

RAMÓN CARRERA FREILE

NIVELES DE OLIGOELEMENTOS
EN NOVILLAS DE RAZA PARDA
EN LA MONTAÑA DE LEÓN



Universidad de León
Secretariado de Publicaciones

Reservados todos los derechos.
Ni la totalidad ni parte de este libro puede reproducirse o transmitirse por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito del Servicio de Publicaciones de la Universidad de León.

ISBN: 84-7719-803-9
Depósito Legal: LE.352-2000

Imprime: CELARAYN, s.l. (impresión electrónica)
Ordoño II, 31 • 24001 león

© Ramón Carrera Freile
© Servicio de Publicaciones
Universidad de León

*A Mina,
Marga,
Judith,
Cristina.*

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis, Prof. Dr. Paulino Garcia Partida y Prof. Dr. Felipe Prieto Montaña, sin su iniciativa y apoyo no hubiera sido posible el desarrollo de esta memoria.

A todo el departamento de Medicina Veterinaria de la Facultad de Veterinaria de León, tanto personal docente, como administrativo y auxiliar por su colaboración y amistad.

A Juan H., porque llevamos toda una vida dando vueltas a lo mismo, y siempre he contado con su amistad y punto de vista objetivo.

A José Fernandez Revuelta por su ayuda en el tratamiento estadístico de esta memoria.

Al Prof. Dr. David Ordoñez, y a Mar C. por prestar la ayuda imprescindible en el impulso final.

Esta tesis ha contado con la financiación del plan de Experimentación Agraria de la Consejería de Agricultura y Ganadería como proyecto G-37.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	13
II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	15
II.1. Cobre	15
II.1.1. Metabolismo	15
II.1.1.1. Absorción	15
II.1.1.2. Transporte y distribución	16
II.1.1.3. Excreción	17
II.1.2. Concentración de cobre en tejidos y líquidos biológicos	17
II.1.2.1. Hígado	18
II.1.2.2. Sangre	18
II.1.2.3. Pelo	19
II.1.2.4. Leche	20
II.1.2.5. Otros órganos	20
II.1.3. Papel metabólico del cobre	20
II.1.3.1. Proteínas que contienen cobre	20
II.1.3.1.1. Ceruloplasmina	20
II.1.3.1.2. Superóxido dismutasa	21
II.1.3.1.3. Metalotioneína	21
II.1.3.1.4. Citocromo oxidasa	22
II.1.3.1.5. Polifenil oxidasa. Tirosinasa	22
II.1.3.1.6. Aminooxidasas	22
II.1.4. Factores alimentarios que influyen sobre la utilización digestiva y metabólica	23
II.1.5. Necesidades de cobre	25
II.1.5.1. Límite de toxicidad	25
II.1.6. Estudio clínico de la carencia de cobre en bovinos	25
II.1.7. Diagnóstico de la carencia de cobre	26
II.1.7.1. Diagnóstico clínico	26
II.1.7.2. Diagnóstico analítico	27
II.1.7.2.1. Análisis del alimento	27
II.1.7.2.2. Análisis de sangre	27
II.1.7.2.3. Análisis de cobre en los tejidos	28
II.1.7.2.4. Actividad enzimática	29
II.1.7.3. Diagnóstico terapéutico	29

II.1.8.	Profilaxis de la carencia de cobre	29
II.1.8.1.	Actuación sobre el animal	30
II.1.8.2.	Actuación sobre el suelo y plantas	31
II.1.9.	Toxicidad por cobre	32
II.2.	Manganeso	33
II.2.1.	Metabolismo	33
II.2.1.1.	Absorción	33
II.2.1.2.	Transporte y distribución	34
II.2.1.3.	Excreción	35
II.2.2.	Concentración de manganeso en tejidos y líquidos biológicos	35
II.2.2.1.	Distribución del manganeso en el organismo	35
II.2.3.	Papel metabólico del manganeso	37
II.2.4.	Factores alimentarios que influyen sobre la utilización digestiva y metabólica del manganeso	38
II.2.5.	Necesidades de manganeso	38
II.2.5.1.	Límite de toxicidad	39
II.2.6.	Estudio clínico de la carencia de manganeso en bóvidos	40
II.2.6.1.	Alteraciones óseas	40
II.2.6.2.	Alteraciones en la reproducción	41
II.2.7.	Diagnóstico de la carencia	41
II.2.7.1.	Diagnóstico clínico	41
II.2.7.2.	Diagnóstico analítico	41
II.2.7.2.1.	Análisis del alimento	41
II.2.7.2.2.	Análisis de sangre	41
II.2.7.2.3.	Análisis de tejidos	42
II.2.7.2.4.	Análisis de pelo	42
II.2.7.3.	Diagnóstico terapéutico	42
II.2.8.	Profilaxis de la carencia de manganeso	42
II.2.8.1.	Actuación sobre el animal	42
II.2.8.2.	Actuación sobre suelos y pastos	43
II.2.9.	Toxicidad por manganeso	43
II.3.	Cinc	44
II.3.1.	Metabolismo	44
II.3.1.1.	Absorción	44
II.3.1.2.	Transporte y distribución	45
II.3.1.3.	Excreción	45
II.3.2.	Concentración de cinc en tejidos y líquidos Biológicos	46
II.3.2.1.	Sangre	46
II.3.2.2.	Pelo	47
II.3.2.3.	Leche	47
II.3.2.4.	Hígado	48
II.3.2.5.	Otros órganos	48
II.3.3.	Papel metabólico del cinc	49
II.3.3.1.	Metabolismo proteico	49
II.3.3.2.	Actividad enzimática	49
II.3.3.2.1.	Fosfatasa alcalina	49
II.3.3.2.2.	Anhidrasa carbónica	50
II.3.3.2.3.	Metalotioneína	50
II.3.3.2.4.	Colagenasa	50
II.3.3.3.	Protección de membranas	50
II.3.4.	Factores alimentarios que influyen en la utilización digestiva y metabólica del cinc	51

II.3.5. Necesidades de cinc	52
II.3.5.1. Límite de toxicidad	52
II.3.6. Estudio clínico de la carencia de cinc	53
II.3.7. Diagnostico de la carencia de cinc	54
II.3.7.1. Diagnostico clínico	54
II.3.7.2. Diagnostico analítico	55
II.3.7.2.1. Análisis del alimento	55
II.3.7.2.2. Análisis de sangre	55
II.3.7.2.3. Análisis de tejidos	55
II.3.7.3. Diagnostico terapéutico	55
II.3.8. Profilaxis de la carencia de cinc	56
II.3.8.1. Actuación sobre el animal	56
II.3.8.2. Actuación sobre el suelo	56
II.3.9. Toxicidad por cinc	57
II.4. Selenio	57
II.4.1. Metabolismo	57
II.4.1.1. Absorción	57
II.4.1.2. Transporte y distribución	58
II.4.1.3. Excreción	59
II.4.2. Concentración de selenio en tejidos y líquidos biológicos	59
II.4.2.1. Distribución del selenio en el organismo	59
II.4.3. Papel metabólico del selenio	60
II.4.4. Factores alimentarios que influyen sobre la utilización digestiva y me- tabólica del selenio	61
II.4.5. Necesidades de selenio en los rumiantes	62
II.4.5.1. Límite de toxicidad	63
II.4.6. Estudio clínico de la carencia de selenio en bóvidos	63
II.4.7. Diagnóstico de la carencia	65
II.4.7.1. Análisis de selenio	65
II.4.7.2. Análisis de Glutación Peroxidasa	65
II.4.8. Profilaxis de la carencia de selenio	66
II.4.9. Toxicidad por selenio	67
III. MATERIAL Y METODOS	69
III.1. Protocolo experimental	69
III.2. Toma de muestras	70
III.2.1. Sangre entera	71
III.2.2. Plasma	71
III.2.3. Suero	71
III.2.4. Pelo	71
III.2.5. Alimento	71
III.3. Metodología analítica	72
III.3.1. Instrumentación y materiales	72
III.3.2. Determinación de la hemoglobina	72
III.3.3. Determinación de la Glutación Peroxidasa	72
III.4. Análisis de los oligoelementos	74
III.4.1. Ataque de alimentos y pelo	74
III.4.2. Preparación del plasma y suero sanguíneo	74
III.4.3. Determinación de cinc y cobre	74
III.4.4. Determinación de manganeso y selenio	75
III.5. Estudio estadístico	76

IV. RESULTADOS	77
Tablas y gráficas.....	83
V. DISCUSIÓN	117
VI. CONCLUSIONES	125
VII. RESUMENES	127
VII.1.RESUMEN	127
VII.2.SUMMARY	128
VII.3. RESUME	129
VIII. BIBLIOGRAFIA	131

I. INTRODUCCION

Tradicionalmente, las zonas de montaña en España tienen como principal fuente económica la explotación del ganado, indudablemente se ha pretendido diversificar su generación de recursos económicos, pero solo la explotación forestal y el turismo han logrado cierta viabilidad, la política de ayudas y subvenciones financiadas fundamentalmente por parte de la UE (fondos FEOGA; FEDER; etc.) han contribuido a elevar en cierta medida el nivel de rentas de los habitantes en dichas zonas de montaña, tratando de fijar la población y evitar en la medida de lo posible la gran emigración que padecen dichas zonas.

La comarca agraria en la cual se ha realizado nuestro estudio, se denomina Montaña de Riaño, y se corresponde con los parámetros socioeconómicos que hemos expuesto anteriormente, representando la explotación de ganado vacuno la fuente de ingresos más importante. La alimentación del vacuno en dicha zona esta basada fundamentalmente en el aprovechamiento del pasto a diente, permaneciendo estabulado dicho ganado cuando las condiciones meteorológicas son desfavorables. Este tipo de dieta plantea por lo general pocos problemas en el aporte de energía o de proteína, con la salvedad de casos concretos y marginales.

No obstante si puede ser relevante el estudio de problemas nutricionales relacionados con carencias o excesos de oligoelementos, microminerales o elementos traza. Desde luego no hay ningún desacuerdo en la esencialidad de los oligoelementos en la alimentación, tanto humana como animal, pudiendo ejercer una gran influencia en la rentabilidad de la explotación ganadera.

Los desajustes o desbalances de oligoelementos en la nutrición, tienen una gama tan amplia que varia desde las deficiencias agudas a las enfermedades de toxicidad por exceso, que caracterizarán claros signos clínicos y procesos patológicos relevantes en el ganado. Pero es más frecuente encontrarse con alteraciones leves o de transición (subcarencias), con grandes dificultades para su diagnóstico y que pueden afectar zonas geográficas amplias y a un gran número de animales.

Las deficiencias minerales ocurren con más frecuencia cuando los rumiantes están confinados en una zona y dependen solo de la composición geoquímica de suelo y flora, sin el aporte de otro tipo de alimentación suplementaria. Muchos signos clínicos como pueden ser anorexia, astenia, alteraciones en la piel, pérdida de pelo, aborto no infeccioso, diarrea, anemia, anormalidades óseas, tetania, baja fertilidad y pica pueden sugerirnos deficiencias en oligoelementos padecidas por los rumiantes en el pastoreo de zonas de montaña.

Indudablemente estos signos clínicos, difícilmente nos evidenciaran un diagnóstico fidedigno de una específica patología carencial, y pueden confundirse con ciertos procesos de parasitismo o de enfermedades infecciosas, de ingestión de ciertas plantas tóxicas o incluso de una posible deficiencia de proteína. La base fisiológica de la deficiencia en oligoelementos es muy compleja y no siempre completamente descrita, así algunos oligoelementos están comprometidos en una enzima específica o en varias que pueden implicar uno o varios procesos metabólicos, también se hallan oligoelementos que pueden formar parte estructural de los tejidos orgánicos.

Son muchos los investigadores que han estudiado los trastornos carenciales y las intoxicaciones producidas por los oligoelementos, sobre todo en aquellos países donde este tipo de problemas son de marcado carácter enzoótico y origina por lo tanto graves problemas económicos (Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda, antigua URSS, países tropicales, etc.). En estos países el conocimiento de este tipo de procesos ha llevado a confeccionar mapas de zonas carenciales o de potencial toxicidad. En esta misma línea, el país de la UE que más ha trabajado es Francia, donde el INRA ha delimitado mapas similares.

En nuestro país, aunque no se ha llevado a cabo un trabajo tan sistemático para determinar las áreas de carencia, cada vez son más frecuentes las referencias sobre deficiencias tanto en vacuno como en ovino,

Nuestro Departamento de Medicina Veterinaria de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León, lleva desarrollando más de quince años la investigación en oligoelementos, trabajos de investigación realizados fundamentalmente en rumiantes, bajo las condiciones de campo que se suceden en el Noroeste de España, colaborando conjuntamente el Departamento de Patología Animal de la Facultad de Lugo, igualmente se mantiene otra línea de investigación en oligoelementos utilizando animales de laboratorio en condiciones experimentales.

Concretamente esta experiencia de campo trata de evaluar la alimentación y el estatus animal en cobre, manganeso, cinc y selenio de animales jóvenes de raza Parda española, raza emblemática y mayoritaria de la montaña leonesa, estudiándose bajo las situaciones habituales de alimentación y manejo que se realizan en las zonas en estudio, ampliando el conocimiento sobre una zona concreta y de gran censo ganadero, lo cual permitirá a veterinarios y ganaderos actuar sobre posibles problemas patológicos concretos asociados a los oligoelementos estudiados.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1. COBRE

II.1.1. METABOLISMO

II.1.1.1. ABSORCIÓN

En el ganado vacuno el cobre se absorbe principalmente en la parte media del intestino delgado (Ivan y Grieve, 1976; McDowell y col, 1993), parte del cobre ingerido que llega al rumen forma compuestos insolubles y precipitables, que serán excretados directamente (Viejo, 1991). El cobre absorbido a nivel intestinal se cifra en menos del 30% (Smart y col, 1981), aunque los animales jóvenes lo absorben de una manera más eficaz que los adultos (Hidiroglou y col, 1990).

El cobre es absorbido por dos mecanismos, uno de transporte activo y otro pasivo, predominando el primero cuando el contenido de cobre es bajo o el adecuado, y el segundo cuando la concentración del cobre es alta (Keen y Graham, 1989; Hidiroglou y col, 1990). En el transporte activo intervienen aminoácidos, principalmente la histidina y en ocasiones una proteína de membrana, la metalotioneína (Riffard, 1989a).

La forma química en la cual se encuentra el cobre en la dieta afecta a la absorción de una manera significativa, así los hidróxidos, los glutamatos, los citratos, los carbonatos, los nitratos y los sulfatos de cobre son fácilmente absorbidos, mientras que los sulfuros, los óxidos, los cloruros, el cobre metálico y los complejos de cobre insolubles en agua, se absorben en una menor proporción (Keen y Graham, 1989; Hidiroglou y col, 1990; Oregui y Bravo, 1993).

Los carbonatos y los nitratos son los que mejor se absorben pero también presentan una mayor excreción fecal y urinaria, siendo por lo tanto su retención baja, sin embargo, los sulfatos con una absorción media, presentan mayor retención debido a sus bajos niveles de excreción (Oregui y Bravo, 1993).

El cadmio, el mercurio, la plata, el cinc o el hierro interactúan con el cobre, impidiendo su absorción al competir por los mismos lugares de unión dentro de los sistemas metabólicos (Underwood, 1977a; Quiroga, 1982; Oregui y Bravo, 1993), pero son el molibdeno y el azufre los principales antagonistas de la absorción del cobre en rumiantes (Bremner y col, 1987).

Otro factor que interviene en la absorción es el pH, pues un pH elevado disminuye la absorción (Laurent, 1985; Riffard, 1989a). Bang y col. en 1990 demostraron que la infestación por nematodos en corderos interfería con la absorción intestinal de cobre.

La absorción también varía con la composición de la dieta, siendo mayor en dietas a base de concentrados que en aquellas que predomina el forraje; este efecto es explicado por la acción que ejercen sobre el pH ruminal y duodenal estos alimentos. A su vez la absorción es menor en pastos jóvenes de primavera debido a su alto contenido en nitrógeno soluble, que supone una liberación de cantidades importantes de azufre a nivel ruminal, lo que afecta negativamente a la absorción del cobre (Oregui y Bravo, 1993).

La eficacia en la absorción de cobre es menor en rumiantes que en monogástricos, así en corderos lactantes es del 70%, mientras que se reduce al 10% en los animales destetados (Cappa, 1986).

II.1.1.2. TRANSPORTE Y DISTRIBUCIÓN

Una vez absorbido el cobre es transportado al hígado y otros tejidos por la albúmina (Underwood, 1977a; Quiroga, 1982), aunque parece ser que existe otra proteína transportadora de cobre con una mayor afinidad, llamada transcupreína. La albúmina actuaría como reserva circulante de cobre liberando este en los hepatocitos (Kirchgessner, 1988).

En el hígado es donde se realizan los procesos metabólicos más importantes de este oligoelemento, sirviendo como depósito temporal y donde se incorpora la ceruloplasmina y se realiza su excreción por la bilis (Quiroga, 1982; Bremner, 1987). El cobre puede encontrarse en el hígado, unido a la citocromo oxidasa, a la superóxido dismutasa y a la metalotioneína (Bremner, 1987), además de la ceruloplasmina.

El cobre se encuentra en los eritrocitos de dos formas:

Una no movilizable, que representa el 60%, y que actúa de coenzima de la superóxido dismutasa y otra forma movilizable(40%) ligado a aminoácidos (Evans, 1973).

En el plasma, el cobre nunca se encuentra en estado libre sino bajo dos formas:

a)Cobre no recambiable (ceruloplasmina), que representa el 90-95% del cobre plasmático.

b) Cobre recambiable o circulante, ligado bien a seroalbúminas o a diversos aminoácidos como la histidina, la glutamina o la treonina. A pesar del escaso porcentaje que representa (5%) es muy importante por ser responsable del intercambio del cobre entre la sangre y los tejidos, en los que ejerce una función metabólica (Smart y col, 1981; Riffard, 1989a).

II.1.1.3. EXCRECIÓN

La bilis, según Roberts (1976) y Auza (1983), es la vía más importante de eliminación de cobre, suponiendo esta entre el 8 y 10% del cobre captado por el hígado, siendo dicha eliminación proporcional a los niveles de cobre que aportan las raciones que reciben los animales; los altos niveles de molibdeno y de azufre en la dieta también favorecen la excreción del cobre (Gooneratne y col, 1994).

Como consecuencia de la excreción por vía biliar se origina una circulación enterohepática, en la cual radica la regulación hemostática del cobre (Oregui y Bravo, 1993b). Parece ser que los niveles en los tejidos se regulan parcialmente mediante la excreción biliar (Church y col, 1974).

El cobre fecal procede del eliminado por la bilis, de la descamación celular del intestino además del cobre ingerido y no absorbido (Oregui y Bravo, 1993).

La eliminación de cobre por la leche varía según el estado de lactación, disminuyendo progresivamente hasta el final de la misma (Auza, 1983).

La cantidad de cobre eliminada por la orina es muy baja, representando únicamente el 2% del total de cobre absorbido (Roberts, 1976; Kirchgessner y Schwarz, 1982).

II.1.2. CONCENTRACIÓN DE COBRE EN TEJIDOS Y LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

La distribución del cobre en el organismo varía con la especie y la edad, siendo más ricos en cobre por unidad de peso los tejidos de los animales jóvenes.

Se pueden clasificar los órganos según el contenido de cobre en:

a) Órganos con baja concentración en cobre: pituitaria, tiroides, timo, próstata, ovarios y testículos (Underwood, 1977a; NRC, 1984; Rejas López, 1990).

b) Órganos con una concentración intermedia: páncreas, piel, músculo, bazo y hueso.

c) Órganos con un nivel relativamente alto en cobre: hígado, riñones, corazón, pelo, pezuña y cerebro (Underwood, 1977a; Alonso de Vega, 1984; Lavín, 1986; Keen y Graham, 1989; Miller y col, 1993).

Los tejidos difieren en su susceptibilidad a las variaciones de cobre en la dieta, siendo el hígado, los riñones, la sangre, el bazo, los pulmones, el cerebro y los huesos particularmente sensibles a tales cambios, mientras que las glándulas endocrinas, los músculos y el corazón lo son mucho menos (Underwood, 1977a; Riffard, 1989a).

II.1.2.1. HÍGADO

El hígado es el principal órgano de almacenamiento de cobre, siendo bastante variables los valores fisiológicos en cobre citados por los diversos autores.

Bellanger y Roth (1968) señalan una concentración de 46-62 $\mu\text{g/g}$ MS en ganado bovino, otros señalan como normal un valor en torno a 100 $\mu\text{g/g}$ MS (Wiesner, 1968; Blood y col, 1986), e incluso niveles de 427 $\mu\text{g/g}$ MS (Hellesnes y col, 1975), sin embargo Roberts (1976) considera normales entre 50-150 $\mu\text{g/g}$ MS en vacuno adulto y 200-300 $\mu\text{g/g}$ MS en animales jóvenes y valores por debajo de 30 $\mu\text{g/g}$ MS serían indicativos de deficiencia.

La edad es un factor importante de variación en el nivel de cobre (Wiener y col, 1974), disminuyendo en los animales viejos (Smart y Christessen, 1985).

La dieta repercute notablemente sobre la concentración de cobre hepático, el cual se incrementa al elevarse el cinc en la dieta (Judson y col, 1984) disminuyendo cuando los animales reciben una dieta deficiente (Sager y col, 1990), igualmente Alonso de Vega (1984) encontró esta relación en páncreas ovino.

Este almacenamiento se puede reducir significativamente por un incremento de molibdeno en la dieta (Bingley y Anderson, 1972).

Durante la gestación aumenta la concentración de cobre en el hígado fetal bovino y disminuye la concentración hepática materna (Gooneratne y Christensen, 1989; Xin y col, 1993).

II.1.2.2. SANGRE

La concentración normal de cobre en sangre de ruminantes oscila entre 0,5-1,5 mg/ml (0,5-1,5 ppm) (Underwood, 1977a; Keen y Graham, 1989), mientras que Blood y col (1982) estiman como valor normal de cobre en plasma de ganado bovino $1.26 \pm 0,31$ mg/ml ($1,26 \pm 0,31$ ppm). Faye y Grillet (1984) y Tanner y col (1988) sitúan el límite de carencia en 0,6 ppm en suero.

La edad influye en la concentración plasmática de cobre, así Hidoroglou y col (1970) han descrito en ganado vacuno de carne una caída de los niveles de cobre en plasma desde la

semana de edad hasta el destete, también Friot y Calvet (1973) encuentran niveles superiores en animales jóvenes que en adultos.

Underwood (1977), Rosiles y col (1987) y Jones (1984) encontraron niveles de cobre en suero proporcionales a los hallados en alimento. Aunque en ocasiones el nivel del cobre en la dieta es alto, se puede manifestar deficiencias por interferencia en la absorción con otros oligoelementos, principalmente con el molibdeno (McFarlane y col, 1990). Se ha demostrado una disminución en la absorción intestinal del cobre, debido al antagonismo Underwood (1977), Rosiles y col (1987) y Jones (1984) encontraron niveles de cobre en suero proporcionales a los hallados en alimento. Aunque en ocasiones el nivel del cobre en la dieta es alto, se puede manifestar deficiencias por interferencia en la absorción con otros oligoelementos, principalmente con el molibdeno (McFarlane y col, 1990). Se ha demostrado una disminución en la absorción intestinal del cobre, debido al antagonismo que se produce con el cinc de la dieta (Cox y Harris, 1960; Campen, 1969; Pocino y col, 1990). Posteriormente se ha demostrado que el cobre compite con el cinc saturando la metalotioneína en la célula intestinal (Lamand, 1991).

Lamand (1971) estudió la variación plasmática de cobre en diferentes razas bovinas encontrando los siguientes valores, expresados en ppm: Charolesa 0,66-1,21; Saler 0,74-1,09; Aubrae 0,93-1,09. Fidalgo y col (1988) han encontrado en vacas Frisonas unos niveles medios de 1,14 ppm de cobre en suero.

Se ha visto que la concentración de cobre en el plasma de vacas aumentaba de forma significativa en torno al momento del parto, alcanzando un valor máximo a los 11 días tras el mismo, siendo inversamente proporcional el nivel de cobre con la producción de leche (Kappel y col, 1984).

Otros investigadores observan una disminución significativa de los valores séricos de cobre en las vaca en gestación avanzada (7-9 meses), ya que durante el último mes de gestación los requerimientos diarios aumentan un 70% respecto a los de mantenimiento (Roberts, 1976; Lavín y col, 1987; Wittwer y col, 1988). Vinorukov en 1983, comprobó que la actividad ceruloplasmina era superior en el quinto mes que en el noveno.

Los niveles máximos de cobre en el suero se alcanzan a los 30-90 días postparto en aquellos animales que no presentan celo (Lavín y col, 1987).

Se ha visto que el contenido de cobre en suero era un 14% inferior que el contenido en plasma (Kincaid y col, 1986b).

II.1.2.3. PELO

El contenido de cobre en el pelo es relativamente constante y no se modifica más que en una carencia grave y prolongada (Riffard, 1989a).

La concentración media de cobre en el pelo es $9,5 \pm 0,3$ $\mu\text{g/g}$ MS en ganado bovino (Bellanger y Roth, 1968), oscilando los valores normales entre 6,6-10,0 $\mu\text{g/g}$ MS según Stöber (1983).

En el ganado vacuno, los animales jóvenes presentan niveles de cobre superiores al adulto (O'Mary y col, 1969; Combs, 1982).

Lavín y col (1987) pusieron de manifiesto una reducción de la concentración de cobre en el pelo en aquellos animales que se encontraban en el último tercio de la gestación ($7,37 \pm 0,71$ ppm). Una vez producido el parto la concentración de cobre se incrementaba, alcanzando niveles máximos en los animales que presentaron celo ($7,93 \pm 0,83$ ppm).

II.1.2.4. LECHE

El contenido de cobre en la leche varía con la especie y el momento de la lactación (Murphy y col, 1972).

Los valores dados por distintos investigadores son muy variados situándose en el amplio intervalo de 0,05 y 0,20 mg/l (0,05-0,20 ppm) en estados fisiológicos normales.

En vacas los niveles de cobre disminuyen a lo largo de la lactación (Ammerman, 1970; Salih y col, 1987).

En todas las especies el calostro es substancialmente más rico en cobre que la leche (Underwood, 1977; Keen y col, 1981b).

II.1.2.5. OTROS ÓRGANOS

Lavín (1986) cita una media de $14,05 \pm 0,16$ $\mu\text{g/g}$ MS en heces y Alonso de Vega y col (1987) establece los siguientes valores en diferentes órganos de ovejas expresados en ppm: páncreas, $1,6 \pm 0,1$; pulmón, $1,9 \pm 0,1$; corazón $3,4 \pm 0,2$; riñón, $2,7 \pm 0,1$; piel, $5,5 \pm 0,3$; lana, $4,3 \pm 0,3$ y pezuñas, $14,8 \pm 0,4$.

II.1.3. PAPEL METABÓLICO DEL COBRE

II.1.3.1. PROTEÍNAS QUE CONTIENEN COBRE

II.1.3.1.1. CERULOPLASMINA

La ceruloplasmina es una cuproproteína aislada por primera vez por Holmberg y Laurell en 1948. Pertenece al grupo de las α_2 -globulinas del plasma de vertebrados y contiene de 6 a 8 átomos de cobre por molécula (McCosker, 1961), se sintetiza en el hígado (Underwood,

1977) y participa en la oxidación del hierro ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$), reacción importante en el metabolismo del hierro y en la formación del grupo hemo (Brewer, 1987) siendo incorporado este hierro Fe^{3+} directamente al reticulocito de la médula ósea (Underwood, 1983).

El hecho de que la ceruloplasmina sea una cuproenzima explica la relación existente entre esta enzima y el cobre sanguíneo, influyendo este elemento sobre su actividad biológica (Todd, 1970).

Los valores normales en rumiantes se encuentran entre 10-20 mg/dl, y niveles entre 5-10 mg/dl se consideran como marginales, mientras que valores inferiores a 5mg/dl son indicativos de una severa deficiencia (Gay y col, 1988).

Animales deficientes en cobre, tratados con preparados de cobre inyectable, muestran un incremento de la actividad de la ceruloplasmina y de la concentración de cobre en la sangre (Bingley y Anderson, 1972; Lorenz y Gibb, 1975).

La actividad oxidasa de la ceruloplasmina permite la movilización del hierro sérico vehiculado por la transferrina y del hierro hepático almacenado por la ferritina. El hierro así movilizado, puede ser incorporado al grupo hemo de la hemoglobina. La ceruloplasmina es indispensable para la síntesis de hemoglobina, y el cobre por sus implicaciones en la bioutilización del hierro, puede ser calificado como de antianémico (Riffard, 1989a).

II.1.3.1.2. SUPERÓXIDO DISMUTASA

Las superóxido dismutasas son enzimas que pueden contener cobre y cinc, componiéndose de dos subunidades, una con un átomo de cobre y otro de cinc (Disilvestro, 1988). El cobre participa en la actividad catalítica de la enzima, mientras que el cinc solamente tiene un papel estructural.

Se ha puesto de manifiesto una reducción de la actividad de la enzima en dietas carentes en cobre y también en dietas con altas concentraciones de molibdeno (Bremner y col, 1987).

II.1.3.1.3. METALOTIONEÍNA

La metalotioneína puede implicar una función de reservorio intracelular para el cobre y el cinc (Kojima y Kägi, 1978). El cinc tiene mayor capacidad para estimular la síntesis de esta enzima y el cobre tiene una mayor afinidad por la misma que el cinc (Brewer, 1987).

Se describen dos funciones de esta enzima en el mantenimiento de la homeóstasis del cobre, por una parte, tiene un papel pasivo en la absorción del cobre al proporcionar lugares

de unión dentro de la mucosa intestinal, y por otra parte puede representar un bloqueo en la absorción con niveles tóxicos del cobre (Evans, 1973).

II.1.3.1.4. CITOCROMO OXIDASA

Esta enzima interviene en la respiración celular. El ion metálico del último citocromo de la cadena respiratoria es el cobre y es el aceptor terminal de electrones de la cadena respiratoria mitocondrial sin el cual el proceso respiratorio se bloquearía en su última fase (Auza, 1983; Brewer, 1987).

Esta enzima se localiza en la membrana interna de las mitocondrias y transfiere electrones al oxígeno según la siguiente reacción:



La reducción de O_2 en H_2O es la última fase de la respiración, es decir, que sin el cobre la respiración es imposible (Heller, 1990).

La disminución de la actividad del sistema citocromo oxidasa, es la causa de numerosos síntomas y lesiones observadas, así se explica la disminución del crecimiento, alopecia y caquexia, así como alteraciones metabólicas del corazón (Lamand, 1970; Richet, 1972a; Riffard, 1989a).

II.1.3.1.5. POLIFENIL OXIDASA. TIROSINASA

El cobre está presente en la polifenil oxidasa, enzima que cataliza la oxidación de la tirosina en dopa y después en dopaquinona, que es la molécula base de la síntesis de la melamina (Lamand, 1970; Gooneratne y col, 1989); esto explica la decoloración del pelo en caso de deficiencia de cobre.

II.1.3.1.6. AMINO OXIDASAS

En este grupo se incluyen la lisil oxidasa y las monoamino y diamino oxidasas.

Estas enzimas participan en la polimerización y la síntesis de elastina y de colágeno, que son los constituyentes base de las tunicas vasculares (Mills y col, 1976; Cheville, 1988); intervienen en la oxidación de los residuos de lisina, reacción necesaria para la formación de los enlaces disulfuro entre las cadenas de colágeno (Oregui y Bravo, 1993a) y en la síntesis de ligamentos y tejido óseo. El colágeno y la elastina son igualmente la base de estos tejidos, dando lugar la carencia de cobre a una distrofia ósea asociada (Smart y col, 1981).

II.1.4. FACTORES ALIMENTARIOS QUE INFLUYEN SOBRE LA UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE

La deficiencia de cobre en rumiantes se puede atribuir generalmente a la presencia de factores en la dieta que forman complejos con él, lo cual afecta a su absorción y distribución reduciendo la biodisponibilidad del mismo, dando lugar a deficiencia aunque en la dieta haya una concentración adecuada de cobre (Hidiroglou, 1979; Bremner y col, 1987).

Campbell y col (1974) y Kirchgessner (1988) han observado que suplementando la ración con hierro la concentración de cobre en plasma e hígado de bovinos, así como la actividad de la ceruloplasmina y amino oxidasas en plasma disminuyen. Sin embargo se necesitan 800 mg Fe/Kg en la dieta para obtener el mismo efecto antagonista que cuando se administran 5 mg Mo/Kg de dieta (Humphries y col, 1983).

A pesar de todo, el cobre es necesario para la utilización del hierro, para su movilización y para formar parte de la ceruloplasmina que es una ferroxidasa, asimismo la deficiencia de cobre reduce la absorción de hierro (Kirchgessner y col, 1982).

La interrelación entre el cobre y cinc es importante a nivel intestinal ya que la administración de cinc en exceso, por *vía oral* reduce la absorción de cobre y viceversa.

Esta interrelación se debe a que estos elementos son similares en cuanto a la estructura electrónica de su envoltura externa y tienen afinidad parecida a la hora de formar complejos (Kirchgessner y col, 1982).

El molibdeno y el azufre son los factores de la dieta que más influyen en los procesos de absorción, distribución y acumulación de cobre en el organismo (Soli, 1980). El exceso de los mismos en el pasto constituye la causa mas importante de deficiencia de cobre en Australia (Judson y col, 1987).

Desde que Dick (1956) descubrió esta triple interrelación han sido muchos los investigadores que han dirigido sus esfuerzos a conocer los mecanismos de la misma; Gooneratne y col (1989) cita, al respecto, lo siguiente:

- Merman la absorción del cobre; ligan el cobre a la albúmina, retrasando su paso al hígado, reduciendo la concentración de cobre en el hígado; se unen al cobre hepático y otros tejidos mermando su biodisponibilidad; incrementan la excreción biliar del cobre, limitan la reabsorción del cobre eliminado por la bilis, aumentan la excreción urinaria y endógena del cobre.

