

CROMATOSIS BOVINA – INFORME PRELIMINAR*

Jorge Torres G., Néstor E. Peña B., Hernando Yepes, Martha de Jimeno, Raúl Echeverry, José Montaña**.

INTRODUCCION

En el año 1963, Hernando Yepes, reportó una entidad patológica en bovinos de las regiones de Neiva, Tello, Baraya y otros municipios del departamento del Huila (11, 12).

* Contribución del Programa Patología-Toxicología del Instituto Colombiano Agropecuario ICA y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad del Tolima.

** Respectivamente: M.V., M.S. decano Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad del Tolima A.A. 546 Ibagué; Médico Veterinario Programa Patología-Toxicología, ICA, A.A. 29743 Bogotá; Médico Veterinario en ejercicio particular, Cra. 6a No. 6-68 Neiva. Químico, Programa Patología-Toxicología A.A. 29743 Bogotá. Ingeniero Agrónomo-Botánico departamento de Biología, Universidad del Tolima, A.A. 546 Ibagué y Médico Veterinario Programa Patología-Toxicología ICA, A.A. 206 Montería.

La entidad se presenta generalmente en épocas de sequía y se manifiesta como un síndrome caracterizado por la excreción de orina pigmentada de color rosado a rojo violáceo, que mancha los pelos de la vulva, muslos y corvejones de las hembras y pelos del prepucio de los machos; las mucosas y dientes de los animales afectados toman coloración rosada. En algunas fincas se presume que la morbilidad puede alcanzar del 90% al 100% y la mortalidad del 1 al 5%, siendo precedida de emaciación, incoordinación y postulación. La mayoría de los animales afectados se recuperan en un período de 60 días al ser trasladados del potrero aunque algunos pueden permanecer pigmentados por varios meses sin presentar otra sintomatología.

La pérdida de peso en todos los casos es manifiesta. A nivel de matadero se observan las canales de color rosado o azul oscuro, siendo motivo de decomiso.

REVISION DE LITERATURA

Sobre este cuadro patológico, no existen referencias en la literatura nacional e internacional. Los datos recopilados co-

rresponden a observaciones de diferentes investigadores (9).

Luego del reporte de Yepes en 1963 (11, 12), quien en un principio confundió esta enfermedad con Babesiosis del Río, Pinzón, Velásquez y Gutiérrez de 1968 a 1975 (9), adelantaron investigaciones a nivel de campo y laboratorio clasificando 16 variedades de plantas y realizando pruebas biológicas con extractos de 4 de ellas y con pigmentos obtenidos por digestión de tejido de bovinos afectados. Peña, Torres, Carpintero, Echeverry y Montaña, desde 1975 continuaron la investigación aportando nuevos datos bajo el punto de vista clínico y experimental (9).

El nombre de Cromatosis dado a esta entidad se debe a la coloración descrita que presentan los órganos, tejidos y orina de los animales afectados. Aunque en un principio el problema se detectó únicamente en los machos se ha observado que las hembras también lo padecen. Los signos externos aparecen a los 20 días de haber sido introducidos los animales a los potreros problema (9).

Se ha sospechado de pigmentos presentes en algunas especies vegetales que al ser metabolizados por el organismo animal son eliminados por la orina como es el caso de la betacianina y de algunos derivados fenólicos como las antraquinonas (8).

MATERIALES Y METODOS

Caracterización clínica, anatomopatológica y distribución geográfica de la entidad.

Con el fin de caracterizar la entidad bajo los aspectos clínicos y anatomopato-

lógicos se estudiaron casos de ocurrencia natural mediante la recolección de muestras de sangre y orina con el fin de analizar químicamente el posible pigmento y realizar pruebas de cuadro hemático, parcial de orina, pruebas de química sanguínea como transaminasas, nitrógeno ureico, porfirinas y recuento de proteínas totales y calcio sérico previa refrigeración y transporte a los laboratorios de Toxicología y Patología Clínica del Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias (LIMV), para su análisis según las técnicas establecidas. De esta forma, se reconocieron clínicamente un número considerable, pero no determinado de animales.

