

Cortada, Matías Saúl

*Efecto de la suplementación con cultivos vivos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026) (Yea-Sacc® 1026) en el cierre de los cartílagos epifisarios de crecimiento en potrillos Cuarto de Milla*

**Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Cortada, M. S. 2012. Efecto de la suplementación con cultivos vivos de levaduras (*Sacchromyces* cepa 1026) (Yea-Sacc® 1026) en el cierre de los cartílagos epifisarios de crecimiento en potrillos Cuarto de Milla[en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en:
<http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/efecto-suplementacion-cultivos-vivos-levaduras.pdf> [Fecha de consulta:.....]

(Se recomienda indicar fecha de consulta al final de la cita. Ej: [Fecha de consulta: 19 de agosto de 2010]).



UCA

Facultad de Ciencias Agrarias

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería en Producción Agropecuaria

Efecto de la suplementación con cultivos vivos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026) (Yea-Sacc[®] 1026) en el cierre de las cartílagos epifisarios de crecimiento en potrillos Cuarto de Milla

Modalidad Experimental

**Trabajo final de graduación para optar por el título de:
Ingeniero en Producción Agropecuaria**

Autor: Cortada, Matías Saúl

Profesor Tutor: Perrone, Gustavo

Fecha: Abril de 2012

Universidad Católica Argentina

Indicé:

Introducción.....	2
Materiales y Métodos.....	4
Análisis Estadístico.....	7
Resultados	8
Conclusiones.....	11
Discusión.....	12
Bibliografía.....	13

Introducción

El inicio de la doma en los equinos deportivos o bien de los caballos de trabajo, comienza en diferentes momentos del desarrollo de los potrillos, dependiendo básicamente de:

- El manejo del haras, no es lo mismo domar un equino que ha estado en contacto con humanos desde su nacimiento, que un animal que fue criado fuera del contacto con las personas, estos últimos tomarán mucho más tiempo en tomar confianza con el domador, y por lo tanto conllevan a demorar la doma de los demás ejemplares, atrasándose de esta manera exponencialmente el trabajo.²²

Otro factor que afecta directamente al manejo es la disponibilidad de personal adecuado para esta actividad, por el hecho de que si hay demasiados animales para domar y poco personal y/o poco preparado para atender este proceso, existirán animales o que bien inicien en etapas muy tempranas de su desarrollo este proceso (para poder “ir ganando tiempo”), y/o otros animales que comiencen demasiado tarde, lo cual en general arroja como resultado animales jóvenes con lesiones osteoarticulares, y/o animales de edad avanzada sin domar, lo cual incrementa los costos fijos del establecimiento por no poder hacer uso de ellos ni venderlos a un mayor valor en el momento adecuado.

- la gestión de la alimentación y la nutrición, ya que aquellos potrillos que no tengan una dieta balanceada en minerales, proteínas y energía, tendrán un desarrollo inferior a aquellos que si cuentan con una gestión alimenticia adecuada. Si existen deficiencias o excesos de ciertos minerales (por ejemplo Ca, P, etc.), al igual que excesos de energía o proteínas en estadios tempranos de desarrollo posteriores al destete, y que no son corregidas por el manejo nutricional, se incrementan los tiempos hasta que el animal se desarrolle plenamente para poder ser domado, e incluso, en determinadas situaciones, inutiliza al animal por evidentes problemas de aplomos, lo cual no lo hacen apto ya sea para la competencia como para el trabajo.²¹
- la genética de los individuos, no todos los animales podrán ser domados a la misma edad, cada caballo es un ser irreplicable, con características físicas y de carácter únicas y se desarrollara a su tiempo y ritmo, por lo que no siempre coincide la edad cronológica con la edad biológica aunque todas las variables ambientales sean las mismas para todos los individuos.²⁰
- opiniones empíricas de los dueños y/o domadores, esto se basa generalmente en el conocimiento a base de prueba y error a través de los años o de la experiencia de observar a los animales, sin fundamentos científicos, y que muchas veces también conduce al error, ya que cada animal es distinto a otro,

como se enuncio precedentemente, y no siempre lo que se “ve” es lo que en realidad “es”.²²

Un método certero para poder decidir el momento oportuno de realizar la doma, es la evaluación radiológica del cierre de las placas de crecimiento articulares o cartílagos de crecimiento.^{15,19.}

