



La suplementación de vitamina A y E al destete no afectó la propiedad antioxidante (ensayo DPPH) en cabritos en zona de confort térmico o cálido extremo

Reyna L. Camacho , Juan González , Néstor Arce , Bayron Pérez² ,
José A. Martínez³ , Monserrath Félix³ , y Lorenzo Buenabad^{1,3} 

Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, 21100, México.

The vitamin A and E supplementation at weaning did not affect the antioxidant property (DPPH assay) in goat kids at thermal comfort zone or extreme warm

Abstract. Twenty-four goat kids (Boer × Kalahari red) were used in a two two-days trials to evaluate the influence of vitamin A and E supplementation on plasma free radical scavenging activity at weaning. Trial one treatments consisted in: 1) vitamin A and E supplementation (VAE) or 2) placebo (PCB) at weaning at thermal neutral zone [Temperature – Humidity Index (ITH) = 69.9]. Trial two treatments were as follow: 3) vitamin A and E supplementation without weaning (SDT) or weaned (DTT) at extreme warm environment (ITH = 82.9). Free radical scavenging activity (IRL) was tested by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay. There were neither differences ($P>0.10$) on IRL values between VAE and PCB goat kids nor ($P>0.10$) between times within treatments, which averaged 26.12, 26.92, 32.12, and 18.17% at 0, 12, 24 y 48 h following vitamin supplementation, respectively. Similarly, there was not difference ($P>0.10$) on IRL values between DTT and SDT goat kids at extreme warm conditions, which averaged 23.91, 31.52, 28.45, y 30.19% at 0, 12, 24 y 48 h following either weaning or not, respectively. However, the antioxidant property in SDT goat kids at 12 h following vitamin supplementation tended to improve ($P=0.084$) marginally. It was concluded that parenteral vitamin A and E supplementation did not affect the IRL values in meat-type goat kids weaned at thermoneutral zone and extreme warm conditions, except for the marginal improvement in the antioxidant property in those goat kids at extreme warm conditions, but without stress from weaning.

Keywords: Goats; Lipophilic vitamins; Oxidative stress

Resumen. Se utilizaron veinticuatro cabritos (Boer × Rojo de Kalahari) en dos pruebas de dos días cada una para evaluar la influencia de la administración de las vitaminas A y E sobre el porcentaje de actividad de inhibición de radicales libres durante el destete. La primera prueba consistió en los siguientes tratamientos: 1) suplementación de vitamina A y E (VAE) ó 2) placebo (PCB), ambos administrados al destete en zona de confort térmico para caprinos [Índice Temperatura-Humedad (ITH) = 69.9]. La prueba dos consistió en los tratamientos: 3) suplementación de vitamina A y E sin destete (SDT) ó 4) con destete (DTT), en un ambiente extremadamente cálido (ITH = 82.9). El porcentaje de inhibición de radicales libres (IRL) se evaluó a través del ensayo 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). No hubo diferencia en el porcentaje de IRL ($P>0.10$) entre los cabritos del grupo VAE y PCB, y tampoco ($P>0.10$) entre tiempos dentro de tratamientos, los cuales promediaron 26.12, 26.92, 32.12 y 18.17% a 0, 12, 24 y 48 h seguidas de la administración de vitaminas, respectivamente. De manera similar, los valores de IRL no fueron diferentes ($P>0.10$) entre los animales del grupo SDT y DTT en condición ambiental extremadamente cálida, los cuales promediaron 23.91, 31.52, 28.45, y 30.19% a 0, 12, 24 y 48 h seguidas del destete o no destete, respectivamente. Sin embargo, la propiedad antioxidante mejoró de manera marginal ($P=0.084$) en aquellos animales del grupo SDT a 12 h después de la aplicación de vitaminas. Se concluye que la administración parenteral de las vitaminas A y E no afectaron los valores de IRL en

¹Autor para la correspondencia: buenabad.lorenzo@gmail.com

²Centro Universitario Regional Centro, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Comayagua, 12101, Honduras.

³Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, 31453, México

en cabritos de carne destetados en zona de confort térmico o extremadamente cálida, excepto por la mejora marginal de estatus antioxidante en aquellos animales en condición extremadamente cálida pero que no sufrieron estrés por el destete.

