

Uso de pasta de algodón (*Gossypium barbadense* L.) de bajo nivel de gosipol en la alimentación de terneras Holstein

LOW GOSSYPOL COTTON SEED MEAL (*Gossypium barbadense* L.) IN HOLSTEIN CALF FEEDING

Jorge E.M. Reyes O.^{1,2}, Carlos Gómez B.¹

RESUMEN

Se evaluó el efecto de tres niveles de inclusión de pasta de algodón (PA) de nivel bajo de gosipol en el concentrado de 36 terneras Holstein de reemplazo. Se trabajó con tres tratamientos: T0: 0% PA; T1: 10% PA y T2: 20% PA con 0, 150 y 300 ppm de gosipol libre, respectivamente. Las dietas fueron suministradas desde el nacimiento hasta el destete (60 días). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para consumo de alimento, ganancia de peso, peso vivo final ni altura a la cruz. Por el contrario, la actividad de la enzima sorbitol deshidrogenasa sérica fue de 29.5, 44.7 y 59.5 U/l para T0, T1 y T2, respectivamente ($p < 0.001$), superando el valor considerado como normal (14.7 ± 1.3 U/l); no obstante, no hubo efectos negativos visibles en las terneras.

Palabras clave: terneras lecheras; pasta de algodón; sorbitol deshidrogenasa; gosipol

ABSTRACT

The effect of three levels of inclusion of cotton seed meal (PA) of low level of gossypol in the concentrate of 36 replacement Holstein calves was evaluated. Three treatments were used: T0: 0% PA; T1: 10% PA and T2: 20% PA with 0, 150 and 300 ppm of free gossypol respectively. The diets were supplied from birth to weaning (60 days). No significant differences were observed between treatments for feed consumption, body

¹ Facultad de Zootecnia, Departamento de Nutrición, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima Perú

² E-mail: algar7ss@yahoo.com.mx

Proyecto financiado por la empresa Alicorp S.A.

Recibido: 11 de julio de 2017

Aceptado para publicación: 8 de febrero de 2018

weight gain, final body weight or size. On the contrary, the activity of the serum sorbitol dehydrogenase enzyme was 29.5, 44.7 and 59.5 U/l for T0, T1 and T2, respectively ($p < 0.001$), exceeding the value considered normal (14.7 ± 1.3 U/l); however, there were no visible negative effects on calves.

Key words: dairy heifers; cotton seed meal; sorbitol dehydrogenase; gossypol

INTRODUCCIÓN

Las terneras experimentan modificaciones anatómico-fisiológicas de su aparato digestivo durante las primeras semanas de vida que las conducirán al estadio definitivo de rumiante; no obstante, durante este tiempo su comportamiento digestivo es muy similar al de aquellas especies no-rumiantes (Khan *et al.*, 2016). De otra parte, la ternera lechera probablemente seguirá tomando leche hasta que sea destetada y su alimentación pase a ser exclusivamente de forraje y concentrado (Heinrichs y Jones, 2003). Lo resaltante de las ocho primeras semanas, con respecto a la alimentación, es la necesidad de un concentrado de alta calidad proteica y energética, lo que conlleva al empleo de insumos de primera calidad y de alta palatabilidad para estimular el consumo desde los primeros días de vida (Bailey *et al.*, 2009; Alonso, 2008; Chester-Jones, 2015).

El nutriente más costoso en la dieta de las terneras es, generalmente, la proteína, por lo que se requiere una constante búsqueda de fuentes de este nutriente que permitan reducir los costos de alimentación (Gómez *et al.*, 2006). La pasta de algodón es un insumo que puede ser usado en dietas para terneras; sin embargo, los niveles de inclusión en la dieta no pueden pasar del 5% debido a posibles complicaciones con el gossypol, pigmento polifenólico amarillo, presente en la mayoría de pastas de algodón, cuya toxicidad está asociada a la reacción del compuesto fenólico con los aminoácidos y minerales o a su menor contenido proteico comparado con el de otros insumos, tales como la torta de soya (Coppock *et al.*, 1987).