Los cartílagos de crecimiento son una extensión periférica de los centros de osificación

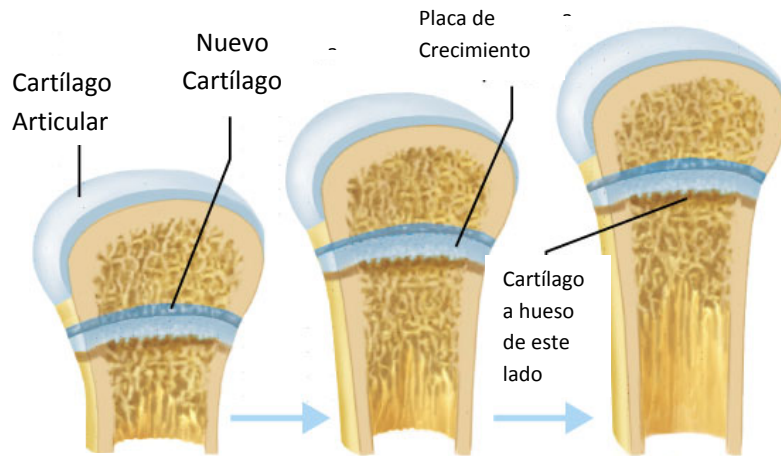


Figura 1 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

primarios, los cuales producen el crecimiento longitudinal de los huesos largos. En la fisis tiene lugar un proceso secuencial de proliferación celular, síntesis de matriz extracelular,

hipertrofia celular, mineralización de la matriz, invasión vascular, y eventualmente, apoptosis donde el cartílago es reemplazado continuamente por hueso, aumentando de esta manera la longitud del mismo (Figura 1). Cuando el esqueleto se acerca a la madurez disminuye el crecimiento longitudinal de los huesos y se forma una epifisiodesis fisiológica que culmina con el cierre de los cartílagos de crecimiento.²⁰

En los equinos deportivos, la placa de crecimiento del metacarpo distal (Mtc III) cierra entre los 9 y 12 meses de edad, y la placa de crecimiento del radio distal cierra entre los 24 a 30 meses de edad.¹⁶

En esta etapa, la doma puede realizarse en forma segura, sin riesgo de lesiones para el animal.^{15, 19}

El objeto de este estudio es evaluar la suplementación de potrillos en pleno desarrollo con cultivos vivos de levaduras y controlar si existen efectos positivos en el cierre de los cartílagos de crecimiento, ya que existen varios estudios que prueban que la inclusión de este suplemento en la dieta de los equinos, incrementa la digestibilidad de los nutrientes y la absorción de minerales, como así también la tasa de crecimiento, pero el efecto sobre los cierres de los cartílagos de crecimiento no han sido estudiados hasta el presente.^{5, 6, 10}

La suplementación con cultivos vivos de levaduras ha sido utilizada en los caballos para estimular la población microbiana del intestino posterior, por lo cual la digestibilidad de diferentes nutrientes, como fibra, proteína cruda, minerales, Ca y P, y materia seca pueden ser mejorados. *El incremento en la digestibilidad y absorción de estos nutrientes es de particular importancia en el crecimiento de los potrillos.*^{5,6}

El modo de acción de las levaduras puede ser explicado como la estimulación de las poblaciones nativas de bacterias en los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal del caballo, el efecto puede empezar en la región fúndica del estómago y en el intestino delgado, *explicando de esta manera el incremento en la absorción de aminoácidos y Ca, y continua en complejo ciego-colon donde la actividad celulolítica y de la fitasa microbiana promueven la absorción de P.*^{7, 8, 9, 12, 13, 17} Por lo cual se **espera que los potrillos suplementados con los cultivos vivos de levaduras cierren antes las placas articulares de crecimiento que aquellos que no serán suplementados.**

Materiales y métodos

Para este estudio se utilizaron veinticuatro potrancas Cuarto de Milla, de 6 a 9 meses de edad, las cuales fueron divididas en dos grupos de 12 potrancas cada una. Cada animal tuvo un número de identificación de Registro Particular (RP) gracias a lo cual fueron perfectamente individualizadas. Todas las potrancas recibieron un manejo similar, pastorearon durante primavera y verano en las mismas Pasturas Polifíticas Perennes (Alfalfa (*Medicago sativa*), Pasto Ovillo (*Dactylis glomerata*), Phalaris (*Phalaris spp.*), Cebadilla Criolla (*Bromus catharticus*) y Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*)), sumado a lotes con soja (*Glycine max*) para pastoreo y en invierno en lotes con Avena (*Avena sativa*).

