

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE UNA PATOLOGÍA (SÍNDROME PARAPLÉJICO BOVINO) DE LA GANADERÍA EXTENSIVA DE LOS LLANOS DE VENEZUELA. PARTE II: ESTUDIO ETIOPATOGÉNICO Y ESTRATEGIAS DE CONTROL

Contribution to the Knowledge of an Illness (Paraplegic Syndrome) of the Livestock at the Venezuela's Plains. Part II: Etiopathogenic Study and Strategies for Control

Nancy de López ^{*}, Carlos Marín ^{**},¹, Héctor J. Finol ^{***}, Sonia H. Torres ^{****}, Francisco De Venanzi [†]^{****}, Carlos Marín R. ^{*****}, Antonio Sánchez ^{*****} y Alberto Sandoval ^{*****}

^{*} Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria (SASA)-Aragua. Maracay, 2101. Estado Aragua, Venezuela. ^{**} Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Patología. Universidad Central de Venezuela. Apartado 4563. Maracay 2101, Estado Aragua, Venezuela. ^{***} Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela. ^{****} Facultad de Medicina. Instituto de Medicina Experimental. Universidad Central de Venezuela. ^{*****} Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Apartado 588, Maracay 2101, Estado Aragua. Venezuela

Correo-E: cmarinap@cantv.net

Recibido: 26/06/06 - Aprobado: 16/05/07

RESUMEN

En los llanos venezolanos, que abarcan unos 12 millones de hectáreas tienen asiento los sistemas de producción cría-levante y vaca-maute. Los animales pastorean en sabanas de suelos ácidos donde predominan comunidades de pastos del género *Trachypogon*, *Axonopus* y *Andropogon*, para sostener a unos 8 millones de cabezas de mestizo *cebú* x criollo. Las condiciones ambientales y de manejo de estas llanuras no son las más idóneas para sostener una ganadería de carne fuertemente mestizada, debido a que innovaciones tecnológicas no han sido incorporadas para mejorar el manejo cualitativo de los rebaños y, en general, la eficiencia de estos sistemas de producción. Un modelo de investigación integral, que implicó realizar estrategias de investigación: aplicada, básica y operativa, en fincas de los productores afectados por el síndrome parapléjico bovino (SPB) acompañado de un conjunto de estrategias en un paquete de mínimas tecnologías (PMT) para ser adoptado por los ganaderos. Se evaluó prioritariamente la situación nutricional y el manejo integral de los animales, se corrigieron las deficiencias detectadas; reflejándose su eficacia en indicadores bioproductivos del rebaño como: edad al primer parto, índice de preñez, índice de natalidad e índice de

mortalidad. Además, fueron realizados estudios etiopatogénicos basados en estudios submicroscópicos e histoquímicas de fibras musculares de animales enfermos comparadas con las de animales sanos. Los resultados confirmaron: 1. El SPB es un trastorno de origen multifactorial estrechamente vinculado a deficiencia de minerales, especialmente fósforo, 2. La elevación del patrón tecnológico con el paquete de mínima tecnología (PMT) en los sistemas de producción extensiva, además de erradicar el SPB, aumenta significativamente su eficiencia.

(Palabras clave: Ganado bovino, razas mixtas, parálisis, etiología, patogénesis, control de enfermedades, deficiencia de minerales, pH del suelo)

ABSTRACT

In Venezuelan plains have about 12 millions Ha, were settled the productions systems known as cow-calf and breeding-raising, with acids soils and most of their pasture belongs to the genus *Trachypogon*, *Axonopus* and *Andropogon*. It keeps about 8 millions of crossbred heads (zebu x criollo); the environmental conditions and management are inadequate, for livestock raising; because of the lack of technological innovations to improve the efficiency of the productions system. The origin of the Paraplegic Syndrome (BPS) may be related to the adverse environmental conditions. An integral research model, that involve: applied, basic and operative researches, was fulfilled by a multidisciplinary and inter-institutional teamwork in order to apply a set of strategies in a minimum technologies package (MTP) by the producers in the affected farms to investigate and eradicate this trouble, knowing the nutritional situation and the integral management, which was corrected in accordance with the detected deficiency. A systematic follow up of the results was practiced to know the progress in the control of BPS and to evaluate the positive effect of the MTP on the most important bioproductive indicators in the herd: age of first birth, pregnancy rate, birth rate, and mortality rate. Therefore, etiopatogenic studies based on submicroscopy and histochemical analysis of the muscular fiber from ill and health animals were performed. The results showed: 1. BPS is a condition of multifactorial origin and closely associated to mineral deficiencies, especially in phosphorus. 2. Improve of technological pattern with MTP in the Venezuelan production system increasing in its efficiency and eradication of the BPS.

(Key words: Cattle, multipurpose breeds, paralysis, etiology, pathogenesis, disease control, mineral deficiencies, soil pH)

INTRODUCCIÓN

El Síndrome Parapléjico Bovino (SPB) es una condición patológica que ha venido afectando a la ganadería en los llanos de Venezuela desde hace varias

décadas. Investigaciones realizadas sobre el problema, indican que existe una estrecha relación entre las deficiencias de la nutrición mineral, los pastos nativos de gran rusticidad con baja capacidad de sostenibilidad de animales a pastoreo, pobres prácticas de manejo racional de los rebaños y el alto mestizaje del ganado criollo, con Cebú. (Marín, 1974; Marín *et al.*, 1979; Marín y Chicco, 1985).

Las condiciones ambientales y de manejo de estas sabanas no son las más idóneas para sostener una ganadería de carne realmente eficiente, debido a la escasa o nula incorporación de innovaciones tecnológicas que no han permitido mejorar la eficiencia de estos sistemas de producción. En este sentido existe acuerdo general en realizar ensayos de suplementación mineral en bovinos de ganadería extensiva en zonas tropicales, los cuales han dado muy buenos resultados en varios países latinoamericanos (Mc Dowell *et al.* 1984). A este respecto, Hutton (1972), establece que actualmente se utiliza muy poca cantidad de fertilizantes en Venezuela y éste es el factor limitante de la industria ganadera en Venezuela.

Para comprender mejor el origen e intentar conocer las causas predisponentes y determinantes del SPB fue necesario caracterizarla en el contexto de su historia natural, fundamentándose en los estudios previos: clínica, anatomía patológica, hematología y química sanguínea, epidemiología, ensayos de terapéutica convencional y descartando las enfermedades enzoóticas comunes en esa región que pudieran enmascarar o estar asociadas con el trastorno (Marín y Medina de López, 1985) (Figura 1).

Uno de los aspectos más relevantes de esta patología, exigió profundizar en la patogénesis, con la cual se trató de explicar el mecanismo mediante el cual se desencadena el proceso patológico del SPB. Los estudios efectuados no habían permitido detectar con precisión órganos, tejidos, estructuras subcelulares o productos metabólicos que fueran reconocidos como target o diana que explicaran la razón por la cual se postran y mueren los animales afectados.

Buscando como punto de referencia los síntomas clínicos característicos, los estudios anatomopatológicos macro y microscópicos y las deficiencias de minerales detectadas, especialmente de fósforo, se decidió establecer varios niveles biológicos de estudio para llevar a cabo el proceso de investigaciones con el objeto de encontrar respuestas a las diferentes incógnitas que plantea esta enfermedad. Los animales afectados con el SPB tienen la particularidad de no presentar alteraciones a nivel del sistema nervioso central, periférico, ni en médula y presentar ligeras diferencias de espesor a nivel óseo que nunca provocaron fracturas, de ahí que se tratara de profundizar en el sistema muscular (fibras esqueléticas).