Palabras clave: Cabras; vitaminas liposolubles; estrés oxidativo.

A suplementação de vitamina A e E no desmame não afetou as propriedades antioxidantes (ensaio DPPH) em cabritos na zona de conforto térmico ou em calor extremo

Resumo. Se utilizarem veinticuatro cabritos (Boer × Rojo de Kalahari) em dos testes de dois días cada um para avaliar a influência da administração de vitamina A e E sobre a porcentagem de atividade de eliminación de radicales libres durante o destete. O primeiro teste consistiu nos seguintes tratamientos: 1) suplementação de vitamina A e E (VAE), ou 2) placebo (PCB), ambos administrados al destete em condições ambientais de termoneutralidade para caprinos [índice de temperatura-humedad (ITH)=69.9]. Na segunda tentativa, os tratamientos fueron los seguintes: 3) suplementação de vitamina A e E sem este (SDT), ou 4) com este (DTT), ambos em condições ambientais fuera da zona termoneutra para caprinos (ITH=82.9) . A porcentagem de atividade de eliminación de radicales libres (PERL) é avaliada através do ensaio 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Os valores de PERL não são diferentes ($P>0.10$) entre os cabritos do grupo VAE e PCB, mas também se observa diferença ($P>0.10$) entre os tempos dentro de tratamientos, os cuales promediaron 26.12, 26.92, 32.12 e 18.17% a 0, 12, 24 e 48 h seguidas deste, respectivamente. De maneira similar, os valores de PERL não são diferentes ($P>0.10$) entre os animais do grupo SDT e DTT em condições ambientais cálidas extremas, os cuales promediaron 23.91, 31.52, 28.45, e 30.19% a 0, 12, 24 e 48 h seguida da suplementação de vitaminas, respectivamente. No entanto, a capacidade antioxidante melhorou de forma marginal ($P=0,084$) em animais do grupo SDT a 12 h após a aplicação de vitaminas. Concluiu-se que a administração parenteral de vitamina A e E não afetou os valores de PERL em cabritos de carne destetados em zona termoneutra ou fuera de ella (cálida), exceto pela melhor marginal da capacidade antioxidante em animais em condições cálidas extremas, mas sin estrés por el destete.

Palavras-chave: cabras; vitaminas lipossolúveis; estresse oxidativo

Introducción

Durante el destete natural, la madre limita paulatinamente el acceso a sus crías a la leche materna para convertirlos en individuos nutricional, inmunológica y afectivamente independientes. Por el contrario, el destete inducido ocurre de manera abrupta con la finalidad de mejorar la productividad de la hembra, el recurso humano e infraestructura pecuaria, principalmente. El destete inducido y las actividades asociadas con este manejo (transporte y re-agrupamiento de animales) inducen estrés oxidativo con la correspondiente producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (Deters y Hansen, 2020). La excesiva producción de especies reactivas a oxígeno y nitrógeno comprometen la capacidad antioxidante en los animales (Burton y Jauniaux, 2011). El sistema antioxidante en mamíferos está conformado de proteínas de unión a metales, el sistema enzimático y el no-enzimático; este último grupo está constituido por glutatión, algunos fitocompuestos, y las vitaminas A, E y C (Ponnampalam *et al.*, 2022), principalmente. El retinol desempeña funciones esenciales en el metabolismo animal que favorecen el crecimiento y desarrollo, la visión normal, la reproducción, el sistema inmune, la proliferación celular en la mucosa intestinal, y como antioxidante (McDowell, 2000). Dada la importancia del retinol en el metabolismo animal, este se suplementa de manera sistemática en producción animal intensiva, razón

por la cual la vitamina A es considerada como la más importante en producción animal (Alosilla *et al.*, 2007). En la naturaleza, el tocoferol y tocotrienol son los compuestos más importantes con actividad de vitamina E. El tocoferol es el antioxidante más potente en la naturaleza, este tiene una elevada reactividad con los lípidos en proceso de oxidación por lo que previene la reacción en cadena de estos (McDowell, 2000). Las múltiples funciones del retinol y el tocoferol han sido aprovechadas en la producción animal intensiva para mejorar el desempeño productivo y la salud animal (Alosilla *et al.*, 2007), además de la propiedad antioxidante (Abuelo *et al.*, 2015). La administración parenteral de las vitaminas es la vía más eficiente de suplementación de estos micronutrientes (Snider *et al.*, 2014); así, la administración parenteral de vitamina A y E incrementó los niveles plasmáticos inmediatamente (8-24 h) después de su aplicación (Buenabad *et al.*, 2021). Las áreas del mundo en desarrollo alojan a la mayor población de caprinos manejados en condiciones extensivas y predominantemente en ambientes cálidos y con escasez de agua. Durante el destete los animales sufren estrés oxidativo transitorio. El ambiente cálido extremo por sí solo genera estrés oxidativo en los animales, por lo que el destete durante la estación cálida del año representa un reto metabólico adicional. En este sentido, la suplemen-

