del cuerpo lúteo pasados los 200 días de gestación (10 a 20 días dentro del tercer trimestre) produce resultados intermedios a los hallados para las otras especies; puede mantenerse la viabilidad del feto, pero los niveles de progesterona parecen inadecuados para soportar la duración normal de la gestación y el parto normal. En uno de los estudios, 21 vacas ovariectomizadas a los 200-268 días de la preñez, parieron 13 terneros vivos con un promedio de 262 días después de la cubrición (longitud de la gestación esperada era de 279 días fueron comunes las dificultades

en el parto; a las 21 vacas sufrieron retención parcial o completa de las membranas fetales, la gestación osciló entre las 278 y 283 días. (Salisbury *et al.*, 1982).

Hematología y Gestación

El estudio sistemático de la fisiología de las especies domésticas, ha producido información científica que permiten establecer sus características fisiológicas, ello, ha llevado a reportar diferencias significativas ínter específicas en los valores hematológicos de eritrocitos, leucocitos, plaquetas, el volumen celular aglomerado y la hemoglobina. (Gurtler *et al.*, 1976; Gutnisky, 1980; Dukes y Swenson, 1981; Banks, 1986; Ramírez *et al.*, 1998). Estos parámetros sanguíneos son de común determinación en la práctica clínica veterinaria y en la ciencia de la producción animal.

Para cada especie, se han reportado diferencias en dichos parámetros de acuerdo al sexo, la edad, el peso, la raza, el tipo de producción, la altitud, el clima, la calidad de la nutrición, el estado de balance hídrico, y el volumen sanguíneo, así como, el estado de salud o enfermedad, la actividad muscular, la temperatura ambiente, el estado fisiológico y el estrés, además, se han reportado variaciones por efecto de la técnica de laboratorio utilizada, así como la experiencia de las personas que la realizan. (Schalm *et al.*, 1981; Dukes y Swenson, 1981; Gurtler, 1976).

La explotación de los bovinos domésticos (*Bos taurus* y *B. indicus*) para la producción de alimentos para la humanidad constituye una de las actividades económicas fundamentales del hombre, para esta especie de rumiante se han reportado los siguientes valores promedios: eritrocitos 7.000.000 por μl , plaquetas 500.000 por μl , leucocitos 8.000 por μl , 35% el volumen

celular aglomerado y 11% la hemoglobina (Schalm *et al.*, 1981).

Variaciones atribuibles al estado fisiológico, para animales aparentemente sanos han sido publicados y recopilados (Dukes y Swenson, 1981; Schalm *et al.*, 1981). También, se han reportado estudios contradictorios sobre las variaciones en los valores hematológicos en distintas fases de la gestación. Conner; *et al.*, (1967), citado por Schalm *et al.*, (1981), en un estudio de 60 vacas, concluyeron que el estado de gestación no produce modificación evidente alguna sobre el recuento total de leucocitos, y el hematocrito; por otro lado D'angelino *et al.*, 1977 no reportan diferencias significativas en los recuentos celulares de eritrocitos, leucocitos, el volumen celular aglomerado y la hemoglobina en hembras bovinas vacías, al inicio, mitad y final de la gestación o durante el puerperio.

Diversos autores han señalado variaciones en los valores hematológicos de los animales de acuerdo a su edad, peso, estado fisiológico y nutricional, de manera que los valores de eritrocitos, leucocitos, plaquetas, hemoglobina, volumen celular aglomerado pueden variar con la edad y peso de los animales y pueden también ser afectados por el estado reproductivo del animal (Gurtler *et al.*, 1976; Banks, 1981; Ramírez *et al.*, 1998).

En Venezuela, valores hematológicos promedio para animales de diferentes razas, edad, sexo y peso han sido reportados (Mejía, 1971, Di Michelli *et al.*, 1977, Ramírez *et al.*, 1994, Ramírez *et al.*, 1998 (b)). La bibliografía nacional sobre dichos indicadores sanguíneos de los bovinos en distintos estados fisiológicos es aún escasa; no encontrándose referencias de hembras en las distintas fases de la gestación.

HIPÓTESIS

Los valores hematológicos de hembras bovinas gestantes están relacionados con la fase de la gestación y con el grupo racial predominante, con el número de partos, con la condición corporal, con el periodo de la lactación y con el grado de infección parasitaria.

OBJETIVOS GENERALES:

Determinar en hembras bovinas preñadas los valores hematológicos de eritrocitos, volumen celular aglomerado, hemoglobina, leucocitos y plaquetas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Determinar los valores hematológicos en animales durante el primer, medio y último tercio de la gestación.
- 2) Determinar las concentraciones de ERI, VCA, Hb, LEU y PQA en animales gestante de predominancia racial Carora (PCA) y predominancia racial Holstein (PH).
- 3) Comparar los valores de ERI, VCA, Hb, LEU y PQA en animales gestantes de distintos número de parto, condición corporal, y estadio de lactación y carga parasitaria.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Finca A

Ubicación

Ubicada en una zona de vida de bosque seco tropical, del municipio Pampán del estado Trujillo, con una temperatura media anual de 26°C, 1200 – 1400 mm de precipitación y una altura de 420 msnm.

Alimentación y manejo

Los animales fueron criados bajo un plan alimenticio y sanitario adecuado, el nacer, recibieron calostro de la madre por tres días, luego fueron separados de ellas, y

pasados a un galpón donde fueron alojadas en jaulas individuales, la alimentación era de 4 litros de leche diaria y ½ kilo de alimento concentrado iniciador (desde los seis a siete días de nacido) hasta los tres meses de edad, luego los 3 a 8 meses fueron pasadas a corrales comunes, recibiendo 1 Kg de alimento concentrado de levante y heno de gramínea del género, *Brachiaria* (*B. decumbes* y *B. humidicula*), sales minerales y suero líquido de leche ad libitum. Posteriormente al tener los 8 meses fueron alimentados en base a heno, melaza, pasto picado, suero y minerales hasta los 15 meses de edad cuando pasan al lote de pre servicio con una alimentación de pastoreo de *B. humidicula*, *B. decumbes* y heno.

