

Comportamiento productivo y perfil metabólico de becerros suplementados con glicerina cruda

Productive behavior and metabolic profile in steers supplemented with crude glycerin

Carmen E. Pinzón-Díaz¹, Rafael Jiménez-Ocampo², Pablo A. Domínguez-Martínez²,
Mayela Gallegos-De la Hoya¹, Esperanza Herrera-Torres³, Gerardo A. Pámanes-Carrasco^{4*}

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Juárez del Estado de Durango. Durango, Dgo., México.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Durango. Km 4.5 Carretera Durango- Mezquital. Durango, Dgo., México.

³ Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana-Tecnológico Nacional de México. Durango, Dgo., México.

⁴ Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – Universidad Juárez del Estado de Durango – Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera. Blvd Guadiana 501. Cd. Universitaria. Durango, Dgo., México. CP 34126. *Correo electrónico: gerardo.pamanes@gmail.com

*Autor de correspondencia

Resumen

El objetivo de este estudio es evaluar el comportamiento productivo y perfil metabólico de 64 becerros (peso inicial 364 kg \pm 5.9 kg) alimentados con cuatro dietas experimentales (16 animales por tratamiento) con la inclusión de glicerina cruda (GC) como reemplazo de grano de maíz. Las dietas contenían 0%, 5%, 15% y 25% de GC y fueron suministradas durante 90 días en un diseño completamente al azar. Los animales se pesaron cada 90 días. Se tomaron muestras de sangre antes del alimento de la mañana para el análisis de metabolitos séricos. La adición de GC no afectó las variables de comportamiento productivo ($p > 0.05$). La interacción nivel de GC por mes de muestreo fue significativa para la glucosa ($p < 0.05$). Sin embargo, la inclusión de GC no afectó las concentraciones de urea y triglicéridos ($p > 0.05$). La inclusión de glicerina en la dieta de rumiantes representa una alternativa energética cuando hay baja disponibilidad de maíz.

Palabras clave: Metabolitos sanguíneos; ganancia diaria de peso; conversión alimenticia; maíz; gluconeogénesis.

Abstract

This study aimed to evaluate the productive behavior and metabolic profile of 64 steers (initial weight 364 kg \pm 5.9 kg) fed with four experimental diets (16 animals per treatment) with the inclusion of crude glycerin (CG) as a replacement of corn grain. Diets contained 0%, 5%, 15%, and 25% of CG, and steers were fed during 90 days in a completely randomized design. Steers were weighed every 30 days. Blood samples from each steer were taken before the morning feed by puncturing in the coccygeal vein to evaluate serum metabolites. The addition of CG did not affect the variables of productive behavior ($p > 0.05$). The interaction level of CG per sampling month was significant for glucose ($p < 0.05$); however, the inclusion of CG did not affect the urea and triglycerides concentrations ($p > 0.05$). The inclusion of crude glycerin to ruminants' diets is an energetic alternative when there is low corn grains availability.

Keywords : Blood metabolites; daily weight gain; feed conversion; corn; gluconeogenesis.

Recibido: 21 de octubre de 2019

Aceptado: 03 de marzo de 2020

Publicado: 1º de abril de 2020

Como citar: Pinzón-Díaz, C. E., Jiménez-Ocampo, R., Domínguez-Martínez, P. A., Gallegos-De la Hoya, M., Herrera-Torres, E., & Pámanes-Carrasco, G. (2020). Comportamiento productivo y perfil metabólico de becerros suplementados con glicerina cruda. *Acta Universitaria* 30, e2712. doi: <http://doi.org/10.15174/au.2020.2712>

Introducción

El incremento desmedido de la población mundial en las últimas décadas demanda el uso de recursos naturales y alimento (Alexandrato & Bruinsma, 2012). Este último reclama suelo fértil para la siembra de alimentos. Sin embargo, el uso del suelo es compartido para la producción de alimento para animales y para humanos, lo que genera controversia en el uso del suelo. De esta manera, se han buscado alternativas que no representen una competencia contra la alimentación humana (Iñiguez, 2011; Murillo-Ortiz, Herrera-Torres, Corral-Luna & Pámanes, 2018).