Para llevar a cabo estas investigaciones, en razón de las diferentes variables involucradas, se propusieron los siguientes objetivos: **1.** Contribuir a la comprensión de la etiopatogenia e identificar el órgano target donde se origina el proceso parapléjico y los cambios ultraestructurales básicos del SPB. **2.** Controlar y erradicar la mortalidad de bovinos, mediante prácticas de innovación tecnológica para su control y/o erradicación, en fincas afectadas por el Síndrome Parapléjico Bovino (fincas piloto).

MATERIALES Y MÉTODOS

Un modelo de investigación integral, que combina aspectos de las investigaciones aplicada, básica y operativa, desarrollado en fincas afectadas por el SPB, fue ejecutado por un equipo multidisciplinario de investigadores provenientes de diferentes instituciones. Este modelo fue complementado con un conjunto de estrategias contenidas en un paquete de mínima tecnología (PMT), dirigido a controlar la mortalidad por SPB y elevar la producción y productividad en las fincas.

1. Estrategias para el control del SPB (PMT)

1.1. Suplementación Mineral Estratégica. Basada en los requerimientos mínimos necesarios de minerales para un animal. Se aplicó un suplemento balanceado para cubrir el déficit nutricional de los animales. La mezcla de minerales fue denominada Venefostracal, producida por el FONAIAP (ahora INIA), se elaboró con las proporciones señaladas en la Tabla 1. La estrategia implantada, con el apoyo de los productores, fue la instalación de comederos protegidos de la lluvia y humedad para mantener la calidad del producto. Estos se ubicaron en forma estratégica en la sabana y en los potreros, para el consumo *ad libitum* de los animales.

1.2. Establecimiento de Pastos. Esta práctica se realizó mediante un programa de siembras de pastos adaptados a los suelos ácidos de las fincas pilotos, utilizando semilla de *Andropogon gayanus*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria brizanta* y otras.

a) Preparación del terreno: Con dos pases de rastra cruzados.

b) Siembra. Se estableció en cada potrero, seleccionado por finca, la siembra de *Andropogon gayanus* (pasto sabanero) a razón de 8 kg Ha⁻¹ de semillas, con 34% de pureza y 30% de germinación. En el caso de las *Bachiarias* se sembraron a razón de 4 kg Ha⁻¹ con un 25% de germinación. El sistema de siembra utilizado fue al voleo.

c) Fertilización. Se aplicó 80 kg Ha⁻¹ de potrero de superfosfato triple (SFT), 100 kg Ha⁻¹ de úrea, 20 kg de azufre y 12 kg Ha⁻¹ de magnesio. En las condiciones de suelos con pH muy ácido se recomendó aplicar 500 kg de cal agrícola; 200 kg de triple 15 (15-15-15); 100 kg de úrea; 50 kg de úrea como reabono (octubre-noviembre).

1.3. Programa Sanitario Mínimo (PSM). Práctica sistemática de curación de ombligo a los recién nacidos, vacunación contra el «complejo neumoenteritis» del recién nacido, desparasitaciones post-destete (2 veces/año), vacunación con bacterina triple (*C. chauvoei*, *C. septicum* y *P. multocida*), baños garrapaticidas, tratamiento preventivo contra tripanosomiasis y otros hematozoarios, vacunación contra aftosa, estomatitis vesicular y rabia.

2. Procesamiento y Análisis Estadístico de los Resultados

El PMT fue evaluado en las fincas piloto durante cinco años, y se aplicó el análisis de la varianza para un factor, considerando el efecto del PMT en el tiempo dentro de cada finca piloto. El modelo lineal aditivo aplicado a los datos

estuvo fundamentado en el Modelo Lineal General (MLG), el cual se expone a continuación:

$Y_{ij} = m + M_i + e_{ij}$; donde: m = Media general.

T_i = Efecto del PMT en el Muestreo i -ésimo aplicado en la j -ésima finca.

e_{ij} = Error de la estimación asociado al i -ésimo muestreo en la j -ésima finca.

En la comparación de medias se empleó el contraste de hipótesis de dos medias muestrales (prueba de «t» de *Student*), con el fin de evaluar el efecto «antes y después» de la aplicación del PMT entre las fechas de muestreo. Las variables utilizadas fueron los niveles promedios de minerales en suero hemático y tejido de bovinos, niveles promedios de minerales en muestras de pastos y los índices bioprodutivos: mortalidad, edad al primer parto, eficiencia reproductiva y natalidad. Para la tabulación y procesamiento de los datos se empleó la hoja de cálculo electrónica Lotus 123TM y en la aplicación del MLG se utilizó el *Statistical Analysis Software*[®], SAS Institute.

3. Etiopatogenia

Se efectuaron investigaciones especiales acerca de la etiopatogenia, lo cual implica efectuar investigaciones básicas utilizando técnicas como: ultraestructura, histoquímica y enzimología en ciertos músculos de bovinos sanos y afectados por el SPB, con la finalidad de establecer la causa y los mecanismos mediante los cuales se produce este trastorno. Se emplearon 16 hembras adultas con pesos comprendidos entre 300 y 400 kg, mestizos *cebú* x criollo, provenientes de fincas establecidas en las áreas de influencia donde ocurre la condición parapléjica y con antecedentes de su endemidad. Seis de estos animales clínicamente sanos fueron tomados como controles y los 10 restantes con signos y síntomas característicos de esta patología. Para la realización de estos estudios se emplearon muestras de músculos esqueléticos fásicos rápidos: *Gastrocnemius* y *Peroneus longus* y fásico lento: *Soleus*, todos obtenidos mediante biopsias.

3.1. Estudios Histoquímicos y Enzimáticos.

Se realizaron con la finalidad de estudiar los tipos de fibras musculares, para determinar si se producen modificaciones en su proporción y/o atrofia selectiva, y a su vez se estudiaron algunas enzimas fundamentales para el metabolismo muscular (citrato-sintetasa, lactatodeshidrogenasa, creatina-quinasa y hexoquinasa) y sustratos (glucógeno, glucosa-6-fosfato y lactato).

Fueron utilizadas muestras de los músculos (*Gastrocnemius* y *Peroneus longus*) congelados de inmediato en isopentano enfriado con nitrógeno líquido y guardados a -80 °C hasta el momento de su procesamiento. Se hicieron cortes por congelación a -20 °C, con un espesor de 10 μ m en criostato (Cryo-Cut, American Optical Corporation). Para evidenciar los tipos de fibras se realizaron las reacciones para adenosina trifosfatasa (ATPasa miosínica) a pH 10,3 de preincubación alcalina y ácida (4,8; 4,6 y 4,37) (Padykula y Herman, 1955; Stein y Padikula, 1962; Guth y Samaha, 1969 y Brooke y Kaiser, 1970).

También se determinó una enzima oxidativa nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH-daforasa) (Novikoff *et al.*, 1961) y una enzima glicolítica Glicero-fosfato deshidrogenada (α -GPDH) (Wattenberg y Leong, 1960). Para el glicógeno se utilizó la reacción del ácido periódico-Schiff (PAS) y para visualizar los capilares se llevó a cabo utilizando la nomenclatura de Brooke y Kaiser (1970) aunque también se consideraron resultados de otros investigadores al respecto, como Stein y Padykula (1962); Ogata y Mori (1964) y Blömstrand y Ekblom (1982).

Para la determinación de enzimas y sustratos, una parte de la biopsia muscular se congeló en nitrógeno líquido, conservándose a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento. Los análisis se efectuaron según las técnicas de Lowry y Passoneau, excepto la creatina-quinasa, en la cual se utilizó la técnica de Dawson y Eppenberger.