Actualmente hay disponibilidad en el mercado de una pasta de algodón denominada ‘Concentrado Proteico de Algodón’ con alto contenido de proteína (41%) y bajo contenido de gossypol libre (máximo 0.15%) (Alicorp, 2000). Sin embargo, no hay estudios en alimentación de terneras en inicio con niveles altos de pasta de algodón, por lo que el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de dos niveles (10 y 20%) de pasta de algodón con alto contenido de proteína sobre el consumo de alimento y crecimiento de terneras Holstein de reemplazo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localidad y Animales

El trabajo se llevó a cabo entre los meses de mayo a agosto en las instalaciones del establo «Santa Juana» de propiedad de la Sociedad Civil Agropecuaria Camay, en el distrito de Vegueta, Huacho (Lima, Perú).

Se emplearon 36 terneras Holstein recién nacidas, separadas de sus madres inmediatamente después del nacimiento y llevadas a sus respectivas cunas de madera individuales, modelo californiano, con 50% de sombra. Asimismo, el área de cunas tenía un 30% de sombra. Como criterio de inclusión se requirió que el peso al nacimiento estuviera dentro del rango de 34 y 46 kg.

Las terneras recibieron 4 L de calostro el primer día de edad, 6 l/d de calostro en el segundo y tercer día, 6 l/día de leche a partir del cuarto día hasta finalizar la quinta sema-

na, 4 l/d de leche durante la sexta y séptima semana y 2 l/d en la octava semana. Los animales recibieron la mitad de la ración de calostro o leche en la mañana y la otra mitad en la tarde. El destete se llevó a cabo al final de la octava semana de edad.

El suministro del concentrado fue *ad libitum* y empezó en la segunda semana con 100 g/d. Los residuos de alimento no eran ofrecidos en días posteriores. El agua se comenzó a ofrecer a partir de la tercera semana en baldes de 4 L acoplados a cada cuna. El agua era potabilizada (150 ml de lejía en 1000 L de agua), corroborado por análisis realizados en el Laboratorio de Microbiología «Marino Tabusso» de la Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

Pasta de Algodón (PA)

La pasta de algodón era obtenida por extracción del aceite de la semilla, utilizando hexano como solvente, en la empresa ALICORP (Perú), cuyo producto es denominado 'Concentrado Proteico de Algodón'. Este producto es de alto contenido proteico y bajo contenido de gospol libre, característica que lo diferencia de otros tipos de pasta del algodón.

Tratamientos y Dietas Experimentales

Las 36 terneras fueron distribuidas aleatoriamente en tres tratamientos: TO, grupo control, con 0 ppm gospol libre, y T1 y T2 con 10 y 20% de pasta de algodón (150 y 300 ppm de gospol libre), respectivamente. La composición y contenido nutricional de las dietas se muestra en el Cuadro 1.

Análisis de los Alimentos

Los tres concentrados en estudio, así como la pasta de algodón, fueron sometidos-

a un análisis granulométrico a través de la prueba de los tamices. El análisis proximal de los alimentos se realizó en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la UNALM, Lima.

Variables Productivas

El control de pesos y la medición de la altura a la cruz se efectuaron en forma quinencial, desde el nacimiento de las terneras hasta el destete a los 60 días. El peso se determinó en una balanza electrónica Rudweight SPLIT-G3 con capacidad de 500 ± 1 kg y la altura fue medida con un hipómetro de metal.

El registro del consumo de concentrado se realizó diariamente. Se controló el peso del suministro y del residuo dejado por cada ternera al día siguiente, obteniéndose el consumo diario por diferencia. Se empleó una balanza de plato Sius con capacidad de 1 kg ± 5 g.