El glicerol es un subproducto industrial de la producción de biodiesel, lo cual forma ácidos grasos metil esterificados a partir de los triglicéridos (Chanjula *et al.*, 2016), esto representa aproximadamente el 10% del total de la producción total de biodiesel (Tan, Abdul & Aroua, 2013). La producción de biodiesel se ha incrementado en los últimos años, que resulta en un aumento sustancial en la producción de glicerol. De la misma manera, el uso de glicerol en la dieta de rumiantes se ha convertido en una alternativa factible y prometedora debido a que el glicerol es considerado como un agente energético que promueve la gluconeogénesis en el rumiante (Costa *et al.*, 2017). Así mismo, la producción de rumiantes incentiva la búsqueda de nuevas alternativas para alimentar y cubrir los requerimientos nutricionales del ganado a un menor costo (Alvarez *et al.*, 2018).

Por otro lado, hay diversos estudios a nivel mundial que avalan el uso de glicerol en la alimentación de rumiantes como agente energético y posible sustituto del maíz en la dieta (Chanjula *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2016). En este sentido, Kholif (2019) afirma que el contenido energético del almidón del maíz es similar al contenido energético del glicerol, el cual se pondera en 1.91 Mcal ENL/kg. No obstante, la información publicada en México es controversial.

Debido a lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la inclusión de glicerol en la dieta de becerros productores de carne como sustituto parcial del maíz sobre la ganancia de peso, consumo de materia seca (CMS), conversión alimenticia (CE) y algunos metabolitos sanguíneos.

Materiales y Métodos

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Cuidado Animal de la Unión Ganadera del Estado de Durango y se llevó a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [Sagarpa], 1999). El experimento fue ejecutado de mayo a agosto de 2018. La glicerina cruda se obtuvo como subproducto en la fabricación de biodiesel en la región a través de la transesterificación de aceites residuales y con un contenido de materia seca del 70% (proteína cruda: 0.6%; extracto etéreo: 1.5%; ceniza: 9.5%; carbohidratos totales: 88%).

Comportamiento productivo

Se utilizaron sesenta y cuatro becerros de la raza charoláis (peso inicial 364 kg \pm 5.9 kg) alimentados en corral de engorda en un experimento de 90 días (tres meses). A su llegada, los becerros fueron vacunados contra diarrea bovina viral, parainfluenza-3, *Haemophilus somnus*, *Pasteurella* y *Clostridia* (Cattle Master-4, Bar Somnus 2P, Alpha-7, respectivamente, Pfizer, Exton, PA) y virus respiratorio sincitial bovino. Además, fueron tratados contra parásitos externos con IVOMEC (Merial, Duluth, GA). Los becerros fueron divididos aleatoriamente en cuatro grupos (16 becerros por grupo) y alimentados con uno de cuatro tratamientos experimentales (un tratamiento por grupo). De la misma manera, los animales de cada grupo fueron alojados en corraletas individuales (3 m x 6 m) equipadas con comederos y bebederos individuales. Las dietas experimentales se formularon con la inclusión de glicerina como sustituto del grano de maíz en

la ración en diferentes proporciones: 0%, 5%, 15% y 25% (tabla 1). Adicionalmente, las dietas experimentales fueron formuladas para ser iso-proteicas e iso-energéticas, de acuerdo a los requerimientos nutricionales para ganado de engorda (*National Research Council* [NRC], 2000). Los animales fueron alimentados dos veces al día (a las 8:00 h y 15:00 h), y el alimento se restringió a un 2.8% del peso en vivo (Hernández, Murillo, Pamánes, Reyes & Herrera, 2017). Los CMS y los rechazos fueron registrados diariamente. Al final de cada mes se registraron los pesos de cada animal para el cálculo de la ganancia diaria de peso (GDP), la cual fue calculada como el cociente del peso vivo y los días del mes en el que fueron alimentados los animales. La CE se calculó como el cociente de CMS y GDP.

Tabla 1. Ingredientes de las dietas experimentales.

Ingredientes (% MS)	Niveles de glicerina cruda (% MS)			
	0	5	15	25
Maíz rolado	59	59.85	47.57	35.28
Paja de maíz	20	20	20	20
Harina de soya	12.99	13.15	15.43	17.72
Urea	0.50	0.50	0.50	0.50
Melaza	6	0	0	0
Glicerina cruda	0	5	15	25
Minerales	1.50	1.50	1.50	1.50
Nutrientes				
Materia seca, %	90	89	87	86
Proteína cruda, %	13	13.1	12.9	12.5
FDN, %	49.0	49.5	48.3	48
FDA, %	19.2	19.1	18.9	18.7
EM, Mcal/kg	2.85	2.86	2.88	2.89

EM = TND×0.04409×0.82 (NRC, 2000). Calculada por: EM de GC of 3.47 Mcal/kg MS (Kholif, 2019).