Simultáneamente, se realizaron entrevistas con Médicos Veterinarios de la regional 6 del ICA, de otras instituciones gubernamentales y con profesionales de asistencia técnica particular que laboran en la zona para que informaran al tener conocimiento de la entidad, procediendo así a conocer su distribución geográfica.

En los mataderos de Neiva e Ibagué, se colectaron tejidos de seis bovinos afectados de Cromatosis para observaciones anatomopatológicas y análisis químicos. Los tejidos colectados fueron; piel, músculo esquelético (recto femoral) y cardíaco, hígado, pulmón, bazo, páncreas, adrenal, riñón, ganglio linfático, ligamento nugal, tendón, vejiga urinaria, cerebro, médula espinal, hueso (costilla), dientes, los cuales fueron procesados por las técnicas establecidas en el laboratorio de Patología del Programa Patología-Toxicología en Ibagué.

Ecología Vegetal

Por las primeras visitas realizadas a algunas fincas donde se presenta el proble-

ma en mención, la investigación se orientó hacia el reconocimiento y distribución de la ecología vegetal por creerse que la entidad puede estar asociada con la ingestión de algunas especies vegetales. Se seleccionaron cuatro fincas en el departamento del Huila con una ecología en general similar a la "zona de Cromatosis", para proceder a una inspección minuciosa y específica de los potreros que según indicaciones de ganaderos y trabajadores son los más problemáticos. Cada uno de los potreros fue estudiado en épocas de verano e invierno durante 24 meses.

De las diferentes especies vegetales que se encontraron creciendo habitual y espontáneamente en los potreros se colectaron muestras representativas, previamente identificadas con sus nombres, vulgares para ser enviadas para clasificación taxonómica al Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional y al Departamento de Biología de la Universidad del Tolima.

En las cuatro fincas seleccionadas se procedió también a identificar porcentualmente las especies vegetales de la parte llana y los arbustos y árboles presentes en los bosques para tratar de establecer un denominador común de la flora en la "zona de Cromatosis". Además, se realizó un esquema para determinar la frecuente localización de cada una de las especies dentro del bosque, al tiempo que se observaba cuales aparecían ramoneadas por el ganado especialmente en épocas de sequía.

Análisis Físico-químicos

A partir de especímenes de tejidos y orina colectados a nivel de matadero y de

casos clínicos se trató de aislar e identificar químicamente el pigmento mediante digestiones con ácido clorhídrico concentrado y diluido en medio básico con hidróxido de sodio y mediante digestión enzimática con pepsina. Con la orina se ensayaron solventes orgánicos de diferente polaridad por desconocerse el tipo de sustancia a extraer.

Los extractos de tejidos obtenidos de la digestión fueron sometidos a fraccionamiento con diferentes solventes orgánicos de polaridad creciente y de alta volatilidad para así obtener una recuperación fácil y rápida del pigmento, hasta encontrarse el solvente en el cual el pigmento es extraído en mayor proporción; con esta solución se realizaron ensayos de cromatografía en capa fina para conocer el grado de pureza del compuesto.

Para la caracterización química de la sustancia se realizó un análisis funcional sistemático tratando de establecer la presencia de grupos químicos tales como carboxilo y carbonilo mediante reacciones químicas específicas (10), amina simple y sustituida (7), grupos nitroso y nitro (7) grupos hidróxilo y fenol (8), grupos ciano (1) éter y ester (2) y otros grupos funcionales.

Se determinaron también constantes físicas como punto de fusión, solubilidad, propiedades organolépticas, reacción ácida o básica y se realizaron pruebas de aromaticidad e insaturación (4).

Finalmente, se tomaron espectros ultravioleta e infrarrojo del pigmento extraído a partir de tejidos y de orina.

Pruebas Biológicas

Se prepararon extractos acuosos y alcohólicos concentrados de las siguientes plantas: Limoncillo (*Randia spinosa*), Cruceto (*Randia aculeata*), Arrayán (Fam. Mirtaceas), Payandé *Pithecellobium microchlamys*, Varazón u Ondequera (*Casearia corymbosa*), Tacamaco (*Bursera tomentosa*), Mastranto (*Hyptis suaveolens*), Noro (*Malphigia glabra*), Patillo (*Banisteriopsis cornifolia*) y (*Evolvulus sericeus*) sin nombre vulgar.