La actividad de sorbitol deshidrogenasa sérica (SDHS) fue medida al finalizar el experimento en el Laboratorio de Bioanálisis del Departamento de Biología, UNALM. Se utilizó un método colorimétrico bajo el principio de que la tasa de oxidación de nicotinamida adenina dinucleótido hidruro (NADH) es directamente proporcional a la tasa de conversión de D-fructosa en sorbitol. La tasa de disminución en absorbancia a 340 nm permite la medición de la actividad de la SDHS (ALBIS, 2001).

Diseño Estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar y la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 5% para comparar medias (Steel y Torrie, 1997). Los datos obtenidos en el experimento fueron analizados con el paquete estadístico MINITAB-12.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ganancia de Peso

Los resultados obtenidos para las variables productivas según tratamiento se observan en el Cuadro 2. No se encontró diferencia significativa entre tratamientos para los pesos finales ni para la ganancia diaria de peso, aunque se puede notar una tendencia numérica a una mayor ganancia de peso en T1. Estos resultados son superiores al incremento de 34.8 kg en terneras suplementadas con 8% de pasta de algodón obtenidos por Bangani *et al.* (2000) y a los 24 kg en terneras alimentadas con pellets con niveles de 1.98-2.60% de pasta de algodón obtenidos por Barrantes (2000).

La mayor ganancia de peso obtenida en este estudio pudo ser debida a un mayor consumo de alimento, tanto de leche como concentrado, como consecuencia del sistema de manejo y programa de alimentación establecido por la administración del establo (6 L de leche hasta las cinco semanas de vida), así como el mayor peso al nacimiento (promedio de 41 kg).

El incremento de peso a los dos meses fue ligeramente menor al reportado por Barpeled *et al.* (1997) quienes obtuvieron incrementos de 43.7 kg en terneras que mamaron hasta las seis semanas de edad y consumieron pasta de algodón en niveles de 8%. No obstante, Hoffman (1997) indica que 42 kg de incremento de peso es adecuado cuando estableció el tamaño corporal óptimo de vaquillas de reemplazo Holstein. En forma similar, James (2001) menciona similares resultados al establecer los estándares de crecimiento y requerimientos de nutrientes para vaquillonas lecheras desde el destete al parto.

El peso promedio de las terneras a los 2 meses (82.3 kg) fue superior a los 62.4 kg obtenidos por Huamán (1999) bajo las condiciones de establos lecheros de Lima. Por otro lado, a nivel internacional se reportan pesos

promedios a los dos meses que varían entre 61 y 76 kg (Bangani *et al.*, 2000; Muller y Botha, 2000; Vandehaar, 2001) obtenidos en investigaciones con diferentes tipos de alimento y sistemas de manejo, pero satisfaciendo los requerimientos para terneras.

De otra parte, los pesos logrados a las 8 semanas en este estudio son similares a los 84 kg reportados por Kertz *et al.* (1997), a los 83 kg propuestos por los estándares de la raza Holstein (Hoffman, 1997) y del rango propuesto por la Holstein Foundation (2000). Asimismo, se encuentran dentro del rango de 81-95 kg de peso vivo propuestos por van Amburgh (2002) para terneras Holstein a los dos meses de edad. La similitud de los resultados en este estudio para la variable peso vivo a los dos meses, con trabajos realizados en países de avanzada tecnología, así como los propuestos por exigentes estándares internacionales, son el reflejo de la calidad genética de las terneras, calidad de la nutrición, prácticas adecuadas de manejo y condiciones sanitarias del establo lechero en estudio.

Altura a la Cruz

No se encontró diferencia significativa para incremento de talla ni para talla final entre tratamientos (Cuadro 3). Las tallas a los dos meses fueron ligeramente inferiores (menos de 1 cm) a la talla estándar de 85 cm de la raza Holstein indicada por Hoffman (1997) o a los 86 cm obtenidos por Vandehaar (2001) y van Amburgh (2002).