Fuente: Elaboración propia.

Metabolitos sanguíneos

Al final de cada mes y antes de la alimentación de la mañana, se tomaron muestras de sangre de cada becerro por punción en la vena coccígea y fueron recolectadas en un vacutainer con heparina (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). Las muestras de sangre (aproximadamente 10 ml) fueron centrifugadas a 1400 RCF por 20 min a 10 °C. El suero colectado fue almacenado en tubos eppendorf y congelados para su posterior análisis de glucosa, nitrógeno ureico y triglicéridos, los cuales se determinaron mediante espectrofotometría de UV (Genesys 10S UV-VIS, ThermoSci, USA), usando kits comerciales como estándares (Randox Laboratories, UK).

Análisis estadístico

Las variables de comportamiento productivo se analizaron con un diseño completamente al azar usando el procedimiento modelo generalizado lineal (SAS, 2003). El modelo incluye el tratamiento como efecto principal; la diferencia entre medias se identificó y consideró significativa con una $p < 0.05$ utilizando la prueba de Tukey.

Resultados y discusión

La adición de glicerina cruda no afectó el peso final, la GDP, el CMS y la CA (tabla 2; $p > 0.05$). El principal objetivo de este estudio fue probar que la adición de glicerol como sustituto del maíz mostraría un

incremento en el metabolismo de la glucosa y, por lo tanto, en el rendimiento productivo de los animales. No obstante, la adición de glicerina no afectó las variables de comportamiento productivo. Lo anterior se le puede atribuir a que las dietas experimentales fueron balanceadas para tener valores iso-proteicos e iso-energéticos. Además, Kholif (2019) afirma que los contenidos energéticos del almidón del maíz y del glicerol son similares, lo cual se espera que no tenga repercusiones en las variables productivas al sustituir glicerina cruda por maíz.

Tabla 2. Comportamiento productivo de becerros suplementados con glicerina cruda.

	Niveles de glicerina cruda (% MS)				
	0	5	15	25	EEM
No. de becerros	16	16	16	16	-
Peso					
Inicial, Kg	365.0 ^a	364.0 ^a	367.0 ^a	460.5 ^a	13.58
Final, kg	497.1 ^a	503.1 ^a	498.1 ^a	480.8 ^a	15.06
Ganancia de peso, kg/d	1.5 ^a	1.6 ^a	1.5 ^a	1.4 ^a	0.09
Consumo Materia Seca, kg/d	12.9 ^a	12.7 ^a	12.3 ^a	12.0 ^a	0.16
Conversión alimenticia	8.5 ^a	7.8 ^a	8.1 ^a	8.7 ^a	0.65

^{ab}Medias con literal diferente son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con la NRC (2000), el CMS es regulado por la densidad energética de la dieta. Así, si el rumiante consume dietas altas en energía, el consumo puede ser regulado por la demanda energética y algunos factores metabólicos inherentes al animal. De esta manera, al contener dietas experimentales iso-energéticas, la inclusión de glicerina no mostró efectos en el CMS entre los animales. Además, algunos ingredientes utilizados en las dietas experimentales son altamente degradables a nivel ruminal, por lo que, al ser combinado con el contenido de fibra de la paja y la glicerina, esta es rápidamente metabolizada en el rumen (seis horas con niveles del 15% al 25% de glicerina). Además, existen reportes en donde la inclusión del 15% (MS) de glicerina no afecta el contenido de microorganismos celulolíticos, lo que permite que exista una homeóstasis en el CMS y en la degradabilidad ruminal de MS (Hales, Bondurant, Luebbe, Cole & MacDonald, 2013). Igualmente, Chanjula *et al.* (2016) no observaron efectos en el CSM cuando suplementaron becerros con glicerina cruda. Por otro lado, las GDP que se registraron en este estudio son similares a las obtenidas por Castello *et al.* (2014) en ganado Nelore suplementado con diferentes niveles de glicerina cruda.

Tabla 3. Medias mínimas cuadráticas de la concentración de glucosa sanguínea en becerros en engorda.