El exceso de molibdeno reduce la concentración de cobre en hígado de vacas (Humphries y col, 1983). La formación de complejos cobre-molibdeno-proteína, a nivel tisú-

lar, producen una disminución de la actividad enzimática de las proteínas cuprodependientes (Oregui y Bravo, 1993b).

Miltimore y Mason (1971) sitúan la relación crítica Cu/Mo para causar deficiencia secundaria de cobre en 2/1, mientras que para Roberts (1976) y Gay y col (1988) esta relación tiene que ser inferior a 5/1 para producir dicho efecto. Esta diferencia en la relación Cu/Mo, que puede inducir deficiencia de cobre, es debida por una parte, a la cantidad absoluta de cobre en la dieta y por otra a los niveles de azufre y molibdeno, ya que pequeños cambios en la concentración de los mismos determinan variaciones importantes en el coeficiente de absorción del cobre (Saéz de Ocariz, 1993).

La especie bovina es la menos tolerante al exceso de molibdeno (Gooneratne y col, 1989).

Se ha demostrado que el aporte elevado de azufre en la ración se traduce en una disminución de la tasa de cobre sanguíneo (Boccaro, 1980) y una reducción de la respuesta inmune (Olkowski y col, 1990); el azufre se une en el rumen con el cobre dando un compuesto insoluble como es el sulfuro de cobre (Laurant, 1985).

Los microorganismos ruminales forman sulfuro a partir del sulfato de la dieta o de compuestos orgánicos de azufre. El sulfuro se une con el molibdeno para formar tiomolibdato, con mayor afinidad por el cobre que el molibdeno solo. Los complejos de tiomolibdato de cobre son absorbidos, pero no pueden ser utilizados por el organismo (Smart y col, 1981; Lamand, 1990) y disminuyen la disponibilidad del cobre en un 50%. El tiomolibdato que no se combina con el cobre se absorbe, movilizándolo del cobre de los tejidos y aumentando el nivel de cobre plasmático que no es utilizable por el organismo (Miller y col, 1993).

Lamand (1989) observa que la interferencia azufre-molibdeno-cobre es más significativa con el azufre que con el sulfato, explicando este hecho por el diferente comportamiento de las dos formas de azufre; el azufre elemental genera sulfuro rápidamente, mientras que el sulfato es reducido más lentamente por la flora ruminal y puede ser incorporado a las proteínas bacterianas sin producción detectable de sulfuro.

La interrelación entre el cobre y el cinc es importante a nivel intestinal pues un exceso de cinc administrado por vía oral reduce la absorción de cobre y viceversa. Este antagonismo se debe a su parecida estructura electrónica de sus átomos y la afinidad parecida a la hora de formar complejos, lo cual les convierte en competidores.

Se ha visto en rumiantes que el exceso de calcio reducía la absorción de cobre (Lamand y col, 1986) debido a un incremento del pH intestinal, haciéndolo menos asimilable (Lamand, 1991).

Factores inherentes a la ración pueden disminuir la digestibilidad del cobre. El forraje triturado acelera la velocidad de tránsito intestinal y disminuye la digestibilidad del cobre (Amboulou y col, 1977). La contaminación por tierra de los alimentos provoca una caída de la digestibilidad del cobre (Lamand, 1979).

Manston y col (1975) encontraron una concentración de cobre sérico más elevada en vacas con dietas de bajo contenido en proteína y sin diferencia en la concentración de cobre, estas diferencias de cobre sérico serían el resultado de las variaciones en la biodisponibilidad, absorción, almacenamiento y excreción, pues la flora ruminal produce sulfuro a partir de las proteínas, que reduce la absorción de cobre. Esto demuestra la existencia de una interrelación entre las proteínas de la dieta y el metabolismo del cobre.

II.1.5. NECESIDADES DE COBRE

Un gran número de factores determinan las necesidades diarias de cobre, como son: el estado fisiológico o las características de la ración, que afectan tanto a las necesidades propiamente dichas como a la capacidad del animal para utilizar el cobre aportado (Roberts, 1976; Hays y Swenson, 1977; McDowell y col, 1993; Miller y col, 1993; Oregui y Bravo, 1993a).

En cuanto al estado fisiológico, se ha visto en ganado vacuno que durante la gestación se incrementaban las necesidades de cobre (Gooneratne y col, 1989).

La raza es un factor a tener en cuenta, así Gooneratne y col (1989) observaron que la raza Simmenthal excretaba más cobre que la raza Angus por lo cual sus necesidades eran mayores.

El NRC (1984) fija los requerimientos en cobre para ganado vacuno de carne en 8 ppm, con un rango entre 4-10 ppm, y en vacas lecheras en lactación sugiere un valor de 10 ppm (NRC, 1989).

II.1.5.1. LÍMITE DE TOXICIDAD

Se consideran tóxicos para bovinos valores por encima de 115 ppm de cobre (Paulais, 1978; NRC, 1984), en animales en crecimiento el nivel máximo tolerable es menor, que en adultos, así Lamand (1987) y el NRC (1984) señalan valores tóxicos de 80 ppm de cobre e incluso de 30 ppm.

II.1.6. ESTUDIO CLÍNICO DE LA CARENCIA DE COBRE EN BOVINOS

Las manifestaciones clínicas son poco específicas variando según la edad, sexo, especie, gravedad y duración de la deficiencia (Underwood, 1977; Tanner y col, 1988).

En términos generales los síntomas son más graves en vacuno joven de hasta un año de edad, y menos manifiestos en animales de dos años, y ligero en adultos. Los animales jóvenes debido a la carencia de cobre en la leche de vaca son más susceptibles a la carencia primaria, mientras que los adultos pueden tener suficientes reservas minerales para atender sus necesidades (Judson y col, 1987).

Los síntomas son muy inespecíficos como: déficit de crecimiento o de engrasamiento (Mills y col, 1976), inapetencia y pica (Lamand, 1970; Tanner y col, 1988), caquexia y anemia (Smith y col, 1975b; Underwood, 1977), disminución de la producción de leche (Tanner y col, 1988; Riffard, 1989b; Lamand, 1991), defectos de aplomos (Lamand, 1970; Underwood, 1977a), cojeras (Hidiroglou, 1980), alteraciones cardíacas (Faye y Frillet, 1984), disnea (Tanner y col, 1988; Keen y Graham, 1989), diarrea (Miller y col, 1993), decoloración de pelos y pelos quebradizos (Lamand, 1971; Smith y Coup, 1973; Fell y col, 1975; Roberts, 1976; Combs y col, 1982; Faye y Grillet, 1984; Lavín, 1987; Gay y col, 1988), infecundidad (Riffard, 1989b) y degeneración muscular (Lamand, 1971; Riffard, 1989b), también se cita una reducción de la resistencia a infecciones (Suttle y Jones, 1989), atribuyéndolo a una disminución de la función de los linfocitos, quizás como consecuencia de la reducción de la actividad de la enzima intracelular superóxido dismutasa (Grace, 1988; Xin y col, 1991a) y de la citocromo oxidasa (Lilley y col, 1985).

La ataxia enzoótica es la manifestación más típica de la carencia de cobre en pequeños rumiantes, aunque es rara en bovinos (Lamand, 1971; Church y col, 1974; Underwood, 1977a; Riffard, 1989b).

Las lesiones presentes en la carencia de cobre, podemos resumirlas en lesiones óseas (Lamand, 1970; Riffard, 1989b), lesiones cardíacas con atrofia de miocardio y la sustitución por tejido colágeno (Riffard, 1989b), alteraciones del tejido nervioso (ataxia enzoótica) debida a la desmielinización de la médula espinal (Wiesner, 1968; Auza, 1983).

En la mayoría de los animales que reciben dietas bajas en cobre se observa una atrofia marcada de las vellosidades del intestino delgado (Fell y col, 1975). Esta lesión puede ser responsable de la reducción del peso y de una menor utilización de los alimentos (Mills y col, 1976).

II.1.7. DIAGNOSTICO DE LA CARENCIA DE COBRE

II.1.7.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Los signos clínicos son en general poco específicos, y se debe realizar un diagnóstico laboratorial, la dificultad se acentúa al ser la deficiencia severa poco frecuente. En el ganado bovino la decoloración del pelo es relativamente específica de la carencia (Lamand, 1973;

Lavín, 1986; Judson y col, 1987; McDowell y col, 1993), la diarrea no parasitaria y persistente en los adultos, hace pensar en una carencia de cobre inducida por exceso de molibdeno.

II.1.7.2. DIAGNÓSTICO ANALÍTICO

Tradicionalmente se ha determinado la concentración del cobre en sangre y en otros tejidos accesibles, así como, la actividad de las metaloenzimas.

Los estudios a nivel de suelo y plantas tienen limitaciones para poder predecir la bio-disponibilidad de los minerales para el ganado en pastoreo, aunque el análisis de plantas ha sido utilizado para identificar áreas en las que puede haber un riesgo potencial de carencias minerales (Lavín, 1986; Judson y col, 1987).

Mediante análisis del suelo solamente se puede realizar un diagnóstico presuntivo de una posible carencia.

II.1.7.2.1. ANÁLISIS DEL ALIMENTO

Según McDowell y col (1983) y Haque y col (1993), el análisis del pasto tiene una serie de desventajas, en su valor diagnóstico, citando:

- Falta de certeza de que las muestras representen lo que el ganado consume realmente.
- Dificultad para estimar el pasto ingerido.
- Variación de la disponibilidad de los elementos del pasto.
- Posibilidad de contaminación de las muestras de pasto con tierra.

A pesar de los problemas que puede plantear este tipo de determinación, el análisis del pasto es preferible al análisis del suelo aunque la asociación del cobre con otras sustancias tales como el molibdeno y el sulfato limita la utilización de este método como único método de diagnóstico en ganado vacuno (McDowell y col, 1983; Underwood, 1983b; Gay y col, 1988; McDowell y col, 1993). En este sentido Lamand(1970) sitúa el límite de carencia entre 6-7 $\mu\text{g/g}$ MS elevándolo hasta 15-20 $\mu\text{g/g}$ MS dependiendo del contenido de molibdeno y sulfato en el pasto; Gay y col (1988) consideran que pastos con concentración menor de 5 ppm de cobre son deficientes en este elemento.

II.1.7.2.2. ANÁLISIS DE SANGRE

La determinación de la concentración de cobre en plasma es un buen método para el diagnóstico de hipocuprosis y refleja el contenido de cobre en la dieta, aunque la oscilación normal es amplia (Underwood, 1983); Smart y col (1981) consideran que esta determinación, por sí sola no es totalmente fiable, y es engañosa en determinadas circunstancias:

- Cuando la concentración de cobre total en el plasma esta afectada por otros minerales tales como el Molibdeno.

- Cuando la ceruloplasmina, que une el 90 % del cobre total del plasma se eleva significativamente durante la inflamación.

- Las enfermedades que afectan a las síntesis de proteínas, tales como la albúmina y la transferrina, influyen sobre el nivel de ceruloplasmina independientemente del estado de cobre (Xin y col, 1991a).

Suttle (1993) considera que en ocasiones se diagnostica una deficiencia de cobre debido a que se ha establecido un umbral muy alto por debajo del cual se considera a los animales carentes; otro problema que se puede encontrar es que se dan como márgenes de normalidad los mismos valores en suero y en plasma, cuando deberíamos tener en cuenta la pérdida de ceruloplasmina y por tanto de cobre durante el proceso de coagulación. Gay y col (1988) sitúan el límite de carencia entre 0,4-0,7 ppm en suero. En cambio Bellanger y Roth (1968) refiriéndose al plasma señalan como contenido medio de cobre valores de 132 ± 4 mg/100ml ($1,32 \pm 0,04$ ppm).

II.1.7.2.3. ANÁLISIS DE COBRE EN LOS TEJIDOS

El hígado es el órgano que almacena mayor cantidad de cobre y en condiciones de deficiencia esta concentración empieza a disminuir antes que la concentración en sangre (Gay y col, 1988).

El hígado se considera uno de los órganos mas importantes en el diagnóstico de la deficiencia de cobre (Rosiles y Garcia, 1987), con un contenido medio en cobre de 53 μ g/g MS (Bellanger y Roth, 1968). McDowell y col (1993) consideran como niveles críticos entre 25-75 ppm, aunque este tipo de determinaciones raramente se utiliza por ser poco accesible en condiciones prácticas y por la necesidad de realizar biopsia.

El pelo es una muestra fácil de obtener, su crecimiento es lento y refleja la biodisponibilidad del elemento en la dieta durante su período de crecimiento (Lamand, 1971; Kellaway y col, 1978; Lavín, 1986), valores bajos de cobre en pelo indican una deficiencia más prolongada e intensa que niveles bajos en plasma e hígado (Suttle y McMurray, 1983). Aunque este tipo de análisis tiene como ventaja la facilidad de muestreo, transporte y almacenamiento (Wiercinski y Ciolek, 1988), sin embargo, la facilidad de contaminación de la muestra supone un inconveniente a la hora de utilizarlo como método de diagnóstico.

McDowell y col (1983) afirman que para diagnosticar una deficiencia de cobre es mas preciso realizar el análisis en tejidos o fluidos animales, porque estos reflejan el aporte total de la dieta (pastos, suelo, agua, etc).

II.1.7.2.4. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La ceruloplasmina parece ser un buen indicador del estado nutricional de cobre en vacas (Blakley y Hamilton, 1985; Stoszek y col, 1986). La corta vida media de la enzima (5 días) explica la rapidez en la respuesta a la suplementación con cobre en caso de deficiencia del mismo (Kirchgessner y Schwarz, 1982). La ceruloplasmina es muy estable y mantiene su actividad en plasma tras varias semanas de congelación (Chacornac y col, 1986).

Lamand (1971) cita las siguientes ventajas de la utilización de la ceruloplasmina respecto a la determinación de cobre en plasma:

- Los riesgos de contaminación de las muestras son bajos.
- La cantidad de suero o plasma que se necesita para realizar la técnica es de 0,1 ml, es decir, 10 veces menos que la utilizada para determinar la concentración de cobre.
- El tiempo para realizar esta determinación es relativamente breve, pudiéndose analizar 100 muestras diarias.

Para algunos autores la actividad de la superóxido dismutasa es un indicador más sensible de los niveles de cobre que la propia determinación del elemento en sangre (Sharma y Prasad, 1985). En animales que reciben una dieta deficiente en cobre la disminución de la actividad de esta enzima en plasma tarda más en manifestarse que la reducción de la concentración en cobre, indicando niveles bajos de esta enzima una deficiencia de cobre prolongada e intensa (Suttle y McMurray, 1983).

La actividad de esta enzima se encuentra directamente relacionada con la concentración de cobre en plasma en terneros (Xin, 1991).

La determinación de la actividad de la citocromooxidasa es un parámetro adecuado para el diagnóstico de esta deficiencia ya que responde rápidamente a la variación del nivel de cobre en la dieta (Kirchgessner y col, 1983).

II.1.7.3. DIAGNÓSTICO TERAPÉUTICO

Según McDowell y col (1983) el método más fiable para confirmar las deficiencias minerales es la respuesta derivada de la suplementación mineral específica.

II.1.8. PROFILAXIS DE LA CARENCIA DE COBRE

Para contrarrestar niveles bajos de cobre o la imposibilidad de su utilización, se debe aumentar su cantidad en la ración.

Las estrategias de suplementación se pueden dividir en tres grupos (Langlands, 1987):

- Suplementos de libre acceso como bloques de sal.
- Técnicas de administración directa al animal.
- Aplicación del mineral a los pastos, aprovechando la aplicación de fertilizantes.

En relación con la suplementación se han encontrado algunos problemas que se resumen (Mc Dowell y col, 1983):

- Insuficientes análisis químicos y datos biológicos para determinar que minerales son necesarios y en que cantidades.
- Ausencia de datos de consumo del mineral por el animal, necesarios para formular los suplementos.
- Suplementos que contienen cantidades inadecuadas o desequilibradas.
- Estandarización de mezclas minerales que pueden ser inadecuadas según las regiones de que se trate.

II.1.8.1. ACTUACIÓN SOBRE EL ANIMAL

Los bloques de sal para lamer se han utilizado para prevenir la deficiencia de cobre y asegurar una mejor productividad del ganado (Faye y col, 1986). El aporte libre de sal se adapta bien a esta situación ya que los animales son capaces de regular la ingestión según sus necesidades (Matrat, 1976) aunque según Oregui (1993) los bloques para lamer no constituyen el mejor método de suplementación, porque no siempre garantizan una adecuada dosificación, ya que algunos animales pueden consumir cantidades excesivas del mismo y otros, en cambio, cantidades insuficientes para corregir el estado carencial, por la pérdida de apetito.

La deficiencia de cobre en el ganado vacuno lechero puede ser tratada de forma efectiva con dosis ampliamente espaciadas de partículas de óxido de cobre (Whitelaw y col, 1980; Shuttle, 1981b; Richards y col, 1985; Rogers y Poole, 1988); estas partículas tienen un efecto más prolongado que los bolos solubles (Gallagher y Cottrill, 1985).

Radostits y col (1994) proponen como tratamiento la administración por vía oral de 4 g de sulfato de cobre para terneros de 2-6 meses de edad y de 8-10 g para ganado adulto semanalmente durante 3-5 semanas.

Para Ellis y col (1987) y Zervas y col (1987) la administración de bolos solubles que contienen varios oligoelementos es un buen método para prevenir la aparición de carencias, ya que estos bolos se disuelven en el rumen de forma controlada liberando los oligoelementos.

La administración de cobre en el agua de bebida es más regular que cuando esta se realiza mediante piedras de sal, aunque el riesgo tóxico persiste sobre todo en épocas de calor, en las que el animal bebe más (Riffard, 1989b) y aunque no se den estas condiciones al existir diferencias individuales en la cantidad de agua ingerida, se plantea igualmente el problema del consumo de cantidades excesivas de cobre (Langlands, 1987).

Los criterios por los cuales se juzga la idoneidad de los compuestos para ser administrados por vía parenteral son los siguientes (Allen y Mallinson, 1984):

- Que produzca la menor reacción posible en el lugar de inyección.
- El almacenamiento hepático ha de ser satisfactorio (90-100% de la dosis administrada)
- Que exista un amplio margen entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica.

Mediante este método se obvian problemas tales como el efecto que la composición de la dieta puede tener sobre la absorción intestinal del cobre. Parte de este cobre se almacena en el hígado, desde donde se libera los meses siguientes a la administración (Allen y Mallinson, 1984; Langlands, 1987).

Una ventaja importante de la suplementación por vía parenteral es que se introduce en el organismo animal una cantidad conocida del elemento, siendo esta vía particularmente efectiva cuando la deficiencia es severa, al recuperarse rápidamente las concentraciones normales del alimento.

El óxido de cobre se administra por vía intramuscular y la inyección no provoca reacción local (Riffard, 1989b). Bohman y col (1984) han encontrado una mayor concentración de cobre en plasma tras la inyección subcutánea de edrato de cobre cuando lo comparaban con la administración de glicinato, así como una menor irritación tisular. La reacción que se produce en el punto de inoculación es muy poco persistente (Mahmoud y Ford, 1981).

II.1.8.2. ACTUACIÓN SOBRE EL SUELO Y LAS PLANTAS

Se considera que un buen método profiláctico es la aplicación de 50 Kg de sulfato de cobre por Ha, ya que los compuestos orgánicos formados por las plantas pueden resolver las carencias más rápidamente que la administración directa de sulfato de cobre (Wiesner, 1968), aunque en condiciones secas es suficiente con 1,1 Kg de sulfato de cobre por Ha para impedir la aparición de hipocupremia en vacuno (MacPherson y col, 1975).

Se sabe que la absorción foliar de un elemento dado es proporcional a su concentración en la solución aplicada, hasta un valor límite. Por otra parte, la capacidad de absorción es

superior en general en hojas jóvenes, debido a que estas tienen una cutícula más fina y un metabolismo más activo.

La humedad de la atmósfera favorece la absorción por retrasar la evaporación de la solución en la superficie de la hojas (Chamel, 1990).

Lamand (1976) ha observado que la digestibilidad del sulfato de cobre (16,1%) es superior al óxido de cobre (4,4%) cuando se utilizan estos compuestos para pulverizar pastos.

La pulverización foliar es poco utilizada ya que esta técnica necesita una intervención en cada corte (Richet, 1972a). Por otra parte existe la posibilidad de intoxicación de los animales si pastan cuando el fertilizante todavía permanece en las hojas y es un método muy caro, particularmente si este tratamiento se aplica en áreas extensivas, por lo que muchos granjeros prefieren métodos directos de suplementación como alternativa (Deland y col, 1986; Riffard, 1989b).

II.1.9. TOXICIDAD POR COBRE

Tiene como origen un aporte excesivo de cobre debido a fenómenos muy diversos, tanto industriales como agrícolas y de manejo y también se origina como consecuencia de un proceso patológico que aumenta la sensibilidad del animal al cobre (Tarazona y col, 1984).

La intoxicación aguda es atribuida a la acción directa de dosis únicas muy elevadas de sales de cobre, administradas de forma accidental o con fines terapéuticos. El cobre actúa sobre el tracto gastrointestinal provocando gastroenteritis, heces fluidas verdosas y muerte; esta forma es rara en los animales domésticos, probablemente por el fuerte efecto emético del cobre (Keen y Graham, 1989). La forma crónica es debida al aumento de la absorción y disminución de la excreción de cobre que es almacenado en el hígado durante un largo período (Tarazona y col, 1984).

La intoxicación fitógena se produce en animales que consumen pastos con concentraciones de cobre entre 8-10 $\mu\text{g/g}$ MS, pero deficientes en molibdeno o con exceso de sulfatos, que afectan a la capacidad de la planta para absorber molibdeno, que es antagonista del cobre. Los tréboles *Trifolium subterraneum* y *Trifolium pratense* son las plantas más importantes involucradas en este tipo de intoxicación (Bostwick, 1982).

Hay variaciones en la susceptibilidad entre especies siendo el ovino más susceptible que el vacuno y el caprino (Lamand y col, 1973; Roberts, 1976; Soli, 1980; Humphries y col, 1987; Suttle, 1990). La edad influye sobre la sensibilidad a la intoxicación por cobre, siendo más fácil que ocurra en los animales jóvenes (Wolter, 1975) dado que la absorción del oligoelemento es más eficaz en estos.

La patogenia de la intoxicación es compleja. En un primer momento el cobre se acumula lentamente en el hígado y en una segunda fase se produce una liberación brutal del cobre a la sangre con una hemólisis intensa; la mayoría de los animales mueren poco después de aparecer el cuadro icterico (Church y col, 1974; Lamand, 1991)

Al realizar la necropsia se observa tinte icterico de toda la canal, hígado hipertrofiado con color de hoja seca y necrosis hepática (Lengronne y Legardinier, 1983).

La administración de tetratíomolibdato amónico es una medida efectiva en la intoxicación aguda ya que reduce el 65% del cobre plasmático (Gooneratne y col, 1989), también se puede prevenir mediante la administración de dietas ricas en proteína (18-19%) las cuales actúan liberando iones sulfato y molibdeno asociados a las mismas (Gonzalez, 1993).

II.2. MANGANESO

II.2.1. METABOLISMO

II.2.1.1. ABSORCIÓN

La absorción del manganeso se produce principalmente en la parte más craneal del intestino delgado, siendo la eficacia de dicha absorción relativamente baja, normalmente se citan porcentajes de absorción del 3-4% (Solomons y Cousins, 1984) e incluso del 1% (Underwood, 1983).

Presumiblemente al producirse la absorción del manganeso en el tracto intestinal, hace que disminuya la cantidad de manganeso soluble, lo cual impide que pueda ser absorbido más manganeso, actuando de esta manera como un mecanismo de autorregulación (Keen y Graham, 1989), la absorción al igual que la retención del manganeso es más alta en animales jóvenes que en adultos, basándose en esta hipótesis se ha sugerido, que puede ser la causa de la mayor sensibilidad de los animales más jóvenes a padecer toxicosis de manganeso o manganesemia (Keen y col, 1987). A diferencia de otros oligoelementos esenciales, la absorción del manganeso no parece que se incremente en condiciones de deficiencia (Lönnerdal y col, 1987).

Se ha demostrado que la absorción es incrementada cuando en la dieta hay bajos niveles de hierro, pero los mecanismos por lo cual esto ocurre no han sido esclarecidos (Gruden, 1987).

Desde luego la retención del Mn^{54} es muy baja en los rumiantes, siendo menor del 1% cuando han pasado 13 días después de una administración oral de manganeso (Vagg y Payne, 1971), es mayor en terneros lactantes, alrededor de un 18%, localizándose aproximadamente

la mitad del manganeso absorbido en el hígado a los tres días post-ingestión (Carter y col, 1974).

Bell y col (1988) señalan que la absorción del manganeso en el tracto digestivo ocurre en principio por difusión simple, y que esta no es saturable en condiciones de una dieta con valores normales de manganeso.

II.2.1.2. TRANSPORTE Y DISTRIBUCIÓN

Ya en el interior del tracto gastro-intestinal, el manganeso se introduce en la circulación portal, vehiculándose como ion libre (Mn^{+2}) o bien ligándose a la α_2 -macroglobulina y posiblemente a la albúmina antes de ser transportado al hígado, donde será secuestrado de una manera cuantitativa, y una parte del manganeso puede vehicularse por circulación general donde es oxidado a Mn^{+3} y ligado a la transferrina (Sansom y col, 1976).

La captación del manganeso por el hígado se produce por un proceso de saturación unidireccional, con la intermediación de un transportador pasivo no identificado (Keen y Graham, 1989).

El destino metabólico del manganeso una vez dentro del hepatocito no está bien definido, pero se ha demostrado su presencia en al menos cinco localizaciones celulares.

Uno de los puntos descritos son los lisosomas del hepatocito (Shamoo, 1986), los cuales realizan un papel fundamental en la excreción metabólica del manganeso.

El segundo lugar de localización del manganeso en el hepatocito es el asociado a la mitocondria, la cual tiene una gran capacidad de captación de Mn^{2+} , sugiriéndose que la captación de Mn^{+2} y Ca^{+2} puede estar muy ligada, al ser los dos cationes divalentes con una configuración electrónica muy parecida (Shamoo, 1986).

El tercer lugar se encuentra en una fracción del núcleo celular, pero el papel que puede desarrollar aún no ha sido esclarecido (Kaneko, 1989).

El cuarto lugar de localización, es el manganeso que se incorpora a la estructura de proteínas y enzimas en su síntesis.

El manganeso libre es el quinto "pool" de manganeso intracelular, proponiéndose que las fluctuaciones en la concentración de este Mn^{+2} libre, interviene en el metabolismo celular, siguiendo un comportamiento análogo al Ca^{+2} libre y el Mg^{+2} (Brandt y col, 1988)

El mecanismo o las vías por medio de las cuales el manganeso es transportado y captado por los tejidos extrahepáticos no ha sido aún identificado, se ha sugerido que el manganeso ligado a la transferrina puede ser captado por dichos tejidos (Keen y Graham, 1989).

En cambio si parece claro que las concentraciones de manganeso, así como su captación en los tejidos extrahepáticos, no se incrementa en condiciones de deficiencia en la dieta (Keen y col, 1987).

II.2.1.3. EXCRECIÓN

La regulación hemostática del manganeso es mantenida a través de la secreción biliar y mas del 50% del manganeso inyectado intravenosamente es excretado a las heces en menos de 24 horas (Kirchgessner y col, 1981). El hígado bovino es capaz de excretar 1.2 mg de Mn/min con una concentración máxima de manganeso en la bilis de 20 mg/dl cuando el manganeso es introducido intravenosamente según una tasa de 4 mg/min. (Church, 1993).

La excreción biliar puede aumentar desde un 4% a valores del 48%, según se ha demostrado en terneros que se encuentran consumiendo dietas que contenían de 32 ppm a 1032 ppm de manganeso (Forth y Rummel, 1971).

El metabolismo y el control hemostático que tienen los animales del manganeso contrasta con el comportamiento sufrido por el cinc. El manganeso se encuentra en el medio ambiente, suelo y vegetación en gran concentración, en cambio el cinc, sus niveles ambientales son muy reducidos. Pero el manganeso sufre una gran discriminación en el organismo animal, debido a su rapidísima excreción endógena del exceso absorbido, siendo la excreción en su mayoría vía biliar y de ahí a través de heces, pues los valores de excreción en la orina son inapreciables.

El manganeso demuestra por lo tanto que es un elemento extremadamente dinámico con una gran velocidad en todo su metabolismo, desencadenándose una rápida serie de sucesos metabólicos: absorción, recambio tisular y excreción a un gran ritmo.

II.2.2. CONCENTRACIÓN DE MANGANESO EN TEJIDOS Y LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

II.2.2.1. DISTRIBUCIÓN DEL MANGANESO EN EL ORGANISMO

Dentro de las distintas especies animales se ha descrito una muy poca variación en lo relativo a la concentración del manganeso tisular. En el bazo, hígado y riñón nos encontraremos los niveles mas altos de manganeso, fluctuando entre 1 y 3 mg/g, las concentraciones de manganeso en cerebro, corazón, pulmón y músculo son menores de 1 mg/g, en sangre entera y suero(tabla.1) se dan valores de 0.01 mg/ml y 0.001 mg/ml respectivamente (Hurley y Keen, 1987). Church (1993) cita como normal 0.05 mg/ml en suero y los valores hallados en glóbulos rojos es del doble a los hallados en plasma.

Hansard (1972) destaca que las mayores concentraciones en manganeso son las halladas en hipófisis (1.96-3.73), hígado (1.44-1.81), páncreas (1.49-1.50) y riñones (1.10-2.48) todas expresadas en mg/Kg (ppm) de tejido.

Los valores del manganeso localizado en el esqueleto pueden contabilizarse por encima del 25 % del manganeso total corporal, depositándose en su mayor parte en la porción inorgánica (Hawkins y col, 1955).

Tabla 1. Concentración de Mn en sangre

Sangre	valor($\mu\text{g/ml}$)	Autor
Sangre entera	0.03-0.05 ¹	Georgievskii(1982)
	0.08 ²	
	0.18-0.19	Blood y Radostits(1992)
	0.25-0.4	Rosenberger(1994)
Suero	0.01-0.025 ¹	Georgievskii(1982)
	0.03-0.05 ²	
	0.039-0.046	Sviatko y Hiscakova(1993)

1. Valor tomado en ganado vacuno lechero.

2. Valor tomado en terneros

El manganeso que se localiza en el bazo puede ser incrementado o reducido según la ingesta, siendo difícil que se produzcan acumulaciones, salvo cuando nos movemos en niveles de dietas superiores a 2000 ppm de manganeso, en cambio el manganeso localizado en el esqueleto es muy fluctuante, al ser un depósito que puede movilizarse (Church, 1993).

Cuando se aumenta el nivel de manganeso en la dieta disminuye la captación porcentual y la actividad específica del manganeso en los tejidos de los rumiantes (Kaneko, 1989).

En el manganeso se observa un comportamiento distinto en su concentración en el hígado fetal y al nacimiento, que en el resto de otros oligoelementos esenciales (Fe, Cu), encontrándose valores más bajos en manganeso en dicho período de la vida del ternero que los valores encontrados en hígado de animales adultos (Georgievskii y Kozina, 1973).

El contenido de este oligoelemento en los tejidos del aparato reproductor, fundamentalmente en los ovarios, refleja el consumo producido en la dieta, indicando la existencia de una relación entre la disponibilidad de manganeso y la fertilidad (Keen y Graham, 1989). Aproximadamente el 6% del manganeso absorbido se transfiere a la placenta y líquidos fetales de vacas gestantes (Church, 1993).

La concentración de manganeso en la vagina, es mayor en las hembras de rumiantes en celo (Hidioglou, 1980).

En ingestas con valores normales en manganeso aparece en leche de vaca una concentración de manganeso de 0.03 ppm, pudiendo aumentar de dos a cuatro veces si se incrementa la dieta en manganeso (Underwood, 1981).

El contenido de manganeso en el pelo de ganado vacuno se relaciona con la dieta recibida, Blood y Radostits (1992) dan valores normales de manganeso en el pelo de 12 ppm, señalando que con valores de 8 ppm se observa infertilidad. En vacas que consumen dietas con valores normales en manganeso, su concentración de manganeso en el pelo disminuye con la gestación, del valor normal de 12 ppm en el primer mes de gestación a 4.5 ppm en el momento del parto (Rao, 1963).

Sviatko y Hiscakova (1993) señalan que en vacas lecheras con una alimentación equilibrada, como contenido normal de manganeso, en el pelo los valores oscilan entre 15.17 y 19.17 $\mu\text{g/g MS}$.

II.2.3. PAPEL METABÓLICO DEL MANGANESO

El manganeso ejerce su función metabólica fundamentalmente como cofactor de varias enzimas, entre las que se incluyen quinasas, hidrolasas, transferasas y decarboxilasas (Vallee y Coleman, 1964), esta activación se ha demostrado que muchas veces es compartido con otros cationes divalentes, la mayoría de las veces con el magnesio, o sea este tipo de reacciones son bastante inespecíficas en cuanto al cofactor (Keen y Graham, 1989). Una excepción a esta activación inespecífica, y de gran importancia en cuanto a los procesos patológicos consecuentes a la deficiencia de manganeso, es la función específica que desarrolla como cofactor en la enzima glicosiltransferasa (Lace, 1986), necesaria para la síntesis de los mucopolisacáridos del tejido conectivo, que formaran la matriz ósea (Lace, 1971).

Se ha demostrado en ratas que la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa es una enzima cuya actividad necesita de manganeso como cofactor específico, y también se ha puesto en evidencia que en deficiencias de manganeso, disminuye su actividad (Keen y Graham, 1989).

El manganeso también forma parte de la estructura de diversos metaloenzimas. El primer metaloenzima con manganeso descubierto fue el piruvato carboxilasa (Strutton y col, 1966), y no está aclarado en que medida el piruvato carboxilasa puede estar relacionado con la alteración del metabolismo de los carbohidratos en las deficiencias de manganeso.