A su vez fueron alimentadas con alfalfa “ad libitum” y con 1 Kg de grano de avena por día hasta el momento del cierre de las placas de crecimiento.

Las potrancas fueron separadas en dos grupos al azar para ambos tratamientos, en un diseño completamente aleatorizado al inicio del estudio, con edades de entre 6 y 9 meses. Uno de los grupos de experimentación, recibió 20g/día de cultivo vivo de levaduras (S) junto con el suplemento de grano, mientras que el otro grupo no recibió el cultivo de levaduras en su suplementación (NS).

En el transcurso del estudio, y por no ser estos animales de experimentación, sino de producción y propiedad del haras donde se realizó el estudio, hubo algunos cambios en los grupos (Cuadros 1 y 2), a saber:

- Dos potrancas del grupo NS (RP 1648 y 1706) fueron vendidas, al igual que otra del grupo S (RP 1668). Adicionalmente entro otro animal en el grupo S (RP 1670) antes del segundo muestreo.
- Luego del segundo muestreo cuatro potrancas del grupo S (RP 1654, 1670, 1696 y 1708) y tres del grupo NS (RP 1662, 1682 y 1704) también fueron vendidas.
- Solamente 16 animales fueron evaluados en el tercer muestreo, 9 del grupo S y 7 del grupo NS.

	RP	Edad Inicial	Primer muestro 8 meses promedio			Segundo muestro 12 meses promedio			Tercer muestro 24 meses promedio			
			Rx Mtc III	Sangre	Orina	Rx	Sangre	Orina	Rx	Sangre	Orina	
Grupo S	1	1636	9 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	2	1642	9 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	3	1646	8 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	4	1652	8 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	5	1654	8 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	No	No	No
	6	1658	8 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	7	1668	8 Meses	Si	Si	Si	No	No	No	No	No	No
	8	1670	8 Meses	No	No	No	Si	Si	Si	No	No	No
	9	1674	7 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	10	1680	7 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	11	1696	7 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	No	No	No
	12	1698	6 Meses	No	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	13	1702	6 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	14	1708	6 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	No	No	No
n por muestro			n=12	n=6	n=6	n=13			n=9			

Cuadro 1 – Individuos dentro del grupo S y exámenes realizados.

	RP	Edad Inicial	Primer muestreo 8 meses promedio			Segundo Muestreo 12 meses promedio			Tercer Muestreo 24 meses promedio			
			Rx MtcIII	Sangre	Orina	Rx	Sangre	Orina	Rx	Sangre	Orina	
Grupo NS	1	1640	9 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	2	1648	8 Meses	Si	Si	Si	No	No	No	No	No	No
	3	1660	8 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	4	1662	8 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	No	No	No
	5	1682	8 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	No	No	No
	6	1686	8 Meses	No	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	7	1688	8 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	8	1704	7 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	No	No	No
	9	1706	7 Meses	Si	No	No	No	No	No	No	No	No
	10	1710	7 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	11	1714	6 Meses	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
	12	1716	6 Meses	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
n por muestreo			n=11	n=6	n=6	n=10			n=7			

Cuadro 2 – Individuos dentro del grupo NS y exámenes realizados.

El cierre de los cartílagos de crecimiento fue evaluado en cada individuo por estudios radiológicos de acuerdo al siguiente esquema:

- El Mtc III fue evaluado una vez al inicio del estudio
- El radio distal fue evaluado dos veces, a los 12 a 16 meses de edad y luego a los 20 a 24 meses de edad.

La escala utilizada para evaluar el cierre de las placas de crecimiento fue la siguiente (adaptado de El Shorafa, W. M., Feaster, J. P. , Ott, E. A. , Asquith, R. L, 1979)⁴:

- Cierre completo, (CC)
- $\frac{3}{4}$ de cierre ($\frac{3}{4}C$)

- ½ Cierre (½ C);
- ¼ de Cierre (¼ C)
- Sin Cierre (NC) (Placas de crecimiento completamente abiertas).

El estudio finalizó cuando ambas placas articulares se encontraron completamente cerradas. El tiempo de cierre para cada grupo de tratamiento fue comparado.