Consumo de Alimento

El consumo de alimento promedio por día y el consumo total no presentaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 3). El análisis granulométrico reveló que las raciones con pasta de algodón tenían mayor porcentaje de partículas gruesas (>2.36 mm) que el tratamiento control y, según Gardner (1967), los terneros tienen aversión por los insumos con alto contenido de partículas finas. Asimismo, Barrantes (2000) en-

Cuadro 1. Cantidad de ingredientes y contenido nutricional estimado por tratamiento (base fresca) y precio (Soles por kilogramo)

Insumos	T0 (%) Control	T1 (%) 10% PA ¹	T2 (%) 20% PA
Maíz	48.95	54.00	59.00
Trigo, subproducto	25.60	18.60	10.50
Soya, torta	9.90	5.80	-----
Soya, harina integral	8.95	4.90	3.70
Pasta de algodón	-----	10.00	20.00
Caña, melaza	4.70	4.70	4.70
Sal común	0.40	0.40	0.40
Calcio, carbonato	1.50	1.50	1.50
SVM ²	0.10	0.10	0.10
Total	100.00	100.00	100.00
Contenido Nutricional Estimado			
Materia seca, %	89.44	89.60	89.73
Proteína cruda, %	18.28	18.27	18.41
NDT, %	78.24	78.02	78.37
Fibra cruda, %	5.24	5.21	5.21
EN mantenimiento, Mcal/kg	1.76	1.80	1.81
EN ganancia, Mcal/kg	1.11	1.16	1.18
Calcio, %	0.78	0.77	0.76
Fósforo, %	0.66	0.63	0.60
Precio, S./ kg	0.57	0.56	0.56

¹ Pasta de algodón

² Suplemento vitamínico-mineral (por kilogramo): vitamina A: 12000000 UI; vitamina D₃: 1000000; vitamina E: 20000; cobre: 10 g; manganeso: 20 g; zinc: 60 g; yodo: 0.99 g; cobalto: 0.30 g; selenio: 0.11 g; fierro: 30 g

Fuente: elaboración propia

contró que en alimentos sin peletizar, los terneros tendían a un mayor consumo de concentrados que tenían menor cantidad de partículas finas. Esto explicaría el mayor consumo numérico de las terneras de T1 y T2 a partir de la segunda quincena y el mayor consumo total.

Los mayores consumos obtenidos con los tratamientos que tenían pasta de algodón (T1 y T2) y, por lo tanto, mayor concentra-

ción de gopipol libre (según etiqueta), indican que no hubo un efecto deletéreo de este compuesto, toda vez que uno de los síntomas es la pérdida de apetito (Poore y Rogers, 1995; Puschner, 2000).

En la literatura se reportan diferentes niveles de gopipol como tóxicos, resultantes de la ingestión de diferentes niveles de pasta de algodón en las dietas, algunos de ellos contradictorios. Por ejemplo, Zelski *et al.* (1995)

Cuadro 2. Peso inicial, final e incremento de peso total, ganancia de peso vivo diario, consumo de materia seca y conversión alimenticia por tratamiento en terneras Holstein con dietas con tres niveles de pasta de algodón de bajo contenido de gosispol

Parámetros	Tratamientos		
	T0 Control	T1 10% PA ¹	T2 20% PA
Peso inicial (kg)	41.0 ^a	40.8 ^a	41.3 ^a
Peso final (kg)	81.0 ^a	82.9 ^a	82.9 ^a
Incremento de peso (kg)	40.0 ^a	42.2 ^a	41.7 ^a
Ganancia de peso diario (g/día)	667 ^a	703 ^a	694 ^a
Consumo de materia seca (kg/ternera)	57.8 ^a	59.8 ^a	59. ^a
Conversión alimenticia (base seca)	4.8 ^a	4.7 ^a	4.8 ^a

¹ Pasta de algodón

^a Promedios con igual superíndice dentro de filas son estadísticamente iguales ($p>0.05$)