Otros enzimas que incluyen el manganeso en su estructura son la arginasa y la superóxido dismutasa, y sus actividades se han demostrado que son bajas en deficiencias de manganeso (Bell y Hurley, 1974).

El manganeso interviene también en la formación de la protombina, una glucoproteína, mediante la activación de la glicosiltransferasa. En pollitos con deficiencias en mangane-

so desciende la respuesta a la coagulación con la vitamina K (Doisey, 1973), aunque no está clara la relación del manganeso con la vitamina K para la conversión de preprotombina en protombina.

II.2.4. FACTORES ALIMENTARIOS QUE INFLUYEN SOBRE LA UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL MANGANESO

El primer factor que se debe de tener en cuenta y que determinará la biodisponibilidad futura del manganeso por el animal, será la acidez del suelo; cuanto más se acerque a la neutralidad, siendo en definitiva más básico el suelo, disminuye la captación del manganeso por las plantas (Calleja, 1976; Underwood, 1983).

Hidiroglou y col (1990) estudió la influencia del tipo de alimentación en el ganado vacuno a base de silo y heno y con niveles similares en manganeso; en las vacas con dieta a base de silo, los terneros nacidos de ellas desarrollaban síntomas de una carencia en manganeso, como retraso del crecimiento y anomalías congénitas en las articulaciones, este investigador sugiere que hay un factor etiológico en la alimentación a base de silo que puede condicionar la aparición de una posible carencia en manganeso.

La naturaleza de la dieta y su composición, sobre todo si contiene hierro, calcio, potasio, y fósforo, pueden ser competidores del manganeso, impidiendo su utilización y generando una deficiencia condicionada (Hartmans, 1974). También se ha descrito que con niveles altos en la dieta de calcio o de potasio se incrementan las pérdidas fecales de manganeso (Church, 1993). Desde luego se ha demostrado que altos niveles de calcio, o de fósforo y/o fitatos en la dieta incrementan las necesidades de manganeso en los animales (Lönnerdal y col, 1987).

En dietas con exceso de hierro, se ha demostrado que en terneros disminuye la retención de manganeso, y al normalizar la concentración de hierro, la retención se incrementa, igualmente pasa a con el proceso inverso (Hidiroglou, 1980).

La deficiencia de manganeso aumenta el contenido de calcio en muchos tejidos, en estudios realizados en ovejas gestantes y aumenta también el magnesio, fósforo y cobre aunque se produce una reducción en calcio de los tejidos de corderos recién nacidos (Church, 1993). La suplementación con sulfato de cobre, cloruro de cobalto o yoduro potásico reducen también la retención de manganeso (Blood y Radostits, 1992).

II.2.5. NECESIDADES DE MANGANESO

Los requerimientos mínimos de manganeso en el ganado vacuno varían según la edad, estado fisiológico y sexo (ver tabla 2), dependiendo de la forma química del manganeso en el

alimento, al igual que de la composición de la dieta completa, y sobre todo el contenido de calcio y fósforo y si las necesidades son para el crecimiento del animal o para la reproducción, pues para esta las necesidades son mayores.

Bentley y Phillips (1951) realizaron un estudio en novillas determinando que los requerimientos mínimos eran del orden de 10 ppm para el crecimiento, pero resultaban marginales para una fertilidad óptima, puesto que los animales que consumían una dieta entre 7 y 10 ppm de manganeso crecían, y su producción de leche era normal al igual que los animales suplementados, sin embargo las vacas que consumieron dietas sin suplemento presentaban el estro más débil y retardado, y los terneros nacían con las extremidades débiles. Posteriormente, Rojas y col (1965) demostraron en novillas Hereford que con una dieta que contuviese 20 ppm de manganeso esta era adecuada para el crecimiento y satisfactoria para una reproducción óptima.

Hartmans (1974) sugiere la conveniencia de suplementar con 25 ppm de manganeso para proporcionar un cierto margen de seguridad al ganado vacuno lechero, Lamand (1990) recomienda una dieta con 50 $\mu\text{g/g}$ MS de manganeso y sitúa el umbral de carencia en 45 $\mu\text{g/g}$ MS.

El NRC (1984) recomienda para ganado vacuno de carne un nivel de manganeso en la dieta de 40 ppm, y un rango entre el cual debe moverse la concentración de manganeso para cubrir satisfactoriamente las necesidades fisiológicas, dando los valores de manganeso entre 20-50 ppm. El NRC en su publicación de 1989 recomienda una concentración de manganeso de 40 ppm en las vacas lecheras en lactación.

Tabla 2. Valores de manganeso recomendados en vacuno (Annenkov, 1982)

Sexo y edad del ganado	Mn(mg/animal/día)	Mn($\mu\text{g/g}$ MS)
sementales	350-700	40-60
vacas lecheras	450-700	40-60
vacas secas	300-500	40-50
terneros de 6 meses o menos	140-280	50-60
ganado de más de 6 meses	240-450	40-60

II.2.5.1. LIMITE DE TOXICIDAD

Los animales pueden resistir niveles de manganeso en la dieta extremadamente alta, la National Academy of Sciences (1980) sugiere que el nivel de 1000 ppm para ganado ovino y vacuno puede desarrollar toxicosis, citando Lang (1971) que en determinados suelos volcánicos, donde la concentración del manganeso en los suelos y por ende en los forrajes es alta, las tasas reproductivas se encuentran sensiblemente disminuidas.

II.2.6. ESTUDIO CLÍNICO DE LA CARENCÍA DE MANGANESO EN BOVIDOS

En el ganado vacuno los síntomas generales de una carencia de manganeso son retraso en el crecimiento, anormalidades esqueléticas, sobre todo en extremidades, ataxia en los animales recién nacidos e infertilidad tanto en hembras como machos, (Underwood, 1981). Bioquímicamente cursa con alteraciones en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Hurley y Keen, 1987).

II.2.6.1. ALTERACIONES ÓSEAS

En casi todas las especies animales, incluyendo los rumiantes la carencia en manganeso patológicamente produce alteraciones esqueléticas, implicando sobre todo a los huesos largos y las articulaciones (Hidiroglou, 1980). Cuadros clínicos que producen engrosamiento y deformidades en las articulaciones con parálisis, sobre todo en el corvejón y carpo.

Tesink (1960) cita un síndrome que afectaba al ganado vacuno que pastaba en determinados pastizales de Holanda, caracterizándose este por un retraso en el crecimiento y deformidades en los huesos, respondiendo los animales al tratamiento con suplementos de manganeso.

Clínicamente los vacunos afectados presentan un estiramiento de los miembros posteriores como si tendieran a formar una línea recta, hay un arqueamiento del animal, se engrosan las articulaciones y los huesos disminuyen en longitud y resistencia (Greenough y col, 1976). Esta postura anormal de los miembros posteriores puede desaparecer al crecer el animal y con suplementación de la dieta, pero las excrecencias óseas pueden persistir toda la vida (Hidiroglou, 1980).

La ataxia de los recién nacidos que se produce en la deficiencia de manganeso es una consecuencia de las alteraciones esqueléticas, a diferencia de la ataxia que se produce en la carencia de cobre, por una deficiente síntesis de mielina (Underwood, 1983).

Los terneros nacidos de vacas deficientes nacen generalmente con deformidades óseas y posible ataxia (Bentley y Phillips, 1951). El engrosamiento de las articulaciones, rigidez y la debilidad general son los síntomas más frecuentes de los terneros nacidos de vacas con dietas carentes en manganeso (Rojas, 1965).

La explicación bioquímica de estas lesiones óseas producidas por la carencia de manganeso es consecuencia de la disminución de la síntesis de mucopolisacáridos de la matriz ósea, pues la síntesis del condroitin sulfato tiene como cofactor específico el manganeso (Keen y Graham, 1989).

II.2.6.2. ALTERACIONES EN LA REPRODUCCIÓN

El manganeso es también un cofactor específico para la síntesis de esteroides, la carencia de manganeso inhibe los precursores del colesterol, limitando la posterior síntesis de hormonas sexuales, observándose en animales deficientes disfunciones en el área reproductiva, tanto en machos como hembras.

La desaparición o el retraso del estro y una consecuente disminución de la fertilidad son las expresiones más corrientes de la deficiencia de manganeso en vacas (Wilson, 1966), la respuesta positiva de estas alteraciones a la suplementación es la evidencia más clara (Rojas, 1965; Egan, 1972). Se ha asociado toros deficientes en manganeso, con problemas de esterilidad encontrándose células degenerativas en su epidídimo (Hidiroglou, 1979; Hurley y Green, 1987).

II.2.7. DIAGNÓSTICO DE LA CARENCIA

No existe un método sencillo que nos permita diagnosticar la carencia de manganeso de una manera fiable, así se tendrá que evaluar la concentración de manganeso en la dieta aportada, en sangre, tejidos y la respuesta a la suplementación para poder emitir un diagnóstico fiable.

II.2.7.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

En bovinos la aparición de los síndromes más frecuentes en caso de una deficiencia en manganeso como es la infertilidad, retraso del estro y/o un tamaño menor del normal en los ovarios, nos pueden permitir sospechar una deficiencia, así como la posibilidad que en terneros nos encontremos deformaciones congénitas de las extremidades y crecimiento deficiente.

II.2.7.2. DIAGNÓSTICO ANALÍTICO

II.2.7.2.1. ANÁLISIS DEL ALIMENTO

Es necesario conocer si el aporte de manganeso en la dieta tiene los niveles adecuados, nunca menor de las recomendaciones de 40-50 $\mu\text{g/g}$ MS, y más si, los niveles aportados de calcio y fósforo son altos puesto que pueden inducir una menor absorción de manganeso, de iodo y de cobre.

II.2.7.2.2. ANÁLISIS DE SANGRE

El estudio de el nivel de la concentración de manganeso en sangre completa, es muy útil en casos de una presunta deficiencia, y sobre todo cuando hay una coincidencia en bajos niveles tisulares (Kaneko, 1989).

Los niveles de manganeso en el suero pueden servir como valor diagnóstico sobre todo como índice del estatus a corto plazo, reflejando la ingesta reciente (Strause y Saltman, 1987).

II.2.7.2.3. ANÁLISIS DE TEJIDOS

La concentración de manganeso en hígado, ovarios y esqueleto desciende en condiciones de carencia pero no son muy útiles como técnica diagnóstica, aunque serían buenos indicadores de el estatus del animal.

II.2.7.2.4. ANÁLISIS DE PELO

Hay una correlación entre la ingesta de manganeso y su concentración en el pelo, utilizándose generalmente como indicador del estatus de manganeso, aunque se debe tomar con ciertas precauciones debido a la gran contaminación ambiental que puede tener en manganeso (Hurley y Keen, 1987).

En vacas alimentadas con dietas normales en manganeso, el nivel de este en pelo disminuye durante la gestación (Blood y Radostits, 1992).

II.2.7.3. DIAGNÓSTICO TERAPÉUTICO

Para Underwood (1983) la respuesta a la suplementación en animales sospechosos constituye el mejor método y más fiable de diagnóstico.

II.2.8. PROFILAXIS DE LA CARENCIA DE MANGANESO

La prevención suele realizarse de dos formas, bien actuando sobre el animal suplementando su dieta con manganeso o bien sobre los suelos y pastos, fertilizándolos.

II.2.8.1. ACTUACIÓN SOBRE EL ANIMAL

Hidiroglou (1980) recomienda que en vacuno joven se suplemente 2 g. diarios de sulfato de manganeso en zonas donde se sospeche que los pastos son deficientes en dicho mineral, aunque se puede elevar la dosificación pues el margen de seguridad con respecto con el nivel tóxico es muy amplio, así Wilson (1965) ha recomendado niveles de 15 g. diarios, pero no es muy aconsejable valores demasiado elevados porque pueden interferir la absorción de otros minerales, como el cobalto. Underwood (1983) recomienda suplementar a vacas lecheras en producción con 4 g/día de sulfato de manganeso, en novillas 2g/día y en terneros 1

g/día, y que estos niveles de manganeso sean utilizados como profilácticos y también como curativos de la carencia.

II.2.8.2. ACTUACIÓN SOBRE SUELOS Y PASTOS

En un estudio clásico sobre los niveles de manganeso en suelos y su relación con la infertilidad bovina, Wilson (1966) postulaba que con valores superiores a 3 mg./Kg los índices reproductivos eran normales.

Desde luego nos vamos a encontrar tres tipos de suelo en los cuales se desarrolla la deficiencia en manganeso (Blood y Radostits, 1992):

1.- Suelos con niveles bajos en manganeso.

2.- Suelos arenosos con una biodisponibilidad reducida, al tener un pH cercano a 6.

3.- Suelos ricos en calcio, bien porque son ricos "per se" o como consecuencia de un abonado cálcico, que actúan disminuyendo la biodisponibilidad del manganeso a utilizar por las plantas.

Grashuis(1965) recomienda el abonado con sulfato de manganeso a unos niveles de 15 Kg./Ha. Generalmente los tratamientos mediante fertilización o abonado de los suelos, son bastante efectivos pero muy poco utilizados.

II.2.9. TOXICIDAD POR MANGANESO

Dentro de los oligoelementos esenciales el manganeso es de los considerados potencialmente menos tóxicos, junto con el hierro y el cinc, tanto para aves como mamíferos, así los terneros con niveles superiores a 1000 ppm de manganeso en la dieta no ponen en evidencia ninguna alteración metabólica (Hurley y Keen, 1987), igualmente el ganado ovino y vacuno adulto aguantan esas concentraciones de manganeso, si el resto de la dieta esta correctamente balanceada.

En los animales domésticos, la lesión bioquímica asociada a la toxicosis producida por manganeso es una inducción a la deficiencia en hierro por el efecto inhibitorio del manganeso en la absorción del hierro (Matrone y col, 1959).

En los niveles cercanos a los 2000 ppm de manganeso se aumenta la excreción fecal del calcio y del fósforo (Keen y Graham, 1989).

Los procesos patológicos descritos cuando ocurre una toxicosis de manganeso en los rumiantes son la reducción en el crecimiento, en el consumo de pienso y en la disminución en el índice de conversión del pienso (Church, 1993).

En humanos se ha demostrado una toxicosis por manganeso que se denomina manganimismo o locura mangánica, localizándose dichos procesos en zonas muy contaminadas con manganeso como pueden ser las minas de dicho mineral o fábricas con una gran emisión en manganeso.

Los individuos afectados después de meses o de incluso años de inhalar el manganeso de la atmósfera presentan desórdenes psíquicos, con fallos en la memoria, desorientación, alucinaciones, etc, pudiendo remitir si cesa la exposición y llegando a una recuperación sin secuelas, no obstante si persiste pueden desembocar en síntomas muy parecidos a la enfermedad de Parkinson (Keen y Lacey, 1987; Cano y col, 1996).

II.3. CINC

II.3.1. METABOLISMO

II.3.1.1. ABSORCIÓN

El cinc se absorbe en el abomaso (35% del total), en el intestino delgado (60%) y en el ciego (5%) del ganado vacuno (Miller y Cragle, 1965; Miller, 1970; Underwood, 1977).

En el enterocito encontraremos el cinc ligado a la metalotioneína y a otras proteínas de alto peso molecular (Keen y Graham, 1989). En rumiantes esta relación cinc-metalotioneína esta relacionada con la cantidad de este oligoelemento que se absorbe, y cuando se inhibe la síntesis de metalotioneína, se deprime la absorción de cinc (Whanger y col, 1981).

La concentración del cinc en la dieta, es el factor que más influye, en el porcentaje de cinc absorbido (Miller, 1979; Favier, 1990), de tal manera que cuanto menor es la cantidad de cinc en el alimento, más se incrementa el porcentaje de cinc absorbido (Neathery y col, 1973b); en vacuno el 80% de cinc es absorbido cuando sus niveles son bajos (Miller, 1970).

La cantidad de cinc que se absorbe disminuye con la edad (Favier, 1990), en terneros de una semana se absorbe el 55% del cinc que se ingiere, en novillas de 5-12 meses es el 20% y en vacuno adulto es del 12 % (Miller y Cragle, 1965).

La absorción aumenta en los animales gestantes (Favier, 1990), creándose un excedente de cinc, que se utilizará en la lactación (Kirchgessner y col, 1993).

En animales deficientes, cuando los tejidos se encuentran en franca necesidad, se absorbe y se retiene más cinc (Church y col, 1974).

En estados carenciales parece existir un proceso de adaptación metabólica, aumentando la absorción, movilizand las reservas corporales y disminuyendo la excreción (Reichmayr y Kirchgessner, 1988).

Se ha demostrado en vacas lecheras de alta producción una paraqueratosis hereditaria ligada a un gen recesivo, que se denomina factor letal A46, y se señala que el daño producido por este factor letal es la alteración del mecanismo de absorción de cinc deprimiéndolo y generando un síndrome de malabsorción de cinc (Andresen y col, 1974; Flagstad, 1976).

El fitato (hexafosfato de mioinositol) presente en las plantas, puede inhibir significativamente la absorción de cinc formando complejos insolubles e induciendo procesos deficitarios (Reinhold y col, 1973).

El plomo disminuye la absorción del cinc (White y col, 1985).

II.3.1.2. TRANSPORTE Y DISTRIBUCIÓN

El cinc absorbido es transportado al hígado mediante la transferrina (Evans, 1976). Siendo dicha víscera el órgano más importante ligado al metabolismo del cinc.

Desde el hígado es distribuido el cinc a los distintos órganos y tejidos. El cinc que se une a los huesos y el que se fija al sistema nervioso central puede ser almacenado durante largos períodos de tiempo, sin embargo el fijado al pelo, no se encuentra disponible por los tejidos. Los órganos de más rápida acumulación y recambio de cinc en rumiantes son el hígado, el páncreas, el riñón y el bazo (Underwood, 1977b).

II.3.1.3. EXCRECIÓN

En rumiantes la excreción intestinal regula la homeóstasis del cinc (Miller y col, 1966b). Haenlein(1980) comprobó que la excreción de cinc por las heces era un 88% de la cantidad administrada. El cinc excretado por esta vía proviene del cinc no absorbido por la mucosa intestinal, del eliminado por el jugo pancreático, de la bilis y de la descamación del intestino delgado (Miller, 1970; Hays y Swenson, 1973).

La excreción fecal en vacas que consumían una dieta baja en este elemento era menor que en animales que recibían una cantidad adecuada del mismo (Neathery y col, 1973b).

En heces se establecen concentraciones de 250-310 $\mu\text{g/g}$ MS (Stöber, 1983). White y col(1985) obtuvieron una media de $213 \pm 11,3$ ppm.

El nivel de cinc de la dieta no afecta la excreción urinaria en los animales con un estado fisiológico normal (Miller y col, 1966), la eliminación por la orina representa un 0,2% del cinc administrado diariamente (Miller y Cragle, 1965). En caso de estrés disminuye la excreción de cinc como consecuencia del incremento de la síntesis de metalotioneína en el riñón (Nockels y col, 1993).

II.3.2. CONCENTRACIÓN DE CINC EN TEJIDOS Y LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

En la especie humana, el cinc es un elemento intracelular y solo el 0,01-0,02% del contenido corporal circula en el plasma unido a proteínas y principalmente a la albúmina (Thompson, 1991). El cinc del músculo esquelético representa el 60% del contenido total del organismo, mientras que en el hueso se acumula un 30%. En animales se encuentran las concentraciones más elevadas en el pelo, lana y plumas (Underwood, 1977; Alonso de Vega, 1984; Rejas López, 1990), al igual que en ojos, testículos, próstata, hígado y páncreas (Kirchgesner y col, 1993).

En el ganado vacuno la mayor concentración se encuentra en el páncreas, seguido del hígado, glándula pituitaria, riñones y glándulas adrenales (Church y col, 1974).

El cinc es acumulado en un porcentaje bajo, de tal manera que, la cantidad disponible en situación de carencia es muy pequeña (Stöber, 1983).

II.3.2.1. SANGRE

En la especie humana los eritrocitos contienen una cantidad muy importante de este oligoelemento, relacionada con la anhidrasa carbónica (Thompson, 1991). Se ha puesto de manifiesto la existencia de una mayor concentración de cinc en el suero, un 16% más que en el plasma, probablemente debido a la destrucción de elementos celulares que liberan cinc durante el proceso de la coagulación sanguínea.

En ganado vacuno los niveles normales de cinc en plasma están comprendidos entre 0,8-1,2 mg/l (0,8-1,2 ppm), situándose el límite de carencia en 0,7mg/l (0,7 ppm) (Stöber, 1983; Lamand, 1987). En bovinos adultos, Sawadogo y col(1988) dan un valor medio de $0,93 \pm 0,02$ mg/l ($0,93 \pm 0,02$ ppm), encontrando Spais y Papasteriadis (1974) manifestaciones clínicas ligeras con una concentración de cinc en plasma comprendida entre 60-100 mg/100ml (0,6-1 ppm), concluyendo estos autores que niveles inferiores a 100 mg/100ml (1 ppm) de cinc en plasma se encuentran por debajo del límite considerado como normal. Ghosal y Mathur (1992) estiman que una concentración de 40 mg/100ml (0,4 ppm) en suero es indicativo de una subcarencia en cinc.

En la especie bovina la concentración plasmática se reduce con la edad (Friot y Calvet, 1973; Sawadogo y col, 1988).

La cincemia en ganado vacuno empieza a caer pocos días después de la administración continuada de una dieta deficiente en cinc (Miller y Miller, 1960; Wittwer, 1990).

En el ganado vacuno y en las proximidades del parto el contenido en cinc plasmático disminuye, sobre todo en aquellos animales que sufren distocia (Underwood, 1977; Hidiro-

glou, 1979) estos cambios se asocian por un lado con un incremento de las prostaglandinas antes del parto, que facilitarían el transporte del cinc (Hidiroglou, 1979), y por otro al estrés sufrido durante el parto, que determinaría un incremento de la acumulación de cinc en el hígado (Xin y col, 1993), elevándose la cincemia una vez que se ha producido el mismo (Duffy y col, 1977; Lavín y col, 1988).

La disminución de la concentración plasmática de cinc se asocia con el comienzo y curso de muchas enfermedades (Corrigall y col, 1976; Gerald y Fisher, 1977; Lamand y Le- vieux, 1981) y durante el estrés (Underwood, 1977b; Goff y Stabel, 1990).

En el ganado vacuno afectado por la enfermedad de Johne, los niveles de cinc en suero disminuyen, debido al secuestro de este elemento por el hígado (Embury y Lepper, 1984).

II.3.2.2. PELO

El contenido de cinc en el pelo bovino es bastante homogéneo oscilando entre valores de 100 y 200 mg/g MS (100-200 µg/g MS)(Hall y col, 1971; Nougues y Lamand, 1972; Underwood, 1977b). Stöber (1983) sitúa el nivel de cinc en pelo entre 90-140 µg/g MS.

El incremento de cinc en la dieta se manifiesta por un aumento de la concentración del cinc en el pelo (Miller y col, 1965b; Hidiroglou y Spurr, 1975) .

Se han observado niveles de cinc en pelo de bovinos más bajos en invierno que en verano (Hidiroglou y Spurr, 1975; Underwood, 1977b) probablemente debido a los bajos niveles de cinc existentes en la hierba en invierno (Tokarnia y col, 1988).

II.3.2.3. LECHE

La concentración de cinc en la leche se ve afectada por la especie, estado de lactación y cantidad de cinc en la dieta (Murphy y col, 1972; Underwood, 1983a; Flynn, 1992).

Los valores normales en ganado vacuno oscilan entre 2-6 mg/ml (Parkash y Jenness, 1967; Underwood, 1977b; Wittwer y col, 1988). Wiesner (1968) encuentra en leche de vaca un contenido medio de 3,32 mg Zn/L (3,32 ppm).

El nivel de cinc en la dieta no afecta significativamente a la producción de leche en el ganado vacuno (Miller y col, 1965b; Neathery y col, 1973a).La suplementación con cinc aumentaba el contenido del mismo en la leche, hasta un nivel determinado, a partir del cual se estabiliza (Flynn, 1992).

La leche procedente de cuarterones con mamitis tiene valores más bajos en cinc que la leche normal (Verheijden y col, 1983).

En todas las especies el calostro es de 3 a 4 veces más rico en cinc que la leche normal (Underwood, 1977; Stöber, 1983; Rosero y col, 1984) lo que puede ser debido a la descarga de glucocorticoides que tiene lugar antes del parto, estos pueden facilitar el paso del cinc, a través de la glándula mamaria (Vaillancourt y Allen, 1990). En calostro de vaca se citan valores de 14-20 ppm (Stöber, 1983).

II.3.2.4. HÍGADO

En el hepatocito el mayor porcentaje del cinc se encuentra unido a la metalotioneína (Whanger y col, 1981). La concentración hepática varía según el nivel de cinc presente en la dieta, teniendo una correlación directa (Miller y col, 1971; Zhang y col, 1995) y los bajos niveles en la ingesta producen una disminución en la concentración de cinc en el hígado (Norheim y Bjorland, 1981; Alonso de Vega, 1984; Rejas López, 1990).

Hellesnes y col (1975) cita valores de cinc en el hígado de 98-427 $\mu\text{g/g MS}$.

II.3.2.5. OTROS ÓRGANOS

Las concentraciones más altas de cinc en tejidos se encuentran en el ojo, así en iris y coroides de bovinos, Underwood (1977b) establece valores de 246 y 139 $\mu\text{g/g MS}$ respectivamente.

Hellesnes y col (1975) encontraron en riñón de vacuno una concentración de cinc entre 80 y 248 $\mu\text{g/g MS}$ y en el músculo entre 110 y 552 $\mu\text{g/g MS}$.

Norheim y Bjorland (1981) citan concentraciones de cinc en páncreas de ganado vacuno que oscilan entre 18-51 mg/g MS (18-51 $\mu\text{g/g MS}$).

Fidalgo y col (1988) encuentran una diferencia altamente significativa, entre la concentración de cinc, en el cotiledón de vacas con retención placentaria (2,58 ppm) y en el de vacas que no presentaban este proceso (3,42 ppm), lo cual hace pensar que a nivel de la placenta, el cinc puede considerarse un factor importante en el proceso de secundinización.

Una vez que el cinc se une al hueso, no se encuentra disponible de una forma inmediata. En el ganado vacuno los niveles de cinc en el hueso van disminuyendo con la edad (Hidiroglou, 1980).

White y col (1985) establecen valores de cinc en diversos órganos de ganado vacuno, en ppm: en el páncreas 106,8; en el hígado, 97,8; en el bazo, 77,3; en el corazón, 71,2; en los testículos, 66,1; en el riñón, 53,0 en el músculo, 45,8; en la tibia, 33,6; en el cerebro, 32,3; en la orina, 1,3; en la bilis, 1,1.

II.3.3. PAPEL METABÓLICO DEL CINC

II.3.3.1. METABOLISMO PROTEICO

Estudios *in vitro* muestran que la integridad y estabilidad de los ribosomas dependen de la presencia de cinc (Chvapil, 1973; Keen y Graham, 1989; Mc Dowell y col, 1993), así como, la estabilidad del ARN y las proteínas (Jungermann y Möhler, 1984).

El cinc juega un papel importante en la síntesis proteica y en el metabolismo de carbohidratos y ácidos nucleicos (Wiesner, 1968; Church y col, 1974). Se ha identificado como componente estructural o catalítico de más de 200 enzimas, entre las que destaca la anhidrasa carbónica, la superóxido dismutasa, la fosfatasa alcalina, y otras más (Kirchgessner y col, 1993), disminuyendo la actividad de las mismas cuando hay una deficiencia de cinc, lo cual se atribuye a la disminución de la concentración de estas enzimas y también a la imposibilidad de poder mantener su integridad estructural si la carencia es importante (Kfoury y col, 1968). La carencia provoca el bloqueo de la ADN polimerasa dando lugar a una inhibición de la multiplicación celular y de la síntesis proteica, poniéndose de manifiesto principalmente a nivel de la piel (Lamand, 1979), provocando envejecimiento cutáneo (Favier, 1990).

Para Hays y Swenson (1977) el cinc forma parte de un sistema enzimático necesario para la síntesis de ácido ribonucleico, el cual se encuentra presente en el citoplasma, en los nucleolos y en los cromosomas de los núcleos, siendo por tanto necesario para el crecimiento de células germinales y somáticas.

II.3.3.2. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

El cinc como otros oligoelementos es constituyente indispensable de enzimas que aseguran el funcionamiento metabólico del ser vivo, por lo cual, una deficiencia se traduce en una ralentización de las vías metabólicas (Sauvant y Lautie, 1975).

II.3.3.2.1. FOSFATASA ALCALINA

Esta enzima tiene cuatro átomos de cinc por molécula, de los cuales dos son necesarios para mantener la estructura terciaria de la enzima y otros dos desempeñan un papel catalítico (Kirchgessner y col, 1993), papel que se ve reducido en caso de deficiencia de cinc (Blackmon y col, 1967).

Se ha evidenciado en ganado ovino, una reducción de la actividad fosfatasa alcalina relacionada con la disminución de los niveles de cinc en el alimento (Alonso de Vega, 1984). Observándose, el aumento de su actividad tras suplementar la dieta con cinc en vacas (Haaranen, 1962; Underwood, 1977b). Otros investigadores no relacionan la dieta con la actividad

de esta enzima (Lamand y col, 1983), posiblemente porque cuando se determina su actividad, todavía no ha reaccionado a la administración del alimento.

II.3.3.2.2.ANHIDRASA CARBÓNICA

La anhidrasa carbónica se encuentra presente en los eritrocitos, en túbulos renales, en la mucosa gastrointestinal y en el epitelio glandular. En los eritrocitos actúa combinando el dióxido de carbono y el agua, para liberar posteriormente el dióxido de carbono a la sangre capilar pulmonar de los alvéolos, basándose estos cambios en la diferencia de presión del dióxido de carbono (Hays y Swenson, 1977).

El cinc que actúa como cofactor de la anhidrasa carbónica (Hidiroglou, 1979), tiene una función catalítica sobre ella y su contenido es, de un átomo de cinc por molécula de enzima (Kirchgessner y col, 1993).

Se ha obtenido una reducción experimental de esta actividad enzimática en terneros, que consumieron una dieta deficiente en cinc (Miller y Miller, 1960; Church y col, 1974).

II.3.3.2.3.METALOTIONEÍNA

Parece ser que la metalotioneína actúa secuestrando concentraciones potencialmente tóxicas de cinc y que la producción de esta proteína es la respuesta natural al incremento de la concentración intracelular de cinc (Bremner, 1990).

La síntesis de la metalotioneína en el hígado esta influida por la cantidad de cinc contenida en la dieta, y por factores hormonales, como glucocorticoides, glucagón y la norepinefrina (Keen y Graham, 1989).

II.3.3.2.4.COLAGENASA

La colagenasa es una metaloenzima que contiene cinc y es esencial para la resorción y remodelado óseo, y en el caso de una deficiencia en cinc, su actividad disminuye (Beattie y Avenell, 1992).

II.3.3.3.PROTECCIÓN DE MEMBRANAS

Algunos de los problemas patológicos relacionados con la deficiencia en cinc son consecuencia directa de la reducción del contenido del elemento en las membranas biológicas y es una de las lesiones bioquímicas mas tempranas asociada a esta carencia (Keen y Graham, 1989).

II.3.4.FACTORES ALIMENTARIOS QUE INFLUYEN SOBRE LA UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINC

Se ha demostrado un antagonismo entre el cinc y el cobre al ser administrados conjuntamente en la dieta (Cox y Harris, 1960; Pocino y col, 1990), esto es debido a que el cobre compite con el cinc saturando la metalotioneína en la célula intestinal (Lamand, 1991).

El exceso de cinc determina una disminución del almacenamiento del hierro en el hígado, debido a una competición por la transferrina sanguínea, que además de hierro transporta cinc (Kirchgessner y col, 1982).

A la hora de evaluar la interrelación entre el cinc y el cadmio, los estudios realizados no se ponen de acuerdo si hay una auténtica competencia por los lugares de unión intestinales, o sí el cadmio induce trastornos patológicos que alteran el metabolismo del cinc (Miller y col, 1967; Powell y col, 1967; Sahagian, 1967).

White y col (1985) observaron en terneros alimentados con una dieta a la que se había añadido plomo, que la absorción de cinc se reducía ligeramente, y no había un efecto significativo sobre la cincemia, asimismo se ha hallado una disminución significativa de la concentración de cinc pancreático en terneros alimentados con 500 ppm de plomo.

En rumiantes se ha comprobado que el calcio disminuye la absorción de cinc (Lamand y col, 1986; Lamand, 1990).

La ingestión de bajas cantidades de calcio puede disminuir el efecto de la deficiencia de cinc, debido a la movilización del cinc desde el esqueleto que se produce durante la resorción ósea (Underwood, 1977b).

El ácido fólico interfiere la absorción intestinal de cinc en monogástricos, pero no en rumiantes (Kincaid, 1979; Lamand, 1991).

Se ha comprobado que la administración en bovinos de una dieta con 1,15% de magnesio reduce la excreción de cinc, produciendo un aumento de la retención hepática y del intestino grueso, elevándose también el cinc estable en hígado y en riñones, por lo cual se ha inferido que el efecto de altas concentraciones de magnesio en la dieta sobre el metabolismo del cinc parece ser sistémico. Pero la disminución del apetito y la diarrea observados al añadir niveles altos de magnesio en la dieta, demuestran que el magnesio administrado a dichas concentraciones es tóxico (Quillian y col, 1980).

Becker y Hoekstra (1966) creen que la suplementación con vitamina D estimula la calcificación y aumenta el crecimiento del hueso, incrementando las necesidades de cinc en el animal.

II.3.5. NECESIDADES DE CINCO

Las necesidades mínimas de cinc son difíciles de establecer pues dependen de múltiples factores como son la edad, la especie, la raza, el estado fisiológico y la temperatura ambiental, ya que cuando esta es elevada, se produce una eliminación del cinc por el sudor, así como la actividad funcional, la composición de la dieta y particularmente la cantidad de algunos componentes orgánicos e inorgánicos que afectan a la absorción y a la utilización del cinc, como es el calcio (Blackmon y col, 1967; Darmono y col, 1988).