Se tomaron y analizaron muestras de sangre y orina de cada individuo, en el mismo momento de la evaluación radiológica correspondiente, calculando los siguientes componentes bajo diferentes métodos:

- Fósforo (P) (Wiener Cód. 1382001)¹,
- Proteínas Totales (Wiener Cód. 1361003)³,
- Urea (Wiener Cód. 1810058)¹⁸ y Fosfatasa Alcalina (FAS) (Wiener Cód. 1361003)¹¹ fueron analizados por técnicas colorimétricas.
- Cu, Mg y Zn fueron analizados por espectrometría de absorción atómica (Shimadzu AA 646)
- Hidroxiprolina sérica (Hypro) por una técnica modificada de Bergman y Loxley²
- Excreción fraccional de Ca (DiCa) y la excreción fraccional de P (DiP) fueron calculados de la siguiente manera respectivamente:

$$\left[\left(\frac{\text{Ca (o)}}{\text{Ca (s)}} \right) \times \left(\frac{\text{Creatina (s)}}{\text{Creatina (o)}} \right) \right] \times 100$$

$$\left[\left(\frac{\text{P (o)}}{\text{P (s)}} \right) \times \left(\frac{\text{Creatina (s)}}{\text{Creatina (o)}} \right) \right] \times 100$$

Análisis Estadístico

La comparación de las diferencias de marcadores óseos entre los distintos grupos de cierre en el periodo pre experimental fue realizado mediante el test de

ANOVA. Los marcadores óseos de ambos grupos experimentales fueron comparados utilizando el método de T de Student para ejemplos individuales, previos chequeos de las suposiciones de normalidad y homocedasticidad. Los datos de las escalas de cierre de las placas de crecimiento del radio distal fueron comparados utilizando el método de Wilcoxon para muestras independientes.

P<0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

Resultados y discusión

Periodo pre-experimental

La primera evaluación radiológica a la edad de 6 a 9 meses para las 23 potrancas, mostraron que el 83% (19 animales sobre 23 evaluados) ya tenían el plato de crecimiento distal Mtc III completamente cerrado, o a medio cerrar (Tabla 1). Las referencias preliminares no coinciden con estos resultados, por lo que los resultados fueron publicados en forma separada.¹⁴

Edad	CC (n = 5)	¾ C (n = 10)	½ C (n = 4)	¼ C (n = 3)	NC (n = 1)
6 meses	----	----	1	2	1
7 meses	----	3	2	1	----
8 meses	3	6	1	----	----
9 meses	2	1	----	----	----
Total	5	10	4	3	1

Tabla 1. Frecuencia de cierre de las placas de crecimiento Mtc III, relacionado con la edad de los individuos (n=23)

Como las placas de crecimiento del Mtc III se encontraban cerradas, o próximas a cerrarse, no fue posible realizar una reevaluación radiológica de esta articulación, por lo cual cuatro meses después solamente fue evaluado el radio distal.

En 12 potrancas de 8 meses de edad promedio (6 de cada grupo experimental), los exámenes de sangre y orina, antes de la suplementación con levaduras, mostraron que los marcadores óseos de formación y absorción, Hypro sérica y FAS, fueron elevados con respecto a los valores de referencia. P (s) mostro diferencias significativas entre los diferentes grupos dependiendo del cierre de las placas de crecimiento articulares (Tabla 2).

Escala	P (s) (mg/dl)	Ca (s) (mg/dl)	Fas (U/l)	Hypro (µg/ml)	Mg (s) (mg/dl)	DiCa (%) Min- Max.	DiP (%) Min- Max.
CC (n=4)	5.19± 0.48a	12.26± 2.27	840.5±171.6	4.80± 1.09	1.97± 0.20	0.37-0.98	0.11-11.20
¾ C (n=5)	5.58± 0.27a	12.79± 0.97	892.1± 218	4.39± 0.79	1.98± 0.18	0.51-1.35	0.12-2.63
½ C (n=3)	4.63± 0.29b	10.88± 0.02	776.5±243.2	4.77± 0.67	2.16± 0.15	0.82-0.91	1.55-13.41
Referencia	5.30 ± 0.5	11.4 ± 0.8	500-700	3.85 ± 0.64	2.5 ± 0.31	Deficit < 1.6%	2.1 ± 0.85

Tabla 2. Parámetros de metabolismo mineral y óseo para el cierre de la placa de crecimiento de Mtc III (Promedio y desvío estándar, n=12)

* p < 0.05 entre grupo 1 y 2 contra 3 (ANOVA de 3 factores)

El grupo de proteínas totales, albúmina, globulinas, urea, cobre, y zinc se encontraron en los rangos normales para todos los individuos.