Los extractos de las tres primeras plantas (Limoncillo, Cruceto y Arrayán) fueron administrados (8 gr aproximadamente) por vía oral a grupos indeterminados de conejos, cobayos, ratas y ratones por un período de 14 a 28 días; de las siete restantes se administraron únicamente 10 gr de extracto concentrado a grupos de cuatro ratones por planta por un período de 45 a 60 días.

RESULTADOS

Caracterización clínica, anatomo-patológica y distribución geográfica de la entidad.

Caracterización clínica y anatomo-patológica

La entidad se presenta en dos fases:

La primera fase comienza 10 a 20 días después de que los animales son trasladados a los potreros problema y se manifiesta por la eliminación de orina de color rosado o azul intenso que mancha los pelos de la vulva y la zona perineal o el prepucio de las patas de los bovinos afectados. Las mucosas y dientes muestran una pig-

mentación rosácea. Los signos vitales y estado de carnes son normales. En algunos casos la leche toma color rosado o azul intenso.

La segunda fase se caracteriza por emaciación, alteraciones motoras de los miembros posteriores, postración y muerte en forma tranquila. Después del decúbito los animales pueden vivir cuatro a cinco días y raras veces se recuperan. Si los animales son trasladados de potrero cuando se encuentran en la primera fase o bien si comienza la época de invierno se recuperan en 10 a 15 días, aunque la pigmentación de los dientes puede persistir por varios meses.

En las muestras tomadas en matadero, además de la coloración rosada de los dientes, todo el tejido óseo presenta una coloración similar siendo más notorio en el periostio (Figuras 1 y 2). El tejido elástico, fibroso, fascias y serosas de los diferentes órganos muestran intensa coloración violácea (Figura 3). En algunas ocasiones el ligamento nugal y demás tejidos elásticos toman una pigmentación azul. Microscópicamente no se han encontrado cambios en los órganos estudiados, sin embargo, la coloración de Hematoxilina-eosina, es más densa en los sitios donde se encuentra la pigmentación.

Los estudios de Patología clínica realizados demostraron que los valores tanto del cuadro hemático como del parcial de orina, con excepción del color pardo oscuro de la orina y del aspecto turbio permanecían dentro de los límites normales para esta especie. De igual forma, los valores de transaminasas, nitrógeno ureico, proteínas totales y calcio sérico se mantu-

vieron en los límites normales. En ningún caso se hallaron porfirinas.

Distribución Geográfica

Hasta el momento, se ha podido establecer que las regiones en las cuales se presenta la cromatosis son: municipios de Villa Vieja, Tello, Baraya, Neiva, Aipe (Vereda de Guacirco) Palermo y San Antonio, en el departamento del Huila; Natagaima y Roncesvalles en el departamento del Tolima (Figura 4). Exceptuando el municipio de Roncesvalles, las características de estos municipios son: altura sobre el nivel del mar 500 a 700 mts., temperatura 26 a 27 grados, suelos de tipo volcánico, regiones onduladas, formadas por montículos y depresiones, pobres en material vegetal aprovechable para el ganado. Las fuentes de agua son escasas y la precipitación pluvial es baja, (1.000 m.m. aproximadamente al año). En verano el pasto Teatino (*Boutelova filiformis*) se seca teniendo el ganado que recurrir a la vegetación de bosques y rastrojos (5), Figura 5).

En el municipio de Roncesvalles en donde se reportó un caso, las condiciones ecológicas son totalmente diferentes al resto de los municipios ya enumerados siendo materia de otro estudio paralelo al actual.

Ecología Vegetal

Se recolectaron y clasificaron 52 especies vegetales (Tabla 1). En la parte llana predomina el pasto Teatino (*Boutelova filiformis*), el Mastranto (*Evolvulus sericeus*), una convolvulácea, sin nombre vulgar (*E. filipes*), la cargadita (*Stilosan-*

thes humilis) y una Rubeácea sin nombre vulgar (Tabla 2).