Al alcanzar un peso de 300-320 Kg se pasan al lote de servicio con una alimentación a base de las gramíneas antes nombradas y suplementadas con suero líquido ad libitum, pastoreo, minerales y melaza.

Al lote de servicio se observan dos veces al día para detectar celo y ser inseminada, realizándose el diagnóstico de gestación los 45 días post servicio. Palpando luego el lote de novillas preñadas donde permanecen hasta unas tres semanas de la fecha estimada del parto, cuando son trasladadas al corral de maternidad.

Plan Sanitario

Cura del ombligo: se realiza desde el primer día de nacido con tintura de yodo al 7%, una vez al día por 3 días seguido.

Inyectar vitaminas A, D, E. una sola solución.

Dar suficiente calostro. Primeras seis horas.

Vacuna contra la neumoenteritis (bobita): se le aplica a los 3 días de nacido 5cc en animales de rebaños sanos y 10 cc en animales de rebaños infectados.

Vacunación contra la brucelosis: se realiza entre los 3 y 8 meses de edad 5 cc.

Fiebre aftosa : se realiza a los 3 meses de edad (4cc, 5cc). Revacunar cada 4 a 6 meses con la vacuna en solución acuosa y cada año en suspensión oleosa.

Septicemia hemorrágica: se realiza a partir del 7mo día de nacido 2cc. Revacunar cada 12 meses. En zonas de alta incidencia cada 6 meses.

Estomatitis vesicular: realiza en animales mayores 4 meses de edad en adelante. Revacunar cada 6 a 8 meses.

Leptospira: el uso de bacterinas contra la leptospirosis está condicionada por la presencia de la enfermedad. NOVALEP: 5-2cc. vía S.C ó I.M.

BACTERINA: C.I.V.: 5 cc. vía S.C

Vacuna de la Triple: se le coloca en animales menores de 3 meses de nacido.

Rabia Paralítica (Rabia Bovina): se realiza a los 5 meses de edad 4cc. Revacunar cada 6 meses. En zonas de alta incidencia cada 3 meses.

Desparasitaciones: se realizan 3 veces al año (Enero, Junio, Septiembre) o sea, al primer mes de nacido se desparasitan con IBERC^{MR}, también con anticoccidiosis cada 3 meses.

Sistema de manejo del rebaño en producción:

En esta finca los animales son sometidos a un baño con mosquicida Teatok cada 21 días. En cuanto al ordeño; es

mecánico 2 veces al día uno a las 4am y otro 4pm, luego del ordeño son llevadas al corral estabulado libre.

Finca B

Ubicación

Ubicada en una zona de vida de bosque seco tropical, de los Llanos de Monay del estado Trujillo, con una altitud de 250 msnm, a una temperatura media anual de 28°C, y una precipitación de 1315 mm.

Alimentación y manejo

Los animales al nacer reciben calostro de su madre, luego a los 3 días de nacidos son separados y llevados a jaulas individuales en un período hasta los 90 días de edad; transcurrido los 15 días de nacidos a estos animales se les da alimento concentrado de 2-3Kg diario y leche. Después los animales son llevados al corral, en donde llevan una alimentación a base de heno, cogollo de caña, pasto fresco (verde) y melaza junto con otros minerales.

Principales materiales y reactivos usados en hematología:

Estándar de hemoglobina: hemoglowiener estándar, 1,5ml. Wiewer Laboratorio SAIC. Rosario-Argentina.

Reactivo hemoglowiener: winer. Laboratorio SAIC. Rosario argentina.

Tubos de prueba de hemoglobina.

Pipeta diluidora de eritrocitos, plaquetas, leucocitos proper trophy. Tropper manufacturing co, usa.

Pipeta diluidora de leucocitos proper trophy. Tropper manufacturing co, usa

Alcohol isopropílico.

Cámara de Neubauer 0,0025mm².BOECO. Alemania.

Agujas (de calibre 14 x 1)

Tubos Capilares Micro Hematocrito.

Sal disódica del ácido Etilendiaminotetracético (EDTA).

Industrias Químicas ERBA C.A. Caracas Venezuela.

Guantes de Inseminación.

Tubos de ensayo.

Cámaras de Mc. Master s/m.

Principales Equipos.

- Centrifuga Triac clay Adams. División of Becton. Dickinson and Company.
- Spectronic 20. Milton Roy Company
- Homogeneizadora de Sangre. Balance and Load Tray form Center out. Bio Medica
- Microscopio óptico. Labonal 4 Medica.

Coprología

- Microscopio
- Centrifuga Gemmy Industrial Corp. rpm 4000 ± 5%
- Espectrofotometro
- Agitador
- Guantes de Inseminación.
- Tubos de ensayo, láminas y laminillas.
- Cámaras de Mc. Master s/m.

Animales en Estudio: fueron pesados luego de la toma de muestra y de los registros generales e individuales de la finca se estableció la edad y días de la gestación.

Se clasificaron según:

- La predominancia racial en Carora n=(88); Holstein n= (71).

- Días de lactancia ≤ 90 días (n=40); >90 días (n=119).

- La condición corporal ≤ 2,5 (n=104); >2,5 (n=55).

- El número de partos ≤ 2 partos (n= 122); > 2 partos (n= 37).

- Carga parasitaria ≤ 200 HPG (n=145); > 200 HPG (n=14).

- El periodo de gestación ≤ 90 días (n=35), >90 días ≤ 180 días (n=44); > 180 días (n=80).

Muestreo: Por la mañana, mediante puntura de la vena yugular, se tomaron una muestras de sangre, la cual se tomó en tubos adicionados con sal disódica del ácido etilendiaminotetracético EDTA para una concentración final de 1-2mg/ml de sangre. En cavas refrigeradas fueron trasladadas al Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología LIFI-ULA donde se procesaron dentro de las 18 horas siguientes.