El aumento de los marcadores óseos en la etapa temprana de cierre de las placas de crecimiento del metacarpo distal por encima de los valores de referencia, pudo haber sido causado conjuntamente por la precocidad racial y el rápido crecimiento de los animales, sin la correcta suplementación mineral en la dieta de los mismos. (Chiappe Barbará, Laboratorio de diagnóstico de metabolismo mineral y óseo, comunicación personal, 2010)

Las diferencias de P (s) entre los diferentes grupos (CC, ¾ C y ½ C) están dadas por la interacción de este elemento con las funciones metabólicas que cada grupo se encuentra ejecutando, ya que si bien estos 3 grupos demuestran precocidad, se encuentran en diferentes estados de desarrollo y/o con diferentes tasas de crecimiento. Al ser el grupo ½ C el más atrasado, podemos ver que hay una mayor absorción de P por parte de estos individuos, ya que cuanto mayores son las necesidades de P a nivel óseo, menor cantidad del mismo se encontrara a nivel sanguíneo, y viceversa.

Período experimental

Luego de 4 meses de suplementación con levaduras, se sometió nuevamente a las potrancas a un análisis de sangre, para evaluar los marcadores minerales y óseos, como así también, una evaluación radiológica del radio distal a cada una de ellas.

Tal como se esperaba, todas las potrancas tenían la placa de crecimiento del radio distal completamente abierta.

En general los resultados de los análisis de sangre y orina mostraron que los marcadores Hypro y FAS en el grupo NS eran mayores que los del grupo S, sugiriendo que este grupo todavía se encontraba en proceso de formación óseo, sin embargo solo Hypro tuvo diferencias significativas con respecto a los valores de referencia, y entre grupos. En cuanto a los valores de DiCa, si bien tampoco existieron diferencias significativas, fueron más altos en el grupo S, sugiriendo que los animales de este grupo mejoraron la absorción de Ca de su dieta. DiP que fue más baja en el grupo S, probablemente porque al estar estas potrancas absorbiendo más Ca, mayor cantidad de P fue depositada en los huesos, y por lo tanto el P sérico y por consecuencia el DiP, es menor. (Tabla 3)

Grupo	P (s) (mg/dl)	Ca (s) (mg/dl)	Fas (U/l)	Hypro (µg/ml)	Mg (s) (mg/dl)	DiCa	DiP
						(%) Min- Max.	(%) Min- Max.
NS (n=10)	4.68 ± 0.37	13.77 ± 0.90	941.50 ± 190.07	5.41 ± 1.43 ^a	2.08 ± 0.15	0.89-4.43	0.02-0.45
S(n=13)	4.40 ± 0.72	13.23 ± 0.56	841.62 ± 163.74	4.51 ± 0.95 ^b	1.88 ± 0.15	1.68-3.31	0.00-0.38
Referencia	4.20 ± 0.40	10.60 ± 1.30	400 – 600 U/l	2.32 ± 0.53 ^c	2.50 ± 0.31	<1.6%	<2.1 ± 0.85

Tabla 3. Parámetros del metabolismo óseo y mineral de ambos grupos experimentales a edades de 12 meses de edad (Promedio y desvío estándar)

*p = 0,006 entre los grupos NS, S y Referencia.

Los valores de Proteínas totales, albúmina, globulinas, urea, cobre y zinc se encontraron nuevamente dentro de los rangos normales.

A los 24 meses de edad, se les extrajo sangre y orina a las potrancas, y se realizó nuevamente el estudio radiológico en el radio distal para evaluar la evolución del cierre de las placas articulares de esta articulación. (Tabla 4)

Grupo	Cierre Completo	¾ De cierre	½ Cierre
NS (n=7)	0	42.85% (3)	57.15% (4)
S (n=9)	11.11% (1)	44.44% (4)	44.44% (4)

Tabla 4. Frecuencia de Cierre del la placa de crecimiento del radio distal en ambos grupos experimentales, porcentaje y número de animales por categoría.