Cuadro 3. Altura a la cruz (cm) en terneras Holstein con dietas con tres niveles de pasta de algodón de bajo contenido de gosispol

	Tratamientos		
	T0 Control	T1 10% PA ¹	T2 20% PA
Talla inicial	72.0 ^a	72.4 ^a	73.2 ^a
Talla final	84.3 ^a	84.0 ^a	84.6 ^a
Incremento de talla	12.4 ^a	11.7 ^a	11.4 ^a

¹ Pasta de algodón

^a Promedios con igual superíndice dentro de filas son estadísticamente iguales ($p>0.05$)

Cuadro 4. Consumo de alimento diario por animal (g/día) y consumo total (g) de alimento en terneras Holstein con dietas con tres niveles de pasta de algodón de bajo contenido de gosispol

Días	Tratamientos		
	T0 Control	T1 10% PA ¹	T2 20% PA
1 - 15	38.7 ^a	45.6 ^a	34.4 ^a
16 - 29	119.1 ^a	129.1 ^a	129.9 ^a
30 - 44	366.1 ^a	433.9 ^a	433.3 ^a
45 - 60	920.4 ^a	968.7 ^a	988.1 ^a
Total	21 393 ^a	23 341 ^a	23 546 ^a

¹ Pasta de algodón

^a Promedios con igual superíndice dentro de filas son estadísticamente iguales ($p>0.05$)

se refieren 100-220 ppm al emplear una dieta con 33% de pasta de algodón, Puschner (2000) encontró que los niveles tóxicos eran de 200 ppm de gosispol libre en dietas con pasta de algodón. Por otro lado, Holmberg *et al.* (1988) citan niveles toxicológicos letales con 250-380 ppm de gosispol, mientras que Risco *et al.* (1992) concluyen que una ración con 200 ppm de gosispol es segura, una de 400 ppm es tóxica y una de 800 ppm en la ración es letal para terneros de 1 a 120 días de edad.

Los niveles de gosispol libre estimados en este experimento coinciden con las observaciones de Risco *et al.* (1992) pues no se encontraron efectos tóxicos y menos aún letales. Es probable que las terneras hayan podido contrarrestar el efecto tóxico del gosispol sobre las variables mencionadas en la literatura; entre estas, el consumo de alimento, debido al desarrollo del sistema de detoxificación que en los rumiantes es por ligazón del gosispol a las proteínas solubles y grupos amino libres de la lisina, donde el enlace es permanente durante la digestión proteica o a que el gosispol liberado durante la digestión de la semilla en el rumen es principalmente indisponible para absorción en el intestino delgado, mientras que esta disponibilidad mejora cuando el gosispol escapa intacto del rumen (Calhoun *et al.*, 1995, citado por Prieto *et al.*, 2003). Asimismo, en concordancia con Risco *et al.* (1992), se requieren mayores niveles de gosispol y consumos por más de 90 días para causar evidencias clínicas de enfermedad.

El tipo de suministro de agua a terneras puede ser una limitante en el consumo de concentrado. Por ejemplo, Mancilla (1996) encontró consumos de 24.4 kg de concentrado en terneras que recibieron agua una vez al día, consumo muy similar al de este estudio, pero que llegaron a registrar consumos de 37.2 kg de concentrado cuando se les proporcionaba agua *ad libitum*. Según Kertz *et al.* (1984), el agua *ad libitum* incrementa el consumo en un 40%. En el presente experimento, el agua fue suministrada *ad libitum*,

de modo que la explicación a tal diferencia podría ser debida a otras causas.

Sorbitol Deshidrogenasa Sérica

Los valores promedio de SDHS obtenidos al final del experimento fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($p < 0.001$), pudiendo inferirse que a medida que aumenta el nivel de pasta de algodón (y de gosispol) en el alimento, aumenta el nivel de SDHS (Figura 1), el cual puede llegar a causar daño hepático (Poore y Rogers, 1995; Puschner, 2000), pero no a los niveles suministrados.