3.2. Microscopia Electrónica de Transmisión

Esta técnica se utilizó para estudiar la ultra estructura de la fibra muscular normal del bovino sano y en la condición patológica (SPB). Las investigaciones se realizaron a partir de muestras de músculo *Gastrocnemio* y *Soleus* de bovinos hembras adultas con pesos comprendidos entre 300 y 400 kg. Se empleó una muestra testigo compuesta de 6 bovinos reconocidos como clínicamente sanos y un grupo de 6 afectados por el SPB. A objeto de preparar el material para su estudio ultra estructural se ejecutaron los siguientes procesos:

1. Fijación: Utilizando glutaraldehído al 3% en buffer-fosfato de Millonig, (1961) a pH 7,4 y una osmolaridad de 320 mOsm, seguido de tetróxido de osmio utilizando el mismo tipo de buffer y con igual osmolaridad.

2. Seguidamente se efectuó la precoloración con acetato de uranilo al 3% en solución acuosa (Ginsbury y Wolosin, 1979).

3. Deshidratación: Se efectuó en concentraciones crecientes de etanol de 50% a 100%.

4. Infiltración: Este proceso se realizó en óxido de propileno, 2 cambios por 15 minutos cada uno y en una mezcla de óxido de propileno-epón (1:1) por 30 minutos, luego se continuó con la infiltración de la muestra utilizando epón, efectuándose 4 cambios cada 30 minutos cada uno. Para la inclusión se usó resina LX-112 en cápsulas de polietileno, llevándolas a estufa de 60°C por 48 horas.

5. Corte y Coloración: Se obtuvieron cortes de espesor comprendido entre 50 y $90\text{ }\mu\text{m}$ en un ultramicrotomo (Porter-Blum MT2-B). La coloración se efectuó con acetato de uranio al 1% en solución acuosa (Watson, 1958) y citrato de plomo (Reynolds, 1963).

El material finalmente preparado para el estudio ultra estructural se observó en un microscopio electrónico (Hitachi H-500), con un voltaje de aceleración de 100 KV.

RESULTADOS

1. *Seguimiento y Evaluación de las estrategias para el control del SPB (PMT)*. De acuerdo a los resultados de la Tabla 2 el status mineral evaluado en pastos establecidos en los potreros, reveló que éstos presentaron niveles de

nutrientes minerales significativamente superiores a los pastos establecidos en el año 1984 (Tabla 1. Parte I) al nivel de $P < 0,05$, especialmente en los elementos Ca, P, relación Ca:P, Mg, Na y K.

Lo anterior se complementa con la evidencia de que estos pastos establecidos (*Andropogon* y *Brachiaria*) soportaron el pastoreo continuo de seis meses de rotación. Con el *Andropogon gayanus* se obtuvo un promedio de 18 T/Ha^{-1} de materia seca en la época de lluvias y 5 T/Ha^{-1} en la época de verano. Las especies forrajeras *B. humidicola*, *B. brizantha* y *B. decumbens*, obtuvieron rendimientos aproximados de 2000, 3500 y 800 $\text{kg Ha}^{-1} \text{ corte}^{-1}$, a las edades de 28, 42 y 56 días respectivamente y 14 T/Ha de materia seca. La carga animal promedio soportada fue de $4,675 \text{ ha UA}^{-1}$. Tal como se esperaba, el PMT generó una respuesta positiva en el subsistema suelo-planta.

Antes de la aplicación del PMT, los resultados obtenidos en las tres fincas pilotos indicaban: mortalidad por SPB $> 15\%$, índice de natalidad entre el 30% y 40%, índice de preñez entre 33% y 40% y edad al primer parto 45 meses. De acuerdo con los resultados de la Parte I (Tablas 4, 5, 6, 7 y 8), en los niveles minerales en el sistema suelo-planta-animal se observaron deficiencias de P y en menor grado Na, K, Cu y Zn. En el 63% de las muestras de suero hemático de los bovinos a riesgo se detectaron niveles bajos de fósforo y franco desbalance de la relación Ca:P (Figura 2). Tales parámetros estimados son característicos de la ganadería extensiva de los llanos, en donde se presenta el SPB.

A los 12 meses de implantado el PMT, los resultados indicaron un descenso de la mortalidad por SPB hasta el 1% y por otras causas al 5%. Por otra parte, los parámetros bioproductivos se incrementaron significativamente, señalando índices de natalidad al 35%, preñez al 40% y la edad al primer parto se redujo a 40 meses, igualmente entre el 60% y 80% de la población bovina estudiada presentó niveles de minerales normales a excepción de la relación Ca:P que aún presentaba signos de desbalance en la muestra estudiada.

A los 24 meses, no se registró mortalidad por SPB, pero por otras causas el registro fue de 4%, y los índices bioproductivos fueron los siguientes: natalidad 45%, preñez del 48%, edad al primer parto 36 meses y más del 80% de los rebaños presentaron niveles normales de minerales (Figuras 4, 6 y 7).

A los 36 meses de establecido el PMT, no se registró mortalidad bovina por SPB. Los parámetros bioproductivos se incrementaron significativamente obteniéndose los siguientes resultados: natalidad del 60%, preñez 64% y edad al primer parto 34 meses. El 90% de la población bovina a riesgo presentó niveles de minerales normales (Figuras 5, 6 y 7). En los potreros fundados y establecidos en las tres fincas pilotos, los pastos introducidos mostraron niveles de elementos minerales adecuados (similares a los presentados en la Tabla 6) para la ganadería de carne en los trópicos.

A los 48 meses de establecido el PMT en las fincas pilotos, no se registró mortalidad bovina por SPB, 4% por otras causas. Los parámetros bioproductivos se incrementaron significativamente obteniéndose los siguientes resultados: natalidad del 64%, preñez 67% y edad al primer parto 30 meses. El 90% de la población bovina a riesgo presentó niveles de minerales normales (Figuras 6 y 7).

En las tres fincas pilotos, el seguimiento tanto de los índices bioprodutivos como del status mineral de los bovinos fue realizado hasta el año 1990, (Figuras 6 y 7), se puede observar una plena estabilización de los niveles de minerales en el 100% de los animales y una estabilización de los índices bioprodutivos en las fincas pilotos, los cuales se mantienen eficientes significativamente. Como dato adicional, es importante señalar que la finca «La Puerta» en el año 1988 incrementó su rendimiento en la producción láctea hasta un promedio de 8 L/vaca; a un punto tal que técnicamente queda establecido que la producción de cada vaca pagaba el costo de su propio «tratamiento» al aplicar el PMT.

2. Estudios Etiopatogénicos del SPB

El otro hecho más demostrativo, aún para conocer las causas del SPB, se obtuvo en el proceso de investigación básica, mediante estudios de microscopía electrónica, histoquímica y enzimología, con los cuales se observaron cambios ultraestructurales en biopsias de músculos de los miembros posteriores de bovinos afectados, específicamente en el sistema sarcotubular y contráctil, así como en las tríadas, pérdida de las estriaciones, conformación de cuerpos densos ó Z, necrosis segmentaria de fibras, severas alteraciones en las crestas y matriz mitocondrial y formación de vacuolas autofágicas (restos mitocondriales y otras estructuras sarcoplásmáticas). Estos cambios son indicativos del desarrollo de un proceso degenerativo que afecta tanto a las fibras musculares como a la irrigación sanguínea. Dicho proceso se inicia con alteraciones a nivel de ciertas estructuras de la célula muscular estriada: sistema contráctil, sistema sarcotubular, mitocondrias, membrana plasmática y membrana basal y culmina con la necrosis segmentaria de las fibras musculares (Figuras 8, 9, 10, 11, 12 y 13).