Si bien no existen diferencias significativas entre ambos grupos, ($p = 0.6$), el 55.55% de las potrancas suplementadas tenían las placas de crecimiento del radio distal cerradas, o próximas a cerrarse. Mientras que en el grupo NS, no hubo animales con las placas completamente cerradas, y solo el 42.85% evidencio placas próximas al cierre.

Al igual que el Mtc III, el temprano cierre del radio distal, da sustento a la conclusión de que la raza cuarto de milla cierra antes las placas de crecimiento articulares, que otras razas deportivas que típicamente lo hacen entre los 24 y 30 meses, por lo cual los exámenes de rayos X deben hacerse con mayor anticipación.

Al analizar los valores bioquímicos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos S y NS en ninguna de las variables, pero sí de uno o ambos de estos grupos comparados con los valores de referencia. (Tabla 5)

Grupo	P (s) (mg/dl)	Ca (s) (mg/dl)	Fas (U/l)	Hypro (µg/ml)	Mg (s) (mg/dl)	DiCa	DiP
						(%) Min- Max.	(%) Min- Max.
NS (n=7)	3.87 ± 1.24a	12.42 ± 0.85a	514.57 ± 81.60a	2.33 ± 1.20*	2.17 ± 0.35a	2.82-18.28	0.023-0.091
S(n=9)	4.58 ± 0.49a	13.36 ± 1.24a	604.78 ± 73.48a	2.69 ± 0.53	1.89 ± 0.20a	1.45 - 3.26	0.029-0.154
Referencia	4.20 ± 0.40b	10.60 ± 1.30b	300 – 500 U/l b	2.01 ± 0.52*	2.5 ± 0.31 b	< 1.6 %	< 2.1 ± 0.85

Tabla 5. Parámetros del metabolismo óseo y mineral de ambos grupos experimentales a edad promedio de 24 meses (Promedio y desvió estándar) * No hay diferencias entre grupos S y NS, pero si del Grupo NS con el valor de referencia.

Realizado un análisis pormenorizado de las variables, pudimos observar que Hypro obtuvo valores superiores a los de referencia en el grupo NS ($p < 0.01$) y sumado a esto que los valores de FAS ($p < 0.001$) también tuvieron diferencias significativas con los valores de referencia, por lo cual habría indicios de que todavía existiría en el grupo NS formación ósea activa, o sea, un atraso en el desarrollo de este grupo contra el suplementado. Para el caso de DiCa, los valores del grupo NS fueron mayores a los esperados para estas edades, teniendo un mínimo de 2.82 y un máximo de 18.28 %, contra 1.45 a 3.26 % del grupo S.

Hay que considerar que los valores de DiCa, no solo ponen en evidencia el déficit de Ca cuando están por debajo de 1.6%, sino que una elevada excreción fraccional de Ca como la que mostro el grupo NS, podría estar indicando una ruptura de la homeostasis de este elemento, controlada principalmente por las hormonas calciotropas (PTH, vitamina D y calcitonina), encargadas estas de regular el mecanismo fosfo-calcico a nivel fisiológico.²⁴

En cuanto al Mg (s) y el P (s) fueron más bajos que las referencias ($p < 0.001$), probablemente debido a la interacción con el Ca sérico que también mostro diferencias significativas.

Los valores del conjunto de las variables analizadas, confirmaron que hubo un correcto aporte de nutrientes para ambos grupos. Lo remarcable, es que los valores de los marcadores óseos individuales de los animales a la edad de 24 meses, fueron muy cercanos a los valores de animales adultos, especialmente Hypro, cuyo valor de referencia para la edad adulta es de $1.69 \pm 0.45 \mu\text{g/dl}$. El 62.5% de los animales en estudio (10 de 16) mostraron valores cercanos o bien dentro de este rango, evidenciando nuevamente la precocidad de esta raza.

Conclusiones

Período pre experimental

Las potrancas iniciaron el ensayo a los 8 meses de edad en promedio, con dietas deficientes en Ca para su edad, lo cual supone un punto de partida por debajo del ideal. Las radiografías y los marcadores óseos sugirieron una precocidad racial, dado que a esa edad el resto de las razas deportivas todavía tienen el cartílago de crecimiento del Mtc III prácticamente abierto o a medio cierre, lo cual denota que esta raza en particular tiene características innatas para esta particularidad.