tación de antioxidantes (vitamina A y E) representa una oportunidad para mitigar el estrés oxidativo. Sin embargo, la evaluación de la influencia de la suplementación de vitamina A y E sobre la capacidad antioxidante de los cabritos al destete en un ambiente

cálido extremo es escasa. Por tanto, el objetivo fue evaluar la suplementación parenteral de las vitaminas A y E sobre la inhibición de radicales libres en cabritos al destete en zona de confort térmico y extremadamente cálida.

Materiales y Métodos

Se utilizaron veinticuatro cabritos (Boer x Rojo de Kalahari) en dos pruebas de dos días cada una para evaluar la influencia de la administración de vitamina A y E sobre la inhibición de radicales libres durante el destete en zona de confort térmico y cálida extrema. Cabritos clínicamente sanos fueron obtenidos de la unidad de producción pecuaria “Los Pequeños Agricultores”, localizada a 32° 25' latitud norte y 115° 11' longitud oeste en Mexicali, B.C., México. El clima de la región es clasificado como cálido, árido muy extremoso con una temperatura media y máxima de 22.9 °C y 48.0 °C, respectivamente (García, 1988). La crianza de los cabritos consistió en la suplementación de vitaminas ADE al nacimiento y el control de parásitos externos durante la lactancia; no se utilizó ningún programa de vacunación. Durante la lactancia las cabras y sus crías fueron alimentadas con una mezcla de forraje de baja calidad (heno de alfalfa-pasto; 2.0 kg/cabra y sus crías/día) cosechado en estado vegetativo maduro complementado con desechos de alimento chatarra (0.22 kg/cabra y sus crías/día). Los animales fueron manejados siguiendo las especificaciones para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, 2001). Los cabritos fueron pesados y asignados de forma aleatoria a uno de dos tratamientos durante la evaluación de la suplementación de antioxidantes en zona de confort térmico o cálida extrema. La prueba uno (12 animales) fue realizada en zona de confort térmico; los tratamientos consistieron en lo siguiente: 1) administración parenteral de vitamina A y E al momento del destete (0 h; VAE); y 2) administración parenteral de suero salino fisiológico al momento del destete (0 h; Placebo, PCB). La prueba dos (12 animales) se llevó a cabo en condición cálida extrema utilizando los siguientes tratamientos: 3) administración parenteral de vitamina A y E a cabritos que fueron mantenidos en amamantamiento (0 h; SDT); 4) administración parenteral de las vitaminas A y E al momento del destete (0 h; DTT). La suplementación de vitaminas consistió en 250 000 UI de vitamina A como palmitato de retinilo, 37 500 IU de vitamina D₃, y 25 mg de vitamina E como α -tocoferol (Vigantol ADE, Bayer de México). Las vitaminas fueron aplicadas vía subcutánea en la tabla del cuello siguiendo la dosis recomendada (0.5 mL/animal). Los animales fueron alojados en corral (10x4.88 m) con sombra (14 m²) con