En los bosques y rastrojos, se encontró que predominaban las siguientes especies; Pateperro, o mamey-tomatillo (*Bunchosia Pseudonitida*). Arrayán (*Fam. Mirtaceae*), Ondequera (*Casearia corymbosa*), Patillo (*Banisteriopsis cornifolia*) y Noro *Malphigia glabra* (Tabla 3).

En cuanto a la localización de las plantas dentro de los bosques, se observó como el Noro (*Malphigia glabra*), el Patillo (*Banisteriopsis cornifolia*) y el amargoso (*Aspidosperma cuspa*) predominan hacia la periferia; mientras que el Arrayán (*Fam. mirtaceae*) y el Pateperro (*Bunchosia Pseudonitida*) siempre se encuentran juntos y especialmente hacia el centro del bosque y a la sombra de otros arbustos (sotobosque) en tanto el Ondequera (*Casearia corymbosa*) se encuentra en la periferia y hacia el centro del bosque (Figura 6).

Análisis Físico-químico.

Se logró el aislamiento del pigmento a partir de tejidos y orina de los animales afectados. Por cromatografía de capa fina se estableció la gran polaridad de la sustancia aislada, lo cual se corroboró por su gran solubilidad en etanol, metanol y agua.

El punto de fusión no se logró determinar ya que la sustancia carboniza a 300°C pero sin fundir. En el análisis elemental cualitativo se encontró contenido de carbono, hidrógeno y nitrógeno. La caracterización química del compuesto, fue positiva para insaturación activa; gru-

pos amino primario y/o aminoácidos y grupos hidróxilo (Tabla 4).

En el ensayo de ignición se obtuvo un residuo permanente de reacción alcalina, lo cual corresponde a un metal alcalino térreo. Por espectro ultravioleta e infrarrojo, se encontró gran similitud entre el pigmento extraído del tejido y la orina. Se presentan bandas anchas, lo cual indica una gran asociación entre moléculas de la misma sustancia o un gran contenido de grupos amino y/o hidróxido susceptibles de formar asociación por puentes de hidrógeno. Sin embargo, se trata de un compuesto difícil de purificar, debido a su grado de insaturación, lo que hace que tome con facilidad oxígeno del aire y se oxide.

Pruebas Biológicas

Las pruebas biológicas realizadas con extractos alcohólicos y acuosos concentrados de 11 plantas suministrados vía oral a conejos, cobayos, ratas y ratones, han resultado negativos, en todos los casos en lo que a reproducción experimental de la entidad se refiere en estas especies.

CONCLUSIONES

Con base en las observaciones y resultados obtenidos se pueden deducir las siguientes conclusiones:

Mediante el reconocimiento de los animales afectados y la observación de especímenes provenientes de los mataderos la entidad ha sido caracterizada a nivel clínico y de anatomía patológica.

Los estudios histopatológicos y de laboratorio clínico no han mostrado hasta el presente ningún cambio o lesión característica del problema.

Se ha identificado una amplia zona geográfica en la que la entidad en cuestión constituye un serio problema.

El estudio de la flora realizado en algunas fincas de la zona de Cromatosis, demostró que las especies Peteporro (*Bunchosa pseudonitida* Cuatr), Arrayán (*Fam. mirtaceae*) y Ondequera (*Casearia Corymbosa*) se encuentran en mayor proporción en los bosques y rastrojos.

La especie conocida vulgarmente como Peteporro o mamey-tomatillo (*Bunchosis pseudonitida* Cuatr), es la que presenta indicios de ser la más remoneada por los bovinos de las fincas de la zona.

De los tejidos y orina colectados se aisló un pigmento que según las pruebas químicas realizadas corresponde a una sustancia orgánica de elevado peso molecular bastante compleja, probablemente asociada con un metal con el cual puede estar formando un quelato y con un alto grado de instauración por la facilidad con que se oxida.