Periodo experimental

A la edad media de 12 meses se vio un efecto positivo pero no estadísticamente significativo en el grupo S, ya que los valores de DiCa fueron superiores luego de 4 meses de suplementación. En el caso de Hypro, si hubo diferencias significativas en los grupos, dando como resultado una mayor actividad de los marcadores óseos en el grupo NS, demostrando su atraso contra el grupo suplementado.

A la edad media de 24 meses de edad, los exámenes de rayos X mostraron un efecto positivo, aunque no estadísticamente significativo en el grupo S, ya que cerca del 55% de las potrancas de ese grupo tenían las placas de crecimiento articulares del radio distal cerradas o próximas al cierre. Si bien los marcadores óseos no tuvieron valores estadísticamente significativos entre ambos grupos,

algunos individuos mostraron un efecto positivo a la suplementación con el cultivo vivo de levaduras.

Cabe señalar que tanto los estudios bioquímicos como radiológicos, sugieren una precocidad racial de la raza Cuarto de Milla comparada con otras razas deportivas, como el Pura sangre de Carrera, en la cual el cierre de los cartílagos de crecimiento es incompleto a estas edades.¹⁴

Tal vez, la suplementación en estadios tempranos, como por ejemplo pre destete, podría mostrar efectos significativos sobre los parámetros estudiados.

Discusión

Los resultados de este estudio no han sido estadísticamente significativos, sin embargo esto puede estar dado por el bajo número de animales utilizados para esta investigación, pudimos observar que hay una tendencia a reducir los tiempos de cierre de los cartílagos en los animales suplementados.

Por otro lado, los marcadores óseos han evidenciado grandes diferencias entre ambos grupos en determinadas variables, como ser DiCa y P sérico principalmente, en donde se puede asumir que el suplemento encuentra una interacción favorable para la absorción y balance de estos nutrientes fundamentales del desarrollo de los potrillos, ayudando de esta manera directa e indirectamente al cierre prematuro de los cartílagos de crecimiento.

En una próxima investigación se podrían hacer modificaciones a este estudio para confirmar o descartar fehacientemente estas hipótesis como ser:

- Utilizar un mayor número de animales, para incrementar la confiabilidad y exactitud de los resultados.
- Que los animales utilizados, sean individuos destinados a investigación, para evitar que haya cambios en los grupos experimentales, debido por ejemplo a la venta de algún ejemplar.
- Comenzar a suplementar y a evaluar radiológicamente a los animales previo al destete, dada su precocidad racial, y obtener de esta manera una evaluación del cierre del Mtc III, con y sin suplementación.
- Aumentar la frecuencia de exámenes radiológicos y de marcadores óseos desde el inicio hasta el final del estudio, para determinar fehacientemente las edades de cierre de las placas articulares de crecimiento y el metabolismo de formación ósea en esta raza.
- Analizar las hormonas calciotropas a nivel sanguíneo, quienes son los reguladores del mecanismo fosfo-calcico en el animal, para dar de esta manera un mejor panorama a nivel metabólico de las variables en estudio y su regulación.

Este estudio supone un punto de partida con grandes esperanzas para poder solucionar uno de los grandes problemas de la cría del ganado caballar, llegar desde el destete hasta la venta del animal, con un ejemplar sano en toda su

estructura ósea y muscular. Adicionalmente se estarían dando una serie de factores que tendrán un gran impacto en la cría equina, como son la disminución en los tiempos de venta, reducción de costos veterinarios y de lesiones prohibitivas en los productos.

Si esto se logra, será la base para que tanto animales como propietarios puedan disfrutar plenamente de la actividad que practican.

Agradecimientos

Al haras Quebracho Herrado por su apoyo permanente.