Se ha observado que los bovinos de nueve meses de edad no necesitan más de 8,6 µg/g MS de cinc para un normal crecimiento (Miller y col, 1963a). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por otros investigadores, según los cuales bajo determinadas condiciones, una concentración de cinc en la dieta de 8-9 µg/g MS es adecuada para el engorde de terneros y 10-14 µg/g MS eran suficientes para mantener la cincemia (Underwood, 1977b). Sin embargo se han observado signos de deficiencia en bovinos mantenidos en pastos que contenían 18-42 µg/g MS (Legg y Sears, 1960) y entre 20-30 µg/g MS (Spais y Papasteriadis, 1974), asimismo toros jóvenes que recibían una dieta que contenía entre 30 y 50 µg/g MS de cinc desarrollaban pododermatitis infecciosa, que respondía al tratamiento con cinc (Demertzis y Mills, 1973).

Por otro lado investigaciones realizadas en vacas indican que 44 ppm aumentan la cantidad de cinc en la sangre y leche, pero no influyen en la mejora de la producción (Church y col, 1974).

Los bovinos jóvenes en crecimiento y en los machos presentan en general mayores necesidades (Blackmon y col, 1967). El NRC (1989) sitúan las necesidades de cinc para ganado vacuno de leche en 40 µg/g MS mientras que McDowell y col (1993) cifran las necesidades para vacuno de carne entre 20-30 µg/g MS. En general la gran mayoría de los investigadores aconsejan un aporte de 45-50 µg/g MS para rumiantes.

II.3.5.1.LIMITE DE TOXICIDAD

El límite de toxicidad en rumiantes se sitúa entre 250 µg/g MS (Lamand, 1990) y 500 µg/g MS (Paulais, 1978), señalando el NRC (1980) márgenes más amplios entre 500 y 1500 µg/g MS.

Miller y col(1993) observaron en vacas lecheras que toleraban 1300 µg/g MS de cinc sin disminución de la producción.

Jenkins e Hidioglou (1991) administraron distintas cantidades de cinc a terneros no destetados, observando que con 500 ppm no se afectaba la ganancia de peso ni se reducía la

ingestión de alimento y la eficacia de utilización del mismo, mientras que con 700 ppm todas estas características de producción se reducían. La menor ganancia de peso se relaciona con una menor digestibilidad del nitrógeno con este nivel de cinc.

II.3.6. ESTUDIO CLÍNICO DE LA CARENCIA DE CINCO EN BOVINOS

La deficiencia de cinc se caracteriza en todas las especies por inapetencia, retraso o interrupción del crecimiento (ligado a la reducción del consumo de pienso y peor aprovechamiento del mismo), lesiones en los tegumentos y de sus producciones (pelo, lana y plumas); además pueden padecer efectos adversos en la espermatogénesis y en el desarrollo de los órganos sexuales del macho y en todas las fases del proceso reproductivo de la hembra, desde el celo hasta el parto y la lactación (Lamand, 1970; Richet, 1972b; Underwood, 1983a; Carcagno y col, 1988; Keen y Graham, 1989; White y col, 1994). Los niveles de cinc plasmático descienden rápidamente en casos de dieta deficiente, pero la aparición de signos clínicos sobre todo en rumiantes no se realiza hasta que se prolonga durante varias semanas (García Partida y col, 1985; Carcagno y col, 1988).

La naturaleza y severidad de las manifestaciones patológicas y clínicas de la deficiencia varían con el grado de la misma, edad del animal, sexo y especie (Underwood, 1966; Kirchgessner y Roth, 1975). Son más intensas en los jóvenes que en adultos (Lamand, 1991; Kirchgessner y col, 1993).

La utilización de dietas semisintéticas con bajo contenido de cinc ha servido para reproducir experimentalmente la deficiencia, tanto en terneros como en animales adultos (Miller y Miller, 1960; Pitts y col, 1966; Lamand y col, 1983; Alonso de Vega, 1985; Rejas López, 1990).

En los rumiantes adultos se resumen estas manifestaciones patológicas (Lamand, 1970; Paulais, 1978; Riffard, 1989b) en: inapetencia, disminución en la producción de leche, caquexia, defectos de aplomo, cojeras, pelos quebradizos, alopecias, dermatitis, infecundidad y deformación de las pezuñas. En terneros se manifiesta por un crecimiento subnormal, alopecia, paraqueratosis, particularmente en hocico, cuello, orejas, escroto y parte posterior de las extremidades traseras, arqueamiento de las extremidades posteriores, rigidez articular y tumefacción de tarsos (Miller y Miller, 1962).

Las anomalías funcionales y estructurales de la deficiencia de cinc que se acaban de describir, van asociadas a diversos cambios bioquímicos en sangre y tejidos, descendiendo la concentración de cinc en hígado, riñón, corazón, hueso y músculo y un descenso más intenso en plasma, así mismo las heridas tendrán más dificultades para la cicatrización (McDowell, 1993).

La paraqueratosis es la lesión más característica de la carencia de cinc (Miller y Miller, 1960). Se caracteriza principalmente por una reducción del número de células en el estrato granuloso y acantosis, retención de núcleos y aparición de edema en estos tejidos. Las papilas del rumen muestran excesivo crecimiento y moderada formación de queratina (Miller y col, 1964; Spais y Papasteradis, 1974).

En bovinos se han descrito paraqueratosis con espesamiento de la piel y prurito alrededor de las pezuñas y en los talones, pudiéndose extender a los corvejones y también entre las extremidades (Wiesner, 1968; Lamand, 1979; Smart y col, 1981), con grietas interdigitales, con exudado seroso y necrosis de los tejidos circundantes (Demertzis y Mills, 1973), así como dermatosis de la base de la ubre (Smart y col, 1981).

También se han descrito gingivitis y úlceras en la mucosa bucal (Alonso de Vega, 1984; Nelson y col.1984).

Entre los trastornos de la osificación destacan la hipertrofia del alvéolo dentario, edema de corvejones y arqueamiento de los miembros posteriores (Miller y Miller, 1960; Lamand, 1970), andar rígido y malformaciones en el paladar (Keen y Graham, 1989).

Carcagno y col (1988a) demostraron en un trabajo en vacuno la asociación de bajos niveles plasmáticos de cinc con distintos grados de lesión ocular y la mejoría de algunos síntomas tras la aplicación de preparados inyectables con cinc.

La inducción de una deficiencia de cinc en pollos provoca una involución del número de células linfoides en el timo, en la bolsa de Fabrizio y en el bazo (Rejas López, 1990). La atrofia tímica y la depresión inmunológica, que es típica de la paraqueratosis hereditaria, se ha descrito en el ganado vacuno desde el año 1951 (McPherson y col, 1964).

II.3.7. DIAGNOSTICO DE LA CARENCIA DE CINC

El diagnóstico de la deficiencia en cinc debe basarse en la realización de una historia clínica completa, evaluando los animales implicados, el alimento y el agua de bebida que ingieren, el estudio de sangre y tejidos, y no será adecuado si se basa en la determinación de uno solo de estos parámetros (Smart y col, 1981).

II.3.7.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La presencia de lesiones de paraqueratosis, así como alopecias deben de hacernos pensar en una posible carencia de este elemento (Selze, 1971).

La forma grave de la deficiencia se puede diagnosticar con facilidad en animales (Underwood, 1983a), pero es más frecuente la presencia de estados subcarenciales.

En terneros se puede establecer una triada de signos clínicos para elaborar un diagnóstico como es la detención del crecimiento, alteraciones cutáneas y síndrome de inmunodeficiencia (García Partida, 1995).

II.3.7.2. DIAGNÓSTICO ANALÍTICO

II.3.7.2.1. ANÁLISIS DEL ALIMENTO

En primer lugar debemos saber si el alimento que aportamos contiene la cantidad de cinc necesario para las necesidades del animal, aunque existen factores como la fuente de cinc y el contenido de calcio que pueden modificar la absorción del cinc por el animal (Underwood, 1983a). En condiciones experimentales hay correlación directa entre el cinc sérico y el cinc de la dieta. Reuter (1987) defiende que la determinación del elemento en la dieta no tiene sensibilidad suficiente para diagnosticar el estado de cinc del animal, sin embargo, la combinación de la concentración del cinc en el alimento y en el plasma constituyen un buen indicador del estatus de cinc en el animal (McDowell y col, 1993).

II.3.7.2.2. ANÁLISIS DE SANGRE

La determinación del nivel de cinc en el plasma resulta interesante para diagnosticar una deficiencia ya que la modificación es rápida tras administrar una dieta carente (Lamand, 1979; Alonso de Vega, 1984; Rejas López, 1990).

II.3.7.2.3. ANÁLISIS DE TEJIDOS

La determinación de cinc en el pelo como único método de diagnóstico de un estado deficiente no es un indicador preciso (Combs y col, 1982), el contenido de cinc en el pelo no puede ser utilizado para determinar el estatus actual, pero si aporta conocimiento e información retrospectiva (Carcagno y col, 1993).

Es posible que el contenido de cinc en las heces, tenga interés para diagnosticar la deficiencia (Lamand, 1971). Se ha visto en terneros que en caso de carencia se reducía la excreción fecal endógena (Miller y col, 1968a).

II.3.7.3. DIAGNÓSTICO TERAPÉUTICO

Este diagnóstico constituye el elemento decisivo y por el momento la prueba mas sensible, la supresión de los síntomas por la administración de cinc es una prueba suficiente para admitir la carencia, pero este diagnóstico tiene que incluir la existencia de un grupo de animales no tratados (Lamand, 1971; Kirchgessner y Schwarz, 1982). Para Darmono y col

(1988) y Thompson (1991) este método constituye la mejor prueba para detectar la deficiencia, sin embargo, este tipo de estudios resulta costoso en cuanto a tiempo y recursos si son realizados con los controles y evaluaciones adecuados (McDowell y col, 1993).

Para Stöber (1983) la comprobación histológica de las modificaciones cutáneas de parakeratosis y su rápida curación con una dieta suplementada es signo de un diagnóstico certero.

II.3.8. PROFILAXIS DE LA CARENCIA DE CINCO

El cinc debe de estar presente en la dieta de todos los animales domésticos. Los bovinos tienen una capacidad limitada para almacenar este elemento, por lo que se debe de administrar continuamente (Carcagno y col 1988b; McDowell y col, 1993). En países donde la deficiencia de cinc es prácticamente generalizada, como Francia, debe de realizarse una profilaxis sistemática (Bellanger y col, 1973).

II.3.8.1. ACTUACIÓN SOBRE EL ANIMAL

En animales mantenidos en pastoreo se puede prevenir la deficiencia de cinc aportando sales para lamer que contengan 1-2% de cinc (Underwood y Somers, 1969). Este tipo de compuestos suelen contener entre un 30-40% de sal común, lo cual estimula su consumo debido a su palatabilidad (McDowell y col, 1993).

Este método solo se considera adecuado para animales en pastoreo, puesto que los animales en estabulación que reciben concentrados suelen tener una suplementación. Según Blood y col (1986) 200 grs de sulfato o carbonato de cinc a cada tonelada de alimento resulta eficaz como método preventivo de la deficiencia.

No se encontraron diferencias en la biodisponibilidad del cinc en cuatro fuentes inorgánicas (cloruro, sulfato, óxido y carbonato) administrando a terneros de 9 semanas, siendo mayor la respuesta cuando el nivel de cinc en el plasma era bajo (Kincaid, 1979). Tampoco Spears (1989) encontró diferencias en la biodisponibilidad del cinc entre el metionato y el óxido de cinc, sin embargo, la retención era más alta en el primer caso, detectándose en este grupo, una absorción de forma similar pero se metaboliza de forma diferente después de la absorción. Se ha demostrado un efecto beneficioso cuando se suplementaba con sulfato de cinc la dieta de corderos con pederero (Cross y Parker, 1981).

II.3.8.2. ACTUACIÓN SOBRE EL SUELO

El tratamiento de los suelos con fertilizantes que contienen cinc, determina generalmente un incremento importante en la concentración del cinc en forrajes y cereales

(McDowell y col, 1993). La cantidad necesaria de cinc para este propósito varía, según los factores medio ambientales, aunque en suelos deficientes en este elemento la aplicación de 5-7 Kg/Ha de sulfato de cinc cada 2-3 años es suficiente para mantener la concentración del cinc en el forraje (Underwood, 1977b).

II.3.9. TOXICIDAD POR CINC

Las interacciones con calcio, cobre, hierro y cadmio hacen variar también los valores de toxicidad, al variar los procesos de absorción y utilización del cinc.

Los bovinos y los ovinos son poco tolerantes a altos niveles de cinc en la dieta, ya que estos modifican el metabolismo del rumen provocando una reducción de la concentración de ácidos grasos volátiles y el cociente ácido acético/propiónico (McDowell y col, 1993).

Jenkins e Hidioglou (1991) sitúan el límite de toxicidad de cinc para ganado bovino y ovino en 700 µg/g MS y los signos clínicos observados en estos animales son: poliuria, diarrea amarilla-verdosa y apatía; también se ha encontrado una reducción de la ingestión de alimento en ovejas intoxicadas con cinc (Allen y col, 1986).

En terneros los signos clínicos encontrados en la intoxicación por cinc son: polifagia, diarrea, poliuria, polidipsia, relacionados estos dos últimos mediante estudios histopatológicos con una alteración temprana del tejido renal. En la mitad de los animales se ha encontrado arritmia cardíaca, pica, exoftalmia, excesiva pérdida de pelo (Graham y col, 1987), vómitos y convulsiones (Wiessner, 1968).

II.4. SELENIO

II.4.1. METABOLISMO

II.4.1.1. ABSORCIÓN

El lugar en el cual se produce la absorción del selenio en los mamíferos, se localiza por lo general en el intestino delgado, en el ganado vacuno se produce principalmente en el duodeno (Kaneko, 1989).

Según Aspila (1991) la absorción digestiva es idéntica, independientemente de la fuente de selenio, absorbiéndose alrededor del 64% del selenio ingerido.

Las investigaciones sobre el mecanismo de absorción del selenio se han realizado fundamentalmente en animales de experimentación, demostrándose que la selenometionina es absorbida por un proceso de transporte activo ligado a la bomba de sodio y ATP, siendo idéntico al utilizado en la absorción de la metionina (McConnell y Cho, 1967).

El selenato es absorbido más rápidamente que el selenito, realizándose por un portador inespecífico dependiente también del sodio, potasio y ATPasa (Turner y col, 1990).

Los cationes divalentes como la plata (Rahim y col, 1986) y el Plomo (Mikkanen y Himaloja, 1984) disminuyen la absorción si se administran junto con el selenio en la dieta, no encontrándose variación en la absorción si su administración es realizada por separado.

El cobre (Rahim y col, 1986), el hierro, el cadmio, el molibdeno, el manganeso y el cobalto (Van Ryssen y col, 1987) no parecen afectar la absorción del selenio.

La vitamina A y el ácido ascórbico parecen aumentar la absorción del selenio en pollos y ratas (Combs y Pesti, 1987), y los ionóforos, monensina y norensina, aumentan la absorción del selenio según estudios realizados en novillos de cebo (Costa y col, 1985).

La absorción en ovejas parece disminuir con la edad (Grace y Watkinson, 1988), al revés que en ratas (Rughib y col, 1986). En el ganado vacuno y en otros rumiantes se ha puesto en evidencia que una parte del selenio absorbido es excretado de nuevo al intestino (Symonds y col, 1981), principalmente por la bilis (Landglands y col, 1986).

En general podemos decir que la absorción del selenio en los rumiantes es de un 40% menor que en los monogástricos, presumiblemente por la reducción del selenito a formas de selenio insolubles en el rumen (Butler y Peterson, 1961).

II.4.1.2. TRANSPORTE Y DISTRIBUCIÓN

Después de la absorción hay una rápida distribución de los componentes hidrosolubles del selenio a través del plasma por todo el organismo. Hasta ahora no se ha podido identificar los agentes de transporte del selenio.

Motsenboker y Tappel (1982) encontraron en hígado y plasma de mono y rata, una proteína que contenía selenio y cisteína, de corta vida media, la llamaron selenio-proteína P, y podría identificarse como una proteína transportadora. Otros estudios parecen corroborar esta hipótesis (Motsenboker y Tappel, 1984; Beilstein y col, 1984; Gometz y Tappel, 1989).

El selenio tisular se almacena principalmente en forma de selenometionina y selenocisteína, incorporándose a los glóbulos rojos, leucocitos, mioglobina, nucleoproteínas y miosinas así como a diversos enzimas (Church y Pond, 1977).

El selenio localizado en los tejidos alcanza concentraciones relativamente altas, siendo máximas en riñón en la zona cortical (Ekholm y col, 1991). Se han encontrado diferencias en el almacenamiento en diversos tejidos, como respuesta a la suplementación siendo en el hígado y en el músculo donde se encuentra de manera más acusada (Benemariya y col, 1993).

II.4.1.3. EXCRECIÓN

La excreción del selenio se realiza fundamentalmente a través de la orina dependiendo del umbral renal (Burk y col, 1973; Robinson y col, 1985), y en circunstancias especiales de toxicidad puede eliminarse por vía pulmonar (Martin y col, 1972).

En los rumiantes la vía fecal es muy importante como vía excretora, representando del 8-17% en vacas (Symonds y col, 1981).

Diversos autores dan porcentajes muy variables de excreción por la leche, de un 7-15% del selenio total ingerido, no del realmente absorbido (Perry y col, 1977; Fisher y col, 1980; Mas y col, 1980; Debski y col, 1987).

El selenio es excretado por un proceso de metilación, como forma trimetilselenio (TMSe) y algo como dimetilselenio (DMSe), produciéndose la metilación en el hígado y en el riñón (Hsieh y Ganther, 1977).

El TMSe es diez veces menos tóxico que la selenocisteína, la selenio metionina o el selenio inorgánico, el TMSe es por lo tanto el metabolito normal por medio del cual se excreta el selenio al exterior (Obermeyer y col, 1971).

II.4.2. CONCENTRACIÓN DEL SELENIO EN TEJIDOS Y LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

II.4.2.1. DISTRIBUCIÓN DEL SELENIO EN EL ORGANISMO

El selenio se encuentra distribuido por todo el organismo, encontrándose las mayores concentraciones en el hígado y riñón (ver tabla 1), localizándose el 90% en la corteza renal y músculo esquelético, en el músculo se encuentra el 50% del selenio corporal.

Los valores sanguíneos de selenio tienen una correlación directa dependiente de la dieta, así encontraremos valores bajos de selenio, en la sangre de animales alimentados con dietas deficientes (Koller y Exon, 1986). La mayor parte del selenio se encuentra en el interior de los glóbulos rojos, formando parte de la GSH-Px, por este motivo el selenio medido en sangre entera difiere del medido en suero o en plasma, representando este valor un 25% menor, hecho que se debe tener en cuenta al analizar los valores de selenio.

Investigaciones recientes han confirmado la eficaz transferencia de selenio desde la placenta al feto, con una acumulación a nivel hepático, constituyendo de este modo el hígado fetal, el principal órgano de reserva de selenio después del nacimiento (Gooneratne y Christensen, 1989; Cappa, 1996). Blood y Radostits (1991) dan valores sanguíneos mayores en terneros (33-61 ng/ml) que en vacas (19-48 ng/ml).

Igualmente la transferencia de selenio a la glándula mamaria, al calostro en primera instancia y a la leche después, también se produce de una manera bastante eficaz (Conrad y col, 1979).

Tabla 1. Concentración de selenio en tejidos y líquidos biológicos de ganado vacuno

Líquido biológico/órgano	Valor ($\mu\text{g/ml}$)	Autor
Sangre	0.133 \pm 0.0010	Erskine y col(1987)
	>0.10	Koller y col(1984)
	0.10	Backal y Scholz(1979)
Suero	0.031 \pm 0.01	Genin y Wolter(1981)
	0.05-0.4	Olson(1978)
Hígado	0.33-0.52($\mu\text{g/g MS}$)	Hellesnes y col(1975)
	>0.012($\mu\text{g/g MS}$)	Gooneratne y Christessen(1989)
Cortex renal	3.70-5.67($\mu\text{g/g MS}$)	Hellesnes y col(1975)
Músculo	0.15-0.29($\mu\text{g/g MS}$)	Hellesnes y col(1975)

II.4.3. PAPEL METABÓLICO DEL SELENIO

La única función biológica reconocida del selenio en los mamíferos es formar parte de la enzima Glutación Peroxidasa (Glutación H_2O_2 oxidoreductasa E.C.1.11.1.9.-GSH-Px) (Nevé, 1989), con cuatro átomos de selenio por molécula de enzima (Flohé y col, 1973; Rotruck y col, 1973) y que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno y otros peróxidos orgánicos a sus respectivos alcoholes y agua, de esta manera varios peróxidos lipídicos, esteroides, ácidos nucleicos, prostaglandinas así como H_2O_2 se han demostrado como sustratos aceptados de GSH-Px (Agergaard y Thode Jensen, 1982); protegiendo por lo tanto, las membranas celulares y subcelulares de los efectos oxidativos.

Desde luego, el conocimiento del papel bioquímico de la GSH-Px ayuda a explicar la fisiopatología de la deficiencia de selenio en los animales, incluyendo las interacciones del selenio con la vitamina E y los aminoácidos sulfurados (Tappel, 1974). Anteriormente a este trabajo, se había demostrado la existencia de un elemento ultrafiltrable hepatoprotector que en determinadas situaciones evitaba la necrosis hepática que se producía en ratas carentes de tocoferol, este elemento se le denominó como "factor 3", y no es otro que el selenio.

La función metabólica del selenio como parte de la GSH-Px esta fuertemente relacionada con la vitamina E, la cual ejerce una función de antioxidante específico de lípidos solubles en las membranas celulares, y la GSH-Px actúa destruyendo los peróxidos antes que ataquen las membranas celulares, protegiendo las membranas biológicas de los radicales libres y

la peroxidación, junto a otros sistemas de defensa tales como la peróxido dismutasa y las catalasas.

La vitamina E y la GSH-Px, se encuentran localizados intracelularmente, la primera en la membrana y la segunda en el citoplasma (Braun y col, 1991), podemos considerar por lo tanto la vitamina E como la primera línea de defensa, destinada a evitar la formación de peróxidos, mientras que la GSH-Px actúa como una segunda barrera, destruyendo los peróxidos que hayan podido formarse antes que puedan producir algún daño celular (Cappa, 1996).

Se han identificado hasta ahora dos actividades Glutación Peroxidasa en los tejidos, una seleno dependiente y otra independiente (Burk, 1983), esta última se refiere a la Glutación transferasa y su actividad se incrementa en las condiciones de deficiencia de selenio (Lawrence y col, 1978).

Según el NRC (1983) el selenio tiene otras funciones biológicas:

1.- Formar parte de una selenoproteína en el espermatozoide que actúa, bien como una proteína estructural de la mitocondria o como enzima.

2.- Estar presente en el RNA, debido a que el selenio puede ser incorporado a las purinas o las pirimidinas.

3.- Intervenir en el metabolismo de los ácidos grasos esenciales.

4.- El selenio y la vitamina E son necesarios para una respuesta inmunologica normal en los animales de granja. También se ha descrito una selenoenzima que actúa catalizando la deiodización de la L-tiroxina, convirtiéndola en triyodotironina (Behne y col, 1990).

El selenio es un protector contra daños causados por metales pesados como el cadmio, el mercurio y la plata (McDowell y col, 1978; Underwood, 1981).

El selenio, vía GSH-Px se le ha señalado como inductor probable en determinadas respuestas inmunitarias y en la protección contra el cáncer (Shamberger, 1983). El GSH-Px puede también participar en las reacciones de biosíntesis de las prostaglandinas (Flohe, 1982; Ndiweni y col, 1991). El selenio según determinados estudios han demostrado que incrementa la función linfocitaria en el ganado vacuno (Stabel y col, 1991).

II.4.4. FACTORES ALIMENTARIOS QUE INFLUYEN SOBRE LA UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL SELENIO

La forma predominante de selenio en los piensos y forrajes es la selenometionina, junto a cantidades mucho menores de selenocisteína, los rumiantes utilizan perfectamente

estas dos formas de selenio en los alimentos (Underwood, 1977). Gissell-Nielsen en 1976 sugirió que normalmente el 80% del selenito dado a las plantas se incorporará, ligándose a las proteínas o bien a los aminoácidos libres. El abonado con azufre parece tener cierta importancia en la distribución y en la forma química del selenio en las plantas, pues el azufre sustituye al selenio fácilmente en los sistemas biológicos (Gissell-Nielsen, 1982).

En el rumen, las proteínas vegetales sufren una proteólisis, que libera los aminoácidos, los cuales pueden ser reutilizados por las bacterias ruminales para su síntesis proteica, comparándolo con el azufre el selenio es incorporado más rápidamente a las proteínas bacterianas (Paulson y col, 1968). Cuando hay bajos niveles de ingesta de azufre (Pope y col, 1979) o altos niveles de selenio (Rosenfeld y Beath, 1964) se incrementa la incorporación de selenio inorgánico a las proteínas microbianas.

El selenio ingerido por los animales, bien en forma de selenito o de selenato es metabolizado a selenio elemental, el cual puede ser utilizado por los microorganismos del rumen (Hudman y Glenn, 1984) y parte en compuestos de selenio insolubles que no podrán ser aprovechados ni por los microorganismos ni por el hospedador.

II.4.5. NECESIDADES DE SELENIO EN LOS RUMIANTES

Las necesidades mínimas del ganado vacuno variarán según sea la forma química del selenio ingerida, la naturaleza del resto de la dieta, la concentración en azufre, también se debe señalar como factores de variación en las necesidades las condiciones climáticas y de manejo (Underwood, 1977).

El nivel mínimo de selenio recomendado por el NRC lo sitúa entre 0,1 y 0,3 ppm. Para McDowell (1985) sitúa el nivel mínimo de las necesidades de selenio en el ganado vacuno en 0,1 ppm, el NRC (1989) recomienda 0,3 ppm de selenio en el ganado vacuno lechero con una producción diaria entre 17 y 23 Kg. Para novillos y novillas en crecimiento y engorde se ha citado niveles de selenio entre 0,050 y 0,30 ppm (NRC, 1984). Stowe y col (1988) sugirió que el consumo de altos niveles de selenio (0,3ppm) en el ganado lechero garantiza el estado de este mineral en el recién nacido y puede que mejore su supervivencia, así como su sistema inmunológico.

Así pues los requerimientos recomendados entre 0,05 y 0,3 ppm dependen de la forma química del selenio, la concentración previa de minerales en el animal, y una serie de factores que pueden influir de forma diversa como es la vitamina E y el nivel de azufre, de lípidos, de proteínas, de aminoácidos, de cobre, de mercurio, de arsénico y de cadmio (NRC, 1983), siendo importante que la ración no contenga ningún elemento que interfiera la utilización del selenio, y si este fuera el caso resulta preferible suprimir la interferencia que aumentar la con-

centración del selenio para evitar los problemas de toxicidad. Existe una interrelación compleja entre el selenio y la vitamina E, de tal manera que uno puede alterar los requerimientos del otro pero no reemplazarlos completamente.

II.4.5.1. LÍMITE DE TOXICIDAD

McDowell y col (1993) sugieren que una dieta con 5 ppm de selenio, es el valor límite, a partir del cual el selenio puede resultar tóxico, tanto en el ganado vacuno de carne como en el ganado de producción láctea.

II.4.6. ESTUDIO CLÍNICO DE LA CARENCÍA DE SELENIO EN BÓVIDOS

El principal problema patológico descrito en los rumiantes asociado a la carencia de selenio (y de vitamina E) es la distrofia muscular nutricional (DMN) (Hidiroglou, 1980; McMurray, 1980), esta se presenta sobre todo en los animales menores de un año de edad, y que tienen un crecimiento rápido. Es posible que la deficiencia de selenio y vitamina E afecte principalmente a las células del músculo esquelético por la gran capacidad oxidativa de las mismas (He y Zhu, 1988). Por primera vez en España, Carda Aparici y col (1965) describieron el proceso anatomoclínico de la miodistrofia en terneros lactantes por carencia de vitamina E, sin embargo hay autores que creen que es imprescindible la presencia de algún factor predisponente para el desarrollo de la DMN (Siddons y Mills, 1981), y se han citado los siguientes:

1.- Las dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (aceite de hígado de bacalao, harina de pescado, manteca, aceite de soja y maíz, etc) sobre todo si son utilizados en la leche de sustitución de los terneros que son destetados (Carda Aparici y col, 1965; McMurray, 1980).

2.- Una alimentación con granos de cereal almacenados para su conservación con ácido propiónico, pues este reduce el contenido en vitamina E (Putnam y Comben, 1987).

3.- El ejercicio desacostumbrado y el incremento repentino de la actividad locomotora, fenómenos que producen un incremento de la acción peroxidativa (Mills, 1983).

4.- El crecimiento rápido de los animales jóvenes que necesitan un mayor aporte energético y aumentan por lo tanto su metabolismo lipídico (McMurray, 1983).

5.- Factores estresantes como el transporte, las temperaturas extremas, los cambios bruscos de alimentación, el hacinamiento, etc. (Putnam y Comben, 1987).

6.- Factores edáficos como el Ph del suelo, ya que la alcalinidad favorece la absorción del selenio por la planta; la presencia de un nivel alto de azufre en el suelo que compite por

los lugares de absorción con el selenio tanto en plantas como en animales; la climatología, ya que las lluvias hacen un efecto de lavado y arrastre del selenio (Underwood, 1977).

7.- Factores individuales, que pueden ser congénitos (consanguinidad) o adquiridos como el padecimiento de algún proceso patológico (anemia, diarrea, etc.) (Langlands, 1987).

El momento de aparición de la DMN en ganado vacuno suele ser en primavera, cuando salen los animales al pasto, después de haber permanecido estabulados durante todo el invierno (Hidiroglou, 1980), aunque también puede aparecer en los meses de invierno y en períodos en los cuales los animales han estado alimentados durante largo tiempo con productos conservados (McMurray, 1983). Los síntomas son similares en animales jóvenes y adultos. La diferencia radica fundamentalmente en la gravedad y cronicidad de el proceso. Básicamente, los síntomas podemos agruparlos en trastornos locomotores, respiratorios y cardíacos (Hidiroglou, 1980; McMurray, 1980).

Las lesiones aparecen en los grupos de musculos esqueléticos, siempre de forma simétrica, degenerándose y tomando un aspecto de carne de pescado, friables, edematosos y a menudo calcificados. Ultraestructuralmente se corresponde el cuadro biopatológico con el lesional, el sistema mitocondrial se inicia un proceso de desestructuración y vacuolización. El retículo sarcoplásmico se distiende, perdiendo las partículas de glucógeno que normalmente le rodean, continuandose con alteración de las fibras musculares hasta la ruptura y desestructuración de los miofilamentos, mientras que endomisio y capilares conservan su estructura (Garcia Partida y col, 1983).

En ocasiones aparece el corazón atigrado por esclerosis post-miodistrófica con necrobiosis, congestión y edema pulmonar con neumonía subsiguiente.

Otra afección descrita y asociada a la carencia de selenio en bovinos y óvidos en pastoreo es el retraso en el crecimiento, conocido como "desmedro" (McDowell y col, 1993).

También se han realizado numerosos estudios, de la relación del selenio y su deficiencia, con bajos índices reproductivos y con la retención de las membranas fetales (Harrison y col, 1984), y los resultados son más bien confusos al ser realizados en estudios de campo, y sin tener en cuenta las variables que pueden influir en estos temas tan complejos, aunque si parecen inclinarse la mayoría de investigadores por la correlación de los bajos niveles de selenio en sangre con retención de membranas fetales (Harrison y col, 1984; Hidiroglou y col, 1987; Ropstad y col, 1988).

La deficiencia en selenio puede debilitar el sistema inmunológico (Braun y col, 1991).

También se ha descrito en ganado vacuno en pastoreo anemia asociada con la presencia de cuerpos de Heinz y bajos niveles de selenio en sangre, situación que se corrige mediante la suplementación (McDowell y Williams, 1991).

Existe una relación entre la prevalencia de mastitis en rebaños lecheros y la concentración sanguínea de selenio, la prevalencia de infecciones por *Str. agalactiae* y *Staph. aureus* fue mayor en rebaños con un alto número de células somáticas y con baja concentración de GSH-Px sanguínea (Ndiweni y col, 1991).

Estas observaciones indican que la función fagocitaria en la glándula mamaria puede estar disminuida por deficiencias marginales de selenio (Hogan y col, 1990; Stabel y col, 1991).

II.4.7. DIAGNÓSTICO DE LA CARENCIA

El diagnóstico se realiza en la actualidad, bien de una manera directa, estudiando los niveles de selenio en sangre, en leche o en tejidos, o de una manera indirecta, analizando fundamentalmente la actividad de la enzima GSH-Px, como indicador del estatus de selenio.

II.4.7.1. ANÁLISIS DE SELENIO

Existe una correlación positiva entre el contenido de selenio en el alimento y el selenio de los tejidos y la sangre de animales en pastoreo (Blood y Radostits, 1992).

La determinación directa de selenio en sangre, en órganos como hígado y cortex renal, suele ser problemática, en primer lugar por la pequeña concentración del oligoelemento en los tejidos y fluidos corporales, y el pequeño margen existente entre los niveles fisiológicos y tóxicos (Stevens y col, 1985).

El método más exacto, preciso y fiable en la actualidad es la determinación del selenio por espectrofotometría de absorción atómica combinado con un generador de hidruros (Palacios y Arévalo, 1985), espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito (Jacobson y Lockitch, 1988; Morisi y col, 1988) también se están poniendo a punto técnicas de espectrofotometría de emisión de plasma y fluorescencia de rayos X (Ducros y col, 1989; Maier y col, 1989).