Por otra parte, el estudio sobre el potencial metabólico de los músculos (fásicos lentos y fásicos rápidos) mostró una notable disminución de las fibras altas a la reacción a-GPDH y a la ATPasa miofibrilar. Esto es indicativo de alteración importante del metabolismo muscular, donde se encuentra íntimamente involucrado el fósforo como uno de los elementos fundamentales para la generación de ATP. Como información complementaria, cabe señalar que los bovinos afectados por el SPB, utilizados en estas investigaciones mostraron niveles deficitarios en P hemático y en tejidos (hueso e hígado), así como en la relación (Ca:P).

DISCUSIÓN

El nivel de complejidad que configura esta nueva entidad patológica conocida como Síndrome Parapléjico (Marín *et al.*, 1979), sin antecedentes en la patología veterinaria, fue posible conocerla en lo relativo a su historia natural, mediante los estudios realizados por Marín y Chicco, 1985; Marín y Medina de López, 1985 referidos a la evolución de su curso clínico, aspectos epidemiológicos y patología, y por Medina de López (1990) quien profundizó en la interpretación de los cambios estructurales, ultraestructurales y bioquímicos; así como el abordaje de las explicaciones sobre los mecanismos de cómo se

produce la enfermedad y muerte del animal afectado de la condición parapléjica.

Las estrategias de investigación aplicada y operativa llevadas a cabo exitosamente en las fincas piloto constituyen un modelo experimental novedoso por la diversidad de información que ellas suministran *in situ*, luego de aplicar un conjunto de innovaciones tecnológicas contenidas en el denominado paquete de mínimas tecnologías (PMT), con lo cual se imprime al sistema de producción de ganadería extensiva, componentes fundamentales generadores de los cambios cualitativos requeridos por el ecosistema de sabanas de suelos ácidos con la finalidad de hacer al sistema suelo-planta-animal más eficiente y sostenible en producción y productividad, en razón de la calidad de la oferta nutricional estratégica (específicamente por lo que aporta en minerales esenciales bien suministrados en la suplementación o como biomasa vegetal) a los animales en riesgo de ser afectados por el SPB.

Luego de cumplirse el primer año del PMT, comenzó a evidenciarse la recuperación progresiva de la dinámica de los minerales que se encontraban en situación deficitaria o de desbalance en el sistema suelo-planta-animal; a la vez hubo una disminución de la incidencia por muerte de los animales debido a la condición parapléjica, mientras que los indicadores de producción mejoraron cualitativa y cuantitativamente. Después de 3 años de aplicado el PMT, se estabilizaron definitivamente y en forma sostenible los valores mencionados. Por ello, el control y erradicación del SPB fue el logro fundamental de estas investigaciones, lo cual puede constatarse claramente en los resultados reportados (Figuras 9-13). Queda establecido que intentar mejorar la eficiencia de este sistema de ganadería fue la finalidad de estas estrategias, las cuales pueden ser fácilmente aplicables a cualquier zona de ganadería extensiva en sabanas de suelos ácidos, con problemas de productividad.

El hecho de no haberse aislado ningún microorganismo patógeno (bacterias, hongos, virus, parásitos) o toxinas, incluyendo toxi-infección botulínica, en una muestra representativa de más de 80 bovinos afectados por SPB (Marín y Chicco, 1985), ni haberse obtenido resultados positivos en las inoculaciones experimentales practicadas a animales de laboratorio y a bovinos sanos, permitió establecer que la causa de esta patología no es de carácter infeccioso, contagioso o transmisible; a pesar de su ocurrencia en forma de brotes epizooticos en las distintas áreas geográficas donde ha hecho aparición esta condición. Se asume que el problema es multifactorial, donde juega papel importante el alto mestizaje, unido a la baja capacidad de sostenibilidad de las sabanas, primitivo manejo de los rebaños y la baja calidad de la oferta nutricional en este sistema de producción ganadera. En apoyo a estas afirmaciones, cabe citar a McDowell *et al.* (1983); Mc Dowell *et al.* (1984); McDowell *et al.* (1993), quienes trabajaron en problemas de desbalances y toxicidades de nutrición mineral de rumiantes en pastoreo, en diferentes regiones tropicales, en condiciones parecidas a las de los llanos de Venezuela.

Las investigaciones sobre la etiopatogénesis del SPB, están referidas a la profundización en el conocimiento de los mecanismos mediante los cuales se desencadenan los signos que preceden al cuadro clínico, expresándose éste con su cuadro clínico característico (incoordinación motora, caída, postración y muerte) y así mismo la identificación del órgano target. Los resultados de los

trabajos de Medina de López (1990), sobre estos aspectos, permitieron profundizar en el nivel submicroscópico y bioquímico para correlacionar los hallazgos con los obtenidos en los estudios del sistema suelo-planta-bovino en su *status* natural antes de la aplicación del PMT.

La clínica del bovino afectado por esta condición y su relación con el sistema locomotor obedece a un trastorno con base estructural, constatado por los hallazgos de la presente investigación. En efecto, los músculos del bovino parapléjico (*Gastrocnemius* y *Soleus*), estudiados por Microscopía Electrónica, exhibieron alteraciones que afectan al sistema contráctil, compatibles con los apreciados en varios procesos musculares que conllevan a la necrosis en el humano y otros mamíferos (Medina de López *et al.*, 1988a; Medina de López *et al.*, 1988b). Las alteraciones observadas en el sistema contráctil del bovino parapléjico constituyen el mejor ejemplo de cambios comunes a varios trastornos que se inician con la desorganización del sarcómero y culminan en la etapa necrótica con la formación de masas contráctiles homogéneas.

Siendo el tejido muscular tan especializado, se entiende que su respuesta a la agresión no puede expresarse en tipos de cambios variados específicos para cada caso (Hodgson, 1985), lo cual se aprecia claramente en las alteraciones observadas con respecto al sistema sarcotubular. En la presente investigación las evidencias del daño al sistema fueron apreciadas únicamente en la etapa necrótica, al localizar restos vesiculados. Investigadores como Fuller *et al.* (1978), observaron en el músculo esquelético del perro una evidente participación del retículo sarcoplásmico en los cambios causados por hipofosfatemia y Krets *et al.* (1980), encontraron que la capacidad de acumulación del calcio disminuía en la miopatía asociada a la hipofosfatemia, sugiriendo los autores que en la mencionada condición se alteraba la geometría de las vesículas.

Los cambios localizados en las mitocondrias de las fibras musculares de bovinos afectados por el SPB, fueron variados, así pues existe: 1. una alteración que presenta similitud en el tamaño de las mitocondrias, descritas en la miopatía megaconial (Shy y Gonatas, 1964; Pellegrini *et al.*, 1983); 2. alteraciones en la disposición de las crestas, número y densidad electrónica de la matriz mitocondrial se han descrito en varias condiciones, en las que se incluyen la anoxia, la tenotomía y un número variado de miopatías (Finol *et al.*, 1986); 3. entre los tipos de lisosomas presentes en bovinos afectados por el SPB, se encuentran los lisosomas primarios y estructuras autofágicas muy complejas. Observaciones similares se encontraron en la hipofosfatemia experimental (Finol *et al.*, 2001), como también en los músculos desnervados (Finol, 1980; Cullen y Pluskal, 1971); y en músculos tenotomizados (Velasco y Finol, 1983).

La tendencia a la disminución de glucógeno y gotas lipídicas en los especímenes examinados, así como la presencia de escasos glucogenosomas podría estar relacionada con problemas metabólicos que afectan al bovino en la condición parapléjica. Ello podría explicar la razón por la cual desórdenes musculares como los glucogenosomas es un hallazgo de importancia como los descritos anteriormente, así como tampoco se ha hecho referencia a modificaciones en la cantidad de lípidos o glucógeno. En el caso de la miopatía por hipofosfatemia experimental en ratas, Brautbar y Massry (1984) mostraron

una asociación y una correlación de la hipofosfatemia con bajos niveles de fósforo inorgánico celular y una disminución de la actividad de la creatinina fosfoquinasa, además de una baja de la concentración de glucosa-6-fosfato y una disminución de los niveles de glucógeno, sugiriendo los autores que ello se debe a una reducción de la glicólisis, la fosforilación de la glucosa y la síntesis de glucógeno.