Las pruebas biológicas realizadas hasta el presente no han sido concluyentes, posiblemente por no haberse involucrado la especie vegetal responsable o bien por no ser susceptible las especies animales utilizadas.

Los hallazgos hasta ahora reportados nos indican la presencia de una entidad desconocida en el medio colombiano cuya incidencia y pérdidas económicas son

cada vez más elevadas. Es importante recalcar la necesidad de reportar el problema y continuar con las investigaciones de

campo y de laboratorio, necesarias para el esclarecimiento y solución final del problema.

TABLA 1. FLORA PRESENTE EN ZONAS DE CROMATOSIS BOVINA

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE VULGAR	FAMILIA
<i>Abutilon umbellatum</i> (L)	-----	Malvaceas
<i>Ajencia magna</i>	-----	Sterculiaceae
<i>Aristolochia máxima</i> Jacq.	Carare	Aristolochiaceae
<i>Aspidosperma cuspa</i>	Amargo	Aposinaceae
<i>Banisteriopsis cornifolia</i>	Patillo	Malphigiaceae
<i>Boutelova filiformis</i> (Form)	Teatino	Greminae
<i>Bunchosia pseudonitida</i> Cuatr	Pateperro, mamey-Tomatillo	Malphigiaceae
<i>Bursera tomentosa</i> (Jacq.)	Tacamaco	Burseraseae
<i>Casaria corymbosa</i> H.B.K.	Ondequera, varazón	Flacourtiaceae
<i>Ceccoloba lehmanii</i> Lindau	Granadilla	Polygonaceae
<i>Ceindi bogotensis</i>	-----	Malvaceae
<i>Celtis pubescens</i>	Gancho	-----
<i>Choroleucon bogotense</i> B. et. K.	Raspayuco	Leguminosae
<i>Chlorophora tinctoria</i> (L).	Dinde	Moraceae
<i>Cordia cf. lanceolata</i> (Desv.)	-----	Boraginaceae
<i>Cordia bonplandii</i> (Desv.)	-----	Boraginaceae
<i>Croton cf. leptostachyus</i> H.B.K.	Mosquerito	Euphorbiaceae
<i>Croton pedicellatus</i> H.B.K.	Salvio	Euphorbiaceae
<i>Curatella americana</i>	Chaparro	Dilliniaceae
<i>Davilla o Tetracera</i> cf.	Chaparrillo	Dilliniaceae
<i>Desmodium cf. tortuosum</i>	Amor seco, Pega-pega	Fabaceae
<i>Diodia rigida</i>	-----	Sterculiacea
	Arrayán	Myrtaceae
<i>Evolvulus sericeus</i> var.		
<i>holsericus</i>	Mastranto	Labiatae
<i>Evolvulus filip :s</i>	-----	Convolvulaceae
<i>Guazima ulmifolia</i> Lam.	Guásimo	Sterculiaceae
<i>Hyptis melissoides</i> H.B.K.	-----	Labiatae
<i>Hyptis suaveolens</i> (L) Poit	-----	Labiatae
<i>Iresine angustifolia</i>	Amaranto	Amarantaceae
<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Fraylejón	Euphorbiaceae
<i>Julocroton hondensis</i>	-----	Euphorbiaceae
<i>Lantana fucata</i> Lindl	Lantana	Verbanaceae
<i>Machaonia acuminata</i>	-----	Rubiaceae
<i>Malpighia glabra</i> (L)	Noro	Malpighiaceae