Técnicas del laboratorio:

Los tubos con las muestras de sangre fueron colocadas en el laboratorio en un agitador con el fin de mantenerla homogeneizada.

Eritrocitos (ERI)

En una pipeta para eritrocitos se succionó con cuidado hasta que la columna de sangre alcanzó la marca de 0,5, y luego se limpió su exterior con gasa para eliminar el exceso de sangre.

La pipeta se sostuvo en posición vertical y se introdujo la punta profundamente en el tubo de ensayo que

contenía el diluyente de solución salina fisiológica (Cloruro de Sodio al 0,85%). Inmediatamente se succionó la solución salina fisiológica hasta la marca 101, se sacó la pipeta y colocando el dedo índice en un extremo y el pulgar en el otro, se agitó fuertemente unos dos minutos con el objeto de lograr una adecuada homogeneización de las células en el diluyente, y luego se cargó la cámara cuenta glóbulos (Schalm *et al.*, 1.981). La cámara para recuentos consiste de un retículo rectangular grabado sobre un vidrio grueso con dos barras transversales sobre elevadas en las que apoya el cubreobjeto. En el área central ubicada entre las barras existen dos plataformas, cada una de las cuales están rodeadas completamente por una depresión. La superficie brillante de cada plataforma está a 0,1mm por debajo del cubreobjeto de forma tal, que cuando las cámaras se llenan la profundidad del líquido es de 0,1mm. Cada una de las plataformas presenta un retículo formado por nueve cuadros primarios, de un milímetro cuadrado c/u. Cada uno de los cuatro cuadros primarios ubicados en los ángulos están subdivididos en 16 cuadros secundarios, para facilitar el recuento de leucocitos. El cuadro primario central se divide en 25 cuadros terciarios, que se usan para el recuento de eritrocitos. Se tomó la cámara y cubreobjeto, se limpiaron con un algodón empapado de acetona, con el fin de eliminar la grasa, se colocó el cubreobjeto sobre la cámara de tal manera que en toda su dimensión fuese paralela a la cámara.

Para cargarla se desecharon las tres primeras gotas de la pipeta y se colocó la punta de la misma en la hendidura que separa el borde de cubreobjeto de la cámara dejando que el líquido llenará por capilaridad la totalidad de la misma, después se llenó la otra cámara de la misma

manera, luego se colocó sobre la platina del microscopio, enfocándose con un lente de 40X y se procedió a buscar el retículo para el contaje en ambas cámaras y se calculó el número total de los mismos multiplicando por 10.000 el promedio del recuento en las dos cámaras.

Para realizar el recuento de eritrocitos, se determina el número de células contenidos en los cinco cuadros secundarios (80 terciarios) y se multiplica por 10.000, lo que implica agregar cuatro ceros al número de las células obtenido; este valor representa el número de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre.

Área contada $1/5 \text{ mm}^3 \times 1/10 \text{ mm}$ profundidad $\times 1/200$ concentración de la dilución = $1/10.000 \text{ mm}^3$ de sangre no diluida.

$1/10.000 \text{ mm}^3$ -----ERI contados en los cinco cuadros.

1 mm^3 ----- X

$$X = \frac{\text{ERI contados} \times 1}{\text{mm}^3}$$

Volumen Celular Aglomerado (VCA):

Se tomó un tubo capilar de vidrio y se llenó con la muestra de sangre que contenía el tubo de ensayo, hasta llenar aproximadamente 2/3. La toma se efectuó por el extremo opuesto a la marca roja, luego sellado con plastilina y se colocó en la centrifuga marca TRIAC (Clay Adams) y fue centrifugada a 10.000 rpm por 3 minutos. Después de centrifugada se determinó el valor del Volumen Celular Aglomerado deslizando el tubo sobre la escala de referencia hasta hacer coincidir la parte superior de la columna plasmática con 100% de la escala y la parte inferior con el cero de la columna globular.

Hemoglobina (Hb)

Dentro de las 24 horas de su extracción, la muestra fue procesada para determinar la hemoglobina utilizando el Hemoglowiener, cuyo fundamento es que la hemoglobina (Hb) presente en la muestra, en presencia de Ferricianuro se oxida a hemiglobina (Hi) también llamada metahemoglobina que, a su vez se combina con iones cianuro a Ph 7,2 convirtiéndose en cianuro hemiglobina (HiCN o cianmetahemoglobina). Para ello, en un tubo de ensayo se agregó 5ml de reactivo y luego 20µl de sangre. Para esto con una pipeta de Sahli se tomaron 20µl de sangre, se limpió la parte externa con gasa, se introdujo en el tubo con el reactivo y se mezcló; luego se retiró la pipeta del tubo y se procedió a agitarlo haciéndolo girar tres veces en un ángulo de 180 grados.

Para determinar el patrón se tomó un tubo de ensayo, a la cual se le agregó 5ml de reactivo de Hemoglowiener, luego con una pipeta de Shali se introdujo en el patrón y se absorbió hasta alcanzar 20 µl, de hemoglobina ESTÁNDAR de 15 gr/dl (Wiener Lab). La determinación de la cantidad de hemoglobina para cada muestra se realizó en el espectrofotómetro, Espectronic 20 (Milton Roy), determinando el valor en la escala de absorbancia de la siguiente manera: para lograr la calibración del equipo se enciende con 20 minutos de anticipación, luego se tomó el tubo (TUBES TEST) que es el blanco, (que contiene solamente 5ml de reactivo), se introduce en el aparato y con ayuda de los botones cero control y control absorbancia se ubica la aguja en cero a la izquierda y 100 a la derecha, teniendo cuidado que al sacar el tubo de la aguja quede en cero y al introducirlo de nuevo

llegue a 100, esto se repitió tres veces como mínimo. Para el análisis de hemoglobina el aparato trabaja con una longitud de onda de 540nm (nanómetros), el mismo consta: a) de una pantalla donde se observa dos escalas: una de transmitancia y otra de absorbancia, con esta última se trabajó, b) un botón de control de la intensidad de las ondas al lado del cual hay una pequeña escala donde se visualiza la cifra correspondiente a longitud de onda y c) un compartimiento para la muestra, que es el lugar por donde se introduce el tubo blanco o de referencia.