libre acceso al agua de bebida. Durante las pruebas, los animales fueron alimentados a libre acceso con el mismo tipo de forraje y concentrado utilizada durante la crianza predestete. Las muestras de sangre fueron colectadas a 0, 12, 24, y 48 h del inicio de cada prueba vía punción yugular utilizando agujas 21G en tubos de EDTA (BD Vacutainer K2 EDTA 7.2 mg; 4 mL) y centrifugadas a 2500 x g durante 15 min. El plasma obtenido fue almacenado a -20 °C hasta su análisis. Durante la obtención de muestras de sangre ningún animal sufrió daño físico o psicológico. La temperatura ambiente y la humedad relativa se registró cada 10 minutos (Data Logger Kestrel DROP D2). El índice de temperatura-humedad (ITH) se calculó de acuerdo a NRC, (1971): $ITH = ((1.8 * T) + 32) - [(0.55 - 0.0055 * HR) * (1.8 * T) - 26.8]$, donde: T-temperatura ambiente, °C; HR-humedad relativa, %. Los valores de ITH calculados fueron utilizados para corroborar las condiciones en las cuales se evaluó la propiedad antioxidante en zona de confort térmico (ITH < 79.48) o cálida extremas (ITH > 79.48; Srivastava *et al.*, 2021). Se utilizó el ensayo 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) para medir el porcentaje de inhibición de radicales libres (IRL) en plasma. Se adicionó 2.5 mg de DPPH en 100 mL de metanol (solución oxidante1) ajustando la solución a pH 7±0.02. A 20 µL de plasma se adicionó 380 µL de una solución tampón de fosfato de sodio 10.0 mM y 400 µL de la solución oxidante1 (DPPH). La mezcla se mantuvo por 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad y después se centrifugó a 9500 x g por 10 min. El sobrenadante se transfirió a celdas desechables para medir la absorbancia a 517 nm, utilizando trolox como control positivo (Adaptado de Janaszewska y Bartosz, 2002). Los datos obtenidos fueron analizados en un diseño completamente al azar utilizando un modelo mixto lineal para medidas repetidas en el tiempo (SAS Inst. Inc., Cary, NC; Versión 9.1). El modelo estadístico utilizado $Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + (TP)_{ij} + e_{ijk}$, donde: Y_{ijk} , variable de respuesta en estudio; μ , media común, T_i , efecto del i-ésimo tratamiento; P_j , efecto de la j-ésima hora; $(TP)_{ij}$, efecto del i-ésimo tratamiento en interacción con el efecto de la j-ésima hora; e_{ijk} , error aleatorio. Los niveles de probabilidad de $P \leq 0.05$ y $0.05 < P \leq 0.10$ se definieron como diferencias significativas y tendencias, respectivamente.

Resultados y discusión

Los organismos homeotermos reaccionan de manera distinta a la combinación del calor y humedad en el ambiente y para predecir tal efecto Thom (1959) propuso el índice de desconfort, después modificado a índice de temperatura-humedad (ITH) y empleado en el ganado (NRC, 1971). El ITH propuesto por el NRC (1971) explica de manera adecuada la respuesta al calor y humedad en los caprinos (Srivastava *et al.*, 2021). Animales (20 a 35 kg de PV) tolerantes al calor alojados en ambientes donde el valor de ITH es <79.48, esta entre 79.48 y 84.40 ó es >84.40, corresponde a zona de confort térmico (ZCT), produce hipertermia ligera o severa,

respectivamente (Srivastava *et al.*, 2021). El ITH promedio, mínimo y máximo registrado durante la prueba en ZCT fueron de 67.9, 55.6 y 76.9, respectivamente. Estos valores de ITH (<79.48; Figura 1) representan a la ZCT y por tanto la principal fuente de estrés oxidativo fue el destete. La suplementación de antioxidantes inhibe a las especies reactivas a oxígeno y nitrógeno (Brainina, *et al.*, 2019), entre ellos las vitaminas A, E y C, etc. Por tanto, la sincronía en la biodisponibilidad de las vitaminas A y E (8 a 24 h post-inyección; Snider *et al.* 2014; Buenabad *et al.*, 2021) pudieran tener un rol importante sobre el estatus antioxidante de los animales al destete.