II.4.7.2. ANÁLISIS DE GLUTATIÓN PEROXIDASA

Es quizás el método más utilizado al ser la única selenoproteína con actividad enzimática conocida hasta el momento, y con una correlación directa entre su actividad en la sangre y los valores sanguíneos y tisulares de selenio en bovinos, óvidos, caballos y cerdos (Blood y Radostits, 1992).

La formación de la GSH-Px depende de la eritropoyesis, ya que es cuando se incorpora el selenio plasmático a los eritrocitos, manteniendo su actividad durante la vida de los gló-

bulos rojos, por lo cual la GSH-Px eritrocitaria refleja el estatus de selenio en los animales en función del tiempo de vida medio de los hematíes (McMurray, 1980). En cambio la concentración de selenio en hígado y suero y la actividad sérica de la GSH-Px pueden responder a cambios de selenio dietético más rápidamente que el selenio de la sangre completa.

Por lo tanto se puede considerar que existen dos factores importantes que controlan el nivel GSH-Px en los hematíes, que son la concentración de selenio y la dinámica de los eritrocitos (McMurray y col, 1983). Scholz y Hutchinson (1979) estimaron que la actividad GSH-Px en sangre de bovinos se distribuye de la siguiente manera: en eritrocitos el 98,6%, en leucocitos el 0,7%, y en plasma el 0,7%.

Se ha estudiado la relación existente entre la actividad GSH-Px en eritrocitos o en sangre total, la mayoría de los investigadores han encontrado una relación positiva (Allen y col, 1975; Anderson y col, 1979; Scholz y Hutchinson, 1979) y otros negativa (Jelinek y col, 1985). Pese a ello es más frecuente determinar la concentración de selenio por la vía de la actividad GSH-Px.

No obstante hay que tener presente una serie de factores que pueden hacer variar la relación entre ambos elementos, como por ejemplo:

1.- El sustrato sobre el cual se determina (sangre total, eritrocitos o plasma). La mayoría de los autores determinan la actividad en eritrocitos y el oligoelemento en sangre o ambos en sangre total.

2.- La especie animal, el coeficiente de regresión que relaciona selenio y GSH-Px es significativamente mayor en óvidos que en bovinos.

3.- Factores ambientales y fisiológicos, el genotipo del animal, etc.

II.4.8. PROFILAXIS DE LA CARENCÍA DE SELENIO

En las zonas endémicas se tiene que realizar un tratamiento constante y continuado, teniendo en cuenta que el selenio además de ser un nutriente esencial, es tóxico, por lo cual su dosificación debe ser controlada rigurosamente. Se utiliza la vía parenteral en los casos clínicos, puesto que la vía oral es muy lenta para restablecer la concentración plasmática de selenio (45-60 días) (Koller y col, 1984). Asimismo se debe tener en cuenta que el selenio inyectado o suplementado en la dieta se concentra en el hígado, en el músculo esquelético, en el riñón y en otros tejidos, y deben de cumplirse períodos de supresión antes del sacrificio.

En general en la suplementación dietética, la dosificación es de 0,1 mg Se/Kg de peso vivo diariamente, recomendándose que en los sustitutos lácteos lleven un antioxidante adecuado (Van Fleet, 1980). Se han utilizado bolos ruminales que contienen selenio elemental

con partículas finas de hierro, y su efecto suele ser de aproximadamente un año, aunque hay una gran variación por su diferente tasa de absorción interespecífica (Watkinson, 1983).

Se ha practicado también un abonado de pastos con selenato sódico en una proporción de 10 g de selenio/Ha, siendo efectivo durante doce meses y con un margen de seguridad respecto a la toxicidad de veinte veces (Koller y Exon, 1986).

La dosis recomendada para el tratamiento parenteral es de 0,1mg Se/Kg y la actividad de la GSH-Px alcanza los niveles máximos a los treinta días post-inoculación (Allen y col, 1975).

II.4.9. TOXICIDAD POR SELENIO

La intoxicación producida por la ingestión de concentraciones de selenio superiores de los fisiológicos, se la conoce como selenosis.

La intoxicación crónica por selenio en los animales domésticos se caracteriza por somnolencia y pérdida de vitalidad, extenuación, piel áspera, pérdida de pelo, dolor y desprendimiento de las pezuñas, envaramiento y cojera por erosión en las articulaciones de los huesos largos, atrofia del corazón, cirrosis hepática y anemia; la cojera y el dolor que padecen por el estado de las pezuñas pueden ser tan intensos que el animal es incapaz de moverse para buscar alimento y agua, muriendo de sed y hambre (Rosenfeld y Beath, 1964).

Las características clínicas de la selenosis subaguda presentan un animal que pierde peso, con un pelaje áspero, marcha vacilante y con trastornos de la visión. Posteriormente el animal se mueve en círculos, y con una ceguera creciente que no puede evitar los obstáculos. Además presentará sialorrea, lagrimeo, dolor abdominal intenso, incapacidad de deglución y por último parálisis completa, colapso y muerte por insuficiencia respiratoria (Humphreys, 1990).

En la toxicidad aguda, los animales sufren cojera, dolores abdominales, salivación, crujir de dientes, y algún grado de parálisis, estos síntomas aparecen en la literatura anglosajona como *alkaline disease* o *blind staggers*, y han sido causa de muchas muertes en los animales domésticos (McDowell y col, 1993). En esta forma de toxicosis aguda se asocia generalmente con el consumo de plantas acumuladoras de selenio, que pueden tener del orden de 100 a 9000 ppm de selenio, cuando se consideran niveles excesivos a partir de 5 ppm.

El desarrollo anormal de los embriones es una característica de la selenosis en vacuno, ovejas, cerdos y caballos (U.S. EPA, 1984), el selenio atraviesa fácilmente las barreras de la placenta y la mama, por lo cual en zonas seleníferas los terneros pueden nacer con una deformación típica de pezuñas o bien puede desarrollarse durante el período de lactación (Keen y Graham, 1989).

Como el selenio se deposita en todos los tejidos corporales a excepción del tejido adiposo, en los animales que ingieren alimentos seleníferos, el hallazgo de concentraciones altas de este elemento proporcionan una prueba irrefutable de un consumo excesivo, así se ha demostrado que el pelo de ganado vacuno procedente de zonas normales contiene de 1-4 ppm de Se, y el de zonas seleníferas 10-30 ppm, siendo el nivel crítico 5 ppm (Underwood, 1977).

La tolerancia de los animales domésticos a consumos elevados de selenio varía según sea la forma química ingerida, el selenio elemental es bien tolerado, por su insolubilidad y mala absorción. Los seleniuros son menos tóxicos que los selenitos o los seleniatos solubles; la duración y continuidad del consumo, el criterio de tolerancia que se aplique y la naturaleza de la dieta completa (Scott y Thompson, 1971), son determinantes en la aparición de la selenosis.

La determinación de las tolerancia máximas de selenio sin efectos nocivos se complica por la influencia ejercida por los restantes componentes de la dieta. Un contenido alto de proteína reduce la toxicidad de dietas seleníferas, debido probablemente, al sulfato endógeno producido al metabolizar los aminoácidos sulfurados (Underwood, 1977). Otros factores que pueden aliviar la intoxicación son el arsénico, el mercurio, la plata, el cobre y el cadmio (Hill, 1974), por lo cual la tolerancia a un determinado nivel de selenio en la dieta dependerá de los niveles concurrentes de estos elementos en la misma (Dinkel y col, 1957).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

El presente estudio se ha realizado en 200 hembras bovinas de raza Parda, inscritas en el Libro Genealógico de la raza, siendo esta la raza predominante en la zona. Los animales se encontraban clínicamente sanos, con edades comprendidas entre los cinco y los treinta meses de edad en período de destete y antes del primer parto respectivamente.

El sistema de explotación y manejo al cual se encuentran sometidos, es el realizado habitualmente para el ganado vacuno en la montaña leonesa, y más concretamente en la "Montaña de Riaño" (Fig.1).

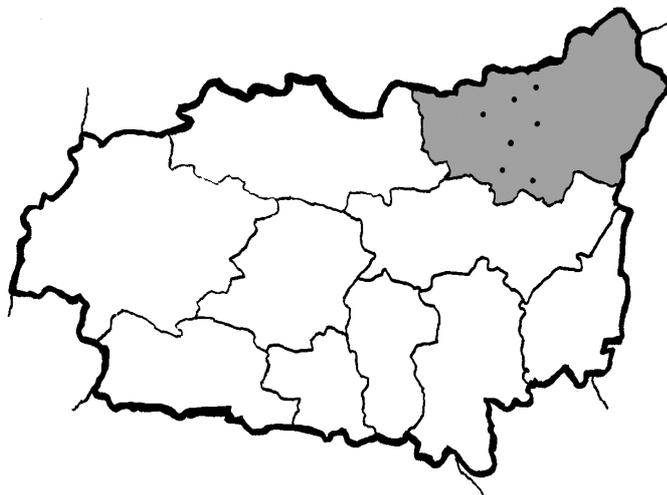


Figura 1. Comarca Agraria de Riaño y localización de los establos estudiados

La Comarca Agraria denominada "Montaña de Riaño", es una zona cuya economía esta basada principalmente en la ganadería; las zonas de pastoreo se asientan sobre una altitud elevada, así nos encontramos, el 19,5% de dichos pastos localizados en altitudes superiores a 1.500 m., el 77,03% entre 1.000-1.500 m. y solo el 3,1% del terreno en altitudes inferiores a 1.000 m., corresponde a un clima templado fresco, con una temperatura media anual

entre 5 y 8 °C, la temperatura media del mes más frío es, de 1 °C y del mes más cálido de 16,5 °C y una precipitación media de 1100 mm Hg. Geológicamente es de origen Cámbrico, y con suelos cuyo contacto lítico es menor, la mayoría de las veces a 50 cm., y se denominan "Calizas de Montaña", predominando los suelos con un Ph ligeramente básico (Ministerio de Agricultura,1975). Edáficamente son suelos muy líticos, con relieves y excurrentías excesivas, y un drenaje muy libre y erosionado.

Los animales objeto de estudio, se alimentan desde el mes de marzo hasta noviembre, mediante el aprovechamiento de los pastos, hasta su estabulación en los meses de invierno, alimentándose entonces con heno de hierba, que se complementa con pienso concentrado en algunos establos. Las muestras se obtuvieron de novillas pertenecientes a siete establos escogidos aleatoriamente entre los existentes en la zona, utilizando para la identificación de los animales objeto del muestreo el crotal auricular que poseen al realizarse las Campañas de Saneamiento ganadero, al mismo tiempo se realizaba una ficha por animal, que recogiese la mayor información posible, según el modelo adjunto.

Ficha nº.....crotal.....
Fechas de toma de muestras.....
Establo.....Localidad.....
Edad.....Gestación.....
Desparasitación(y producto).....
ALIMENTACIÓN
heno...ensiladocorrector...pienso.....
Enfermedades anteriores.....
Alteraciones Clínicas:
Déficit de crecimiento.....Pica.....
Defectos de aplomo.....Cojeras.....
decoloración del pelo.....Diarrea.....
Infertilidad.....
Observaciones.....
.....

III.2. TOMA DE MUESTRAS

Las muestras se recogieron en el mes de Marzo, época que empezaban a salir al pasto los animales cuando fueron muestreados y a principios de Diciembre cuando se encontraban recién estabulados, para protegerse del rigor invernal.

De cada animal objeto de estudio se obtiene muestras de sangre entera, plasma, suero y pelo. En cada establo se toma muestras representativas de los alimentos que reciben: heno, silo, pienso simple o compuesto y agua.

Las muestras obtenidas se etiquetan y posteriormente se almacenan en tubos y bolsas de plástico secas y neutras a los oligoelementos objeto de nuestro estudio.

III.2.1. SANGRE ENTERA

Para obtener la muestra de sangre entera, utilizamos un tubo VENOJECT de 10 ml con heparina de litio, punzando en la vena yugular con agujas de acero inoxidable, agitándose suavemente los tubos para realizar una correcta dilución y evitar la coagulación.

III.2.2. PLASMA

Utilizamos la muestra anterior, y en el período mas breve posible centrifugamos a 3.000 r.p.m. durante 10 minutos, para evitar la hemólisis.

El plasma así obtenido, lo depositamos en tubos de plástico, que congelamos a -18°C hasta realizar las determinaciones correspondientes.

III.2.3. SUERO

Para la obtención del suero, recogemos mediante punción en la vena yugular dos tubos Vacutainer de 5 ml de sangre, dejándolos desuerar, posteriormente mediante una pipeta Pasteur trasvasamos el suero a un tubo de plástico para ser congelado a -18 °C, hasta su utilización.

III.2.4. PELO

El pelo se obtiene de la región de la nuca, cepillando previamente, para evitar en lo posible, la contaminación con restos de alimentos, polvo, etc. Cortamos con tijeras de acero inoxidable unos 5 grs., evitando arrancar folículos pilosos o cortar trozos de piel, que podrían contaminar las muestras y falsearían el valor en oligoelementos del pelo (Carcagno y col.,1993)

Una vez obtenido el pelo se deposita en bolsas de plástico convenientemente identificadas y se almacenan hasta su análisis.

III.2.5. ALIMENTO

Del heno, silo y pienso concentrado tomamos de manera aleatoria una muestra de 500 grs aproximadamente en bolsas de plástico, previamente identificadas.

En el laboratorio mezclamos, desmenuzamos y picamos finamente cada muestra de heno y silo, tomando 50 grs, que secamos en estufa a 100°C durante 12 horas.

De las muestras de pienso, tomamos 50 grs procediendo de igual manera, que en el paso anterior.

III.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA

III.3.1. INSTRUMENTACIÓN Y MATERIALES

Se ha utilizado un analizador hematológico NIHON KOHDEN ZELLTAC Mod. MEK 5103 K(Fig. 2) y un analizador automático HITACHI 704 para la determinación enzimática de la GSH-Px. El análisis de cinc y cobre se realizó con un espectrofotómetro de absorción atómica Smith-Hieftje 11(Fig. 3), con una llama aire-acetileno. La determinación de manganeso y selenio se realizó por espectrofotometría de absorción atómica con un equipo Perkin Elmer modelo 4100 ZL (Fig. 4) con horno de grafito y muestrador automático modelo AS71, asimismo se utilizó el efecto Zeeman para corrección de ruido de fondo e interferencias. La lámpara de manganeso fue de cátodo hueco (HCL). Para la determinación de selenio se utilizó una lámpara de descarga de electrodo (EDL) acoplada a la fuente de alimentación.

Material fungible

Para determinar la concentración de los oligoelementos, se han empleado reactivos purísimos, vidrio de borosilicato de tipo PYREX durante el ataque y análisis de las muestras, para evitar la posible contaminación química.

El material de vidrio previamente a cualquier análisis se mantenía 12 horas con mezcla crómica concentrada, realizándose posteriormente 3 lavados con agua desionizada y bidestilada obtenida con un equipo Millipore mod. Milli-Q Plus 185.

III.3.2. DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA

La medición de la hemoglobina se ha realizado por el método de la cianometahemoglobina (Hainline,1958).

III.3.3. DETERMINACIÓN DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA

Los valores de GSH-Px se han medido en sangre entera heparinizada utilizando el método de Paglia y Valentine (1967) que viene normalizado en el kit Ransel de los laboratorios Randox adaptándola al analizador HITACHI 704 (Rice y Blanchflower, 1986).

El fundamento del método esta basado en la oxidación del Glutati6n (GSH) en presencia del hidr6xido cum6nico catalizado por la Glutati6n Peroxidasa (GSH-Px).



Figura 2. Analizador hematol6gico

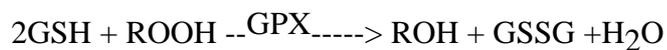


Figura 3. Espectrof6tmetro de Absorci6n At6mica Smith-Hieffe



Figura 4. Equipo Perkin Elmer 4100ZL con Espectrof6tmetro de Absorci6n at6mica y c6mara de grafito.

En presencia de la Glutati6n reductasa (GR) y el NADPH, el Glutati6n oxidado (GSSG), es inmediatamente pasado a forma reducida con la oxidaci6n consiguiente de NADPH, la disminuci6n de absorvancia de NADPH es medida a 340 nm, la reacci6n es la siguiente:



La concentraci6n en Glutati6n Peroxidasa se calcula por la formula:

U/l de hemolisado = 8412 x el incremento de absorvancia a 340nm/ minuto.

Este resultado se multiplica por el factor de dilución utilizado en la técnica, y nos da unidades de GSH-Px por litro de sangre entera.

Este valor se puede convertir fácilmente en los valores mas frecuentemente utilizados en la bibliografía para expresar la concentración de GSH-Px, como son :

Unidades GSH-Px /ml Volumen Corpuscular empaquetado

Unidades GSH-Px/gr de Hemoglobina

III.4. ANÁLISIS DE LOS OLIGOELEMENTOS

III.4.1. ATAQUE DE ALIMENTOS Y PELO

Primeramente antes del ataque, el pelo se lava con un detergente neutro (TEXAPON) al 4 por mil, dos veces, con una duración de 20 minutos cada vez, aclarándolo varias veces con agua destilada, secándose en estufa a 100°C durante 12 horas (Nougues y Lamand, 1972).

El ataque del alimento y pelo se realizó por vía húmeda, según el método de Calleja (1978) y Buckley y Dreosti (1984), adaptado a los oligoelementos objeto de estudio. Tras pesar 1 gr. de muestra en una balanza con sensibilidad de 1 milésima de gramo, se deposita en un matraz Kjeldahl de 50ml de capacidad, añadiendo 3 ml de ácido perclórico al 60% y 3 ml de ácido nítrico concentrado. El ataque se realizó en digestor lentamente hasta que el residuo es completamente líquido y transparente.

A continuación se vierte el líquido en un matraz aforado de 10 ml de capacidad, realizándose un mínimo de tres lavados de los matraces Kjeldahl, para evitar pérdidas de muestra. La dilución realizada se calcula dividiendo la cantidad atacada en gramos, por el volumen final en mililitros.

III.4.2. PREPARACIÓN DEL PLASMA Y SUERO SANGUÍNEO

Con objeto de desproteinizar el plasma y suero sanguíneo, y poder determinar los oligoelementos, se añadía a 1 ml de muestra 3 ml de ácido tricloracético 0.75 M, se agita y se deja reposar durante cinco minutos, para posteriormente centrifugar a 4.000 r.p.m.- durante 10 minutos, realizando la lectura en el sobrenadante.

Se considera la muestra diluida a 1/4 (Rejas Lopez,1990).

III.4.3. DETERMINACIÓN DE CINC Y COBRE

Para el análisis del cinc y cobre, se realizaron las curvas de calibración y los patrones a partir de soluciones patrón TRITISOL de la casa Merck.

El cinc se determinó a una longitud de onda de 213,9 nm, con un rango lineal hasta 0,4ppm, utilizándose corrección del ruido de fondo.

El cobre se determinó a una longitud de onda de 324,7 nm, con un rango lineal hasta 4 ppm.

En la determinación de las muestras de pelo y alimento se realizaron 3 lecturas de 1 segundo de duración por cada elemento, con una espera entre lecturas de 0,5 segundos.

En el caso de las muestras sanguíneas, debido a su menor volumen, se realizaron 3 lecturas de 0,5 segundos de duración, con una espera de 0,2 segundos.

En los casos en los que la dilución de la muestra superaba el límite de lectura, se diluía adicionalmente 5 veces con agua destilada.

El calculo final se realiza restando de la concentración leída por el espectroscopio de absorción atómica, la equivalente del blanco, y multiplicando el resto, por la dilución realizada.

III.4.4. DETERMINACIÓN DE MANGANESO Y SELENIO

Las soluciones patrón para el manganeso y selenio se realizaron a partir de soluciones stock Tritisol y el ácido nítrico calidad Suprapur fueron suministrados por la casa Merck.

Las soluciones de trabajo fueron preparadas diariamente utilizando ácido nítrico al 0.2 % como diluyente.

Como modificador de matriz se utilizó paladio y nitrato magnésico.

El manganeso se realizaba tres lecturas de cinco segundos cada una a una longitud de onda de 279.5 nm, el valor del manganeso se tomaba por el pico de área (ver cuadro 1).

Cuadro 1. Determinación de Mn. Condiciones del horno de grafito

SECUENCIA	TEMPERATURA	RAMPA DE T°	MANTENIMIENTO DE LA T°	FLUJO DEL GAS(Ar).ML/MIN
SECADO	110°C	1 seg.	20 seg.	250
	130°C	5 seg.	30 seg.	250
CARBONIZACIÓN	1300°C	10 seg.	20 seg.	250
ATOMIZACIÓN*	2300°C	0 seg.	5 seg.**	0
LIMPIEZA.ELIMINACIÓN DE CENIZAS	2400°C	1 seg.	2 seg.	250
ENFRIAMIENTO	20 °C	7 seg.	35 seg.	250

*Lectura

**Efecto Zeeman aplicado antes del ciclo de lectura

El selenio se realizan cuatro lecturas de 3.5 segundos a una longitud de onda de 196.5 nm, y se hace la lectura por la altura de pico (ver cuadro 2).

Cuadro 2. Determinación de Se. Condiciones del horno de grafito

SECUENCIA	TEMPERATURA	RAMPA DE T ^a	MANTENIMIENTO DE LA T ^a	FLUJO DE GAS(Ar).ML/MIN
SECADO	110 °C	1 seg.	20 seg.	250
	130 °C	5 seg.	30 seg.	250
CARBONIZACIÓN	1300 °C	10 seg.	5 seg.	250
ATOMIZACIÓN*	2300 °C	0 seg.	5 seg.**	0
LIMPIEZA. ELIMINACIÓN DE CENIZAS	2400 °C	1 seg.	2 seg.	250
ENFRIAMIENTO	20 °C	7 seg.	35 seg.	250

*Lectura

**Efecto Zeeman aplicado antes del ciclo de lectura.

III.5. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Para el procesamiento estadístico de los datos se ha utilizado un análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA), empleando el paquete estadístico STATGRAPHICS 5.0, siguiendo las normas de interpretación de Snedecor y Cochran (1974).

Todos los análisis estadístico se han considerado con una probabilidad del 99%.

IV. RESULTADOS

Los 200 animales objeto de este estudio se presentan de forma individual indicando el establo al cual pertenecen y su edad respectiva (tablas 1-7).

Los valores de cobre, manganeso, cinc y selenio en $\mu\text{g/g MS}$, que se han obtenido según el tipo de alimentación empleado en cada establo se presentan en las tablas 8 -14.

La concentración más alta en cobre de la alimentación analizada se obtuvo en el silo de hierba del establo 1 (tabla 8) con una concentración de $6,39 \mu\text{g/g MS}$, siendo el valor más bajo el obtenido en el heno de hierba del establo 5, con una concentración de $3,44 \mu\text{g/g MS}$, el establo 7 tiene el valor inferior en su heno de hierba ($3,05 \mu\text{g/g MS}$) pero la dieta era complementada con pienso ($7,33 \mu\text{g/g MS}$) lo cual implicaba que la ración global de cobre era superior (tabla 14).

En el heno de hierba del establo 4, se ha encontrado el valor más alto en manganeso con $104,76 \mu\text{g/g MS}$ (Tabla 11), en cambio el valor inferior en manganeso se ha encontrado en el establo 3 (tabla 12) con una concentración de $27,56 \mu\text{g/g MS}$.

En el establo 1 se ha encontrado en el silo de hierba los valores más altos en cinc con $28,06 \mu\text{g/g MS}$ (tabla 8), el valor más bajo en cinc se encontró en el heno de hierba del establo 3 (tabla 14) con una concentración de $13,36 \mu\text{g/g MS}$, y el valor inferior en selenio se ha obtenido en el establo 2, con una concentración en $\mu\text{g/g MS}$ de $0,361$ (tabla 10).

En la tabla 15 a la tabla 21 se presentan los valores individuales de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos en cada establo estudiado.

Los valores individuales de cobre obtenidos en el pelo de los animales muestrados en $\mu\text{g/g MS}$ se presentan en la tabla 22 a la tabla 28.

El valor medio de cobre plasmático obtenido de los 200 animales muestreados ha sido de $0,58 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ con un intervalo de confianza al 95 % de $0,56 - 0,6 \mu\text{g/ml}$, el valor más

alto en cobre plasmático se ha encontrado en el establo 7 (tabla 29) y el valor inferior se ha encontrado en el establo 5 con un nivel de cobre de $0,50 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$.

Los valores medios de los establos 1, 6 y 7 presentan unos niveles de cobre plasmático muy homogéneos con un intervalo de cobre en el plasma de $0,63-0,64 \mu\text{g/ml}$, en cambio los establos 2, 3, 4 y 5, sus niveles de cobre plasmático se encuentran en el intervalo $0,50 - 0,56 \mu\text{g/ml}$. Los valores medios de cobre plasmático entre los establos muestreados presentan un nivel de significación estadístico muy alto ($P < 0.001$), y al contrastar el valor medio de cobre plasmático obtenido en el establo 1 da diferencias significativas con los establos 2, 3, 4 y 5, igualmente aparecen diferencias estadísticas significativas los resultados del establo 2 con los establos 6 y 7, el establo 3 con los establos 6 y 7, el establo 4 con los establos 6 y 7, y el establo 5 con los establos 6 y 7.

Los valores medios de cobre plasmático del presente estudio son ligeramente superiores en las novillas con edad inferior a trece meses (tabla 30), al obtenerse $0,59 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$, frente a una concentración media de $0,57 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ en las novillas con edad superior a trece meses. No se ha encontrado diferencias significativas en cobre plasmático cuando las novillas pastaban en primavera o en invierno (tabla 31).

Cuando se agruparon los animales estudiados, según los tres niveles de cobre en la dieta (mayor de $6 \mu\text{g/g MS}$, entre $4-6 \mu\text{g/g MS}$ y menor de $4 \mu\text{g/g MS}$) se ha encontrado una relación directa en los valores de cobre plasmático en relación con el cobre ingerido en la alimentación (tabla 32).

Asimismo se ha encontrado diferencias estadísticas significativas entre los tres grupos de alimentación ($P < 0.01$) y el valor plasmático de cobre (tabla 103).

El valor medio de cobre en el pelo de las 200 novillas muestreadas es de $7,60 \pm 0,18 \mu\text{g/g MS}$, encontrándose en el establo 1 el valor más alto con $9,44 \pm 0,59 \mu\text{g/g MS}$, el valor inferior se ha encontrado en el establo 5 con una concentración de cobre en el pelo de $6,27 \pm 0,54 \mu\text{g/g MS}$ (tabla 33). El resultado de los valores de cobre en el pelo según el establo estudiado tiene un alto valor significativo ($P < 0.0001$). Solo el establo 1 presenta diferencia estadística significativa en su concentración de cobre en el pelo con el resto de los establos estudiados.

Los valores de cobre en el pelo en las novillas menores de trece meses, al igual que en el cobre plasmático son ligeramente superiores (tabla 34) a las novillas con edad superior a trece meses.

Cuando se ha estudiado los valores de cobre en el pelo, según la época de muestreo se ha encontrado un ligero nivel más alto en el invierno, que coincide cuando comienza la estabulación (tabla 35).

Igualmente que sucedía en el cobre plasmático, los valores de cobre en el pelo tienen una correlación directa con los tres grupos de animales según la concentración de cobre en la dieta analizados en su alimentación (tabla 36), con un nivel de significación estadística de $P < 0.0001$.

Los valores individuales de manganeso sérico en $\mu\text{g/l}$ distribuidos en su establo respectivo que se han obtenido en el presente estudio se presentan en la tabla 37 a la tabla 43, de la misma manera se exponen los resultados de manganeso en el pelo en $\mu\text{g/g MS}$ (tabla 44-50), encontrándose un gran margen entre los valores de manganeso en pelo, incluso entre el mismo establo .

El valor medio de los animales muestreados en manganeso sérico es de $39,00 \pm 1,05 \mu\text{g/l}$, con un rango de confianza al 95 % entre $36,91 \mu\text{g/l}$ y $41,09 \mu\text{g/l}$ (tabla 51), los valores de manganeso sérico presenta una diferencias estadísticas significativas en relación con el establo estudiado ($P < 0.001$).

El valor superior en manganeso sérico se ha obtenido en el establo 4 con $54,22 \pm 2,34 \mu\text{g/l}$, y el valor inferior se ha obtenido en el establo 2 con $33,74 \pm 0,93 \mu\text{g/l}$ (tabla 51).

Cuando estudiamos los valores de manganeso sérico en novillas menores de trece meses son superiores a los obtenidos en novillas con edad superior (tabla 52).

Cuando estudiamos los valores de manganeso sérico según la época de muestreo los valores obtenidos en la primavera cuando los animales empiezan a salir al pasto es significativamente superior ($45,76 \pm 1,81 \mu\text{g/l}$) a las novillas analizadas en el invierno ($33,10 \pm 1,09 \mu\text{g/l}$) (tabla 53), y el contraste de estos dos valores denota un nivel de alta significación estadística ($P < 0.001$).

Se ha establecido tres grupos de concentración de manganeso en la dieta (mayor de $50 \mu\text{g/g MS}$, entre $30-50 \mu\text{g/g MS}$ y menor de $30 \mu\text{g/g MS}$) encontrándose una correlación directa del nivel de manganeso sérico en los animales estudiados con la concentración de manganeso en la alimentación (tabla 54)

En la tabla 55, presentamos los valores medios de manganeso en el pelo de cada establo estudiado obteniéndose un valor medio de todas las novillas analizadas de $8,13 \pm 0,59 \mu\text{g/g MS}$, el valor superior se obtiene en el establo 5 con $19,14 \pm 4,69 \mu\text{g/g MS}$ y el valor inferior se presenta en el establo 7 con $3,58 \pm 0,56 \mu\text{g/g MS}$; se ha encontrado diferencias estadísticas significativas entre los valores de manganeso en el pelo hallados según los establos analizados.

Cuando estudiamos el valor de manganeso en el pelo según la edad encontramos valores ligeramente superiores en los animales de edad superior a trece meses (tabla 56).

Los valores obtenidos cuando se estudia la concentración de manganeso en el pelo y la época de muestreo se obtienen valores superiores en el invierno (tabla 57).

El valor de manganeso en el pelo y la concentración de manganeso según los tres niveles establecidos (mayor de 50 µg/g MS, entre 30-50 µg/ MS y menor de 30 µg/g MS) presenta una correlación directa (tabla 58).

Se ha presentado los valores individuales de cinc plasmático (µg/ml) encuadrado en su establo respectivo en las tablas 59-65, de igual manera se presentan los valores individuales de cinc en el pelo expresados en µg/g MS (tablas 66-72).

Los valores medios de cinc plasmático obtenidos en cada establo se presentan en la tabla 73, así como el valor medio de todas las novillas estudiadas, resultando una concentración de cinc en el plasma de $0,93 \pm 0,03$ µg/ml .

El valor superior entre los establos estudiados se encontró en el establo 5 con $1,08 \pm 0,19$ µg/ml y establo 1 con $0,99 \pm 0,05$ µg/ml y el valor inferior de cinc en el plasma fue encontrado en el establo 2 con $0,79 \pm 0,06$ µg/ml.

Al relacionar el valor de cinc en el plasma con la edad del animal (tabla 74) se ha encontrado un valor medio superior en las novillas menores de trece meses ($1,00 \pm 0,06$ µg/ml) que en las novillas estudiadas de edad superior a trece meses ($0,88 \pm 0,03$ µg/ml).

De las novillas estudiadas en el invierno tuvimos valores superiores de cinc en el plasma con un nivel medio de $0,98 \pm 0,04$ µg/ml que las novillas muestreadas en primavera, con un valor medio de cinc en el plasma de $0,87 \pm 0,04$ µg/ml (tabla 75).

Se establecieron tres niveles de cinc en la dieta que recibían los animales estudiados (mayor de 20 µg/g MS, entre 10-20 µg/g MS y menor de 10 µg/g MS) y se ha encontrado una correlación positiva (tabla 76).

En la tabla 77 se reflejan los valores medios de cinc en el pelo en cada uno de los establos estudiados, así como el valor medio de todos los animales, resultando una concentración media de cinc en el pelo de $152,83 \pm 3,70$, hallándose el valor más alto en el establo 1 con $188,24 \pm 8,18$ µg/g MS, mientras que el valor inferior se ha encontrado en el establo 5 con $110,18 \pm 12,09$ µg/g MS, se ha encontrado diferencias estadísticas entre los valores de cinc en el pelo de los establos estudiados ($P < 0,0001$).

Los niveles de cinc en el pelo en los novillas de edad inferior a trece meses y en las novillas de edad superior son prácticamente idénticos (tabla 78).

Los valores de cinc en el pelo según la época de muestreo dan niveles ligeramente más altos en las novillas analizadas en el invierno (tabla 79).

Según los tres grupos de cinc ingerido en la dieta y los valores de cinc en el pelo se encuentran directamente correlacionados (tabla 80), y que al enfrentarlos estadísticamente nos da valores significativos ($P < 0.0001$).

Los valores individuales de selenio sérico obtenidos en el presente estudio se presentan en $\mu\text{g/l}$ (tablas 81-87).

En la tabla 95 se presentan los valores medios de selenio sérico en $\mu\text{g/l}$ obtenidos en cada establo, así como el valor medio de todos los animales muestreados.

El valor superior de selenio en el suero se ha encontrado en el establo 7 con $104,88 \pm 18,58 \mu\text{g/l}$, y el inferior en el establo 2 con $39,79 \pm 2,49 \mu\text{g/l}$, hay que destacar la gran variabilidad de valores según el establo muestreado, que al contrastar estadísticamente los valores medios de selenio sérico según al establo al cual pertenecen dan diferencias significativas.

Los valores de selenio en el suero son superiores en las novillas de edad superior a trece meses resultándonos un valor medio de $72,71 \pm 5,30 \mu\text{g/l}$, frente al valor de selenio en el suero de las novillas de edad inferior a trece meses con $60,13 \pm 2,93 \mu\text{g/l}$ (tabla 96).