Mes de muestreo	Niveles de glicerina cruda (% MS)					Nivel x mes
	0	5	15	25	EE	
1	81.4 ^a	70.4 ^a	56.7 ^b	64.3 ^b	5.11	*
2	63.8 ^a	47.3 ^b	60.8 ^a	50.5 ^b	5.11	*

^{ab}Medias con literal diferente son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

La interacción nivel de glicerina por mes de muestreo fue significativa para la concentración de glucosa sérica en los becerros alimentados con las dietas experimentales ($p < 0.05$; tabla 3). Los resultados muestran una reducción en la concentración de glucosa al incluir glicerina en la dieta. Ladeira *et al.* (2016) registraron valores similares de glucosa (73 mg/dL) en toros suplementados con 60 g/kg MS de glicerina, en comparación con los valores obtenidos en este estudio. Por el contrario, Ruiz *et al.* (2015) registraron un incremento en las concentraciones de glucosa sanguínea al incrementar el nivel de glicerina.

Adicionalmente, Maciel *et al.* (2016) registraron concentraciones mayores de glucosa a las obtenidas en este estudio cuando incluyeron glicerol en la dieta. Sin embargo, en estudios previos se ha incluido la glicerina cruda en la ración como un suplemento alimenticio y, por lo tanto, el balance energético es diferente y repercute en el incremento de la glucosa sérica. Según Porcu *et al.* (2018), incrementos en la dosis de glicerina cruda aumentan la concentración de glucosa sérica y reducen el nitrógeno ureico y los ácidos grasos no esterificados (AGNE) en sangre. No obstante, este efecto no es observado en este estudio. La reducción de glucosa observada en este trabajo se podría atribuir a que la presencia de glicerina promueve incrementos en la concentración de insulina (Kholif, 2019). Adicionalmente, en este trabajo la glicerina se está incluyendo como parte de la ración total y no como un suplemento alimenticio.

En la tabla 4 se presentan las medias mínimas cuadráticas de urea y triglicéridos. La inclusión de glicerina cruda no mostró efecto en las concentraciones de estas variables en este estudio ($p > 0.05$).

Tabla 4. Medias mínimas cuadráticas de las concentraciones sanguíneas de urea y triglicéridos de becerros en engorda.

Metabolitos	Niveles de glicerina cruda (% MS)				
	0	5	15	25	EE
Urea	49.2 ^a	50.8 ^a	52.6 ^a	51.5 ^a	2.69
Triglicéridos	1.03 ^a	1.0 ^a	1.06 ^a	1.32 ^a	0.20

^{ab}Medias con literal diferente son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

La urea sanguínea es el resultado de la deaminación de proteínas en el rumen, una vez que se hubo transformado de amoníaco a urea en el hígado. Ya en el torrente sanguíneo, la urea puede seguir dos rutas: a) disponerse en el riñón para su desecho a través de la orina, o b) regresar al sistema digestivo a través de la saliva por si existiese una falta de nitrógeno amoniacal en el rumen (Shi *et al.*, 2014). Además, hay estudios en donde la solubilidad de la proteína de las diversas fuentes usadas en las dietas, así como el excedente o déficit energético, pueden afectar las concentraciones de urea; un incremento de energía disminuye la concentración de urea en sangre (Nath *et al.*, 2014). En este estudio, la proteína de la pasta de soya es la sustitución de proteína del maíz en los tratamientos experimentales. De esta manera, y de acuerdo con lo expresado anteriormente, los resultados sugieren que la solubilidad de ambas fuentes de proteína es similar y que no hay déficit energético ni proteico.

Por otro lado, la concentración de triglicéridos séricos obtenidas en este estudio fue baja; sin embargo, se encuentra dentro del rango aceptable para bovinos (0 mg/dL - 140 mg/dL) (Roa-Vega, Ladino-Romero & Hernández-Martínez, 2017). El rango en la concentración de triglicéridos registrado en vacas en México es de 10 mg/dL (García, Prado, Galicia & Borderas, 2017), el cual es mayor al encontrado en este trabajo de investigación. La síntesis de triglicéridos se lleva a cabo en el hígado a partir de la presencia de AGNE. Sin embargo, una síntesis, y posteriormente una acumulación excesiva de triglicéridos en el hígado, puede provocar una patología llamada hígado graso (Mann, Leal, Walkshlag, Behling-Kelly & McArt, 2018). En este sentido, la concentración de triglicéridos es similar en todos los niveles de inclusión de glicerina, lo que sugiere que la concentración de AGNE podría tener el mismo comportamiento. La movilización de AGNE en el rumiante es indicativo de una movilización de grasa debido a un balance negativo de energía y que dispone de la grasa almacenada para ser susceptible del proceso de la beta-oxidación para la obtención de esta (Saleem, Zanoony & Singar, 2018). Además, resultados similares en las concentraciones de triglicéridos sugieren que la inclusión de glicerina en la dieta no afectó la actividad enzimática de las lipoproteína-lipasas, ya que si se redujera la actividad de esta enzima, las concentraciones de triglicéridos se incrementarían como un indicador de la reducción en la biohidrogenación de lípidos en el rumen (Nath