Luego de ser calibrado el aparato se procedió a hacer las lecturas de las muestras. Para el cálculo de la cantidad de hemoglobina presente en la muestra se procede de la siguiente manera: se introduce el tubo patrón, se anota la lectura del mismo y con esta lectura se calcula el factor, dividiendo la concentración del patrón (Hemoglowiener estándar) entre la lectura tomada del aparato, luego este factor se multiplica con cada una de las lecturas de la muestra que se procesaron y el resultado de la mismas es la cantidad de hemoglobina presente en la muestra.

Hemoglobina g/l = D x Factor Donde:

Factor = $\frac{\text{Estándar g/l}}{S}$

S

Estándar g/l = contenido de hemoglobina correspondiente al lote de hemoglowiener .

D = Lectura de la muestra

S = Lectura obtenida en el aparato del tubo patrón.

Cada muestra fue leída por duplicado y el promedio de estas se tomó como su contenido de hemoglobina promedio.

Leucocitos (LEU):

Se insertó la pipeta para leucocitos en la superficie de la sangre y se succionó con cuidado hasta que la columna de sangre alcanzó la marca de 0,5, inmediatamente se retiró la pipeta del tubo de ensayo y se limpió su exterior con gasa para eliminar el exceso de sangre.

La pipeta de leucocitos que contenía la muestra de sangre se sostuvo en posición vertical y se introdujo la punta profundamente en un tubo de ensayo al que se le había colocado solución de ácido acético glacial al 1% el cual está compuesto por 1ml de ácido acético glacial y 100ml de agua destilada, al mismo se le agrega una gota de Giemsa. Inmediatamente se aspiró por el tubo de goma de la pipeta para cargarla de solución de ácido acético glacial hasta la marca 11 de la columna y se sacó la pipeta del tubo de ensayo colocando el dedo índice en su extremo y el pulgar en el otro, luego se agitó por espacio de dos minutos con el objeto de lograr una adecuada homogeneización de las células en líquido diluyente. Se desecharon las tres primeras gotas de la pipeta y se colocó la punta de la misma en la hendidura que separa el borde del cubreobjeto de la cámara dejando que el líquido llenará por capilaridad la totalidad de la misma.

Después se llenó el otro lado de la cámara de la misma manera y luego se colocó la cámara sobre la platina del microscopio enfocándose con un lente de 10X y se procedió a buscar los cuatro cuadrados grandes situados en las esquinas de la cámara, se procedió al conteo de los leucocitos en el cuadro número uno, a continuación los del número dos así y sucesivamente, progresando de izquierda a derecha por la hilera superior. En la segunda hilera se procede de derecha a izquierda continuando de

izquierda a derecha por la hilera superior. En la segunda hilera se procese de derecha a izquierda continuando de la misma forma hasta cubrir la totalidad del área del cuadro.

Los leucocitos suelen contarse en los cuatro cuadrados primarios de los ángulos y multiplicar el número obtenido por un factor de cincuenta, a fin de obtener el número de células totales por μl de sangre.

Líquido en cada cuadrado primario de la cámara:

1/10 μl .

Cuatro cuadrados primarios: 4/10.

4/10 x 1/20 (factor de dilución): 1/50 μl de sangre sin diluir.

Plaquetas (PQA):

Se succionó el diluyente en la pipeta para eritrocitos hasta la marca 1 y se elimina rápidamente. Esto con la finalidad de humedecer las paredes de vidrio y evitar la adherencia de los trombocitos cuando entre la sangre. Posteriormente se introduce la pipeta en un tubo de ensayo con sangre hecha incoagulable con EDTA.

La sangre bien mezclada penetra en la pipeta hasta la marca 0,5; se completa con diluyente hasta la marca 101 el cual está compuesto por un gramo de oxalato de amonio y 100ml de agua destilada, al mismo se le agrega azul brillante de cresillo. Luego se procede a agitar la pipeta durante cinco minutos con el fin de homogeneizar la muestra, al momento de cargar los dos retículos de cámara se descartan las tres primeras gotas del contenido de las pipetas. La cámara cargada se colocó en una cámara húmeda que contenga gasa húmeda de modo que

su cara inferior quede en contacto directo con la gasa húmeda y se deja reposar por 15 minutos de modo que las plaquetas se asienten. Después de haber transcurrido este tiempo se coloca la cámara en la platina del microscopio y se enfoca la misma por medio del objetivo 40X. Hay que disminuir la luz para hacer visibles los trombocitos y mientras se va dando foco con el tornillo micrométrico se cuentan todos los trombocitos del área central de la cámara correspondiente a 1mm^2 de los dos retículos de la cámara esto; da el número de trombocitos en $0,2\mu\text{l}$ de una dilución de sangre 1:200, el número de trombocitos contados se multiplica por 2000 (Schalm *et al.*, 1.981).

Coprología

Colecta de muestras de heces: Las muestras de heces fueron colectadas directamente del recto de los animales, utilizando guantes plásticos. Las mismas fueron identificadas y colocadas en cavas refrigeradas y trasladadas al Laboratorio de Investigación de Fisiología e Inmunología del Núcleo Universitario “Rafael Rangel” donde se conservaron a 4°C hasta su procesamiento, durante un período no mayor de siete días. Las muestras fueron colectadas una vez por semana durante cuatro meses consecutivos (Junio-Septiembre 1999) y preferiblemente en horas de la mañana.

Estudio Parasitológico: Las muestras de heces fueron analizadas a través del método cualitativo de Willis y el cuantitativo Mc Master modificado.