Jorge (2004) estudió el efecto de tres niveles de gosispol (0, 150 y 300 ppm) en dietas de terneras alimentadas con pasta de algodón de bajo nivel de gosispol (0, 10 y 20%) sobre parámetros bioquímicos hepáticos, encontrando un aumento significativo en los niveles de las enzimas gama glutamil transferasa, transaminasa glutámico pirúvica y transaminasa glutámico oxalacética en las terneras alimentadas con pasta de algodón; sin embargo, los patrones bioquímicos de la lactato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, proteínas totales y albúmina no presentaron diferencias significativas, concluyendo que el efecto del gosispol fue a nivel bioquímico y no hubo síntomas clínicos.

Valores de 14.7 ± 1.3 y de 18 U/L de SDHS han sido reportados en dietas libres de pasta de algodón por Kramer (1989) y Holmberg *et al.* (1988), respectivamente; valores muy inferiores al 29.5 U/L hallado en la dieta control del presente estudio. Esta observación es interesante por el hecho de revelar que la dieta contiene algún compuesto que provocó el elevado valor de SDHS, aunque, claro está, sin evidencia de alteraciones físicas en las terneras a juzgar por su condición corporal y estado de salud al final del experimento.

La ausencia de efectos deletéreos causados por el gosispol en las dietas podría haberse menguado por el hecho de que las ter-

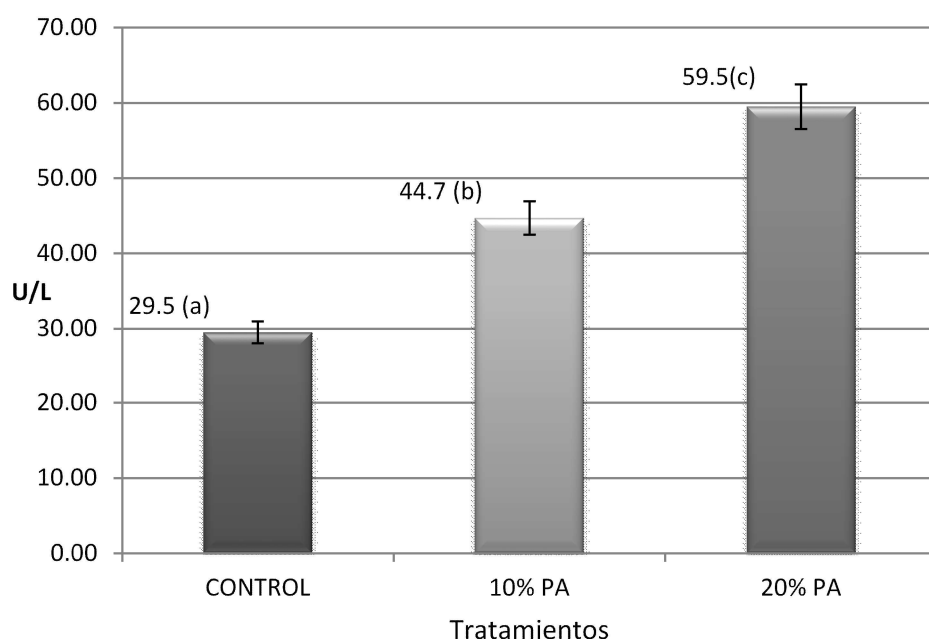


Figura 1. Nivel promedio de actividad de enzima sorbitol deshidrogenasa sérica en las dietas con pasta de algodón

neras recibían una dosificación mensual de 3 ml, vía im, de un complejo antianémico de hierro con vitamina B12, lo cual puede haber contrarrestado la anemia provocada por complejación del hierro con el gosipol (Barraza *et al.*, 1991). Por otro lado, considerando los niveles de SDHS reportados como normales por Kramer (1989) y Holmberg *et al.* (1988) y los valores del grupo control de este estudio, quedaría pendiente una investigación que establezca el nivel normal de SDHS.