Cuando se estudia la época de muestreo se encuentra valores superiores en las novillas analizadas en el invierno con $75,75 \pm 6,09 \mu\text{g/l}$ frente a la concentración de selenio en el suero cuando se estudia en primavera con $59,34 \pm 2,71 \mu\text{g/l}$ (tabla 97).

Los valores individuales de GSH-PX en UI/g Hb de los animales estudiados se presentan en las tablas 88-94.

En la tabla 99 se presentan los valores medios obtenidos en cada establo de GSH-Px en UI/g Hb, el valor medio más alto se ha encontrado en el establo 7 con $179,38 \pm 32,23 \text{ UI/g Hb}$, siendo el valor inferior el hallado en el establo 4 con $31,52 \pm 9,18 \text{ UI/g Hb}$, el valor medio de todos los animales muestrados ha sido de $102,06 \pm 6,31 \text{ UI/g Hb}$.

En las novillas menores de trece meses ha resultado el valor medio de GSH-Px más alto ($127,73 \pm 12,45 \text{ UI/g Hb}$) que en las novillas de edad superior a trece meses con un valor de $87,19 \pm 7,86 \text{ UI/g Hb}$ (tabla 100).

El valor medio de Glutación peroxidasa en los animales muestreados en el invierno fue superior con $126,75 \pm 11,27 \text{ UI/g Hb}$, que las novillas analizadas en la primavera $73,35 \pm 5,81 \text{ UI/g Hb}$ (tabla 101), con una alta significación estadística ($P < 0.0001$).

Los resultados estadísticos del presente estudio relacionados con los parámetros analizados se presentan en la tabla 103.

TABLAS Y GRÁFICAS

ESTABLO 1

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EDAD(meses)	14	12	18	16	12	18	18	6	14	6	12	12	12	12	20
ANIMAL N°	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
EDAD(meses)	13	13	13	21	21	21	6	6	14	8	16	14	5	13	12
ANIMAL N°	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
EDAD(meses)	30	20	22	18	26	24	5	6	18	24	5	7	4	13	10
ANIMAL N°	46	47	48												
EDAD(meses)	13	20	13												

Tabla 1. Número y edades de los animales muestreados en el establo 1

ESTABLO 2

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
EDAD(meses)	15	23	13	15	23	20	16	20	20	20	20	18	8	28	15
ANIMAL N°	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75			
EDAD(meses)	23	10	15	19	20	13	20	13	24	22	20	25			

Tabla 2. Número y edades de los animales muestreados en el establo 2

ESTABLO 3

ANIMAL N°	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
EDAD(meses)	10	18	10	18	10	18	11	19	10	11	10	18	14	22	11
ANIMAL N°	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
EDAD(meses)	19	14	10	18	14	22	11	19	14	22	14	11	14	11	19
ANIMAL N°	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116				
EDAD(meses)	12	20	22	17	20	6	16	7	23	22	6				

Tabla 3. Número y edades de los animales muestreados en el establo 3

ESTABLO 4

ANIMAL N°	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131
EDAD(meses)	8	8	11	18	12	20	12	20	11	19	12	14	22	26	26
ANIMAL N°	132	133	134												
EDAD(meses)	19	18	19												

Tabla 4. Número y edades de los animales muestreados en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148
EDAD(meses)	4	12	20	11	19	11	19	14	22	15	23	24	24	30

Tabla 5. Número y edades de los animales muestreados en el establo 5.**ESTABLO 6**

ANIMAL N°	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163
EDAD(meses)	10	18	9	17	9	17	12	20	15	22	12	20	14	22	16
ANIMAL N°	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174				
EDAD(meses)	24	6	15	23	11	24	12	11	10	9	11				

Tabla 6. Número y edades de los animales muestreados en el establo 6**ESTABLO 7**

ANIMAL N°	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189
EDAD(meses)	24	24	22	12	24	24	12	24	27	24	22	22	24	24	24
ANIMAL N°	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200				
EDAD(meses)	31	10	6	12	10	7	12	24	24	18	14				

Tabla 7. Número y edades de los animales muestreados en el establo 7.**ESTABLO 1**

ALIMENTACIÓN	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Silo de hierba	6,39	86,65	28,06	0,4
Agua	0,09	0,35	1,71	-0,01

Tabla 8. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 1**ESTABLO 2**

ALIMENTACION	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Silo de hierba	3,95	32,18	23,09	0,361
Agua	0,08	0,07	0,78	-0,01

Tabla 9. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 2

ESTABLO 3

ALIMENTACION	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Silo de hierba	4,76	27,56	13,36	0,702
Agua	0,09	0,07	0,7	-0,01

Tabla 10. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 3**ESTABLO 4**

ALIMENTACION	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Heno de hierba	4,56	104,76	18,27	0,462
Agua	0,06	0,07	0,69	-0,01

Tabla 11. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 4**ESTABLO 5**

ALIMENTACION	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Heno de hierba	3,44	36,38	35,07	0,652
Agua	0,1	0,022	0,45	-0,01

Tabla 12. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 5**ESTABLO 6**

ALIMENTACION	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Heno de hierba	4,63	39,45	19,50	0,368
Agua	0,1	0,05	0,45	-0,01

Tabla 13. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 6**ESTABLO 7**

ALIMENTACION	COBRE	MANGANESO	CINC	SELENIO
Heno de hierba	3,05	38,27	9,17	0,671
Pienso V-3	7,33	35,24	85,09	0,335
Agua	0,1	0,022	0,41	-0,01

Tabla 14. Niveles obtenidos de Cu, Mn, Zn y Se en $\mu\text{g/g}$ MS en la alimentación del establo 7**ESTABLO 1**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ANIMAL N°												
COBRE	0,688	0,672	0,748	0,68	0,956	0,708	0,572	0,676	0,752	0,372	0,536	0,796
ANIMAL N°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
COBRE	0,544	0,62	0,612	0,78	0,528	1,024	0,404	1,1	0,612	0,736	0,476	0,452
ANIMAL N°	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
COBRE	0,752	0,472	0,428	0,572	0,832	0,588	0,473	0,528	0,832	0,536	0,54	0,68
ANIMAL N°	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
COBRE	0,48	0,708	0,504	0,612	0,632	0,236	0,612	0,94	0,516	0,704	0,624	0,608

Tabla 15. Valores individuales de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ en el establo 1.

ESTABLO 2

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
COBRE	0,688	0,732	0,62	0,5	0,384	0,656	0,336	0,484	0,58	0,308	0,56	0,548	0,596
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
COBRE	0,516	0,548	0,6	0,412	0,516	0,816	0,256	0,54	0,72	0,548	0,716	0,704	0,576
ANIMAL N°	75	76	77										
COBRE	0,676	0,552	0,604										

Tabla 16. Valores individuales de cobre plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 2.**ESTABLO 3**

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
COBRE	0,604	0,428	0,512	0,524	0,408	0,312	0,528	0,508	0,527	0,488	0,292	0,292	0,36
ANIMAL N°	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
COBRE	0,495	0,312	0,524	0,364	0,472	0,54	0,54	0,532	0,548	0,552	0,608	0,544	0,522
ANIMAL N°	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116
COBRE	0,492	0,708	0,54	0,648	0,684	0,648	0,448	0,608	0,408	0,348	0,42	0,708	0,64
ANIMAL N°	117	118	119	120	121								
COBRE	0,36	0,628	0,628	0,464	0,648								

Tabla 17. Valores individuales de cobre plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 3.**ESTABLO 4**

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
COBRE	0,632	0,424	0,522	0,616	0,484	0,644	0,428	0,312	0,376	0,644	0,692	0,68	0,668
ANIMAL N°	135	136	137	138	139								
COBRE	0,492	0,684	0,652	0,656	0,392								

Tabla 18. Valores individuales de cobre plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	
COBRE	0,364	0,592	0,632	0,536	0,704	0,48	0,376	0,528	0,42	0,548	0,572	0,468	
ANIMAL N°	152	153											
COBRE	0,4	0,38											

Tabla 19. Valores individuales de cobre plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 5.

ESTABLO 6

	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166
ANIMAL L N° COBRE	0,468	1,132	0,328	0,632	0,476	0,552	0,432	0,676	0,536	0,513	0,812	0,84	0,644
ANIMAL L N° COBRE	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179
COBRE	0,612	0,964	0,74	0,648	0,496	0,62	0,556	0,439	0,808	0,752	0,716	0,684	0,7
ANIMAL L N° COBRE	180												
COBRE	0,564												

Tabla 20. Valores individuales de cobre plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 6.**ESTABLO 7**

	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
ANIMAL N° COBRE	0,796	0,696	0,612	0,752	0,6	0,652	0,728	0,884	0,588	0,608	0,616	0,8
ANIMAL N° COBRE	193	194	195	196	197	198	199	200				
COBRE	0,772	0,632	0,66	0,936	0,488	0,636	0,852	0,808				

Tabla 21. Valores individuales de cobre plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 7.**ESTABLO 1**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ANIMAL N° COBRE	9,66	8,52	10,43	14,25	18,1	10,37	9,47	7,87	9,75	7,62	3,39	8,4
ANIMAL N° COBRE	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
COBRE	10,11	10,32	10,24	6,04	10,4	12,31	7,92	7,42	7,17	3,54	8,64	8,12
ANIMAL N° COBRE	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
COBRE	6,25	8,47	7,8	10,08	6,99	30,11	7,78	6,37	8,03	6,08	13,11	7,65
ANIMAL N° COBRE	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
COBRE	12,47	12,43	7,63	11,54	9,2	10,33	9,58	7,2	8,25	7,21	9,05	9,77

Tabla 22. Valores individuales de cobre en el pelo (µg/g MS) obtenidos en el establo 1.**ESTABLO 2**

	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
ANIMAL N° COBRE	5,45	7,86	4,97	7,18	7,96	8	7,15	7,57	6,35	4,04	6,97	6,85	7,75
ANIMAL N° COBRE	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
COBRE	7,17	7,42	2,26	9,88	7,52	6,96	7,42	4,26	7,54	7,28	6,2	5,55	7,45
ANIMAL N° COBRE	75	76	77										
COBRE	7,4	8,2	6,9										

Tabla 23. Valores individuales de cobre en el pelo (µg/g MS) obtenidos en el establo 2.

ESTABLO 3

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89
COBRE	7,04	7,24	6,67	7,26	9,48	6,32	8,13	7,23	7,84	7,76	6,76	6,76
ANIMAL N°	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101
COBRE	5,37	10,62	6,99	10,19	7,56	6,77	6,93	7,64	5,74	7,09	5,83	7,38
ANIMAL N°	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
COBRE	7,21	7,12	6,63	5,95	7,04	6,71	7,99	9,01	6,89	10,01	6,95	6,73
ANIMAL N°	114	115	116	117	118	119	120	121				
COBRE	7,35	6,98	8,23	7,52	6,51	7,54	7,41	8,15				

Tabla 24. Valores individuales de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 3.**ESTABLO 4**

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133
COBRE	6,69	4,44	6,37	8,22	6,48	2,11	8,83	6,01	7,92	6,27	6,1	7,47
ANIMAL N°	134	135	136	137	138	139						
COBRE	5,08	6,1	7,5	7,82	5,87	6,45						

Tabla 25. Valores individuales de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
COBRE	4,19	6,19	5,4	5,7	6,23	6,4	6,65	7,34	5,26	2,22	9,45	9,68
ANIMAL N°	152	153										
COBRE	6,33	5,98										

Tabla 26. Valores individuales de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 5.**ESTABLO 6**

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
COBRE	5,94	5,39	6,57	7,02	8,39	9,06	7,51	6,07	7,26	6,97	7,16	8,34
ANIMAL N°	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177
COBRE	10,95	8,56	5,4	4,97	8,62	9,25	6,33	6,32	8,13	8,52	8,39	7,76
ANIMAL N°	178	179	180									
COBRE	7,14	7,26	6,58									

Tabla 27. Valores individuales de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 6.

ESTABLO 7

ANIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
COBRE	7,86	5,83	5,93	5,86	3,13	2,14	6,59	5,77	7,93	6,01	7,95	6,71
ANIMAL N°	193	194	195	196	197	198	199	200				
COBRE	6,28	14,39	6,38	8,21	8,68	7,6	7,32	6,38				

Tabla 28. Valores individuales de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 7.

ESTABLO	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	0,63 \pm 0,02	0,59	0,67
2	29	0,56 \pm 0,02	0,5	0,61
3	44	0,51 \pm 0,01	0,46	0,55
4	18	0,55 \pm 0,02	0,48	0,62
5	14	0,50 \pm 0,02	0,42	0,57
6	27	0,64 \pm 0,03	0,58	0,69
7	20	0,64 \pm 0,02	0,59	0,69
TOTAL	200	0,58 \pm 0,01	0,56	0,6

Tabla 29 Medias de cobre plasmático ($\mu\text{g/ml}$) obtenidos en cada establo

EDAD	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
menores 13 meses	76	0,59 \pm 0,02	0,56	0,63
Mayores de trece meses	124	0,57 \pm 0,01	0,55	0,6
TOTAL	200	0,58 \pm 0,01	0,56	0,6

Tabla 30. Valores de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ según la edad.

EPOCA	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	99	0,58 \pm 0,02	0,55	0,61
Invierno	101	0,58 \pm 0,01	0,55	0,61
TOTAL	200	0,58 \pm 0,01	0,56	0,6

Tabla 31. Valores de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ según época del año.

Nivel de cobre	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
>6 $\mu\text{g/g MS}$	48	0,63 \pm 0,21	0,59	0,67
4-6 $\mu\text{g/g MS}$	90	0,58 \pm 0,01	0,54	0,61
<4 $\mu\text{g/g MS}$	62	0,55 \pm 0,01	0,52	0,59
TOTAL	200	0,58 \pm 0,01	0,56	0,6

Tabla 32. Valores de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ según la alimentación.

ESTABLO	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	9,44 \pm 0,59	8,7	10,18
2	29	6,77 \pm 0,33	5,72	7,82
3	44	7,35 \pm 0,19	6,51	8,19
4	18	6,42 \pm 0,38	5,2	7,64
5	14	6,27 \pm 0,54	4,88	7,67
6	27	7,41 \pm 0,26	6,43	8,36
7	20	7,13 \pm 0,51	6,18	8,08
TOTAL	200	7,60 \pm 0,18	7,24	7,97

Tabla 33. Valores medios de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en cada establo.

EDAD	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de 13 meses	83	7,92 ± 0,41	7,28	8,55
Mayores de 13 meses	117	7,43 ± 0,19	6,93	7,93
TOTAL	200	7,60 ± 0,19	7,21	8

Tabla 34. Valores de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la edad.

EPOCA	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	97	7,27 ± 0,24	6,69	7,84
Invierno	103	7,89 ± 0,29	7,36	8,42
TOTAL	200	7,60 ± 0,19	7,21	7,99

Tabla 35. Valores de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la época.

Nivel de cobre	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
>6 $\mu\text{g/g MS}$	48	9,44 ± 0,59	8,71	10,18
4-6 $\mu\text{g/g MS}$	90	7,17 ± 0,15	6,61	7,73
<4 $\mu\text{g/g MS}$	62	6,83 ± 0,27	6,2	7,45
TOTAL	200	7,60 ± 0,18	7,24	7,97

Tabla 36. Valores de cobre en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la alimentación.

ESTABLO 1

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MANGANESO	26,8	34,8	37,2	51,2	22,4	94,4	30,8	55,4	48	37,9	65,2	85,6
ANIMAL N°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
MANGANESO	39,2	37,8	39,01	33,6	34,8	80,4	24,5	26,1	54	37,2	28,8	29,2
ANIMAL N°	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
MANGANESO	24,8	30,4	32,8	54,4	26	29,6	26,8	39,2	27,2	32	24,4	30,4
ANIMAL N°	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
MANGANESO	28	29,6	25,6	27,2	32,4	26,4	32	28,4	25,2	52,8	65,2	25,2

Tabla 37. Valores individuales de manganeso sérico en $\mu\text{g/L}$ obtenidos en el establo 1.

ESTABLO 2

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
MANGANES O	31,6	24,8	43,6	34	79,5	29,2	42,4	22,8	52	23,9	29,6	28,1	45,2
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
MANGANES O	23,6	24,5	26,8	18	72,8	48,4	58,4	17,2	27,2	24	30	13,6	20,4
ANIMAL N°	75	76	77										
MANGANES O	30,8	27,2	28,8										

Tabla 38. Valores individuales de manganeso sérico en $\mu\text{g/L}$ obtenidos en el establo 2.

ESTABLO 3

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
MANGANESO	54,8	27,6	52,4	21,2	20,4	18	18,4	20,8	37,2	77,6	33,2	25,6	24
ANIMAL N°	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
MANGANESO	26,8	50	20	42	35	26	36,4	30,8	28,4	24,8	68,8	22,4	46,8
ANIMAL N°	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116
MANGANESO	21,2	21	56,4	45,6	50,4	24,4	18,8	46,4	32,8	27,2	30	32,4	41,2
ANIMAL N°	117	118	119	120	121								
MANGANESO	24,4	34,04	33,8	35,2	34,8								

Tabla 39. Valores individuales de manganeso sérico en µg/L obtenidos en el establo 3.

ESTABLO 4

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
MANGANESO	57,2	56,4	63,2	44	45,6	48	66	40	71,6	48,4	54,8	53,6	57,6
ANIMAL N°	135	136	137	138	139								
MANGANESO	52,8	54,2	56	53,3	54,1								

Tabla 40. Valores individuales de manganeso sérico en µg/L obtenidos en el establo 4.

ESTABLO 5

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
MANGANESO	32,8	59,2	58,4	44,8	56,4	54,5	20,8	42,4	47,6	46,3	44	47,2
ANIMAL N°	152	153										
MANGANESO	46,1	42,2										

Tabla 41. Valores individuales de manganeso sérico en µg/L obtenidos en el establo 5.

ESTABLO 6

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166
MANGANESO	63,2	43,2	65,2	23,2	60	22	30,4	56,4	23,2	58	56,4	60,4	55,2
ANIMAL N°	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179
MANGANESO	59,6	33,4	53,6	42	33,2	38,8	40,2	32,2	54,4	30,5	37,5	44,6	47,2
ANIMAL N°	180												
MANGANESO	40,6												

Tabla 42. Valores individuales de manganeso sérico en µg/L obtenidos en el establo 6.

ESTABLO 7

ANIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
MANGANESO	57,2	54,8	35,2	37,6	67,2	28,5	37,2	40	39,5	42,8	28,8	65,6
ANIMAL N°	193	194	195	196	197	198	199	200				
MANGANESO	37,6	39,8	29,2	35,2	27,2	28	12,8	39,6				

Tabla 43. Valores individuales de manganeso sérico en µg/L obtenidos en el establo 7.

ESTABLO 1

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MANGANESO	9,93	5,6	4,256	7,05	2,66	3,149	26,64	6,97	16,6	4,33	3,84	4,8
ANIMAL N°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
MANGANESO	12,52	5,08	4,13	7,94	6,3	42,76	5,5	15,42	6,96	5,51	5,42	3,3
ANIMAL N°	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
MANGANESO	10,37	7,82	5,44	7,64	4,81	41,81	22,71	9,37	12,12	13,88	55,1	10,39
ANIMAL N°	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
MANGANESO	22,61	12,52	5,93	12,64	5,76	5,39	7,65	11,34	13,56	9,55	12,04	10,35

Tabla 44. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 1.**ESTABLO 2**

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
MANGANESO	2,11	1,97	2,59	21,02	1,74	5,58	2,04	4,95	8,48	1,61	2,1	2,07	1,62
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
MANGANESO	3,75	6,17	2,57	2,67	1,79	3,49	1,42	7,45	2,91	1,56	2,88	4,51	4,2
ANIMAL N°	75	76	77										
MANGANESO	4,9	3,2	3,95										

Tabla 45. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 2.**ESTABLO 3**

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89
MANGANESO	2,08	13,53	2,74	2,7	4,16	3,4	3,15	3,8	4,34	2,45	13,98	2,4
ANIMAL N°	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101
MANGANESO	3,66	1,49	1,98	9,59	13,86	3,92	4,08	2,76	4,66	4,41	3,44	2,9
ANIMAL N°	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
MANGANESO	4,66	8,6	2,94	3,22	2,37	2,96	4,59	3,68	4,91	3,86	2,22	7,77
ANIMAL N°	114	115	116	117	118	119	120	121				
MANGANESO	4,64	4,02	3,51	5,2	4,32	5,05	4,12	4,35				

Tabla 46. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 3.**ESTABLO 4**

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133
MANGANESO	1,9	1,58	23,35	16,18	12,44	11,43	16,85	6,57	11,56	10,35	24,88	23,41
ANIMAL N°	134	135	136	137	138	139						
MANGANESO	10,89	14,75	15,75	13,45	11,36	16,25						

Tabla 47. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
MANGANESO	5,7	11,34	14,31	9,29	40,32	11,2	23,07	9,86	66,3	9,85	7,07	22,51
ANIMAL N°	152	153										
MANGANESO	18,07	19,36										

Tabla 48. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 5.

ESTABLO 6

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
MANGANESO	8,42	11,85	3,08	5,99	13,29	3,8	14,22	3,6	10,68	6,87	3,21	15,11
ANIMAL N°	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177
MANGANESO	3,59	8,59	9,58	5,17	8,7	3,09	8,03	4,8	4,97	42,13	3,03	2,71
ANIMAL N°	178	179	180									
MANGANESO	2,84	4,62	7,99									

Tabla 49. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 6.**ESTABLO 7**

ANIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
MANGANESO	1,29	1,12	1,08	1,66	1,69	1,35	1,06	6,41	1,5	1,38	4,66	12,43
ANIMAL N°	193	194	195	196	197	198	199	200				
MANGANESO	2,67	2,63	2,45	4,16	5,76	3,25	10,79	5,04				

Tabla 50. Valores individuales de manganeso en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 7.

ESTABLO	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	38,13 \pm 2,40	33,94	42,32
2	29	33,74 \pm 2,93	28,35	39,14
3	44	34,04 \pm 2,28	29,44	38,63
4	18	54,22 \pm 2,34	46,46	61,98
5	14	46,31 \pm 4,30	36,63	55,99
6	27	44,68 \pm 2,87	38,75	50,61
7	20	38,25 \pm 2,52	32,86	43,65
TOTAL	200	39,00 \pm 1,05	36,91	41,09

Tabla 51. Valores de manganeso sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenido en cada establo.

EDAD	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de trece meses	75	41,91 \pm 2,01	38,21	45,61
Mayores de trece meses	125	37,42 \pm 1,32	34,69	40,15
TOTAL	200	39,00 \pm 1,11	36,81	41,2

Tabla 52. Valores de manganeso sérico ($\mu\text{g/L}$) según la edad.

EPOCA	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	97	45,76 \pm 1,81	42,79	48,73
Invierno	103	33,10 \pm 1,09	30,33	35,88
TOTAL	200	39,00 \pm 1,02	36,98	41,03

Tabla 53. Valores de manganeso sérico ($\mu\text{g/L}$) según la época.

Nivel de Mn	n	MEDIA \pm DS	Intervalo de confianza al 95%	
>50 $\mu\text{g/g MS}$	48	41,76 \pm 2,11	37,9	45,62
30-50 $\mu\text{g/g MS}$	90	39,93 \pm 1,83	36,39	43,46
<30 $\mu\text{g/g MS}$	62	34,80 \pm 1,76	30,78	38,83
TOTAL	200	39,00 \pm 1,10	36,82	41,19

Tabla 54. Valores de manganeso sérico ($\mu\text{g/L}$) según la alimentación.

ESTABLO	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	11,34 ± 1,72	8,87	13,8
2	29	3,96 ± 0,80	1,72	7,19
3	44	4,64 ± 0,54	1,95	7,34
4	18	13,45 ± 1,82	9,28	17,63
5	14	19,14 ± 4,69	14,65	23,63
6	27	8,15 ± 1,54	4,98	11,32
7	20	3,58 ± 0,56	1,58	6,58
TOTAL	200	8,13 ± 0,59	6,94	9,31

Tabla 55. Valores de manganeso en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) de cada establo.

EDAD	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de trece meses	75	7,78 ± 1,10	5,39	10,17
Mayores de trece meses	125	8,29 ± 0,85	6,67	9,91
TOTAL	200	8,13 ± 0,68	6,78	9,47

Tabla 56. Valores de manganeso en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la edad.

EPOCA	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	97	6,70 ± 0,97	4,76	8,65
Invierno	103	9,37 ± 0,93	7,55	11,18
TOTAL	200	8,13 ± 0,67	6,8	9,46

Tabla 57. Valores de manganeso en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la época.

Nivel de Mn	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
>50 $\mu\text{g/g MS}$	48	11,88 ± 1,36	9,4	14,37
30-50 $\mu\text{g/g MS}$	90	7,71 ± 1,44	3,74	9,58
<30 $\mu\text{g/g MS}$	62	6,66 ± 0,85	5,22	10,19
TOTAL	200	8,96 ± 0,76	7,46	10,47

Tabla 58. Valores de manganeso en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la alimentación.

ESTABLO 1

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CINC	0,896	1,156	1,204	1,336	0,832	0,892	0,816	0,892	0,412	0,908	0,992	0,884
ANIMAL N°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
CINC	0,984	0,992	0,864	0,66	0,852	0,512	0,997	0,648	0,996	0,724	1,004	0,932
ANIMAL N°	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
CINC	0,54	1,208	1,076	1,34	1,792	0,76	0,816	1,236	0,808	0,948	0,844	0,808
ANIMAL N°	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
CINC	0,78	2,376	0,82	1,076	1,168	0,76	0,92	2,204	0,804	0,82	1,172	0,832

Tabla 59. Valores individuales de cinc plasmático en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos en el establo 1.

ESTABLO 2

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
CINC	0,8	1,152	0,675	0,424	0,436	0,68	1,4	0,46	0,692	0,652	0,744	0,748	0,508
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
CINC	0,576	0,636	1,744	0,476	0,82	1,50	0,736	0,844	0,693	0,708	0,792	1,036	0,96
ANIMAL N°	75	76	77										
CINC	0,812	0,484	0,982										

Tabla 60. Valores individuales de cinc plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 2.**ESTABLO 3**

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
CINC	0,804	0,712	0,688	0,768	0,564	0,36	0,924	0,788	0,752	0,696	0,512	0,516	0,556
ANIMAL N°	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
CINC	0,992	0,4	0,884	0,66	0,708	0,792	0,693	0,796	0,828	0,524	0,62	1,148	0,952
ANIMAL N°	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116
CINC	2,024	3,293	0,668	0,504	0,876	1,588	0,56	0,648	1,016	1,648	0,428	1,192	1,064
ANIMAL N°	117	118	119	120	121								
CINC	1,04	0,892	0,883	0,862	0,822								

Tabla 61. Valores individuales de cinc plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 3.**ESTABLO 4**

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
CINC	0,9	0,888	0,992	2,652	0,728	1,088	1,064	0,436	0,6	0,572	1,212	0,935	0,804
ANIMAL N°	135	136	137	138	139								
CINC	0,949	1,002	0,932	0,95	0,942								
ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
CINC	0,9	0,888	0,992	2,652	0,728	1,088	1,064	0,436	0,6	0,572	1,212	0,935	0,804
ANIMAL N°	135	136	137	138	139								
CINC	0,949	1,002	0,932	0,95	0,942								

Tabla 62. Valores individuales de cinc plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
CINC	0,448	1,312	0,868	0,936	3	0,8	0,392	0,764	1,572	0,448	2,244	0,544
ANIMAL N°	152	153										
CINC	1,104	0,764										

Tabla 63. Valores individuales de cinc plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 5.

ESTABLO 6

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166
CINC	0,732	0,944	0,62	1,892	1,396	0,632	0,504	0,444	0,759	0,736	1,352	1,048	
ANIMAL N°	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179
CINC	0,876	0,792	1,048	3,348	0,764	0,916	0,92	0,536	0,82	1,096	0,964	0,676	0,752
ANIMAL N°	180												
CINC	0,904												

Tabla 64. Valores individuales de cinc plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 6.**ESTABLO 7**

ANIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
CINC	0,792	0,895	0,824	0,684	0,836	1,164	1,92	2,584	0,572	0,888	0,7	0,708
ANIMAL N°	193	194	195	196	197	198	199	200				
CINC	0,668	0,964	0,664	0,884	0,504	0,856	0,856	0,572				

Tabla 65. Valores individuales de cinc plasmático en µg/ml obtenidos en el establo 7.**ESTABLO 1**

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CINC	190,4	189,4	288	299,9	199,8	220	148,8	257,9	152,7	189,8	147,1	204,7
ANIMAL N°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
CINC	217	216	223,2	156,3	193,6	209,4	198,7	244,3	114,3	76,72	202,1	128,1
ANIMAL N°	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
CINC	195,3	155,2	176,7	152,2	156,9	251,7	151	215,2	157	330,3	189,5	130,2
ANIMAL N°	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
CINC	134,6	168,4	175,8	121	123,5	130,9	241,4	188,4	201,3	177,2	185	189,6

Tabla 66. Valores individuales de cinc en el pelo (µg/g MS) obtenidos en el establo 1.**ESTABLO 2**

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
CINC	133,6	212,6	94,87	168	199,3	311	165,3	176,3	251,7	101,2	147,5	93	152
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
CINC	135,4	141,5	103,2	136,7	226,8	192,3	147,6	71,72	194,7	161,6	175,2	158,3	
ANIMAL N°	75	76	77										
CINC	168,1	149,3	159,4										

Tabla 67. Valores individuales de cinc en el pelo (µg/g MS) obtenidos en el establo 2.

ESTABLO 3

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89
CINC	152	121	143,6	127	157,6	130,2	150,2	168,5	185	138	132	120,4
ANIMAL N°	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101
CINC	83,87	133,4	131,5	174	257	126,5	121,7	129,1	105,1	147,9	128,2	169,1
ANIMAL N°	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
CINC	140,6	140,6	128,9	114,5	116,8	146	140,8	145	154,6	137,3	152,5	117,6
ANIMAL N°	114	115	116	117	118	119	120	121				
CINC	146,3	148,3	139,3	145	138,2	144,2	139,3	144,5				

Tabla 68. Valores individuales de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 3.**ESTABLO 4**

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133
CINC	96,78	72,98	124	143,7	125,5	2773	129,2	88,43	116,6	98,01	90,95	119,7
ANIMAL N°	134	135	136	137	138	139						
CINC	100,1	123,4	118,9	97,99	117,3	122,3						

Tabla 69. Valores individuales de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
CINC	63,12	100,3	86,17	94,48	87,28	114	88,31	96,83	74,38	119,4	102,8	206,6
ANIMAL N°	152	153										
CINC	198,4	110,3										

Tabla 70. Valores individuales de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 5.**ESTABLO 6**

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
CINC	91,46	241,3	100,5	141,4	260,5	147,2	248,2	90,16	227,5	89,69	93,43	288,2
ANIMAL N°	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177
CINC	137,3	122,2	200,6	82,56	131,8	134,8	126	190,6	141,6	164,7	248,5	140,1
ANIMAL N°	178	179	180									
CINC	117,7	120,7	122,8									

Tabla 71. Valores individuales de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 6.**ESTABLO 7**

ANIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
CINC	144	94,19	104,2	87,86	54,58	27,04	104	94,3	158,3	121,2	244,4	143,9
ANIMAL N°	193	194	195	196	197	198	199	200				
CINC	135,4	112	100,7	51,19	137,3	137	155,2	213,9				

Tabla 72. Valores individuales de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) obtenidos en el establo 7.

ESTABLO	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	0,99 ± 0,05	0,84	1,11
2	29	0,79 ± 0,06	0,61	0,96
3	44	0,78 ± 0,07	0,74	1,02
4	18	0,94 ± 0,11	0,73	1,16
5	14	1,08 ± 0,19	0,83	1,33
6	27	0,96 ± 0,10	0,8	1,15
7	20	0,91 ± 0,08	0,74	1,08
TOTAL	200	0,93 ± 0,03	0,86	0,99

Tabla 73. Valores de cinc plasmático en µg/ml en cada establo

EDAD	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de 13 meses	79	1,00 ± 0,06	0,89	1,1
Mayores de 13 meses	121	0,88 ± 0,03	0,8	0,97
TOTAL	200	0,93 ± 0,03	0,86	0,99

Tabla 74. Valores de cinc plasmático (µg/ml) según la edad.

EPOCA	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	100	0,87 ± 0,04	0,78	0,96
Invierno	100	0,98 ± 0,04	0,89	1,08
TOTAL	200	0,93 ± 0,03	0,86	0,99

Tabla 75. Valores de cinc plasmático (µg/ml) según la época.

NIVEL DE Zn	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
>20 µg/g MS	70	0,94 ± 0,06	0,82	1,07
10-20 µg/g MS	74	0,93 ± 0,06	0,82	1,04
<10 µg/g MS	56	0,91 ± 0,04	0,8	1,01
TOTAL	200	0,93 ± 0,03	0,86	0,99

Tabla 76. Valores de cinc plasmático (µg/ml) según la alimentación

ESTABLO	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	188,24 ± 8,18	173,16	203,32
2	29	161,63 ± 2,15	140,3	182,95
3	44	143,71 ± 5,34	127,04	160,38
4	18	119,71 ± 10,77	95,45	143,97
5	14	110,18 ± 12,09	82,043	137,92
6	27	155,59 ± 11,59	136,34	174,84
7	20	139,23 ± 10,45	120,32	158,13
TOTAL	200	152,83 ± 3,70	145,51	160,14

Tabla 77. Valores de cinc en el pelo (µg/g MS) en los establos muestreados.

EDAD	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de 13 meses	79	152,63 ± 7,23	139,63	165,63
Mayores de 13 meses	121	152,95 ± 4,82	142,78	163,12
TOTAL	200	152,83 ± 4,05	144,82	160,84

Tabla 78. Valores de cinc en el pelo (µg/g MS) según la edad.

EPOCA	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	100	151,09 ± 6,66	139,49	162,7
Invierno	100	154,40 ± 4,83	143,34	165,46
TOTAL	200	152,83 ± 4,05	144,82	160,83

Tabla 79. Valores de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la época.