➤ Método de Willis : esta técnica fue empleada para la detección de huevos de helmintos y de ooquistes de especies de *Eimeria*. Para su ejecución se mezclaron 2 gramos de heces en 20 veces su volumen de solución

saturada de cloruro de sodio; una vez homogeneizada, la mezcla fue filtrada a través de un colador para eliminar las partículas fecales de mayor tamaño y con el líquido resultante se llenó hasta el borde un tubo de ensayo. A continuación, se deslizó con cuidado un cubreobjeto, de manera que la superficie del líquido toque la de la laminilla y se mojara, sin que quedaran burbujas de aire entre ambas superficies. Pasados 10 a 20 minutos, el cubreobjetos fue retirado y depositado sobre una lámina portaobjetos bien limpia. La preparación fue examinada al microscopio, inicialmente con pequeño aumento (10X) y luego con mayor aumento (40X) para distinguir bien la morfología de las formas parasitarias encontradas.

➤ Método de Mc- Master: la determinación del número de ooquistes y de huevos por gramos de heces fué realizado a través de la técnica cuantitativa de Mc-Master modificada (Manual of Veterinary Parasitocal Techniques, 1971).

Para la ejecución, fueron utilizados 2 gramos de heces, a la cual se adicionó solución saturada de cloruro de sodio hasta completar un volumen de 30 ml. La mezcla luego de ser homogeneizada, fue tamizada a través de una malla fina, siendo recuperada la parte fluida y descartado el resto. Una alícuota de la suspensión obtenida, fue removida por medio de una pipeta Pasteur en cantidad suficiente para llenar las dos cámaras de la lámina de Mc Master, la cual se mantuvo en reposo durante 10 minutos. A continuación se realizó la lectura en el microscopio a pequeño aumento (10X), identificándose y contándose todas las formas parasitarias presentes en ambas cámaras. Después del recuento y según el caso, fue calculado el valor de ooquistes por gramo de heces (OPG) y de huevos por

gramo de heces (HPG) de acuerdo a la siguiente formula (Manual of Veterinary Parasitological Laboratory . 1971).

$$\text{OPG o HPG} = \frac{\bar{X}}{0,15} \times 30 \times \frac{1}{2}$$

Donde:

$$\bar{X} = \frac{\text{número medio de ooquistes de huevos contados en la cámara}}{\text{volumen de la muestra en } 1 \text{ cm}^2}$$

30= Volumen de muestra (Ej. 2grs de heces + 28 ml de solución saturada de cloruro de sodio)

½ = Corrección para 1 gr de heces.

Soluciones:

Solución para eritrocitos.

Solución Salina Fisiológica (0,85%).

Solución para leucocitos.

Ácido Acético Glacial	1ml
Agua Destilada	100ml
Giemsa	1 gota

Tabla lectora de hematocrito.

Solución para Plaquetas.

Oxalato de Amonio	1gr
Agua destilada	100ml
Azul de Cresillo Brillante	2 gotas.

Análisis Estadístico: los datos fueron procesados con el sistema estadístico SAS; utilizándose los procedimientos MEANS FREQ Y TTEST.

RESULTADOS

Como se observa en la tabla I, se presenta la estadística descriptiva de las características de hembras lecheras gestantes, al momento de la toma de la muestra con valores promedio de: peso de 488,29 Kg, condición corporal 3.3 para ese momento tenían edad de 57,38 meses, transformándolo en días con una media de (1744,47 días), y un periodo días de gestación de 169,67 días y con una carga parasitaria de 72,64huevos/gr. de heces.

TABLA I. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS CARACTERÍSTICAS DE HEMBRAS GESTANTES EN FINCAS LECHERAS DEL ESTADO TRUJILLO

Variable	n	Mínimo	Máximo	Media ±DE	CV
PEMUES (Kg)	159	280,00	718,00	488,29 ± 84,84	17,37
NOPAR	159	0,00	5,00	1,72 ± 1,17	68,14
CC	72	0,50	5,00	3,3 ± 0,91	27,31
EDAD: Días	157	841,00	3.669,00	1.744,47 ± 619,05	35,49
EDAD: Meses	157	27,66	120,69	57,38 ± 20,36	35,49
DIAGESTA	157	35,00	292	169,67 ± 73,56	43,36
HPG (grs)	159	0,00	900,00	72,64 ± 142,95	196,78

X=media, DE= desviación estándar, m= valor mínimo, M= valor máximo, CV=coeficiente de variación, PEMUES= Peso de los animales al muestreo (Kg), NOPAR= Número de partos, CC= Condición Corporal, EDADMES= Edad a la muestra, DIAGESTA= días de gestación, HPG= huevos por gramos de heces.

TABLA II. DESCRIPCIÓN DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS DE HEMBRAS GESTANTES DE FINCAS LECHERAS DEL ESTADO TRUJILLO

Variable	n	Mínimo	Máximo	Media ± DE	CV
ERI mill./ μ l	159	3.542.000	9.120.000,00	6.36 ± 1.017.650	15,99
VCA %	159	21,00	42,00	32,21 ± 3,97	12,33
Hb g%	159	6,80	14,80	10,81 ± 1,71	15,86
LEU miles./ μ l	159	6.25	35.275	12.444 ± 3.806	30,59
PQA miles./ μ l	159	178.000	789.000	412.327 ± 72,232	17,52

n= número de animales, ERI= eritrocitos, VCA= hematocrito, Hb=hemoglobina, LEU= leucocitos y PQA=plaquetas, DE=desviación estándar, mill= millones, CV= coeficiente de variación, μ l= microlitros.

En la tabla II, se observa los valores hematológicos de hembras gestantes de las diferentes fincas lecheras la media de Eritrocitos fue de $6.363.154 \pm 1.017.650/\mu$ l; el VCA de $32,21 \pm 3,97\%$, la Hb de $10,81 \pm 1,71\text{gr}\%$ y las plaquetas de 412.327 ± 72.232 por μ l: los leucocitos intervinieron en 12.444 ± 3.806 por μ l.