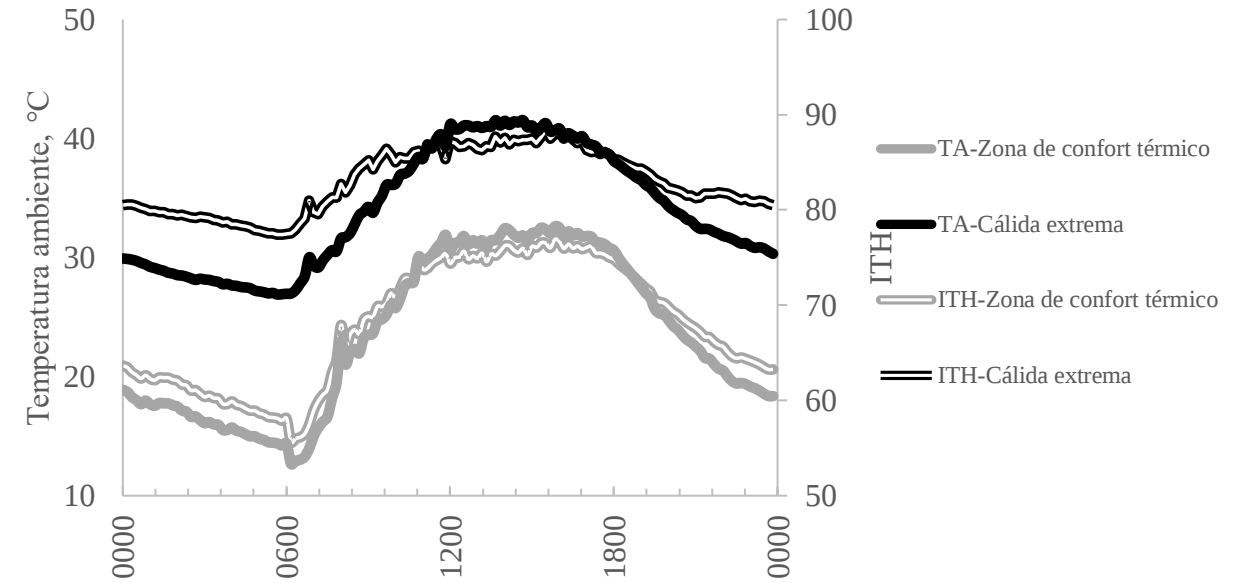


Figura 1. Temperatura ambiente e ITH durante las pruebas en ZCT y cálida extrema.

Los efectos de tratamientos sobre el porcentaje de IRL en cabritos en ZCT se presentan en el cuadro 1. La suplementación de las vitaminas A y E no afectó ($P>0.10$) el porcentaje de IRL evaluado a 0, 12, 24 y 48 h del tratamiento. Además, al comparar el porcentaje de IRL entre tiempos dentro de tratamientos, estos tampoco fueron diferentes ($P>0.10$) y promediaron 26.12, 26.92, 32.12 y 18.17% a 0, 12, 24 y 48 h después del tratamiento, respectivamente. La suplementación de vitaminas como micronutrientes esenciales en producción animal se realiza de manera sistemática (Alosilla *et al.*, 2007), sin embargo, con base en los resultados obtenidos el efecto en la propiedad antioxidante no es clara. El porcentaje promedio general de IRL fue de 25.83% muy similar al valor de inhibición reportado en humanos (23.4%) consumiendo dietas bajas y altas en antioxidantes (Gawron-Skarbek *et al.*, 2017), pero en ambos casos no hay correlación con el consumo/suministro de antioxidantes. La propiedad antioxidante en los

organismos es el resultado de múltiples mecanismos, por lo que la evaluación de la IRL utilizando un solo ensayo (radical libre estable) limita la posibilidad de estimar el estatus antioxidante de los animales. Dada la falta de correlación entre diferentes métodos de estimación de la propiedad antioxidante en fluidos corporales se recomienda un panel completo de pruebas para la estimación adecuada de este biomarcador (Cecchini y Fazio, 2021). Una sola inyección de 500 000 UI de vitamina A en rumiantes es suficiente para cubrir los requerimientos de retinol durante cuatro meses (Plascencia *et al.*, 2018), aproximadamente, periodo de tiempo dentro del cual se enmarca esta prueba. Esto conduce a la presunción de suficiencia de vitaminas en los animales evaluados y que pudo haber enmascarado la suplementación de antioxidantes, dado que las células mesenquimales estrelladas del hígado regulan de manera precisa las fluctuaciones de suministro-demanda de vitaminas (Senoo *et al.*, 2017).

Cuadro 1. Influencia de la suplementación de las vitaminas A y E sobre el porcentaje de IRL en cabritos durante el destete en zona de confort térmico.