NIVEL DE Zn	n	MEDIA DS	Intervalo de confianza al 95%	
>20 $\mu\text{g/g MS}$	70	179,37 6,91	166,84	191,91
10-20 $\mu\text{g/g MS}$	74	147,26 7,79	133,53	160,99
<10 $\mu\text{g/g MS}$	56	130,92 4,92	118,39	143,46
TOTAL	200	152,83 3,77	145,38	160,27

Tabla 80. Valores de cinc en el pelo ($\mu\text{g/g MS}$) según la alimentación.

ESTABLO 1

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SELENIO	51,6	31,6	55,6	38,4	52	34,4	40,4	42	56,4	30,8	76,4	33,6
ANIMAL N°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
SELENIO	67,6	46,4	30,8	64,4	67,6	42,4	60,8	60,4	30	35,6	50	50
ANIMAL N°	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
SELENIO	24,8	39,6	19,6	41,2	36,8	27,6	47,6	31,2	50,8	41,2	64,8	34,4
ANIMAL N°	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
SELENIO	17,6	40,4	26	32	44	40,8	85,2	30	77,2	39,2	52	41,6

Tabla 81. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 1.

ESTABLO 2

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
SELENIO	82	42,4	28,4	37,2	26,4	65,6	53,6	41,6	39,6	35,6	34,4	30,8	26
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
SELENIO	40	32	48	27,6	28,8	20,4	25,2	54,4	32,8	38,8	58,8	36	50,8
ANIMAL N°	75	76	77										
SELENIO	39,6	40,4	44,5										

Tabla 82. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 2.

ESTABLO 3

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
SELENIO	84,4	77,6	55,2	68,8	70	82,4	98	76,4	88,4	41,2	36,4	66	86
ANIMAL N°	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
SELENIO	70	81,2	76,8	56,4	88,8	99,2	71,2	66,8	61,6	74,4	68	110,8	53,2
ANIMAL N°	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116
SELENIO	82,4	84	92,4	86,8	93,6	25,6	111,2	85,6	81,2	83,2	108,8	26	96
ANIMAL N°	117	118	119	120	121								
SELENIO	81,2	76,5	79,5	74	76,2								

Tabla 83. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 3.

ESTABLO 4

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
SELENIO	88,8	111,2	99,2	73,2	73,6	86	86,4	136	57,5	95,6	97,5	89,56	101,2
ANIMAL N°	135	136	137	138	139								
SELENIO	82,2	90,4	88,2	93	92,4								

Tabla 84. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 4.**ESTABLO 5**

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
SELENIO	101,2	67,2	73,6	46	84,4	66,4	61	65,4	86	72,3	71	76,3
ANIMAL N°	152	153										
SELENIO	72,5	70,6										

Tabla 85. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 5.**ESTABLO 6**

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166
SELENIO	30,4	28,3	71,2	65,2	84,4	61,2	51,6	61,2	108,8	80,4	116,5	83,4	117,2
ANIMAL N°	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179
SELENIO	81,6	92,4	74,4	67,8	40,4	159,2	53,2	66	76,4	57,2	48,4	73,6	77
ANIMAL N°	180												
SELENIO	68,8												

Tabla 86. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 6.**ESTABLO 7**

ANIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192
SELENIO	74,8	72	109,2	36,4	114,2	39,6	33,6	32,8	48	38,4	54,4	31,6
ANIMAL N°	193	194	195	196	197	198	199	200				
SELENIO	21,6	193	367,9	78	82,4	27,6	23,2	40,8				

Tabla 87. Valores individuales de selenio sérico ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en el establo 7.**ESTABLO 1**

ANIMAL N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
GSH-Px	126,6	304,1	62,4	199,9	82,26	160	36,53	104,2	121,6	66,86	65,73	94,44	191,6
ANIMAL N°	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
GSH-Px	55,69	85,72	93,08	90,91	73,69	73,97	36,8	48,34	56,3	42,4	81,22	141,7	65,86
ANIMAL N°	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
GSH-Px	76,53	110,5	85,08	85,83	90,91	47,63	206,8	185,6	42,46	61,04	240,4	152,7	138,9
ANIMAL N°	40	41	42	43	44	45	46	47	48				
GSH-Px	101,8	120,9	160	94,44	101,2	119,3	117,2	114	118,6				

Tabla 88. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 1.

ESTABLO 2

ANIMAL N°	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
GSH-Px	80,74	59,53	60,32	70,25	70,71	87,05	72,65	66,35	68,44	70,33	82,31	64,28	69,42
ANIMAL N°	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
GSH-Px	74,36	59,13	53,61	73,42	72,94	41,65	129,7	47,76	152,3	63,12	178,2	73,12	57,04
ANIMAL N°	75	76	77										
GSH-Px	68,55	189,9	78,54										

Tabla 89. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 2.

ESTABLO 3

ANIMAL N°	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
GSH-Px	69,73	101	76	53,67	69,03	73,01	84,64	64,54	120,1	70,2	47,77	99,51	110
ANIMAL N°	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
GSH-Px	81,24	120,2	255,5	59,42	75,01	67,28	84,9	60,76	117,6	212,5	89,64	109,1	68,55
ANIMAL N°	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116
GSH-Px	79,01	52,61	110,9	87,42	31,97	106,4	163,7	46,17	104	302,9	109,3	347,8	334,4
ANIMAL N°	117	118	119	120	121								
GSH-Px	119,6	421,1	120,1	111	133,5								

Tabla 90. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 3.

ESTABLO 4

ANIMAL N°	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
GSH-Px	170,2	47,53	42,45	12,32	20,38	22,9	16,2	10,22	20,95	30,39	49,75	16,27	18,25
ANIMAL N°	135	136	137	138	139								
GSH-Px	10,44	17,15	19,6	10,81	31,52								

Tabla 91. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 4.

ESTABLO 5

ANIMAL N°	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152
GSH-Px	99,57	127,7	14,76	116,7	20,73	45,61	18,26	43,11	17,53	70,55	17,96	33,42	27,39
ANIMAL N°	153												
GSH-Px	34,32												

Tabla 92. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 5.

ESTABLO 6

ANIMAL N°	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166
GSH-Px	202,3	18,6	126	48,04	181,8	23,04	57,33	30,8	55,45	26,97	58,15	31,96	36,99
ANIMAL N°	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179
GSH-Px	60,71	53,3	59,35	39,8	356	33,15	26,57	126,4	33,24	128,5	60,41	93,42	115,1
ANIMAL N°	180												
GSH-Px	99,38												

Tabla 93. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 6.

ESTABLO 7

NIMAL N°	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193
SH-Px	34,53	24,96	17,11	27,18	39,80	40,65	64,78	44,91	39,36	35,38	413,1	280,9	414,0
NIMAL N°	194	195	196	197	198	199	200						
SH-Px	29,82	39,36	35,38	333,2	155,4	308,3	465						

Tabla 94. Valores individuales de GSH-Px (UI/g Hb) obtenidos en el establo 7.

ESTABLO	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	44,51 ± 2,19	32,36	56,66
2	29	39,79 ± 2,49	24,16	55,42
3	44	76,18 ± 3,22	62,87	89,48
4	18	90,47 ± 5,26	67,97	112,96
5	14	72,37 ± 5,39	44,32	100,43
6	27	73,61 ± 5,82	56,77	90,44
7	20	104,88 ± 18,58	89,25	120,51
TOTAL	200	67,72 ± 3,06	61,67	73,76

Tabla 95. Valores de selenio sérico (µg/L) en cada establo.

EDAD	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de 13 meses	79	60,13 ± 2,93	49,46	70,8
Mayores de 13 meses	121	72,71 ± 5,30	64,05	81,37
TOTAL	200	67,72 ± 3,40	60,99	74,44

Tabla 96. Valores de selenio sérico (µg/L) según edad.

EPOCA	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	100	59,34 ± 2,71	49,8	68,89
Invierno	100	75,75 ± 6,09	66,4	85,1
TOTAL	200	67,72 ± 3,38	61,04	74,4

Tabla 97. Valores de selenio sérico (µg/L) según época.

NIVEL DE Se	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
>0,3µg/g MS	200	67,72 ± 3,42	60,95	74,48

Tabla 98. Valores de selenio sérico (µg/L) según la alimentación.

ESTABLO	n	MEDIA ±DS	Intervalo de confianza al 95%	
1	48	107,17± 9,13	80,04	134,3
2	29	78,54 ± 6,97	45,89	111,19
3	44	120,07± 13,86	92,62	147,53
4	18	31,52 ± 9,18	11,11	74,15
5	14	49,12 ±10,38	21,36	96,1
6	27	80,84 ±14,10	47	114,17
7	20	179,38 ±32,23	146,73	212,03
TOTAL	200	102,06 ± 6,31	89,6	114,52

Tabla 99. Valores de GSH-Px (UI/g Hb) en cada establo.

EDAD	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Menores de 13 meses	79	127,73 ± 12,45	105,73	149,73
Mayores de 13 meses	121	87,19 ± 7,86	70,44	103,93
TOTAL	200	102,06 ± 6,75	88,74	115,38

Tabla 100. Valores de GSH-Px (UI/g Hb) según edad.

EPOCA	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
Primavera	100	73,35 ± 5,81	54,11	92,58
Invierno	100	126,75 ± 11,27	108,91	144,59
TOTAL	200	102,06 ± 6,63	88,98	115,14

Tabla 101. Valores de GSH-Px (UI/g Hb) según la época.

NIVEL DE Se	n	MEDIA ± DS	Intervalo de confianza al 95%	
>0,3µg/g MS	200	102,06 ± 6,87	88,49	115,63

Tabla 102. Valores de GSH-Px (UI/g Hb) según la alimentación.

	ESTABLO		EDAD		EPOCA		ALIMENTACION	
	g.l.=6		g.l.=1		g.l.=1		g.l.=2	
	F	N.S.*	F	N.S.*	F	N.S.*	F	N.S.*
Cu plasmático	5,661	xxx	1,047	no sign.	0,031	no sign.	3,995	x
Cu en pelo	5,869	xxx	0,926	no sign.	2,491	no sign.	16,261	xxx
Mn sérico	4,879	xxx	3,702	no sign.	37,754	xxx	3,247	x
Mn en pelo	9,72	xxx	0,122	no sign.	3,89	x	4,406	x
Zn plasmático	0,883	no sign.	2,776	no sign.	2,902	no sign.	0,101	no sign.
Zn en pelo	6,98	xxx	0,001	no sign.	0,166	no sign.	14,995	xxx
Se sérico	9,13	xxx	3,261	no sign.	5,868	x	0	no sign.
GSH-Px	7,132	xxx	8,368	xx	16,126	xxx	0	no sign.

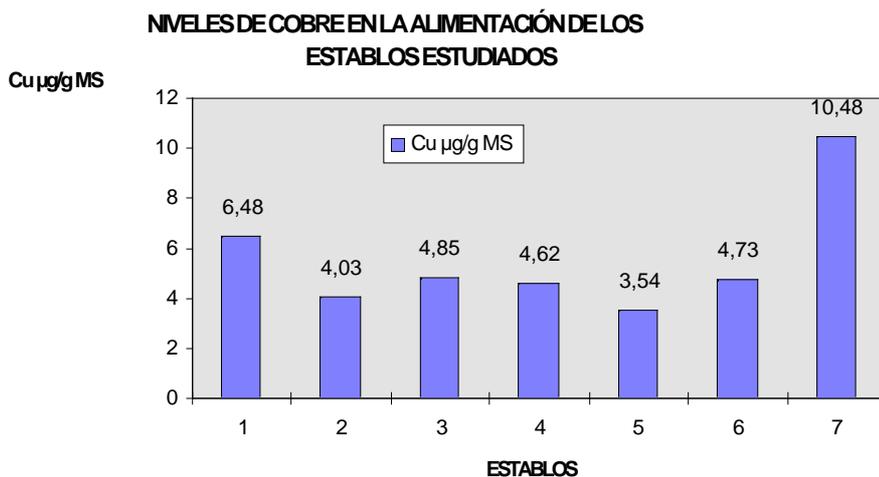
Tabla 103. Nivel de significación estadística de los parámetros estudiados.

*Nivel de significación

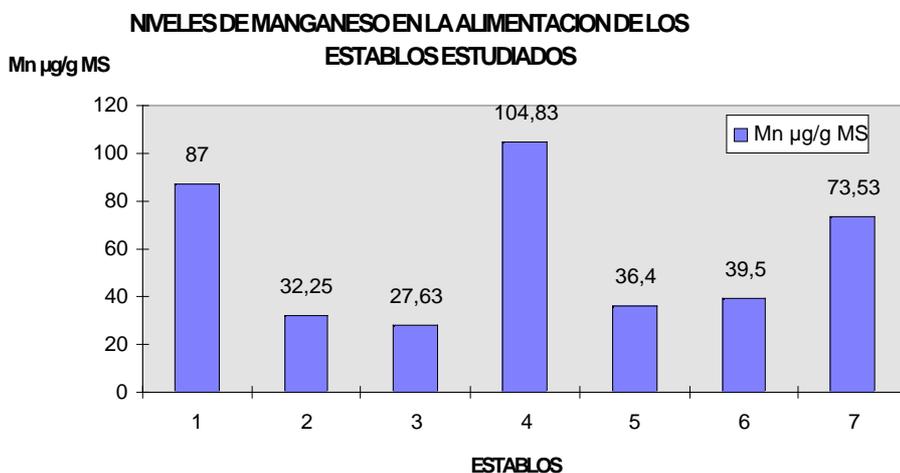
0.5>N.S.>0.01 =x

0.01>N.S.>0.001 =xx

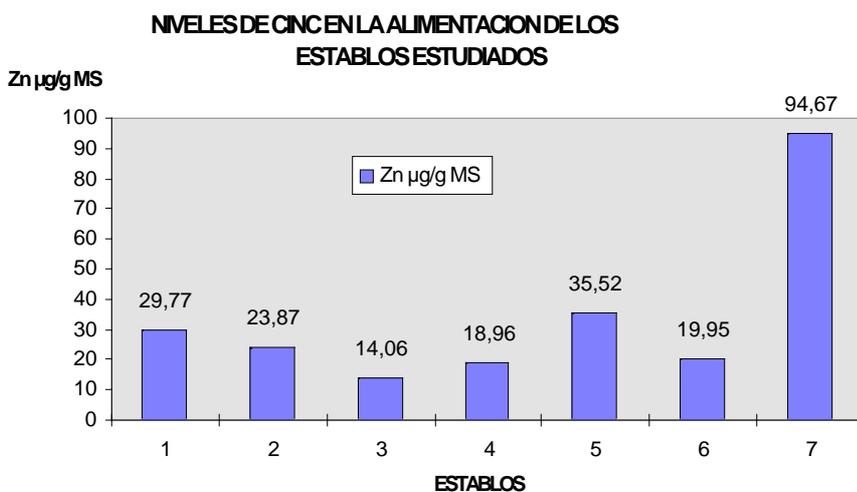
0.001>N.S. =xxx



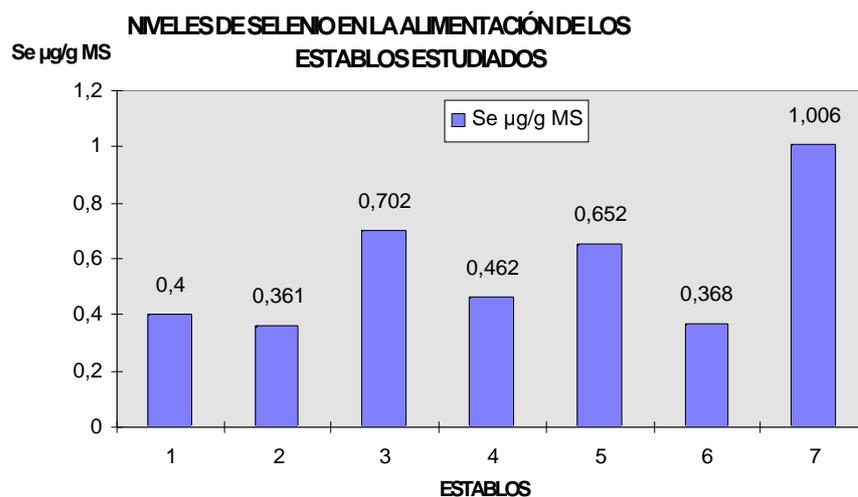
Graf. 1. Niveles de cobre en la alimentación en µg/g MS de los establos estudiados.



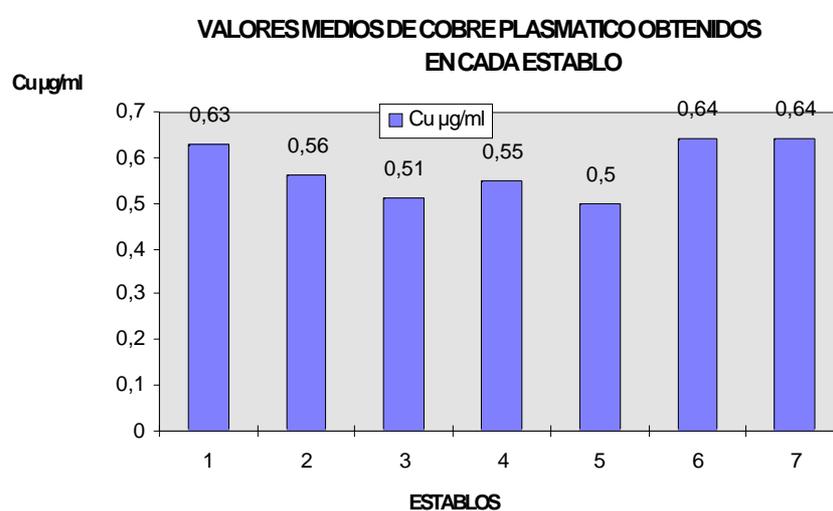
Graf. 2. Niveles de manganeso en µg/g MS en la alimentación de los establos estudiados.



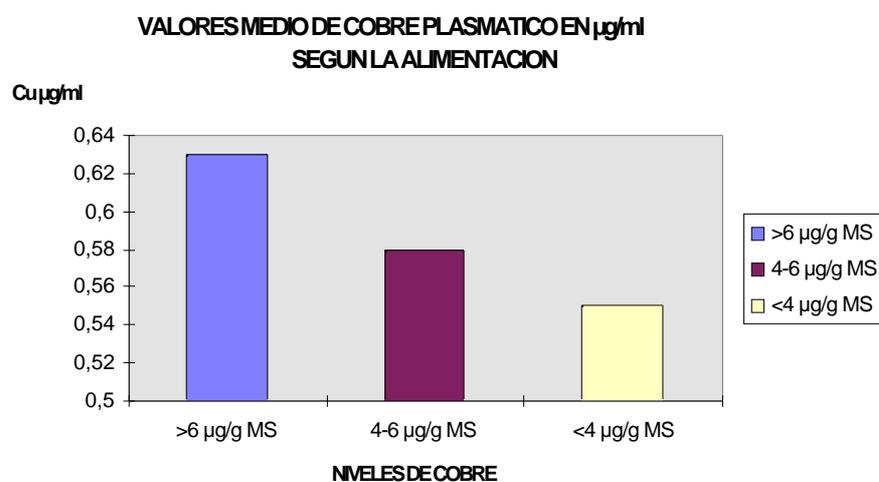
Graf. 3. Niveles de cinc en µg/g Ms en la alimentación de los establos estudiados.



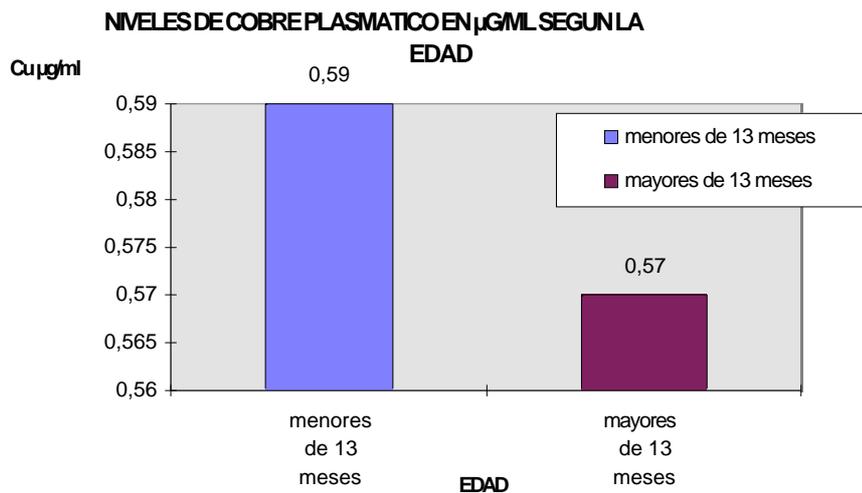
Graf. 4. Niveles de selenio en $\mu\text{g/g MS}$ en la alimentación de los establos estudiados.



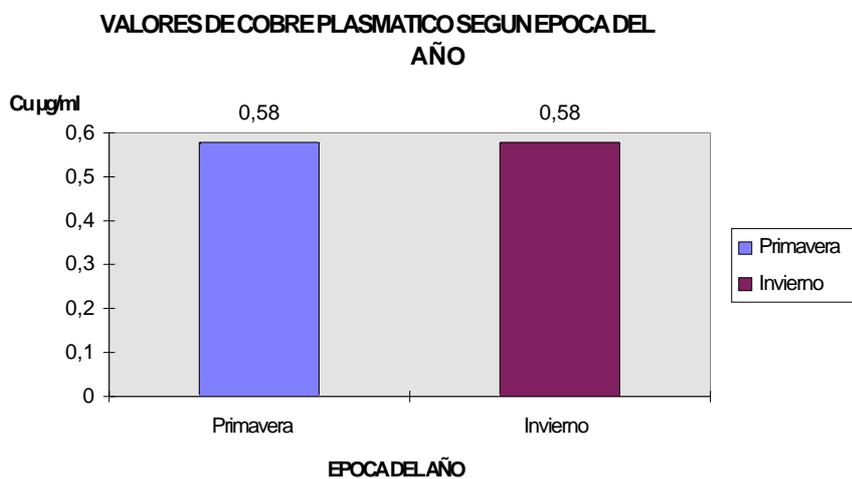
Graf. 5. Valores medios de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ obtenidos en cada establo estudiado.



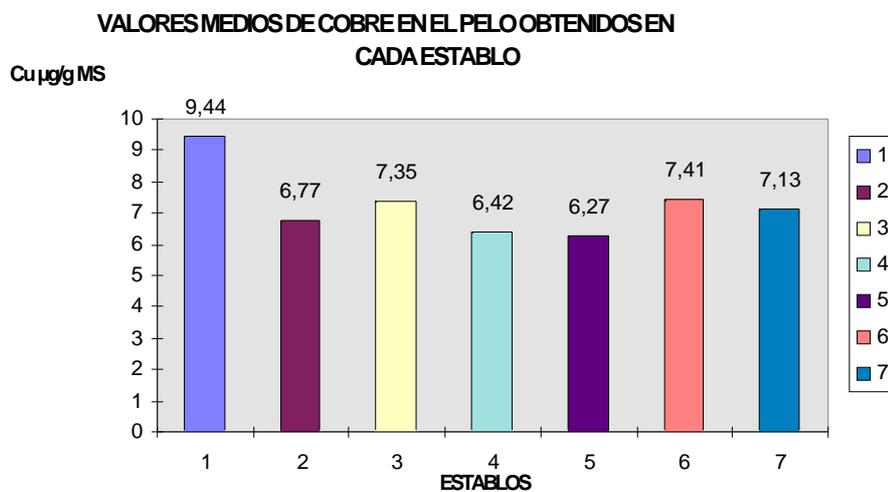
Graf. 6. Valores medios de cobre plasmático en $\mu\text{g/ml}$ según la alimentación.



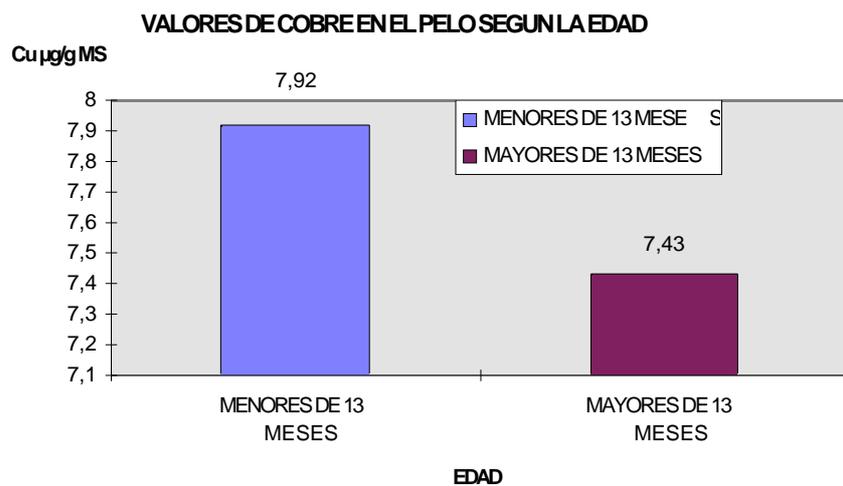
Gráf. 7 Niveles de cobre plasmático en $\mu\text{g}/\text{ml}$ según la edad.



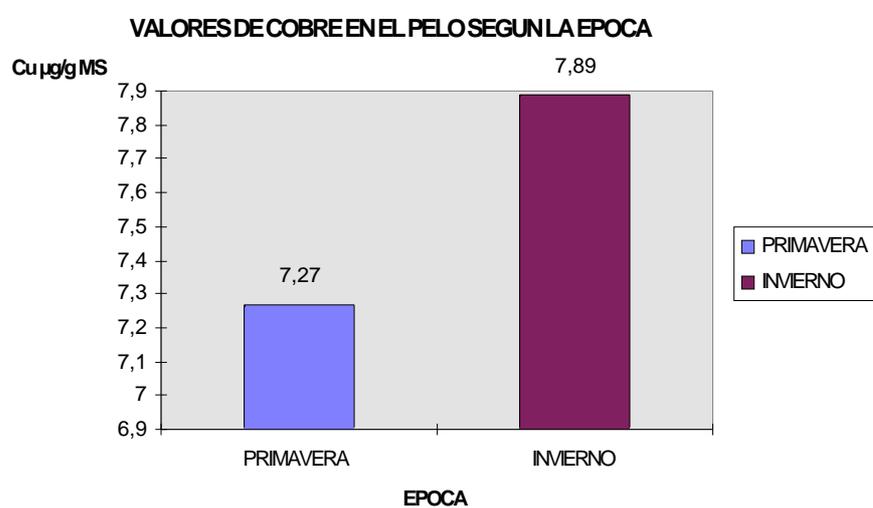
Gráf. 8. Valores de cobre plasmático en $\mu\text{g}/\text{ml}$ según la época del año



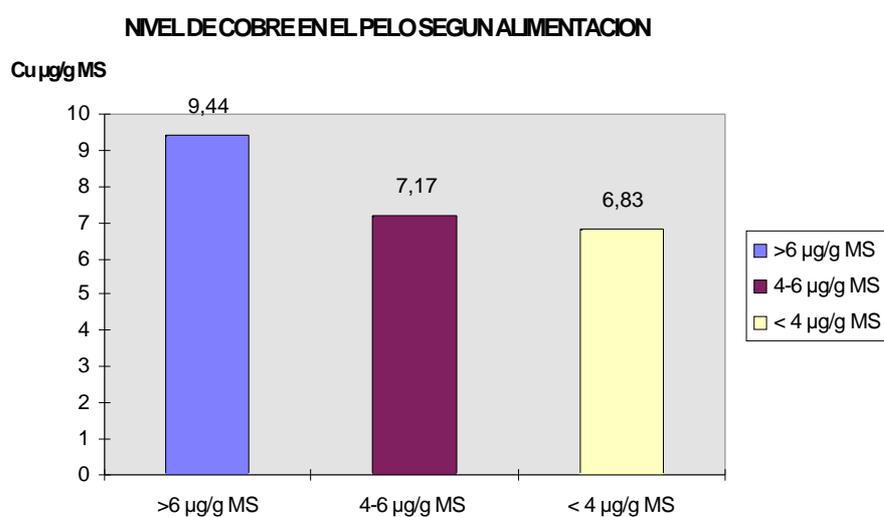
Gráf. 9. Valores medios de cobre ($\mu\text{g}/\text{g MS}$) en el pelo obtenidos en los establos estudiados.



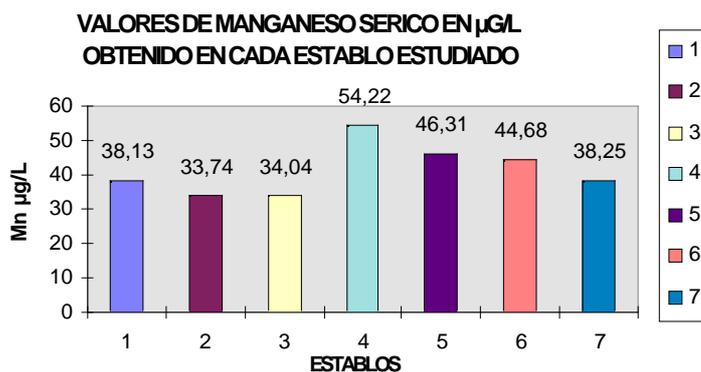
Gráf. 10. Valores de cobre ($\mu\text{g/g MS}$) en el pelo según la edad.



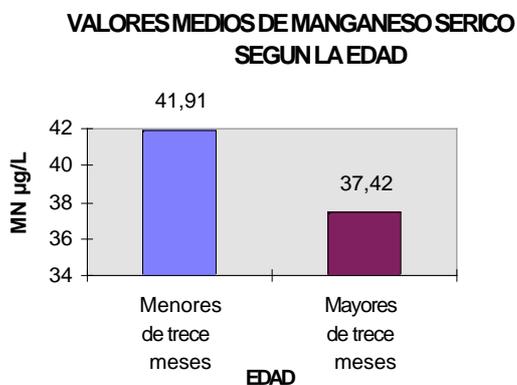
Gráf. 11. Valores de cobre ($\mu\text{g/g MS}$) en el pelo según la época de muestreo.



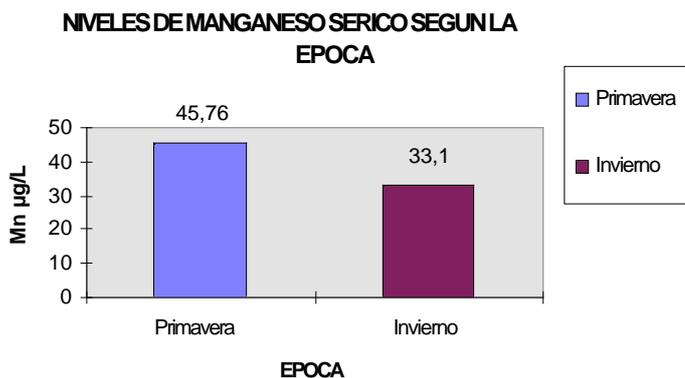
Gráf.12. Valores de cobre ($\mu\text{g/g MS}$) en el pelo según la alimentación.



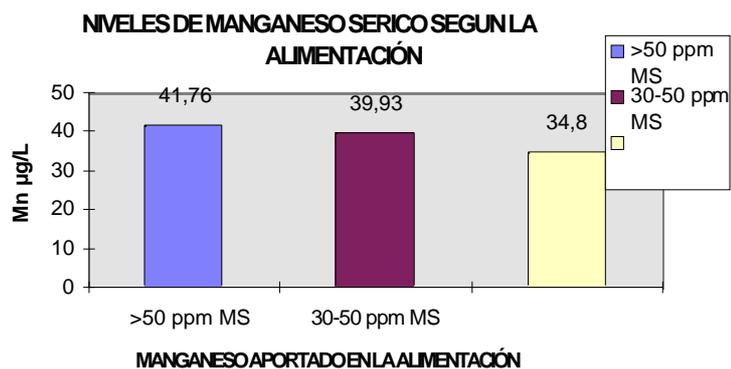
Graf. 13. Valores medios de manganeso sérico obtenido en cada establo estudiado.



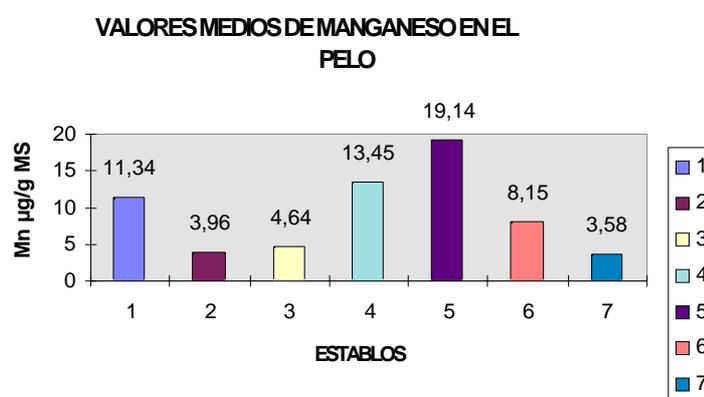
Graf. 14. Valores medios de manganeso sérico según la edad de los animales estudiados.



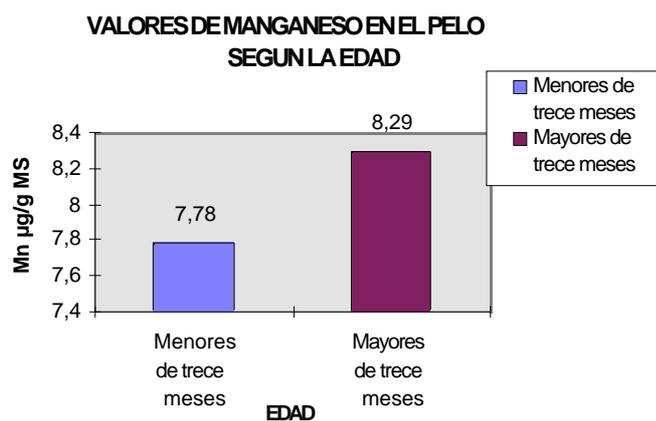
Graf. 15. Valores medios de manganeso sérico según la época estudiada.