TABLA III. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS EN VACAS (*Bos taurus*) GESTANTES DE ACUERDO A LA FINCA.

Variable	FINCAS				P>F
	A		B		
	n	Media±DE	n	Media±DE	
ERI mill./ μ l	88	6,10± 1,00	71	6,70± 0,95	0,65
VCA %	88	31,15± 3,80	71	33,50± 3,81	0,97
Hb g%	88	10,27± 1,69	71	11,47 ± 1,49	0,27
LEU miles./ μ l	88	11.713 ± 2.263	71	13.349 ± 4.984	0,05
PQA miles./ μ l	88	399.295 ± 604,07	71	428.478 ± 822,40	0,05

n= número de animales, Media±DE= media ± desviación estándar, P>F=probabilidad, A= montesano, B= orquídea, mill= millones, μ l= microlitros.

En la tabla III, se presenta la estadística descriptiva para los valores hematológicos de acuerdo a la finca A y B, en ella observamos las concentraciones en ERI, VCA y Hb no mostraron diferencias significativas ($P>0,05$) en tanto que los valores de leucocitos y plaquetas fueron significativamente diferentes ($P<0,05$) siendo mayor los valores para los animales de la finca B.

TABLA IV ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS EN HEMBRAS (*Bos taurus*) GESTANTES DE ACUERDO A LOS DÍAS DE LACTANCIA.

Variable	Días de Lactancia				P<F
	≤ 90 días		> 90 días		
	n	Media±DE	n	Media±DE	
ERI mill./μl	40	6,23± 1,10	119	6,40 ± 0,99	0,38
VCA %	40	31,22 ± 3,37	119	32,53 ±4,11	0,15
Hbg%	40	10,16 ± 1,41	119	11,02 ± 1,75	0,11
LEU miles./μl	40	12.173 ± 2.063	119	12.535 ± 4.238	0,05
PQA miles./μl	40	390.975 ± 109.859	119	419.504 ± 528,28	0,05

n= número de animales, Media±DE= media ± desviación estándar, P>F=probabilidad, mill= millones, μl= microlitros.

En la tabla IV, se presentan la estadística descriptiva de los valores hematológicos de acuerdo a los días de lactancia y en el observamos que los valores hematológicos de vacas lecheras ≤90 días en cuanto a ERI, VCA y Hb no mostraron diferencias significativas (P>0,05), en tanto que los LEU y PQA dieron una diferencia significativa (P<0,05).

TABLA V ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS EN HEMBRAS (*Bos taurus*) GESTANTES DE ACUERDO A LA CONDICIÓN CORPORAL.

Variable	Condición Corporal				P>F
	≤ 2,5		≥2,5		
	n	Media±DE	n	Media±DE	
ERI mill./μl	104	6,27 ± 0,99	55	6,52 ± 1,06	0,51
VCA %	104	31,85 ± 3,89	55	32,87 ± 4,06	0,70
Hb g%	104	10,78 ± 1,74	55	10,86 ± 1,66	0,68
LEU miles./μl	104	12.148 ± 2.474	55	13.003 ± 5.498	0,05
PQA miles./μl	104	412.644 ± 814,52	55	411.727 ± 510,99	0,05

n= número de animales, Media±DE= media ± desviación estándar, P>F= probabilidad, mill= millones μl= microlitros.

En la tabla V, se observa los valores hematológicos de acuerdo a la condición corporal al momento de la toma de la muestra, en ella que los valores de ERI, VCA y Hb no mostraron diferencias significativas ($P>0,05$) en tanto que los valores de LEU y PQA si hubo diferencias significativas ($P<0,05$).

TABLA VI. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS EN VACAS (*Bos taurus*) GESTANTES DE ACUERDO AL NÚMERO DE PARTOS.

Variable	Partos				P>F
	≤ 2 Partos		>2 Partos		
	n	Media±DE	n	Media±DE	
ERI mill./μl	122	6,37 ± 1,06	37	6,32 ± 0,85	0,13
VCA %	122	32,02 ± 4,10	37	32,81 ± 3,48	0,26
Hb g%	122	10,85 ± 1,61	37	10,64 ± 2,01	0,07
LEU miles./μl	122	12.778 ± 4.131	37	11.341 ± 2.144	0,05
PQA miles./μl	122	411.221 ± 765,79	37	415.972 ± 563,06	0,05

n= número de animales, Media±DE= media ± desviación estándar, P>F= probabilidad, mill= millones, μl= microlitros.

En tabla VI, en ella presentamos los valores hematológicos de acuerdo al número de partos en la cual se observa, que los valores de ERI, VCA y Hb no fueron significativamente diferentes ($P>0,05$) en tanto que LEU y PQA si lo fueron.

TABLA VII. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS EN HEMBRAS (*Bos taurus*) GESTANTES DE ACUERDO A LA CARGA PARASITARIA .

Variable	Carga Parasitaria				P>F
	≤ 200 HPG		>200 HPG		
	n	Media±DE	n	Media±DE	
ERI mill./μl	145	6,37 ± 1,01	14	6,25 ± 1,11	0,56
VCA %	145	32,39 ± 3,98	14	30,28 ± 3,36	0,50
Hb g%	145	10,81 ± 1,74	14	10,76 ± 1,34	0,27
LEU miles./μl	145	12.445 ± 3.921	14	12.428 ± 2.409	0,05
PQA miles./μl	145	410.337 ± 708,57	14	432.928 ± 854,30	0,28

n= número de animales, Media±DE= media ± desviación estándar, P>F=probabilidad,HPG= huevos por gramo de heces, mill= millones, μl= microlitros.

En esta tabla VII, se presenta las estadísticas descriptivas de las concentraciones hematológicas de acuerdo a la carga parasitaria observándose, que los valores de ERI, VCA, Hb y PQA no mostraron diferencias significativas ($P>0,05$) en tanto que para los leucocitos si tienen diferencias significativas ($P>0,05$).