et al., 2014). Adicionalmente, los valores de triglicéridos obtenidos sugieren un balance energético adecuado, lo cual se ve reflejado en el mantenimiento de peso de los animales a pesar de una tendencia a reducir el contenido de MS en las dietas experimentales por la inclusión de glicerina. De la misma manera, Shi et al. (2014) encontraron valores similares a los presentados en este estudio cuando sustituyeron el maíz por diversas alternativas alimenticias.

Conclusiones

La mayoría de los estudios relacionados con la inclusión de glicerina en las dietas para ganado de engorda o lechero se enfoca en la suplementación alimenticia. No obstante, este estudio plantea la sustitución parcial del grano de maíz por glicerina cruda como fuente de energía. La sustitución de maíz por glicerina cruda en un 5%, 15% y 25% (MS) en las dietas experimentales no afectó los parámetros productivos ni algunos metabolitos en sangre. Debido a lo anterior, la inclusión de glicerina cruda en la dieta de rumiantes puede representar una alternativa energética en el balanceo de raciones cuando hay una baja disponibilidad de grano de maíz, así como un decremento potencial en el costo de alimentación de bovinos.

Referencias

- Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: The 2012 revision. *FAO Agricultural Development Economics Division*. FAO, Rome. Recuperado el 17 de septiembre de 2019 de <http://www.fao.org/3/a-ap106e.pdf>
- Alvarez, C., Villalobos, G., Domínguez, J., Corral, G., Alvarez, E., & Castillo, F. (2018). Animal performance and nutrient digestibility of feedlot steers fed a diet supplemented with a mixture of direct-fed microbials and digestive enzymes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 47. doi: <https://doi.org/10.1590/rbz4720170121>
- Castello Branco Van Cleef, E., Bertocco Ezequiel, J., Vey Da Silva, D., D'Aurea, P., De Oliveira Scarpino, V. C., & Patiño Pardo, R. (2014). Glicerina cruda en la dieta de bovinos: efecto sobre los parámetros bioquímicos séricos. *Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA*, 6(1), 86-102. <https://doi.org/10.24188/recia.v6.n1.2014.207>
- Costa, A., Bertocco, J., Paschoaloto, J., Leal, H., Barbosa, V., Castro, E., & Castello, E. (2017). Effects of high concentrations of crude glycerin in diets for feedlot lambs: Feeding behaviour, growth performance, carcass and non-carcass traits. *Animal Production Science*, 58(7), 1271-1278. doi: <https://doi.org/10.1071/AN16628>
- Chanjula, P., Raungprim, T., Yimmongkol, S., Poonko, S., Majarune, S., & Maitreejet, W. (2016). Effects of elevated crude glycerin concentrations on feedlot performance and carcass characteristics in finishing steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(1), 80-88. doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0219>
- García, C. A. C., Prado, F. M. G., Galicia, L. L., & Borderas, T. F. (2017). Reference values for biochemical analytes in Mexican dairy farms: Interactions and adjustments between production groups. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(2), 445-456. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9114>
- Hales, K. E., Bondurant, R. G., Luebke, M. K., Cole, N. A., & MacDonald, J. C. (2013). Effects of crude glycerin in steam-flaked corn-based diets fed to growing feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 91(8), 3875-3880. doi: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5944>
- Hernández, B., Murillo, M., Pámanes, G., Reyes, O., & Herrera, E. (2017). Parámetros de fermentación y cinética ruminal en novillos suplementados con diferentes aditivos. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (72), 5-11. doi: <https://doi.org/10.33064/iycuaa201772214>
- Iñiguez, L. (2011). The challenges of research and development of small ruminant production in dry areas. *Small Ruminant Research*, 98(1-3), 12-20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.010>