La ausencia de alteración en la ultraestructura de los núcleos constituye un hallazgo interesante, puesto que al contrario de lo descrito, la morfología nuclear está afectada en procesos degenerativos como la distrofia muscular de Duchenne (Márquez *et al.*, 1989) y en la atrofia postdesnervación (Pellegrino y Franzini, 1963).

La ruptura de la membrana plasmática como fue señalada en el proceso degenerativo descrito en el presente trabajo, también ha sido mencionada en la distrofia muscular y en la tirototoxicosis (Cullen y Mastiglia, 1982; Torres *et al.*, 1985) y ha justificado la hipótesis de que en la etiología de la distrofia muscular se encuentra un defecto de la membrana (Cullen y Mastiglia, 1982). También, se han descrito daños en la integridad de la membrana en ratas con hipofosfatemia experimental, relacionados a una alteración en la producción y transporte de energía y en el metabolismo de los fosfolípidos, observándose una reducción en el potencial electrónico de transmembrana (Brautbar y Massry, 1984; Fuller *et al.*, 1976; Knochel, 1985). Por su parte, Krausser *et al.* (1982) señalan una reducción del contenido de fosfolípidos en el retículo sarcoplásmico en conejos con hipofosfatemia, indicando daño en la membrana.

Las alteraciones observadas en este trabajo, en relación con los componentes de la célula satélite y su separación de las fibras musculares necróticas sugieren un comportamiento similar a los descritos en ciertos procesos regenerativos que tienen lugar después de agresiones al músculo esquelético, tales como traumas por sección, trituración o radiación (Fuenmayor *et al.*, 1973; Shafiq, 1970). Tal respuesta indica que la célula satélite tiende a separarse ante cualquier tipo de agresión. En el caso de las fibras musculares de bovinos afectados por SPB, no se encontraron evidencias de que la célula satélite pudiera transformarse en una célula fagocítica, produciendo una respuesta diferente tal como ella se comporta en casos de enfermedades con componente autoinmune (Müller *et al.*, 1983).

La variabilidad encontrada en la membrana basal de los capilares de bovinos parapléjicos, coincide con las descripciones efectuadas en trastornos neuromusculares no asociados a procesos autoinmunes, como es la atrofia por desnervación, la cual provoca degeneración sin alteración de los capilares intramusculares (Jerusalem, 1982). Por el contrario, Carpenter y Karpati (1982), encontraron cambios en los capilares en algunas atrofas neurogénicas que incluyen el engrosamiento de la membrana basal. Más aún, el engrosamiento de la membrana basal podría estar relacionado a procesos normales de envejecimiento (Landon, 1982). En todo caso, las alteraciones que se observaron en los capilares intramusculares en casos de paraplejia bovina (vacuolización, presencia de algunos lisosomas y formación de evaginaciones citoplasmáticas hacia el lumen) constituyen alteraciones inespecíficas que se han descrito en desórdenes, tales como la miopatía asociada al Síndrome de Turner (Márquez *et al.*, 1987).

Los escasos infiltrados mononucleares descritos (macrófagos y mastocitos) han sido reconocidos en trastornos musculares de diferentes etiologías, entre otras en la artritis reumatoide (Finol *et al.*, 1988) lupus eritematoso sistémico (Finol *et al.*, 1989). La ausencia de linfocitos y polimorfonucleares es indicativa, en lo que concierne a la naturaleza de la causa del SPB, que estas células son señal de inflamación, particularmente de origen microbiano (parasitario) como respuesta activa del sistema inmunológico.

Desde el punto de vista histoquímico, se sugiere que la mayor susceptibilidad del daño de las fibras de tipo II, se debe a la menor capilaridad de éstas con relación a las fibras de contracción lenta (tipo I), lo que limita la capacidad de difusión del ácido láctico y de CO₂ acumulado durante el ejercicio, traduciéndose en un aumento del catabolismo protéico y la lisis de la fibra muscular (Hogson, 1985; Sucre, 1989). En la presente investigación no se señalan daños selectivos de las fibras de tipo I o de tipo II, debido a que en ambos grupos se observaron alteraciones. Sin embargo, en los músculos de contracción rápida que presentaron cambios estructurales relacionados con degeneración y necrosis de las fibras, se observó una disminución de las fibras de tipo II con relación a las de tipo I. Por otra parte, se obtuvo una menor proporción de fibras altas a la reacción de a-GPDH; lo que sugiere una disminución del potencial metabólico glicolítico, posiblemente relacionado con la mayor susceptibilidad al daño de las fibras de tipo II, debido quizás a la deficiencia de fósforo, la cual es una característica del SPB. No obstante, hay que pensar que la falla en el aporte de fósforo también debería influir en la respiración mitocondrial y por consiguiente, en la obtención de energía mediante la fosforilización oxidativa. Esto estaría en concordancia con los hallazgos de Brautbar y Massry (1984) sobre miopatía por hipofosfatemia experimental en ratas, los cuales muestran en sus resultados alteración en los metabolismos energético aeróbico y anaeróbico.

Los estudios clínicos, anatomopatológicos, microbiológicos, parasitológicos y hematológicos antes citados, junto a los estudios de suelo y pastos; así como la evaluación sérica y tisular de minerales reportadas por Marín *et al.* (1987), complementadas con los resultados obtenidos en los estudios histoquímicos y ultraestructurales realizados en biopsias musculares de bovinos afectados por SPB (Medina de López, 1990), permiten señalar a las deficiencias minerales, en especial de fósforo, como parte muy importante de la etiología asociada a esta condición. La confrontación de estos resultados con los de la bibliografía consultada, señala a la hipofosfatemia como uno de los factores determinantes del Síndrome Parapléjico Bovino; sin oponernos a la posibilidad de que pudiera existir algún otro factor desencadenante para la manifestación del trastorno. No obstante quedó demostrado, que la introducción de mínimas tecnologías en el sistema de producción de ganadería extensiva de los llanos fue altamente eficiente en el control y erradicación de la condición patológica denominada SPB y en el incremento de la productividad de los rebaños.

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en el estudio histoquímico como ultraestructural de las biopsias musculares, permiten señalar a las deficiencias de minerales detectada en las investigaciones efectuadas a nivel del sistema suelo-planta-bovino como estrechamente asociada con la etiología del SPB.

2. En las fincas pilotos La Puerta, Morichal Largo y La Trinidad utilizadas como escenarios para las prácticas de investigación operativa, se demostró que la suplementación sistemática con sales minerales (en cuya composición se incluyen adecuadas proporciones de fósforo biodisponible) no tiene efectos curativos frente a animales afectados por el SPB. 3. Las acciones de investigación operativa denominadas en su conjunto «paquete de mínima tecnología» (PMT) tienen un alto valor preventivo; cuando se utilizan en forma estratégica en rebaños que tienen alto riesgo de ser afectados por la condición patológica SPB; lográndose el control y erradicación de la misma al desaparecer totalmente la mortalidad por esta causa.

4. Los índices bioproductivos alcanzados en las fincas pilotos, al cabo de un año de aplicado el PMT, permiten afirmar que el costo-beneficio del uso de insumos para la aplicación de estas estrategias en el control y erradicación del SPB son retornados en el corto plazo. Ya que los animales bajo estas condiciones, multiplican su capacidad productiva, generando beneficios a partir del segundo año.