TABLA VIII. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS EN HEMBRAS (<i>Bos taurus</i>) GESTANTES DE ACUERDO AL PERÍODO DE GESTACIÓN.			
Variable	Período de Gestación		
	≤ 90 días	>90 días ≤180 días	> 180 días
	X± EE	X± EE	X± EE
ERI mill./ μ l	6,36 ± 0,17 a	6,71 ± 0,15 a,b	6,17 ± 0,11 c
VCA %	31,40 ± 0,64 a	34,20 ± 0,57 b	31,46 ± 0,42 a,c
Hb g%	11,02 ± 0,29	10,99 ± 0,26	10,61 ± 0,19
LEU miles./ μ l	12,368 ± 641	13.272 ± 571	12.021 ± 424
PQA miles./ μ l	423.771 ± 122,40	411.750 ± 109,16	407.637 ± 8.096

n= número de animales, Media±EE= media ± error estándar, P>F=probabilidad, mill= millones, μ l= microlitros. Medias con letras distintas difieren significativamente ($P<0,05$).

Como se observa en la tabla VIII, las concentraciones de ERI y VCA fueron estadísticamente diferentes entre animales con gestación de > 90 y ≤ 180 días con respecto a aquellos con gestaciones mayores de 180 días, no detectándose diferencias entre aquellas vacas con gestación de menores de 3 meses y de 3 a 6 meses de gestación.

DISCUSIÓN

Eritrocitos

El valor medio mostrado similar a los reportados por Schalm *et al.*, (1981); superiores a los valores medios reportados por Azuaje y Sánchez *et al.*, (1994), $5.853.000 \pm 7.366.666 \text{mm}^3$, para animales mestizos explotados al Sur del Lago de Maracaibo, estuvieron dentro del rango reportado por Dukes *et al.*, (1981). La no detección de diferencias significativas entre los animales agrupados de acuerdo al número de partos, condición corporal y periodo de lactación puede estar asociado con el estado nutricional satisfactorio a la que estuvieron sometidos los animales, sin embargo, la menor concentración de ERI observado en los animales con cargas parasitarias leves pueden atribuir a la presencia de parásitos intestinales. Si bien Conner *et al.*, (1967) y D'angelino *et al.*, (1975), no reportaron diferencias en estos valores por efecto de la gestación, estos resultados mostraron que una disminución de esos valores en el estadio final de la gestación, lo cual es atribuible al esfuerzo fisiológico y en menor medida por la preparación de la glándula mamaria para la síntesis lactea.

VCA:

Los valores medios de VCA estuvieron dentro del rango reportado para la especie (Schalm *et al.*, 1998, Dukes *et al.*, 1998, Ramírez *et al.*, 1998), si bien no se observaron diferencias significativas entre los animales agrupados de acuerdo al número de partos, condición corporal y el periodo de lactación se

observó la tendencia a un menor VCA en los animales con infestaciones parasitarias leves lo cual es atribuible a la mayor carga parasitaria. Si bien Conner *et al.*, (1961) no reporta diferencias significativas para animales preñados en este parámetro, al igual que D'angelino *et al.*, (1975) esto fue significativamente menor en el último tercio de la gestación, lo cual, es atribuible a una mayor retención de liquido en el último tercio de la gestación.

Hb:

El valor medio mostrado fue similar a los valores reportados por Schalm *et al.*, (1981), estuvieron dentro del rango reportado por Dukes *et al.*, (1981). La no detección de diferencias significativas entre los animales agrupados de acuerdo al número de partos, condición corporal y periodo de lactación puede estar asociado con el estado nutricional satisfactorio al que estuvieron sometidos los animales, sin embargo, la menor concentración de Hb observado en los animales con cargas parasitarias leves pueden atribuir a la presencia de parásitos intestinales. Si bien Conner *et al.* (1967), y D'angelino *et al.*, (1975), no reportaron diferencias en estos valores por efecto de la gestación, estos resultados mostraron que una disminución de esas concentraciones en el estadio final de la gestación, lo cual es atribuible al esfuerzo fisiológico realizado tanto por la lactación como por demanda de nutrientes por parte del feto.

LEU:

Los valores medios de LEU fueron semejantes a los reportados por Ramírez *et al.*, (1994). En los animales agrupados de acuerdo al número de partos, condición corporal y el periodo de lactación fueron significativamente diferentes; no tenemos una explicación para ello; sin embargo, variaciones por efecto del estrés y la manipulación de la muestra han sido reportadas por Shalm *et al.*, (1981). La no existencia de diferencia de acuerdo al periodo de gestación coincide con Conner *et al.*, (1967), mientras que D'angelino *et al.*, (1975) reporta resultados contradictorios mayor es en animales en el último periodo de la gestación.

PQA:

Los valores medios de PQA fueron similares a los reportados por Ramírez *et al.*, (1994), estos valores fueron significativamente diferentes en los animales agrupados de acuerdo al número de partos, condición corporal y el periodo de lactación. Aunque no tenemos una explicación para ello, se han reportado, variaciones por efecto del estrés y la manipulación de la muestra Shalm *et al.*, (1981). Por otra parte, existen reportes que señalan un aumento de trombocitos durante la gestación, siendo estos resultados contradictorios a los encontrados en este trabajo.(Gurtler *et al.*, 1976).