CONCLUSIONES

- El consumo de alimento, ganancia de peso, peso final y altura a la cruz a los dos meses de edad fue estadísticamente similar en los tratamientos con 0, 10 y 20% de pasta de algodón.
- Se observó un incremento significativo en la actividad de la enzima sorbitol deshidrogenasa sérica con el aumento de

los niveles de pasta de algodón, sin que llegase a afectar el consumo de alimento ni los parámetros productivos evaluados.

LITERATURA CITADA

1. **ALBIS, S.A. 2001.** Sorbitol deshidrogenasa. Inserto del kit. Albis Medica. Lima, Perú.
2. **Alicorp. 2000.** Presentación del producto Concentrado Proteico 40%. NICOVITA. Sociedad Nacional de Industrias. Folleto Divulgativo. Lima.
3. **Alonso VN. 2008.** Alimentación del ternero. [Internet]. Disponible en: <http://www.abc.com.py/edicion-impresa/suplementos/abc-rural/alimentacion-del-ternero-1067990.html>
4. **Bailey T, Murphy JM, James R. 2009.** Nutrition for the early developing heifer. Virginia Cooperative Extension. Publ

- 404-283. [Internet]. Available in: https://pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/404/404-283/404-283_pdf.pdf
5. **Bangani NM, Muller CJC, Botha JA. 2000.** Evaluation of cottonseed oil-cake as a protein source in calf starter meals. *S Afr J Anim Sci* 30: 67-69.
 6. **Bar-Peled U, Robnson B, Maltz E, Tagari H, Folman Y, Bruckental I, Voet H, et al. 1997.** Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein heifer calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. *J Dairy Sci* 80: 2523-2528. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76205-2
 7. **Barrantes CA. 2000.** Influencia de la forma de presentación física del alimento y el uso de insumos grasos sobre la performance de terneros Holstein en crianza intensiva. Tesis de Magíster. Lima: Univ. Nacional Agraria La Molina. 97 p.
 8. **Barraza ML, Coppock CE, Brooks KN, Wilks DL, Saunders RG, Latimer GW Jr. 1991.** Iron sulfate and food pelleting to detoxify free gossypol in cottonseed diets for dairy cattle. *J Dairy Sci* 74: 3457-3467. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78536-6
 9. **Chester-Jones H. 2015.** Importance of balanced nutrient intake from both milk and a calf starter highlighted in research. University of Minnesota Extension. [Internet]. Available in: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/dairy/calves-and-heifers/importance-of-balanced-nutrient-intake-milk-calf-starter/index.html>
 10. **Coppock CE, Lanham JK, Horner JJ. 1987.** A review of the nutritive value and utilization of whole cottonseed meal and associated by-products by dairy cattle. *Anim Feed Sci Technol* 18: 89-129. doi: 10.1016/0377-8401(87)90041-1
 11. **Gardner RW. 1967.** Acceptability and nutritional response comparisons between calf starters. *J Dairy Sci* 50: 729-734. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(67)87502-7
 12. **Gómez C, Fernández M, García M. 2006.** Valor nutricional de la pasta de algodón en la alimentación de vacunos. Universidad Nacional Agraria La Molina. [Internet]. Disponible en: <http://studylib.es/doc/188144/valor-nutricional-de-la-pasta-de-algodon-en-la-alimentacion-de-vacunos>
 13. **Heinrichs AJ, Jones CM. 2003.** Feeding the newborn dairy calf. PennState Extension. [Internet]. Available in: <https://extension.psu.edu/feeding-the-newborn-dairy-calf>
 14. **Hoffman P. 1997.** Optimum growth rates for Holstein replacement heifers. *J Anim Sci* 75: 836-845.
 15. **Holmberg CA, Weaver LD, Guterbock WM, Genes J, Montgomery P. 1988.** Pathological and toxicological studies of calves fed a high concentration cottonseed meal diet. *Vet Pathol* 25: 147-153. doi: 10.1177/030098588802500207
 16. **Holstein Foundation. 2000.** Working with dairy cattle. [Internet]. Available in: http://www.holsteinfoundation.org/pdf_doc/workbooks/Working-DairyCattle_WKBK.pdf
 17. **Huamán SE. 1999.** Estudio comparativo de alimentación con leche entera o sustituto lácteo en terneras Holstein. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Lima: Univ. Nacional Agraria La Molina. 89 p.
 18. **James RE. 2001.** Growth standards and nutrient requirements for dairy heifers – weaning to calving. *Adv Dairy Technol* 13: 63-77.
 19. **Jorge MPA. 2004.** Efecto de diferentes niveles de gosispol en dietas de crecimiento de terneras Holstein sobre parámetros bioquímicos hepáticos. Tesis de Biólogo. Lima: Univ. Nacional Agraria La Molina. 92 p.
 20. **Khan MA, Bach A, Weary DM, von Keyserlingk MAG. 2016.** Invited review: transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *J Dairy Sci* 99: 885-902. doi: 10.3168/jds.2015-9975
 21. **Kertz AF, Reutzel LF, Mahoney JH. 1984.** Ad libitum water intake by neonatal calves and its relationship to calf