AGRADECIMIENTOS

A los Técnicos Asociados a la Investigación (TAI): Antonio Martínez, Luzmila Peroza; Judith Martínez y Socorro S. de Páez por la calidad de los resultados de las tareas que les fueron asignadas como parte del equipo de investigación.

A los Dres. Coromoto de Veracierta, Héctor Castaños, Aura G. de López por sus valiosos aportes en el área de su competencia.

Al Dr. Tulio Arends (†), Ministro de Estado Presidente del Consejo Nacional de de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, quien comprendió la trascendencia del problema y nos brindó el apoyo y estímulo necesarios para el logro de metas y objetivos para su cabal solución

A los Sres. Claus Welle, José A. Lares y José Romero, propietarios respectivamente de las fincas «La Puerta» (San Francisco de La Paragua, Edo. Bolívar), finca «Morichal Largo» (Temblador; Edo. Monagas), finca «La Trinidad» (El Pao, Edo. Anzoátegui), quienes dieron su mejor cooperación para el éxito del Proyecto al ceder sus establecimientos como fincas piloto con fines experimentales para las investigaciones operativas señaladas en las estrategias.

REFERENCIAS

1. Blomstrand, E.; Ekblom, B. 1982. The needle of biopsy technique for fiber type determination in human skeletal muscle. A methodological study. 116:437-442.

2. Brautbar, N.; Massry, S.G. 1984. The myopathy of phosphatemia depletion. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 178:363-379.
3. Brook, M.H.; Kaiser, K.K. 1970. Muscle fiber types. How many and what kind?. *Arch. Neurol.*, 23:369-379.
4. Carpenter, S.; Karpati, G. 1982. Necrosis of capillaries in denervation atrophy of human skeletal muscle. *Muscle-Nerve*, 5:250-254.
5. Cullen, M.J.; Pluskal, M.G. 1971. Early changes in the ultrastructure of denervated rat skeletal muscle. *Exp. Neurol.*, 56:115-131.
6. Cullen, M.J.; Mastaglia, F.L. 1982. Pathological reaction of skeletal muscle. In: *Skeletal Muscle Pathology*. Eds. F.L Mastaglia & J. Walton. Churchill Livingstone, Edinburg, London, Melbourne and New York, pp. 88-139.
7. De Venanzi, F.; Peña, F.; Alfonzo, C y D'Andrea. E. 1988. Contenido de fósforo y calcio y densidad en el hueso de ganado bovino de ciertos Estados de Venezuela. Su posible relación con el Síndrome Parapléjico Bovino. *Interciencia*, 13:138-190.
8. Finol, H. J. (1980). Efectos de la deservación sobre la ultraestructura de un músculo rápido de la rata. *Acta Científ. Venez.*, 31: 229-239.
9. Finol, H. J., Müller, B. ; Márquez, A. and Briceño, L. 1986. Polymyositis with presence of erythrocytes beneath the basement membrane of muscle fibers. *Acta Cient. Venez.*, 587-588.
10. Finol, H.J.; Müller, B.; Montes de Oca, I.; Márquez, A. 1988. Ultrastructure of skeletal muscle in rheumatoid myositis. *J. Rheumatol.*, 15:552-588
11. Finol, H. J.; Müller, B.; Montes de Oca, I. ; Márquez, A. 1989. Patología muscular en el Síndrome de Guillain-Barré. *Acta Cient. Venez.*, 40 (Supl. 1):23.
12. Finol, H. J.; De Venanzi, F. ; Pereyra, B. ; Alfonso, C. y Sánchez, D. 2001. Effects of phosphorus deficiency on the ultrastructure of the rat fast twitch skeletal muscle. *Interciencia*, 26:62-66.
13. Fuenmayor, D.; Finol, H.J.; Ogura, M. 1973. Aspectos ultraestructurales del proceso regenerativo en el músculo caudal del reptil *Cnemidophorus lemniscatus*. *Acta Cient. Venez.*, 24:88-94.
14. Fuller, T.J.; Nichols, W.W.; Brenner, B.J.; Peterson, J.C. 1978. Reversible depression in myocardial performance in dogs with experimental phosphorus deficiency. *J. Clin. Inv.*, 62:1194-1200.
15. Ginsburg, H.; Wolosin, J.M. 1979. Effects for uranyl ions on lipids bilayer membranes. *Chem. Phys. Lipids*, 23:125-131.
16. Guth, L.; Samaha, F. I. 1969. Qualitative difference between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp. Neurol.*, 25:138-152.
17. Hodgson, D. 1985. Basic muscle Physiology, Histochemistry and muscle biopsy techniques. Proceedings of the International Conferences for Equine Sports Medicine. pp. 551-556.
18. Hutton, E.M. 1972. El sistema tropical Suelo-Planta-Animal en la producción de carne. *Memorias VIII Jornadas Agronómicas*. Cagua. Edo. Aragua. 12p.
19. Jerusalem, F. 1982. Circulatory disorders and pathology of intramuscular blood vessels. In: «Skeletal Muscle Pathology». F. L. Mastaglia & J.

- Walton (Eds.) Churchill Livingstone, Edinburg, London, Melbourne and New York. pp. 537-560.
20. Knochel, J. P. 1985. The clinical status of hypophosphatemia. An update. *New Engl. J. Med.*, 317:447-449.
 21. Krausser, W.; Scholz, H.; Rascher, W.; Schomina, A. A.; Dietz, R.; Klormann, D.; Ritz, C. 1982. Circulatory response to pressor agents in phosphorus depletion. In: Regulation of phosphate and mineral metabolism (Masson, S. G.; Lettery, J. and Ritz, E. Eds) Plenum Press, N.Y. pp. 259-266.
 22. Kretz, J.; Sommer, G.; Boland, R.; Kreusser, W.; Hasselbach, W.; Ritz, E. 1980. Lack of involvement of sarcoplasmic reticulum in myopathy of acute phosphorus depletion. *Klin. Wochenschr.*, 58:833-837.
 23. Landon, D. 1982. Skeletal muscle normal morphology, development and innervation: In: «Skeletal Muscle Pathology» (F.L. Mastaglia and J. Walton, Eds.) pp. 1-87. Churchill Livingstone. Edinburg, London, Melbourne and New York.
 24. Marín, C. 1974. Informe Anual del Instituto de Investigaciones Veterinarias. *Memoria Anual del Ministerio de Agricultura y Cría*.
 25. Marín, C.; Medina de López, N.; Palencia de Álvarez, L. 1979. Síndrome Parapléjico por deficiencias minerales en bovinos mestizos cebú. *Memorias de la XXIX Conv. Anual de AsoVAC*. Barquisimeto.
 26. Marín, C.; Chicco, C. 1985. Caracterización Clínico-Patológica y del Ecosistema donde ocurre en forma epizootica el Síndrome Parapléjico Bovino. *Memorias del Taller sobre SPB organizado por la Asoc. de Gan. de Valle de la Pascua*. V. de la P. Edo. Guárico. pp. 1-12.
 27. Marín, C.; Medina de López, N. 1985. Síndrome Parapléjico Bovino. *Venezuela Bovina*. 1: 7-11.
 28. Marín, C. Marín R.; C.; Medina de López, N.; Sandoval, A.; Palencia de Álvarez, L. 1987. Desarrollo de un modelo de investigación aplicada-operativa para la solución del Síndrome Parapléjico Bovino. *XII Jornadas Agronomía*. 220 p.
 29. Mc Dowell, L.R.; Conrad, J.H.; Ellis, G.L.; Loosli, J.K. 1983 Minerals for Grazing Ruminants in the Tropical Regions. Animal Science. Center for Tropical Agriculture. University of Florida, Gainesville. Fla. USA. pp 5-11.
 30. Mc Dowell, L.R.; Conrad, J.H.; Ellis, G.L.; Loosli, J.K. 1984. Minerales para Rumiantes en Pastoreo en Regiones Tropicales. Universidad de Florida. (USA) Gainesville. pp 5-11.
 31. Mc Dowell, L.R.; Conrad, J.K.; Hembra, F.J.; Rojas, L.X.; Valle, G.; Velásquez, J. 1993. Minerales para Rumiantes en Pastoreo en Regiones Tropicales. (2ª Ed.) Dep. de Zootecnia. Universidad de Florida, Gainesville. Fla. USA, 92p.
 32. Márquez, A.; Carmona, L.; Finol, H. 1989. Nuevos hallazgos ultraestructurales en la Distrofia Muscular de Duchenne. *Acta Cient. Venez.*, 39:213.
 33. Márquez, A.; Finol, H. J.; Bajares, M.; Torres, S.H.; Paolillo, M. 1987. Ultrastructure of skeletal muscle in Turner's syndrome. Society of Neuroscience. 17th annual meeting. New Orleans. Louis. USA.