<i>Momordica charantia</i>	Subicoje	Cucurbitaceae
<i>Pithecellobium microchlamys</i>		
Pittier	Payandé-mulato	Mimosae
<i>Poponax tortuosa</i> (L) Raf.	-----	Mimosae
Portulaca	Hierba de vidrio	-----
<i>Rancia aculeata</i>	Cruceto	Rubiaceae
<i>Rendia espinosa</i> (Jacq) Karster	Limoncillo	Rubiaceae
<i>Serjania grandis</i> Seem.	-----	Malvaceae
<i>Sida sf. carpinifolia</i> L. F.	Escobilla	Malvaceae
<i>Simsia pubescens</i> (Triana)	-----	Compositae
<i>Sida procumbers</i>	-----	Malvaceae
<i>Solanum sp.</i>	Lulillo	Solanaceae
<i>Stylosanthes humilis</i>	Cargadita	Leguminosae
<i>Tephrosia cinerea</i> (L).	Barbasquilla	Papilionaceae
<i>Triumfetta aff. millisim</i>	Cadillo	Tiliaceae
<i>Turnera ulmifolia</i> (L).	Panchito	Turneraceae
<i>Vachellia farnesiana</i> (L) W.et. A.	Pelá	Mimosae
<i>Vitex cymosa</i> Bert	Aceituna-Flor morado	Verbenaceae
<i>Zornia diphylla</i> (L)	-----	Papilionaceae

TABLA 2. DISTRIBUCION APROXIMADA EN PORCENTAJE DE LA FLORA EN LA PARTE LLANA

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE VULGAR	PORCENTAJE
<i>Bouteloua filiformis</i>	Teatino	50°/o
<i>Evolvulus sericeus</i>	-----	10°/o
<i>Evolvulus filipes</i>	-----	10°/o
<i>Stylosanthes humilis</i>	Cargadita	10°/o
Rubiácea	-----	10°/o
<i>Tephrosia cinerea</i>	Barbasquilla	2.5°/o
Otras plantas	-----	1.5°/o



FIGURA 1. Coloración rosada en diente de Bovino con "Cromatosis".



FIGURA 2. Coloración azul en corte longitudinal de hueso.



FIGURA 3. Coloración azul de la serosa en corte de rumen.

FIG. 4 MUNICIPIOS EN LOS CUALES SE HAN PRESENTADO CASOS DE CROMATOSIS BOVINA.

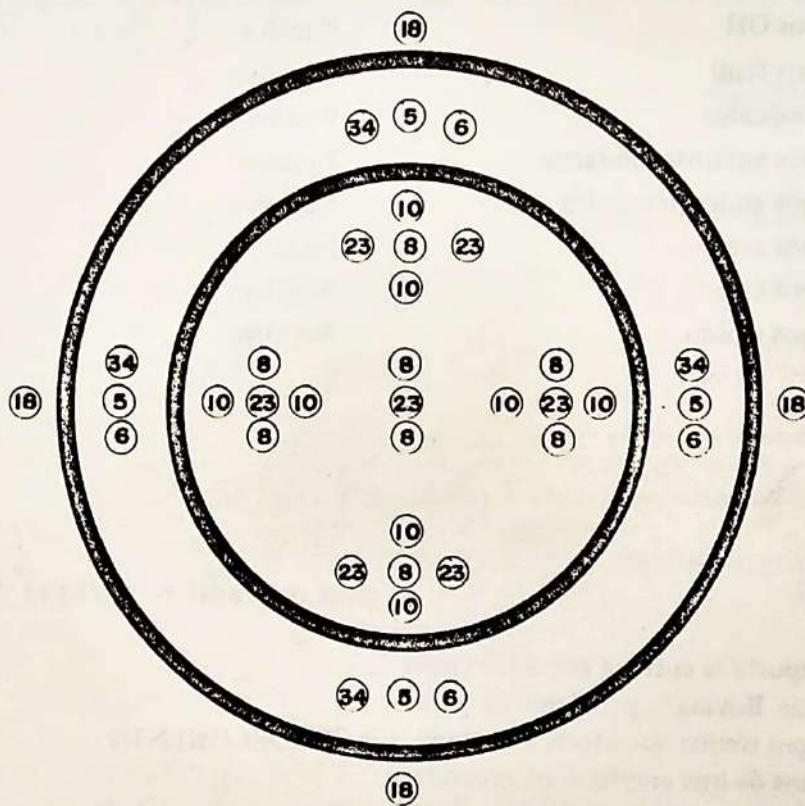


FIGURA 5. "Zona de Cromatosis", municipio de Tello (Huila).