- Kholif, A. E. (2019). Glycerol use in dairy diets: A systematic review. *Animal Nutrition*, 5(3), 209-216. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.06.002>
- Ladeira, M., Carvalho, J., Chizzotti, M., Teixeira, P., Dias, J., Gionbelli, T., Rodrigues, A., & Oliveira, D. (2016). Effect of increasing levels of glycerin on growth rate, carcass traits and liver gluconeogenesis in young bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 219, 241–248. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.010>
- Pereira, R., Miranda, J., Restle, J., Rocha, F., Fernandes, L., Ribeiro, O., Estevan, S., & Rodrigues, R. (2016). Performance and carcass characteristics of dairy steers fed diets containing crude glycerin. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(11), 677–685. doi: <https://doi.org/10.1590/s1806-92902016001100006>
- Maciel, Raylon Pereira, Neiva, José Neuman Miranda, Restle, João, Miotto, Fabricia Rocha Chaves, Sousa, Luciano Fernandes, Cunha, Odislei Fagner Ribeiro, Moron, Sandro Estevan, & Parente, Ranniere Rodrigues Pereira. (2016). Performance and carcass characteristics of dairy steers fed diets containing crude glycerin. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(11), 677-685. <https://doi.org/10.1590/s1806-92902016001100006>
- Mann, S., Leal, F., Wakshlag, J., Behling-Kelly, E., & McArt J. (2018). The effect of different treatments for early-lactation hyperketonemia on liver tryglycerides, glycogen, and expression of key metabolic enzymes in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1626-1637. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13360>
- Murillo-Ortiz, M., Herrera-Torres, E., Corral-Luna, A., & Pámanes-Carrasco, G. (2018). Effect of inclusion of graded level of water hyacinth on in vitro gas production kinetics and chemical composition of alfalfa hay based beef cattle diets. *Indian Journal of Animal Research*, 52(9), 1298-1303. doi: <https://doi.org/10.18805/ijar.11417>
- Nath, R., Das, S., Sarma, S., & Devi, M. (2014). Comparison of blood profiles between healthy and *Brucella* affected cattle. *Veterinary World*, 7(9), 668-670. doi: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.668-670>
- National Research Council. (2000). *Nutrient requirements of beef cattle: Seventh revised edition: Update 2000*. Washington, DC: The National Academies Press. doi: <https://doi.org/10.17226/9791>
- Porcu, C., Manca, C., Cabiddu, A., Dattena, M., Gallus, M., Pasciu, V., Succu, S., Naitana, S., Berlinguer, F., & Molle, G. (2018). Effects of short-term administration of a glucogenic mixture at mating on feed intake, metabolism, milk yield and reproductive performance of lactating dairy ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 243, 10-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.06.012>
- Roa-Vega, M., Ladino-Romero, E., & Hernández-Martínez, M. (2017). Indicadores de bioquímica sanguínea en bovinos suplementados con *Cratylia argentea* y *Saccharomyces cerevisiae*. *Pastos y Forrajes*, 40(2), 144-151.
- Ruiz, V., Bertocco, J., Pastori, A., Castello, E., Dourado, J., Correa, V., & Homem, A. (2015). Glycerin in cattle feed: Intake, digestibility, and ruminal and blood parameters. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(3), 1495-1505. doi: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1495>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa). (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Publicada el 22 de agosto de 2001 en Diario Oficial de la Federación. Texto Vigente.
- SAS Institute Inc. The SAS System, Versión 2003. SAS Institute Inc, Cary, NC, 2011.
- Saleem, A. M., Zounouny, A. I., & Singar, A. M. (2018). Effect of glycerol supplementation during early lactation on milk yield, milk composition, nutrient digestibility and blood metabolites of dairy buffaloes. *Animal*, 12(4), 757-763. doi: <https://doi.org/10.1017/S175173111700180X>
- Shi, F. H., Fang, L., Meng, Q. X., Wu, H., Du, J. P., Xie, X. X., Ren, L. P., Zhou, Z. M., & Zhou, B. (2014). Effects of partial or total replacement of maize with alternative feed source on digestibility, growth performance, blood metabolites and economics in limousine crossbred cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(10), 1443-1451. doi: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2014.14057>
- Tan, H. W., Abdul, A. R., & Aroua, M. K. (2013). Glycerol production and its applications as a raw material: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 118–127. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.035>