Bibliografía

1. Baginsky, E. S., Foà, P. P., Zak, B. Microdetermination of inorganic phosphate, phospholipids, and total phosphate in biologic materials. *Clin. Chem.* 1967.13, 326.
2. Bergman, I., Loxley, R. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination on hydroxyproline. *Anal. Chem.* 1963. 35: 1961-1965.
3. Doumas, B.T., Watson, W.A., Biggs, H.G. *Clin. Chim.* 1971. Acta 31/1:87.
4. El Shorafa, W. M., Feaster, J. P. , Ott, E. A. , Asquith, R. L. Effect of Vitamin D and Sunlight on Growth and Bone Development of Young Ponies. *J. Anim Sci.* 1979. 48:882-886.
5. Glade, M., Biesik, L.M.. Enhanced Nitrogen in Yearling Horses Supplemented with Yeast Culture. *J. Anim Sci.*, 1986. 62:1635-1640.
6. Glade, M., J.. Viable Yeast Culture in Equine Nutrition. En *Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's Ninth Annual Symposium*, pag. 193-218. Edited by T.P. Lyons, 1993.
7. Hill, J., Tracey, S.V., Willis, M., Jones, L., Ellis, A.D. Yeast culture in equine nutrition and physiology. En engormix.com/MA-equines/nutrition/articles/141-p0.htm.
8. Jouany, J.P., Gobert, J., Medina, B., Bertin, G., Julliand, V.. Effect of live yeast culture supplementation on apparent digestibility and rate of passage in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *J. Anim. Sci*, 2008, 86(2):339-347.
9. Jouany, J.P., Medina, B., Bertin G., Julliand, V. Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their

polysaccharidase and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *J. Anim Sci.* 2009. 87:2844-2852.

10. Julliand, V.. Pre - and Probiotics: Potentials for Equine Practice. Proceedings of the 3rd European Equine Nutrition & Health Congress, Mar. 17-18, 2006. Ghent University, Merelbeke, Belgium.
11. Mc Comb, R. B., Bowers Jr, G. N. Study of optimum buffer conditions for measuring alkaline phosphatase activity in human serum. *Clinical Chemistry.*1972.18, 97-104.
12. Medina, B., Girard, I.D., Jacoot, E., Julliand, V.. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *J. Anim. Sci.*, 2002, 80(10):2600-2609.
13. Morgan, L.M., Coverdale , J.A., Froetschel, M.A., Yoon, I. Effect of Yeast Culture Supplementation on Digestibility of Varying Forage Quality in Mature Horses. *J. Equ. Vet. Sci.*, 2007, 27: 260-265.
14. Perrone, G., Caviglia, J., Hary, M. J., Alvarez, E., Chiappe Barbará, A.. Cierre temprano del cartílago de crecimiento del tercer metacarpiano en potrillos Cuarto de Milla. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias.* 2009. 3(2): 360-367.
15. Rezende, A.S.C., Sampaio, I.B.M., Legorreta, G.L., Moreira, D.C.A. Effect of two different nutritional programs on orthopedic alterations in mangalarga marchador foals. *J. Equine Vet. Sci.*, 2000, 20(10): 651-656.
16. Rosedale, P.D., Ricketts, S.W. *Equine Stud Farm Medicine*, Ed. Bailliere Tindall.1980. 382:386.
17. Silva de Moura, R., Oliveira Simões Saliba, E., Queiroz de Almeida, F., Quintão Lana, Â. M., Pimentel Silva, V., Souza Carneiro de Rezende, A. Feed efficiency in Mangalarga Marchador foals fed diet supplemented with probiotics or phytase. *R. Bras. Zootec.* 2009. 38, 6 (1); 18:30.
18. Stegemann, H., et al. *Z. Physiol. Chem.* 1962. 329:241.
19. Strand, E., Braathen, L.C., Hellsten, M.C., Huse-Olsen, L., Bjornsdottir, S. Radiographic closure time of appendicular growth plates in the Icelandic horse. *Acta Vet. Scand.*, 2007, 17; 49(1):19.
20. Shapiro, F., Forriol, F. El cartílago de crecimiento: biología y biomecánica del desarrollo. *Rev. Ortopedia y Traumatología*, 2005. 49, 1(2); 55-67.
21. Pérez de Ayala y Esquivias, P. *Nutricion y alimentación del caballo. XI curso de especialización Fedna*, Barcelona, 1995.

22. Caviglia, J. y Perrone, G., Producción y Manejo del Caballo, Ed. Agrovet. 2004. 30-42.
23. Price, J. S., Jackson, B., Eastell, R., Goodship, A. E, Blumsohn, A., Wright, I., Stoneham, S., Lanyon, L. E. and Russell, R. G (1995), Age related changes in biochemical markers of bone metabolism in horses. *Equine Veterinary Journal*, 27: 201–207
24. Berne, R., Endocrine regulation of calcium and phosphate metabolism. *Mosby Physiology*, 2004, 5:248-260.