CONCLUSIONES

- 1) La fase de gestación demostró diferencias significativas para las concentración de ERI, VCA, observándose la tendencia a disminuir estos valores en el último tercio de la gestación.
- 2) El período de gestación no afecta significativamente a los valores de Hb y PQA.
- 3) Los valores de ERI, VCA y Hb no mostraron diferencia significativa por efecto del número de partos, la condición corporal al momento de la toma de muestra, el período de lactancia entre los animales con ≤ 90 días y ≥ 90 días, y a la carga parasitaria.
- 4) Las concentraciones de leucocitos fueron significativamente diferente entre animales ≤ 2 partos y >2 partos, de condición corporal $\leq 2,5$ y $>2,5$ entre animales con un período de lactación ≤ 90 días y ≥ 90 días, y en los animales con infestación parasitaria baja y.
- 5) Se detectaron diferencia significativa en la concentración de plaquetas entre animales por número de partos, los días de lactancia, condición corporal, sin embargo, no hubo diferencia significativa entre los animales con bajas y moderadas infectaciones de parásitos.
- 6) No hubo diferencia significativa entre los valores estudiados por efecto de la finca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BANKS, W.J. **Histología Veterinaria Aplicada**. Editorial el manual moderno, S.A. México: pág. 208-215. 1.986.
2. CONNER, G. H.; LABELL, J.A.; EYSTER, J.; WONNACOTT, V. 1967 Effects of pregnancy and age on hemograms of Holstein Friesian in herd with no evidence of leukemia , **Amer. J. Vet. Res.**, 28: 1303-12. In: SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Hematología Veterinaria**. 1^{ra} Edición Español. Editorial Hemisferio Sur. S. A. Buenos Aires. Argentina: 89-228. 1981.
3. CONTRERAS, B.; JOSE ANTONIO.; **Enfermedades de los Bovinos**. 1^{era} Edición Barquisimeto, Estado Lara. Editorial Rapilit . pags 69-70. 1992.
4. D'ANGELINO, J. L.; ARAUJO, L. M.; BIRGEL, E. H.; ARAUJO, W. P.; REICHMANN, C. E. Influência da gestacao e do puerpério sobre o quadro hemático de bovinos da raza Holandesa branca e preta. **Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo**. 14 (1): 11-12, 1977.
5. DI MICHELE DE R., S.; OTAIZA, E.; COLVEE, P.; MEJÍA, E. B. Valores hematológicos y de la química sanguínea de bovinos de los Estados Carabobo y Guárico II: Hematología, Colesterol y Glucosa. **Agronomía Tropical**. Vol XXXVII (6): 571-583. 1997.
6. DUKES, H. H. Y SWENSON, MELVIN J.; La sangre: Propiedades Fisiológicas y Constituyentes Celulares y Químicos. En: DUKES, H.H.; SWENSON, M.J. **Fisiología de los Animales Domésticos**. 4ta Edición. 2^{da} Reimpresión. México: pags 27-76. 1.981.
7. FRANDSON, R.D, B.S.; D.V.M.; M.S.; **Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos**.5^{ta} Edición . Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México. pags 437- 445. 1992.
8. GURTLER, H.; KETZ, H.A.; KOLB, E.; SCHRODER, L.; SIELDE, H. **Fisiología Veterinaria**. Editorial Acriba. Zaragoza. España: 451-465. 1.976.
9. GUTNISKY, ABRAHAM.; Glóbulos Rojos. En: Houssay, B.A. **Fisiología Humana**. 5ta Edición Librería “El Ateneo”, Editorial Buenos Aires. Argentina: pags 25-60. 1980. En: HOUSSAY, B.A. **Fisiología Humana**. 5^{ta} Edición Librería “El Ateneo”, Editorial Buenos Aires. Argentina: pags 25-53. 1.980.
10. LEÓN, P.L., Y TORRES, D.J. **Manejo de Rebaño de ovinos en el Occidente de Venezuela y valores sanguíneos en ovinos. (TESIS)**. 1993.
11. MEJÍA, E. B. Valores promedios normales de hematología, transaminasas (GOT-GPT) y fosfatasa alcalina en mautas mestizas lecheras de la Zona Central de Venezuela, **Facultad de Ciencias Veterinarias (Trabajo de Ascenso)** Maracay, Venezuela: 12-21. 1971.
12. RAMÍREZ, I. LILIDO, N.; TORRES, D.; LEÓN, PEDRO. L.; AZUAJE, KARLA K.; SÁNCHEZ, FREDDY. ;DÍAZ DE R, ADELINA. Observaciones Hematológicas en varios rumiantes Tropicales. **Revista Científica, FCV-LUZ** (Vol.VIII, N° 2, 105-112, 1998).
13. RAMÍREZ, I, L., AZUAJE, K., SÁNCHEZ, F., Y DÍAZ DE RAMÍREZ, A. Valores Hematologicos en Ganado Mestizo del Sur del Lago de Maracaibo. **XLIV Convención Anual AsoVAC Coro**, 13-18

de noviembre Vol 45. N° 1. Pag, 323, 1994.

14. RAMÍREZ, L., PEREA, F., ROSALES, W., RUIZ, H. Y RAMÍREZ, A. D. Valores Hematológicos en Nuliparas *Bos taurus* en fincas del Occidente de Venezuela. **XLVIII Convención Anual AsoVAC Maracaibo**, 9-13 de noviembre Vol 49 N° 2. Pag 338, 1998.
15. SAS. Institute, Inc. Statistical Analysis Systems, **SAS User's Guide**. Editions CARY, North Caroline. Version 6.02. 1987.
16. SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Hematología Veterinaria**. 1^{ra} Edición Español. Editorial Hemisferio Sur. S. A. Buenos Aires. Argentina: pags 89-228. 1981.
17. STEEL, R. G. D. Y TORRIE, J. H. **Bioestadística: Principios y Procedimientos**. 2^{da} Edición Editorial Mc Graw-Hill. Bogotá, Colombia. pags 166-187. 1985.
18. SALISBURY, G.W ; VAN DEMARK, N.L Y LODGE, J.R. **Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bóvidos** . 2^{da} Edición. Editorial Acriba Zaragoza. España . pags 137-170. 1982.
19. DERIVAUX, J. **Reproducción de los Animales Domésticos**. 2^{da} Edición. Editorial Acriba Zaragoza. España. pags 36-65.
20. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE, **SAS/STAT User's Guide**, Fourth Edition, Volume 2, Cary, NC: (versión 6). 1989.