- starter intake, weight gain, feces score, and season. *J Dairy Sci* 67: 2964-2969. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(84)81660-4
22. **Kertz AF, Reutzel LF, Barton BA, Ely RL. 1997.** Body weight, body condition score and wither height of prepartum Holstein cows and birth weight and sex of calves by parity: a database and summary. *J Dairy Sci* 80: 525-529. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)75966-6
23. **Kramer JW. 1989.** Clinical enzymology. In: Kaneko J (ed). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th ed. USA: Academic Press. p 338-363.
24. **Mancilla VA. 1996.** Efecto de dos sistemas de suministro de agua de bebida en terneras Holstein sobre la ganancia de peso y talla. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Lima: Univ. Nacional Agraria La Molina. 87 p.
25. **Muller CJC, Botha JA. 2000.** Growth parameters of Holstein-Friesland heifers reared on complete diets containing different roughages. *S Afr J Anim Sci* 30: 121-127.
26. **Poore M, Rogers GM. 1995.** Potential of gossypol toxicity when feeding whole cottonseed. UF UFAS Extension. [Internet]. Available in: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/AN/AN13000.pdf>
27. **Prieto JG, De Peters EJ, Robinson PH, Santos JEP, Perea JW, Taylor SJ. 2003.** Increasing dietary levels of cracked pima cottonseed increase plasma gossypol but do not influence productive performance of lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 86: 254-267. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73604-2
28. **Puschner B. 2000.** Feeding cottonseed to dairy cattle. University of Davis. [Internet]. Available in: <http://www.freshlyvegetarian.com/uploads/file/cattle.pdf>
29. **Risco CA, Holmberg CA, Kutches A. 1992.** Effect of graded concentrations of gossypol on calf performance: toxicological and pathological considerations. *J Dairy Sci* 75: 2787-2798. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(92)78042-4
30. **Steel LGD, Torrie JH. 1997.** Bioestadística: principios y procedimientos. 2nd ed. México: McGraw-Hill. 622 p.
31. **Vandehaar MJ. 2001.** Accelerated growth for dairy heifers: I'd rather bet on blackjack. In: Proc 5th Western Dairy Management Conference. Las Vegas, Nevada, USA.
32. **van Amburgh M. 2002.** Fed for optimum calf growth. Northeast Dairy Business. [Internet]. Available in: <http://www.dairyweb.ca/Resources/USWebDocs/CalfFeed.pdf>
33. **Zelski RZ, Rothwell JT, Moore RE, Kennedy DJ. 1995.** Gossypol toxicity in preruminant calves. *Aust Vet J* 72: 394-398. doi: 10.1111/j.1751-0813.1995.tb06180.x