TABLA 3. DISTRIBUCION APROXIMADA EN PORCENTAJE DE LA FLORA EN RASTROJOS Y BOSQUES

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE VULGAR	PORCENTAJE
<i>Bunchosia pseudonítida</i>	Pateperro Mamey-Tomatillo	30 ^o /o
Fam. Mirtaceae	Arrayán	30 ^o /o
<i>Casearia corymbosa</i>	Ondequera	
<i>Banisteriopsis cornifolia</i>	Patillo	15 ^o /o
<i>Malpighia glabra</i>	Noro	
OTROS ARBUSTOS Y ARBOLES		25 ^o /o

FIG. 6 DISTRIBUCION APROXIMADA DE LOS DIFERENTES ARBUSTOS EN BOSQUES Y RASTROJOS ZONA DE CROMATOSIS.



- | | |
|--------------|-------------|
| 5 AMARGOSO | 18 MOSQUERO |
| 6 PATILLO | 23 ARRAYAN |
| 8 PATEPERRO | 34 NORO |
| 10 ONDEQUERA | |

TABLA 4. CARACTERIZACION QUIMICA DEL PIGMENTO OBTENIDO DE TEJIDOS Y ORINA DE BOVINOS CON CROMATOSIS

Aromaticidad	Negativo
Insaturación activa	Positivo
Grupos nitro	Negativo
Grupos amino primario	Positivo
Grupos carboxilo	Negativo
Grupos OH	Positivo
Grupos fenil	Negativo
Aminoácidos	Positivo
Grupos aminosecundarios	Negativo
Grupos amino terciarios	Negativo
Grupos eter	Negativo
Grupos ester	Negativo
Grupos amido	Negativo

RESUMEN

Se reporta la entidad conocida como "Cromatosis Bovina", problema al parecer de origen tóxico que afecta a los bovinos y ovinos de una amplia zona geográfica de los departamentos de Huila y Tolima.

Se presenta la ecología vegetal de la zona problema complementada con estudios clínicos, anatomopatológicos, químicos, química sanguínea, análisis urinarios; así como también algunas pruebas biológicas

realizadas en animales de laboratorio.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar sus agradecimientos a los doctores Miller Roa e Ismael Orozco y a algunas instituciones de la zona, como la Caja Agraria, la Secretaría de Agricultura y el Fondo Ganadero del Huila, sin cuya eficaz colaboración y apoyo habría sido imposible la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. ASHWORTH, M.R.F. 1968. Analytical Methods for Organic Cyano Groups. Pergamon Press, Oxford. P. 24-30
2. CALDERON, GOMEZ, E. 1965. Conferencias Análisis Orgánico, departamento de Química, Universidad Nacional 99 p.
3. , 1963 Guía para el análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica, Bogotá, Conferencias departamento de Farmacia Universidad Nacional, 211 p.
4. CHERONIS, N. and ENTRINKIN, J.B.; 1957. Semimicro Cualitative Organic Analysis, the Systematic Identification of Organic Compounds. 2a. Ed. Thomas Y. Crowell New York. pp. 248-274
5. COLOMBIA, INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI. 1973. Monografía del departamento del Huila. 136p.
6. FEIGL, F., ANGER, V., and R. OESPER. 1966 Spot Test In Organic Analysis. Elviesier Publishing Company, Amsterdam. pp. 665-669.
7. FEUER, H. 1969. The Chemistry of the Nitro and Nitroso Groups, Interscience Publishers, New York. pp. 252-287, 336-339.
8. HARBORNE, J.B. 1968. Biochemistry of Phenolic Compounds. 2th Ed. Academic Press, London. 33-72 p.
9. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA 1978. Informe sobre Cromatosis Bovina. Programa Patología-Toxicología. Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias. LIMV. Bogotá.
10. SHRINER, R., FUSON, R., and D. CURTIN, 1956. The Systematic Identification Of Organic Compounds, a Laboratory Manual. 4th. Ed. Jhon Wiley, London pp.93-164.
11. YEPES, H. 1977. Cromatosis Bovina. VIII Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Santo Domingo, República Dominicana (Memorias).
12. , 1978. Cromatosis Bovina. XI Congreso de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Bogotá, Colombia (Memorias).