	Vitamina A y E	Placebo ¹	EEM ²	Valor de P
Tiempoh	Inhibición de radicales libres, %			
0	25.95	26.30	5.81	0.952
12	28.43	25.42	5.81	0.608
24	31.39	32.86	5.81	0.801
48	15.60	20.75	5.81	0.383

¹Suero salino fisiológico; ²Error estándar de la media.

Adicional al estrés generado por el destete, las condiciones ambientales extremadamente cálida también generan estrés oxidativo (Srivastava *et al.*, 2021). La segunda prueba se llevó a cabo en condición extremadamente cálida (ITH promedio y máximo de 82.9 y 88.4, respectivamente), por lo que los animales permanecieron ~80% del tiempo en condiciones causantes de hipertermia ligera y severa (Srivastava *et al.* 2021). Los efectos de tratamientos sobre el porcentaje de IRL en cabritos en condición cálida extrema se presentan en el cuadro 2. El porcentaje de IRL a 0, 12, 24 y 48 h del tratamiento no fueron diferentes ($P>0.10$) entre los cabritos destetados y no destetados, promediando 23.91, 31.52, 28.45, y 30.19%, respectivamente. El porcentaje de IRL entre tiempos de muestreo tampoco fueron diferentes ($P>0.10$) en los cabritos destetados, sin embargo, se observó una mejora marginal ($P=0.084$) en aquellos animales que recibieron la suplementación de antioxidantes pero que permanecieron con su progenitora (sin destete).

La mejora marginal en la propiedad antioxidante en cabritos con una sola fuente de estrés (ambiente cálido extremo) coincide con el incremento en la biodisponibilidad de las vitaminas A y E cuando son suplementadas vía parenteral (8-24 h post suplementación) en rumiantes (Snider *et al.*, 2014; Buenabad *et al.*, 2021). Por el contrario, los animales con estrés por destete adicional al estrés térmico no mostraron

Cuadro 2. Influencia de tratamientos sobre el porcentaje de inhibición de radicales libres en cabritos en condiciones extremadamente cálida.

	Sin Destete	Con Destete	EEM ¹	Valor de P
Tiempo h	Inhibición de radicales libres, %			
0	21.05 ^b	26.76	5.85	0.336
12	30.53 ^a	32.52	5.85	0.735
24	28.09 ^{ab}	28.81	5.85	0.903
48	26.71 ^{ab}	33.67	5.85	0.244

¹Error estándar de la media; ^{ab}Diferente literal ($P=0.084$)

ningún cambio en el estatus antioxidante entre tiempos seguido de la administración de vitaminas, lo cual pudiera indicar una mayor utilización de antioxidantes. El plasma contiene múltiples antioxidantes que pueden interactuar con el radical libre estable utilizado en esta prueba. Sin embargo, la especificidad de la actividad antioxidante de la vitamina E (antioxidante lipofílico) a radicales peroxil (Niki, E., 2013) aunado a la menor cantidad de vitamina E administrada ($<1/10$ por kg PV^{0.75}) en comparación con la cantidad suplementada por Snider *et al.* (2014) pudo haber influenciado sobre la propiedad antioxidante de los animales. La evaluación de la propiedad antioxidante en ganado utilizando el ensayo DPPH presentan múltiples desventajas entre ellas, alta variabilidad, baja correlación con otros métodos, así como escasez de estimaciones realizadas en plasma. Sin embargo, es importante caracterizar estos biomarcadores utilizando metodologías sencillas (Cecchini y Fazio, 2021) con la finalidad de definir su utilidad en condiciones de producción precarias, como lo es la caprina. En resumen, la administración de vitamina A y E no afectó la propiedad antioxidante en cabritos destetados en zona de confort térmico o cálida extrema medida a través del ensayo DPPH, sin embargo, si se observó una tendencia a la mejora en el porcentaje de inhibición de radicales libres en aquellos animales en condiciones extremadamente cálidas pero que no padecieron estrés por el destete.

Conclusión

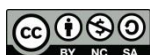
La suplementación parenteral de las vitaminas A y E durante el destete no modificó la propiedad antioxidante evaluada a través del ensayo DPPH en cabritos de carne en zona de confort térmico o extremadamente cálida. Lo anterior sugiere que el destete con estrés reducido no afecta de manera signi-

fitiva la capacidad antioxidante no enzimática de los cabritos en condición de suficiencia de vitaminas A y E. Durante la suplementación de vitaminas inyectables es importante considerar la cantidad y actividad de vitamina A o E para asegurar una adecuada biodisponibilidad plasmática de dichas vitaminas

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Unidad de Producción Pecuaria “Los Pequeños Agricultores” por proveer los

animales utilizados en la presente prueba.