34. Medina de López, N.; Finol, H. J.; Marín, C. 1988a. Alteraciones ultraestructurales del músculo esquelético de bovinos en el Síndrome Parapléjico. *Acta Cient. Venez.* Memorias de las 38^a Convención Anual de AsoVAC. pp.58-59.
35. Medina de López, N.; Finol, H.; Marín, C. 1988b. Ultraestructura del músculo Sóleo de bovino afectado de Síndrome Parapléjico. Memorias de la 3^{ra}s Jornadas Venezolanas de Micr. Electr. pp. 58-59.
36. Medina de López, N. 1990. Contribución al estudio ultraestructural e histoquímica del músculo esquelético en el bovino normal y afectado por Síndrome Parapléjico. Tesis de Grado para optar al título Magíster Scientiarum en Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Venezuela.
37. Millonig, G. 1961. Advantages of a phosphate buffer for Os₂O₄ solution in fixation. *J. Appl. Phys.*, 32: 1637.
38. Müller. B.; Finol, H.; Montes De Oca, I. 1983. Distinción ultraestructural de los efectos de la Diabetes y la Seudo esclerodermia sobre el músculo esquelético. *Acta Cient. Venez.*, 34:22.
39. Novikoff, A.; Shin, W.; Drucker, J. 1961. Mitochondrial localization of oxidation enzymes. Staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9:47-61.
40. Ogata, T.; Mori, M. 1964. Histochemical study of oxydatives enzymes in vertebrates muscles. *J. Histochem. Cytol.*, 12:171-182.
41. Padykula, H.A.; Herman, E. 1955. The specificity of the histochemical method for adenosin triphosphatase. *J. Histochem. Cytol.*, 3:170-195.
42. Pellegrino, C.; Franzini, C. 1963. An electron microscope study of denervation atrophy in red and white skeletal muscle fibers. *J. Cell. Biol.*, 17:327-349.
43. Pellegrini, G.; Moggio, M.; Chieldi, A.; Scarlato, G., Fistone, F. M.; Picco, P. 1983. Familial Megaconial Myopathy: A real nosologic entity. *Acta Neuropath.*, 59:7074.
44. Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17:208-212.
45. Shafiq, S.A. 1970. Satellite cells and fiber nuclei in muscle regeneration. In: «Regeneration of Striated Muscle and Myogenesis». A. Mauro, S.A. Shafiq & T. A. Milhorat (Eds.), Excerpta Medica, Amsterdam, pp. 122-124.
46. Shy, G. M.; Gonatas, N.K. 1964. Human myopathy with giant abnormal mitochondria. *Science*, 145:493-496.
47. Stein, J.M.; Padykula, H. A. 1962. Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. *Am. J. Anat.*, 110:103-123.
48. Sucre, L. 1989. Rabdomiolisis en el equino: Análisis histoquímico y bioquímico. 2^{as} Jornadas Científicas de Actualización en Medicina Veterinaria Equina. Bol. de la Asoc. de Med. Vet. Especialistas en Equinos. Vol. 1, (n^{os} 1 y 2).
49. Torres H.S.; Domínguez, J.J.; Perdomo, P.; Muller, B.; Montes De Oca, I. 1985. Histochemical and ultraestructural study in skeletal muscle from hypertyroid patients. *Clin. Physiol.*, 5:123.

50. Velasco, E.; Finol, H.J. 1983. The effects of tenotomy on the ultrastructure of a rat fast twitch muscle. *Acta Cient. Venez.*, 34:124-131.
51. Wattenberg, L. W.; Leong, J.L. 1960. Effects of coenzyme Q10 and menadione on succinate dehydrogenase activity as measured by tetrazolium salt reduction. *J. Histochem. Cytochem.*, 8:296-330.
52. Watson, M.L. 1958. Staining of tissues sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4:475-478.

TABLAS

Tabla 1. Composición porcentual de ingredientes para la elaboración del suplemento mineral.

Ingredientes	%
<u>Microcomponentes</u>	
Fosfato defluorinado, solo o combinado	55-60
Sal	30-35
Harina de hueso, fosfato de calcio	8,8-0
Microcomponentes	3
Azufre elemental	2,0
Sulfato de manganeso	0,350
Sulfato de cobre	0,500
Oxido de zinc	0,200
Carbonato de cobalto	0,001
Yodato de potasio	0,000
	1

Fuente: Instituto de Investigaciones Zootécnicas. FONAIAP

Tabla 2. Niveles promedios de minerales en muestras de *Andropogon* y *Brachiaria* establecidos en las tres fincas pilotos un año posterior a la aplicación del PMT, en 1985

Finca	Ca %	P %	K %	Mg %	Fe ppm	Cu ppm	Mn ppm	Zn ppm
La Puerta	0,23*	0,17*	0,68ns	0,14*	407**	6,6*	166**	31**
Morichal Largo	0,28*	0,17*	0,62ns	0,15*	425**	5,5*	89**	28,0*
La Trinidad	0,22*	0,12ns	0,58ns	0,09ns	478**	3,9ns	75**	19,8*
Rango normal (RN)	0,10- 0,60	0,12- 0,43	0,60- 0,80	0,04- 0,18	10- 100	4-10	20-40	10-50
Muestras RN (%)	≤ 0	25	10	0	0	8	0	0

ns: Diferencia no significativa, *: P<0,05 y **: P<0,01, con respecto al limite inferior del rango normal, a un nivel de p<0,05. Según prueba de t de *Student*

FIGURAS

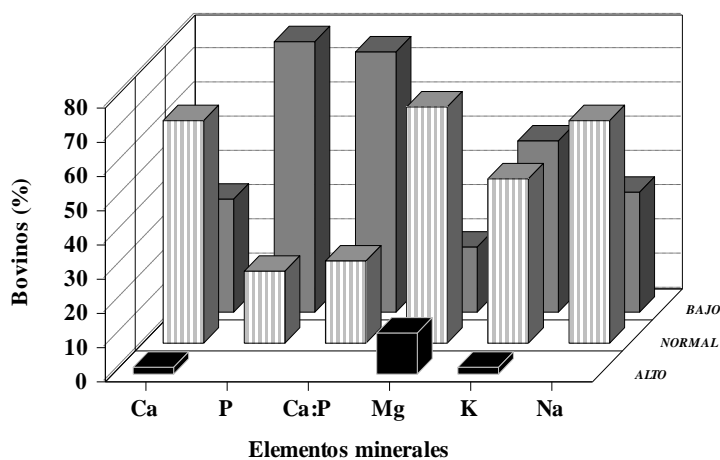


Figura 2. Distribución porcentual, según el nivel de concentración de minerales en suero hemático, de bovinos muestreados en las fincas pilotos antes de la aplicación del PMT en 1984.

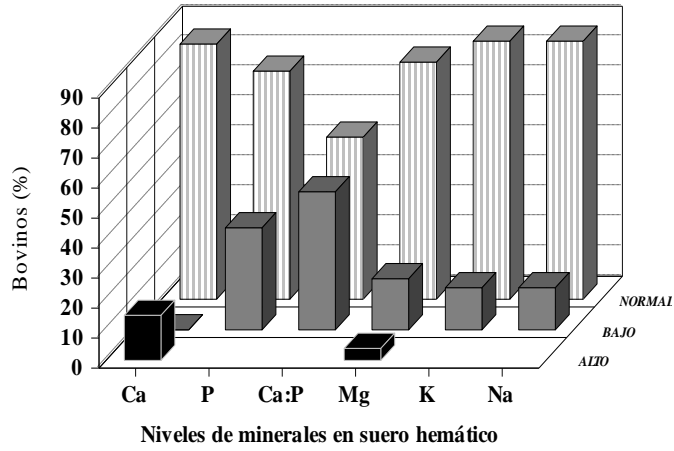


Figura 3. Distribución porcentual, según el nivel de concentración de minerales en suero hemático, de bovinos muestreados en las fincas pilotos un año después de aplicado el PMT, año 1985

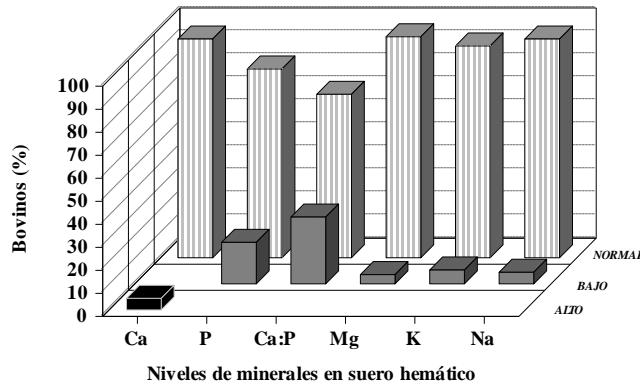


Figura 4. Distribución porcentual, según el nivel de concentración de minerales en suero hemático, de bovinos muestreados en las fincas pilotos después de dos años de aplicado el PMT en 1986

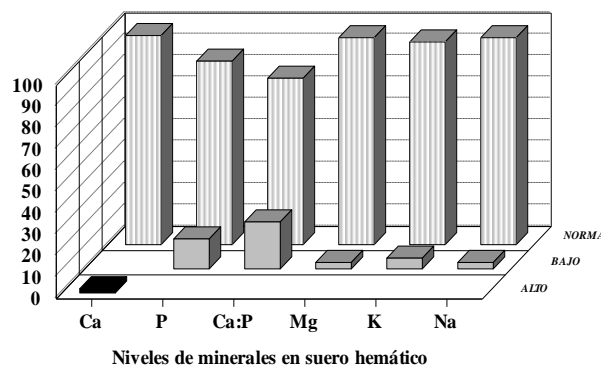


Figura 5. Distribución porcentual, según el nivel de concentración de minerales en suero hemático, de bovinos muestreados en las fincas piloto después de tres años de aplicado el PMT

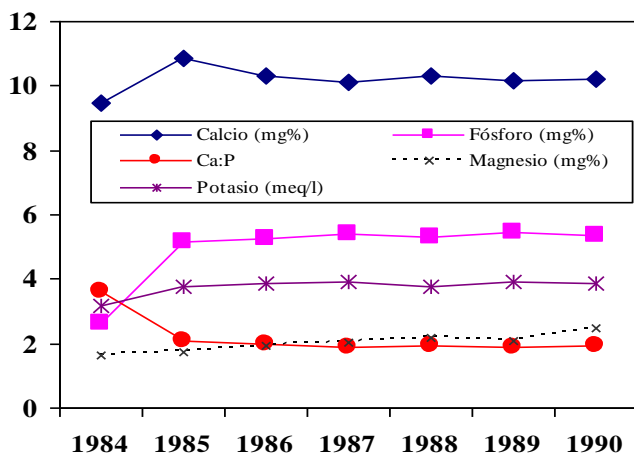


Figura 6. Evolución de los niveles de minerales en sueros de bovinos muestreados en las fincas piloto durante la aplicación del PMT, período 1984-1990

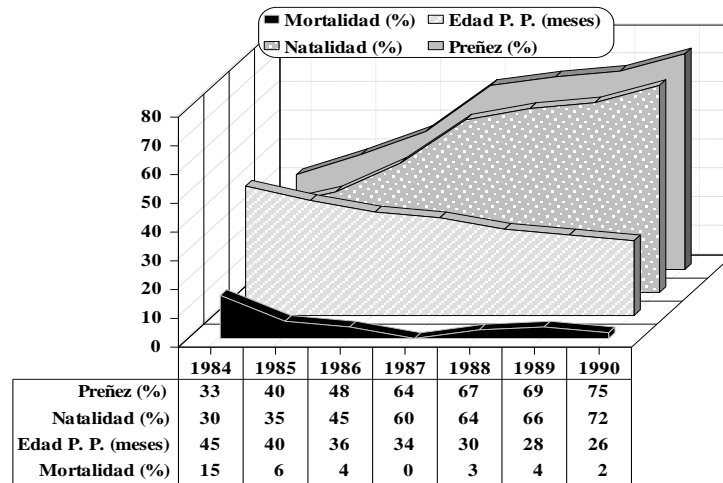


Figura 7. Evolución de los índices bioproductivos en las fincas pilotos durante la aplicación del PMT, período 1984-199



Figura 8. Pérdida de la estriación con formación de cuerpos densos o Z



Figura 9. Alteración de tríadas del sistema sarcotubular y del retículo sarcoplásmico

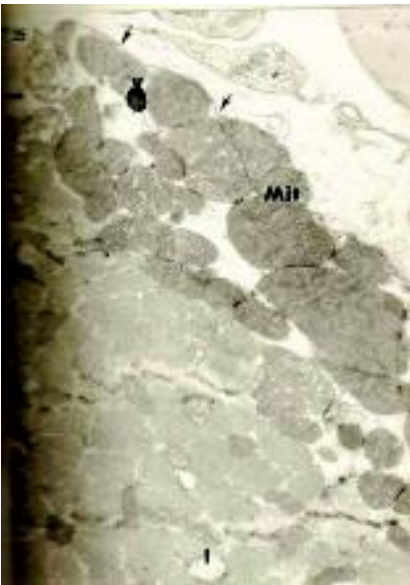


Figura 10. Mitocondrias gigantes (megaconial). Formación de vacuolas autofágicas a partir de mitocondrias degeneradas



Figura 11. Alteración de sarcómeros en la unión de una línea Z

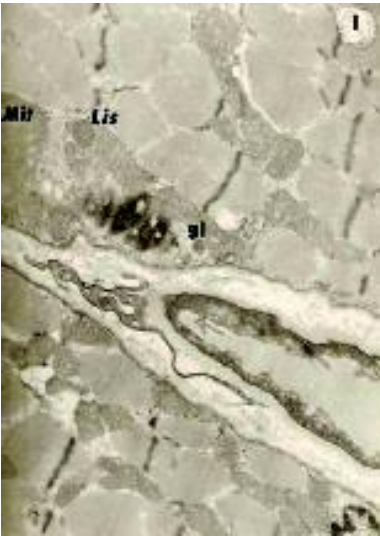


Figura 12. Inicio del proceso necrotizante de las fibras con pérdidas de la membrana plasmática



Figura 13. Alteraciones mitocondriales: disposición de las crestas en forma concéntrica