Conflicto de intereses: Los autores no tienen ningún conflicto de interés para declarar.

Autorización protocolo: No necesaria. Los procedimientos empleados son de uso común en producción animal (toma de muestras sanguíneas y crianza en medio ambiente cálido extremo natural provisto con sombra)

Literatura Citada

- Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., and Castillo, C. 2015. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: Revisiting antioxidant supplementation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99:1003-1016.
- Alosilla Jr, C. E., McDowell, L. R., Wilkinson, N. S., Staples, C. R., Thatcher, W. W., Martin, F. G., and Blair, M. 2007. Bioavailability of vitamin A sources for cattle. *Journal of Animal Science*, 85:1235-1238.
- Brainina, K., Stozhko, N., and Vidrevich, M. 2019. Antioxidants: terminology, methods, and future considerations. *Antioxidants*, 8: 297.
- Buenabad, L., Barreras, A., Plascencia, A., and Zinn, R. A. 2021. The vitamin A and E forms influence differently the plasma vitamin concentrations in newly received calves. *American journal of Animal and Veterinary Sciences*, 16: 166-171.
- Burton, G. J., and Jauniaux, E. 2011. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25:287-299.
- Cecchini, S., and Fazio, F. 2021. Assessment of total (anti)oxidant status in goat kids. *Archives Animal Breeding*, 64: 139-146.
- Deters, E. L., and Hansen, S. L. 2020. Invited Review: Linking road transportation with oxidative stress in cattle and other species. *Applied Animal Science*, 36:183-200.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México 217 pp.
- Gawron-Skarbek, A., Guligowska, A., Prymont-Przyimińska, A., Godala, M., Kolmaga, A., Nowak, D., Szatko, F., Kostka, T. 2017. Dietary vitamin C, E and β -carotene intake does not significantly affect plasma or salivary antioxidant indices and salivary C-reactive protein in older subjects. *Nutrients*, 9:729.
- Janaszewska, A., and Bartosz, G. 2002. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 62:231-236.
- McDowell, L. R. 2000. *Vitamins in animal and human nutrition*. Iowa State University Press. Ames, IA, US. 793 pp. ISBN 0-8138-2630-6
- Niki, E. 2014. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radical Biology & Medicine*, 66:3-12.
- NOM-062-ZOO-1999. 2001. Norma oficial mexicana. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario oficial de la federación. Ciudad de México, México.
- NRC. 1971. *A Guide to Environmental Research on Animals*. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Plascencia, A., Montano-Gomez, M. F., Salinas-Chavira, J., Torrentera-Olivera, N. G. and Zinn, R. A. 2018. Influence of supplemental tocopherol level (0, 250 and 500 IU RRR- α -tocopherol/d/steer) and injectable retinol form (retinyl propionate vs retinyl palmitate) on growth performance, carcass characteristics and plasma concentration in calf-fed Holstein steers. *Journal of Applied Animal Research*, 46:1516-1521.
- Ponnampalam, E. N., Kiani, A., Santhiravel, S., Holman, B. W. B., Lauridsen, C., and Dunshea, F. R. 2022. The importance of dietary antioxidants on oxidative stress, meat and milk production, and their preservative aspects in farm animals: antioxidant action, animal health, and product quality-invited review, *Animals*, 12:3279.
- Senoo, H., Mezaki, Y., and Fujiwara, M. 2017. The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). *Anatomical Science International*, 92:387-455.
- Snider, D. B., Zinn, R. A., and Stuart, R. L. 2014. Differences in formulation and bioavailability of commercial injectable fat-soluble vitamin products. *Journal of Animal Science*, 92, E-Suppl. 2:919.n.
- Srivastava, A., Yadav, P., Mahajan, A., Anand, M., Yadav, S., Madan, A. K., y Yadav, B. 2021. Appropriate THI model and its threshold for goats in semi-arid regions of India. *Journal of Thermal Biology*, 96: 102845.
- Thom, E. C. 1959. The discomfort index. *Weatherwise*, 12:57-61.