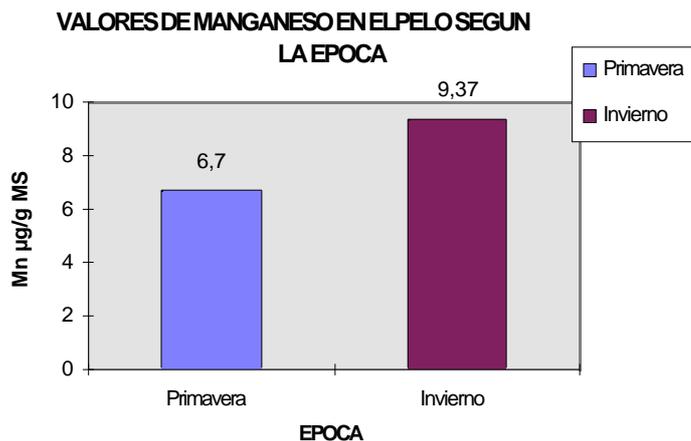
Graf. 16. Valores de manganeso sérico según la alimentación aportada.



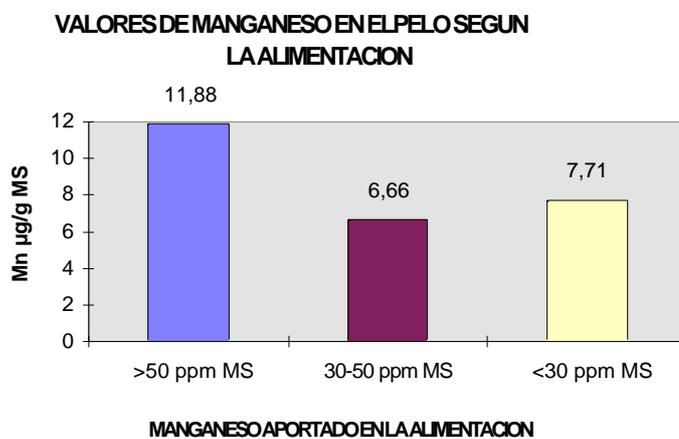
Graf. 17. Valores medios de manganeso en el pelo en los establos estudiados.



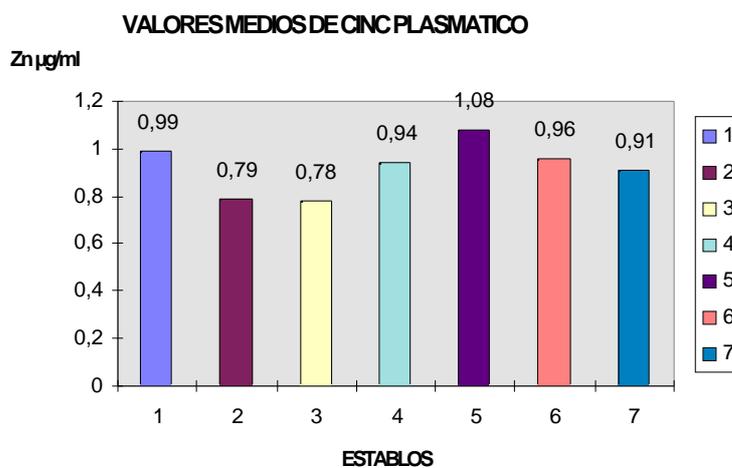
Graf. 18. Valores de manganeso en el pelo según la edad estudiada.



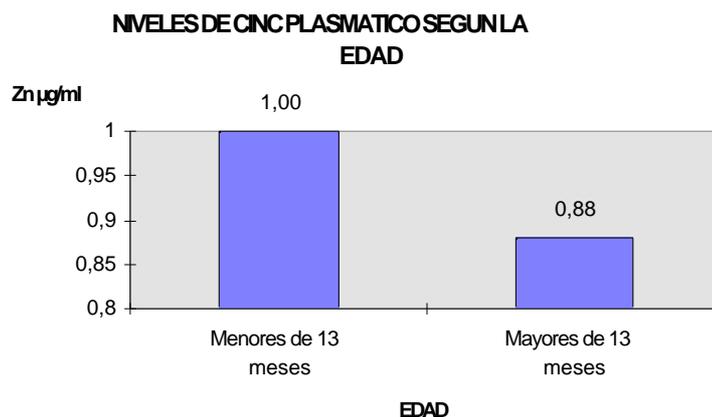
Graf. 19. Valores medios de manganeso en el pelo según la época del año.



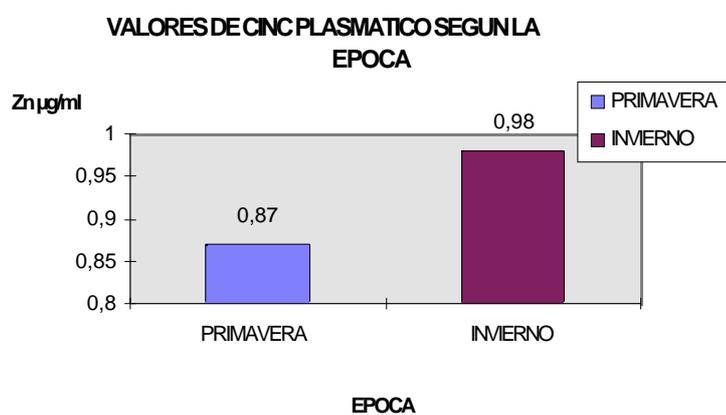
Graf. 20. Valores medios de manganeso en el pelo según la alimentación recibida.



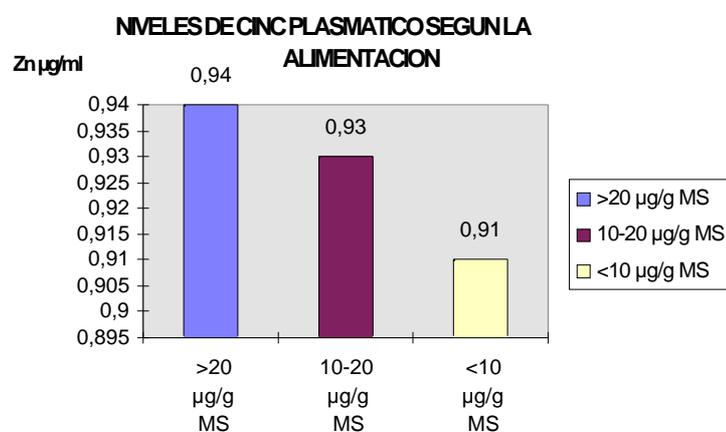
Graf. 21. Valores medios de cinc plasmático según los establos estudiados.



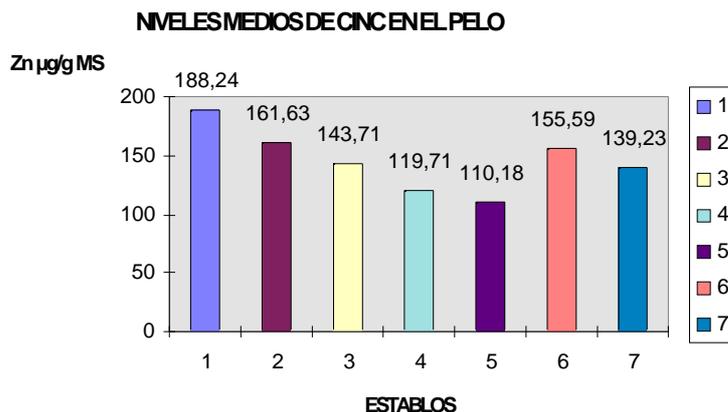
Graf. 22. Valores medios de cinc plasmático según la edad.



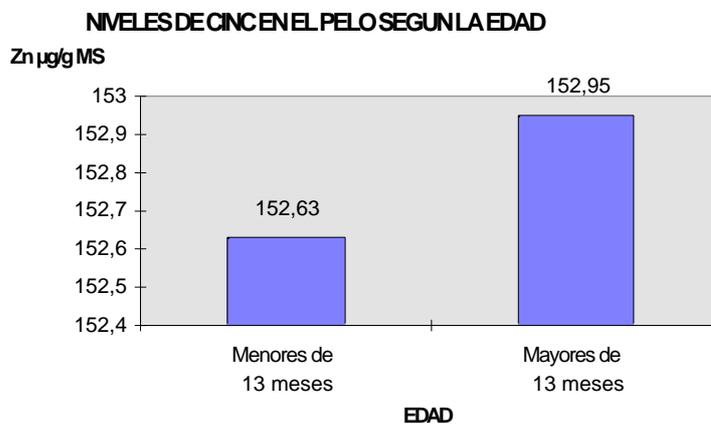
Graf. 23. Valores medios de cinc plasmático según la época estudiada.



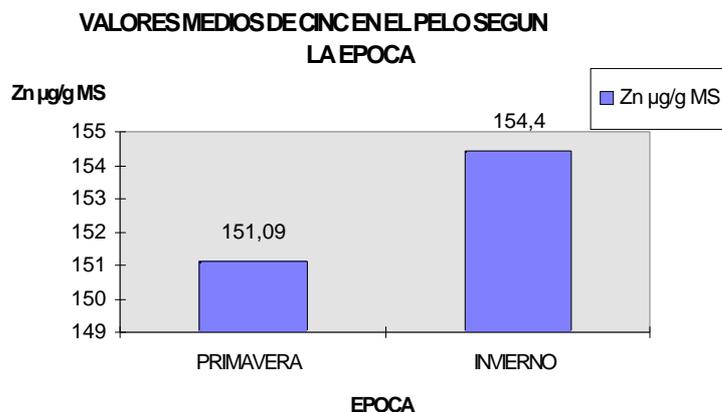
Graf. 24. Valores de cinc plasmático según la alimentación recibida.



Graf. 25. Valores medios de cinc en el pelo en los establos estudiados.

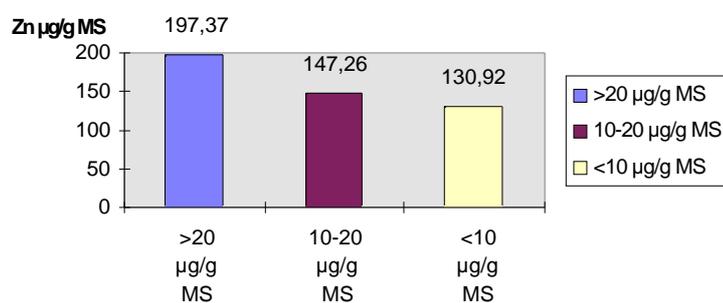


Graf. 26. Valores de cinc en el pelo según la edad estudiada.



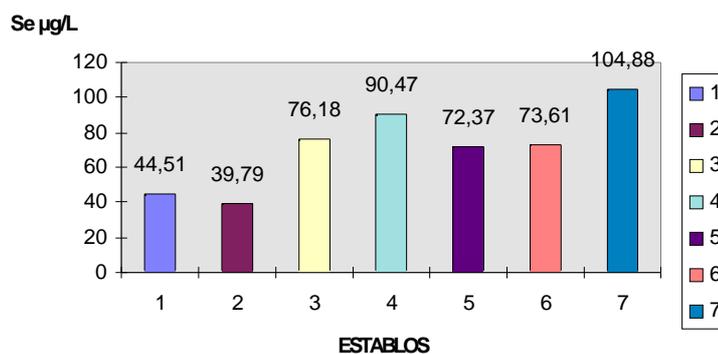
Graf. 27. Valores medios de cinc en el pelo según la época del año.

NIVELES DE CINCO EN EL PELO SEGUN LA ALIMENTACION



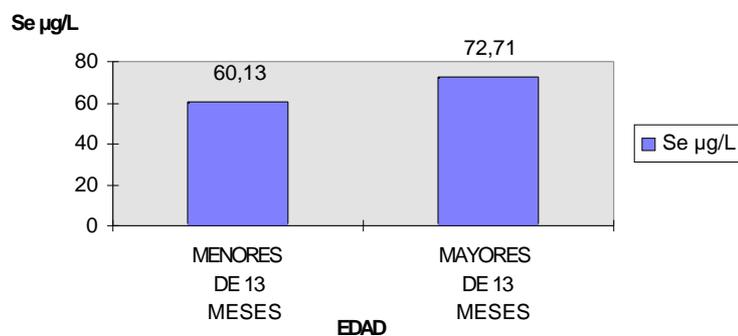
Graf. 28. Valores de cinc en el pelo según la alimentación recibida.

VALORES MEDIOS DE SELENIO SERICO EN CADA ESTABLO

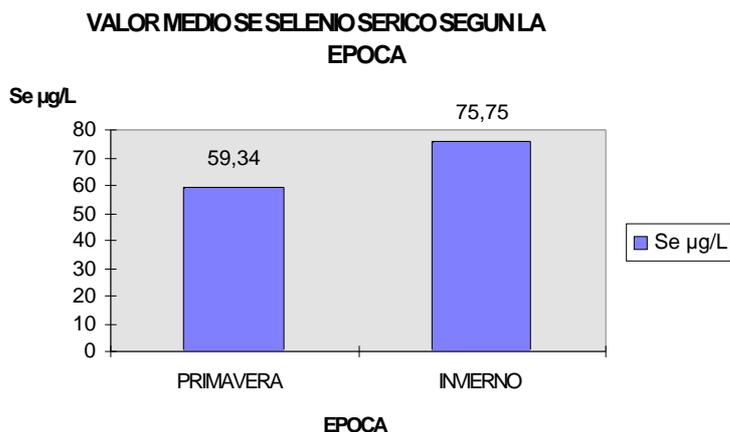


Graf. 29. Valores medios de selenio sérico en cada establo estudiado.

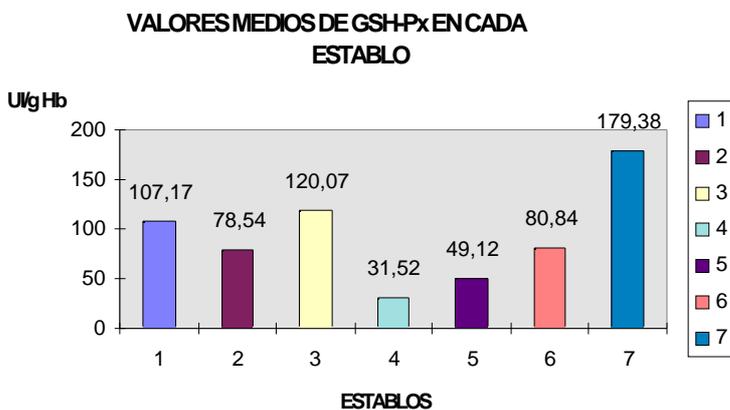
VALOR MEDIO DE SELENIO SERICO SEGUN LA EDAD



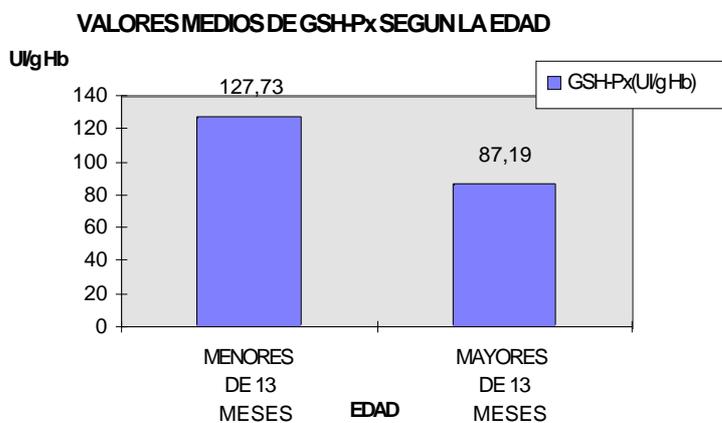
Graf. 30. Valores medios de selenio sérico según la edad estudiada.



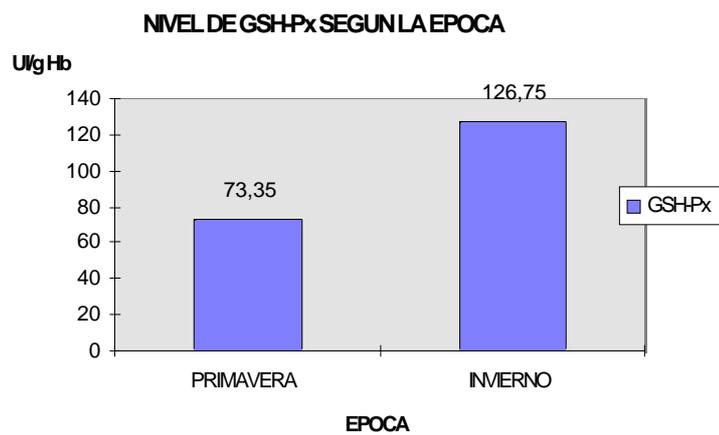
Graf. 31. Valores medios de selenio sérico según la época del año.



Graf. 32. Valores medios de GSH-Px de los establos estudiados.



Graf. 33. Valores medios de GSH-Px según la edad estudiada.



Graf. 34. Valores medios de GSH-Px según la época del año.

V. DISCUSIÓN

Antes de iniciar la interpretación y discusión de los resultados de este estudio, se debe hacer una breve descripción de la zona agraria denominada Montaña de Riaño donde se asientan las explotaciones muestreadas.

Las coordenadas geográficas donde se realizó el muestreo se encuentran entre los 5° 08' 20'' y los 5° 29' 42'' de longitud y entre los 42° 41' 12'' y 43° 05' 43'' de latitud (proyección UTM. Elípside internacional).

El relieve es montañoso con pendientes fuertes, valles profundos que tienen dirección norte-sur y vaguadas transversales de menor relieve, encontrándose solo un 6% de la zona con una altitud menor de 1.000 m.

El clima tiene características predominantemente atlánticas, con influencias continentales según nos vamos desplazando hacia el sur, el clima es templado - frío (ver tabla 1).

TABLA 1

Tª media estacional	Primavera	Verano	Invierno	Otoño	Anual
(13 últimos años)	7,9 °C	16,5 °C	2,2 °C	9,9 °C	9,1 °C

Se encuentran fundamentalmente dos tipos de suelo, y zonas de transición entre dichos tipos; un tipo de suelo es aluvial ocupado por la superficie de valles, presentándose en el otro extremo litosuelo. El aprovechamiento agrario es el pastizal y el forestal, siendo anecdótico otro tipo de aprovechamiento.

Merece la pena subrayar que, la composición química de los suelos en líneas generales son carentes en fósforo y potasio.

Los establos muestreados se han escogido de manera aleatoria y representativos de las 50.649 Ha. que ocupa la zona anteriormente descrita, todos los animales son novillas de raza Parda española inscritas en el Libro genealógico de la raza.

En líneas generales donde se ha realizado el estudio, el método de manejo de las novillas, es el tradicional en la zona de montaña leonesa, encontrándonos tres grupos de hembras bovinas jóvenes:

Terneritas, hembras destetadas recientemente y que aún no salen al pasto.

Añojitas, hembras que salen al pasto pero sin salir a los puertos.

Doblenitas, hembras que han salido dos veces a los puertos.

Otra precisión que se debe realizar antes de comenzar la discusión de una manera concreta, es incidir que cuando se revisa la bibliografía clásica en bioquímica sanguínea y en oligoelementos, se observan importantes diferencias entre los valores citados como normales en la especie bovina, en general se puede achacar dichas diferencias a las variabilidades interraciales, diferentes situaciones fisiológicas en el momento de ser analizadas y distintos métodos analíticos utilizados, lo cual requiere se tome con extrema precaución las posibles comparaciones,

La tasa media de cobre plasmático de todos los animales muestreados ha sido de $0,58 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$, un valor ligeramente inferior al rango normal de cupremia que se cita mayoritariamente en el ganado vacuno, que es de $0,6$ a $1,5 \mu\text{g/ml}$ (Faye y Grillet, 1984; Gay y col, 1988; McDowell y col, 1993), relatándose como deficiencia marginal los niveles de cobre plasmático entre $0,19$ y $0,57 \mu\text{g/ml}$, la cupremia con un valor menor de $0,19 \mu\text{g Cu/ml}$ en plasma significa una deficiencia funcional o hipocuprosis (Blood y Radostits, 1992); Keen y Graham (1989) consideran de valor diagnóstico para la deficiencia en cobre concentraciones inferiores a $0,5 \mu\text{g Cu/ml}$ en plasma de vacuno.

Los establos 1, 6 y 7 tienen una tasa media de cupremia superior a $0,6 \mu\text{g/ml}$, encontrándonos en el establo 5 el valor medio más bajo con $0,5 \mu\text{g Cu/ml}$, los valores medios de cupremia de los establos estudiados presentan una alta significación estadística, cuando se enfrentan dichos valores entre sí ($P < 0,0000$).

En estudios realizados sobre la cupremia en la raza Parda española en zonas de montaña cercanas a nuestro trabajo se citan valores de $0,61$ a $1,72 \mu\text{g Cu/ml}$ (Lavín, 1986; Ríos Granja y col, 1996).

Cuando enfrentamos el grupo de novillas de edad inferior a trece meses a el grupo de edad superior a trece meses no hubo resultados significativos estadísticamente, pero la tasa media de cupremia es ligeramente superior en los animales más jóvenes, $0,59 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$ frente a $0,57 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$, Friot y Calvet (1973) han encontrado valores superiores en animales jóvenes, igualmente Hidiroglou y col (1990), dicho autor lo achaca a una mayor eficacia en la absorción de los animales jóvenes.

Hernández Bermúdez (1992) en su estudio sobre la cupremia en razas rústicas en Galicia, observó en relación con la edad correlaciones tanto positivas como negativas con significación estadística según la raza analizada.

La tasa media de cobre plasmático de las novillas muestreadas en invierno fue idéntica a la tasa media obtenida en primavera ($0,58 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$), esto significa que los animales estabulados recientemente por la climatología invernal contenían igual nivel de cobre plasmático que los animales estudiados a principio de la primavera cuando comenzaban su salida a los pastos, resultados parecidos a los obtenidos por Bellanger y Roth (1968).

Ríos Granja (1996) ha encontrado valores inferiores de cobre plasmático en los meses últimos de la estabulación, enero y febrero, siendo los valores más altos un mes posterior (mayo) de la salida de los animales al pasto, .

El efecto de las estaciones del año y sus correspondientes fenómenos meteorológicos es muy difícil de evaluar como tal, y más teniendo en cuenta la gran variabilidad estacional interanual existente, que no permite extrapolar resultados de un año a otro.

Al comparar los valores medios de cobre en el plasma, y los niveles de cobre ingeridos en la dieta encontramos una correlación positiva y un alto significado estadístico ($P < 0,01$).

El valor medio de cobre plasmático cuando la dieta analizada era menor de $4 \mu\text{g/g MS}$ fue de $0,55 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$. En los establos que la dieta tenía una concentración de cobre entre $4-6 \mu\text{g/g MS}$ la tasa media de cobre plasmático resultó de $0,58 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$, y cuando la dieta supera los $6 \mu\text{g/g MS}$ la tasa media de cupremia fue de $0,63 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$.

Ríos Granja (1995) cita valores de cobre en el heno entre $4,06$ y $7,72 \mu\text{g/g MS}$, en una zona cercana a la nuestra. Lavín (1986) cita también valores bajos, con niveles de cobre en la dieta de $3,5$ y $7,3 \mu\text{g/g MS}$. En nuestro trabajo el intervalo de la concentración de cobre en la dieta ha fluctuado entre $3,44-10,38 \mu\text{g/g MS}$.

La presencia de valores bajos de cobre en el heno utilizado en la alimentación del ganado vacuno, según Lamand (1991) se presenta en el 44% de los henos franceses estudiados, con niveles inferiores a $5 \mu\text{g/g MS}$ y el 94 % de dichos henos contienen menos de $7 \mu\text{g/g MS}$ (Bellanger y Lamand, 1973) citado como recomendable por la bibliografía (NRC, 1984), en nuestro trabajo el valor más alto de los henos estudiados ha sido de $4,63 \mu\text{g/g MS}$.

La tasa media de cobre en el pelo de todos los animales estudiados fue de $7,60 \pm 0,18 \mu\text{g/g MS}$, encontrándose el valor medio superior en el establo 1 con $9,44 \pm 0,59 \mu\text{g/g MS}$ y el valor inferior en el establo 5 con $6,27 \pm 0,54 \mu\text{g/g MS}$, las diferencias entre establos mostraban diferencias significativas estadísticamente ($P < 0,0000$).

El contenido de cobre en el pelo es relativamente constante y no se modifica sino se encuentra en situaciones de carencia prolongada (Riffard,1989), el valor citado como normal por Stöber (1983), Blood y col (1992) es de 6,6 $\mu\text{g/g MS}$, Lamand (1970) lo sitúa en 7 $\mu\text{g/g MS}$ y Wiesner (1968) considera valores normales hasta 15 $\mu\text{g/g MS}$. Fidalgo Alvarez y col estudian en vacas de raza frisona, fisiologicamente normales y de distintas edades, obtienen valores de cobre en el pelo de 8,83 $\mu\text{g/g MS}$, Lavín y col (1986) en raza Parda de diferentes estados fisiológicos y edades, obtiene valores de 7,58 $\mu\text{g/g MS}$ en una zona sospechosa de carencia en cobre, Ríos Granja (1996) encuentra valores de cobre en el pelo comprendidos entre 7,53 y 11,93 $\mu\text{g/g MS}$ en hembras de raza Parda.

Las novillas de menos de trece meses de edad mostraban una tasa media de cobre en el pelo ligeramente superior a las de edad superior, $7,92 \pm 0,41$ frente a $7,43 \pm 0,19$ $\mu\text{g/g MS}$, pero con diferencias estadísticas irrelevantes. Esto concuerda con los estudios de ganado vacuno realizados por O'Mary y col (1969) y Combs (1982) que encontraron niveles superiores de cobre en el pelo en animales jóvenes que en adultos.

Los valores de cobre en el pelo obtenidos al comienzo de la estabulación (invierno) son ligeramente superiores a los obtenidos al final de la misma, pero con diferencias estadísticas no significativas.

Hidiroglou y Spurr (1975) encontraron en vacas Shorthorn, que la concentración de cobre en el pelo disminuía durante el invierno para elevarse en la estación de pastoreo, alcanzando un máximo (mayor de 8 $\mu\text{g/g MS}$) en el mes de septiembre; de acuerdo con sus resultados estos autores señalan que el pelo es un buen indicador de la cantidad de cobre presente en la dieta que reciben los animales, pues la alimentación recibida en invierno era mucho más pobre en cobre que el pasto al comienzo de la primavera.

Wiercinski y Ciolek (1988) han estudiado las variaciones estacionales con respecto a la concentración de cobre en el pelo, constatando una disminución de los valores en los meses de junio y agosto, con respecto a los meses de estabulación. Pero en su estudio razonan que este hecho radica en la dieta que consumían en cobre, más que en las diferentes estaciones del año.

Cuando se relacionó en nuestro estudio la concentración de cobre en la dieta con los niveles de cobre en el pelo, se encontró una correlación positiva y con diferencias estadísticas significativas ($P < 0,0000$), así cuando los animales recibían una dieta con una concentración de cobre menor de 4 $\mu\text{g/g MS}$ su valor de cobre en el pelo era de $6,83 \pm 0,27$ $\mu\text{g/g MS}$, cuando la dieta se encontraba entre 4-6 $\mu\text{g/g MS}$ de cobre el valor de cobre en el pelo era de $7,17 \pm 0,15$ $\mu\text{g/g MS}$ y en la dieta con un valor superior a 6 $\mu\text{g/g MS}$ la concentración de cobre en el pelo fue de $9,44 \pm 0,59$ $\mu\text{g/g MS}$.

Los resultados obtenidos del valor del cobre en la alimentación, nos permite deducir que determinados establos de la zona estudiada, se encuentran dentro de un rango de subcarenia que en momentos puntuales pueden desencadenar un proceso carencial de cobre.

La tasa media de manganeso sérico en los animales estudiados ha sido de $39,00 \pm 1,05$ $\mu\text{g/l}$, y se ha encontrado diferencias significativas estadísticas entre los establos estudiados ($p < 0,0001$). Los valores citados como normales en la bibliografía dan márgenes extremadamente amplios, y se cita como umbral de carencia de manganeso sérico $19 \mu\text{g/l}$ (Underwood, 1983; Blood y Radostits, 1992), $25 \mu\text{g/l}$ (Georgievskii, 1982; Rosenberger, 1994) y $50 \mu\text{g/l}$ (Church, 1993).

Se ha encontrado valores más altos en manganeso sérico en los animales con edad menor de trece meses, que en las novillas de edad superior a trece meses ($P < 0,05$); este resultado se corresponde con lo citado por diversos autores, señalando que los animales jóvenes hay una mayor absorción y retención de manganeso (Underwood, 1983; Keen y col, 1987; Kaneko, 1989).

Cuando la dieta en manganeso era superior a $50 \mu\text{g/g MS}$ el nivel de manganeso en el suero fue de $41,76 \pm 2,11 \mu\text{g/l}$, cuando la concentración de manganeso en la dieta era entre $30-50 \mu\text{g/g MS}$, el valor medio de manganeso sérico de los animales estudiados fue de $39,93 \pm 1,83 \mu\text{g/l}$ y si la ración analizada contenía menos de $30 \mu\text{g/g MS}$ de manganeso, el valor medio de los animales estudiados fue de $34,80 \pm 1,76 \mu\text{g/l}$. Encontrándose por lo tanto una correlación entre concentración de manganeso en la dieta y el estatus de manganeso sérico, siendo el valor de manganeso sérico un buen índice de la ingesta reciente de manganeso, tal y como indica Strause y Saltman (1987).

Cuando se revisa la bibliografía sobre el valor de manganeso en el pelo, su valor diagnóstico y su límite de carencia, aparte de ser escasa las referencias, se encuentra una gran variabilidad en los valores citados, tal vez debido a su gran concentración en el medio ambiente y la fácil contaminación de las muestras, esto nos puede dar falsos valores sobre todo en los niveles altos de manganeso en el pelo.

Si tomamos como referencia el umbral de carencia de manganeso en el pelo citado por Sviatko y Hiscakova (1993) de $7 \mu\text{g/g MS}$, los valores medios de los establos 2, 3 y 7 se encontrarían por debajo de ese umbral de carencia.

Blood y Radostits (1992) señalan como valores normales de manganeso $12 \mu\text{g/g MS}$, y señalan que valores inferiores a $8 \mu\text{g/g MS}$ de manganeso en el pelo disminuye la fertilidad, por lo tanto las novillas de los establos 2, 3 y 7 se debería investigar sus índices reproductivos. Cuando se estudió los valores individuales de la novillas de edad menor de trece meses y las novillas de edad superior no se encontró diferencias significativas entre dichos valores.

Al estudiar los valores de manganeso en el pelo cuando los animales iniciaban su estabulación eran superiores ($9,37 \pm 0,93 \mu\text{g Mn/g MS}$), como consecuencia de un mayor nivel de manganeso en el pastoreo libre; los valores obtenidos son menores ($6,70 \pm 0,97 \mu\text{g Mn/g MS}$) con una probabilidad estadística de $P < 0,05$ cuando finalizan su estabulación, y comienzan su salida a los pastos, al comenzar la primavera.,

Los valores individuales de manganeso en el pelo en relación con tres niveles de manganeso en la dieta, mayor de $50 \mu\text{g/g MS}$, entre $30-50 \mu\text{g/g MS}$ y menor de $30 \mu\text{g/g MS}$, se ha encontrado una correlación positiva con los valores de manganeso en el pelo, $11,88 \pm 1,36 \mu\text{g/g MS}$, $7,71 \pm 1,44 \mu\text{g/g MS}$ y $6,66 \pm 0,85 \mu\text{g/g MS}$ respectivamente, esto concuerda con la bibliografía consultada (Georgievskii, 1982; Underwood, 1983; Wiercinski y Ciolek, 1988; Keen y Graham, 1989; Blood y Radostits, 1992; Sviatko y Hiscakova, 1993), la utilización de el valor de manganeso en el pelo como indicador del estatus en dicho animal, nos da una información acumulativa del manganeso, pues en situaciones de carencia, el manganeso que se encuentra en el pelo no puede ser utilizado por el animal.

El 95% de los valores de cinc plasmático de los animales estudiados se encontraban en el rango $0,86-0,99 \mu\text{g/ml}$.

Los niveles normales de cinc en el plasma están comprendidos entre $0,8-1,2 \mu\text{g/ml}$, situándose el límite de carencia en $0,7 \mu\text{g/ml}$ (Stöber, 1983; Lamand, 1987). En vacas con orientación cárnica se han citado valores más altos con niveles próximos a $2 \mu\text{g/ml}$ (Hernandez, 1992; Benedito y col, 1993; Alonso de la Varga y col, 1994).

No obstante Lavín estudiando la cincemia en una zona próxima a la nuestra y con animales de raza Parda obtenía una media de $0,76 \mu\text{g Zn/ml}$, un valor cercano al límite de carencia.

Los valores de cinc plasmático en las novillas menores de trece meses, ha sido ligeramente superior, $1,00 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$ frente $0,88 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$ de las novillas de edad superior a trece meses. En la especie bovina la concentración plasmática de cinc se reduce con la edad (Friot y Calvet, 1973; Underwood, 1983; Sawadogo y col, 1988; Favier, 1990). Hernandez (1992) en un estudio de cinc sérico de razas bovinas rústicas en Galicia no encontraba diferencias entre las distintas edades.

No se encontró diferencias estadísticas significativas entre los animales muestreados en invierno y primavera, aunque si un valor medio ligeramente superior en los animales que comenzaban la estabulación invernal, y que su alimentación había sido pasto.

Según los tres grupos de alimentación, mayor de $20 \mu\text{g/g MS}$, entre $10-20 \mu\text{g/g MS}$ y menor de $10 \mu\text{g/g MS}$, los valores medios de los animales fueron $0,94 \pm 0,06 \mu\text{g Zn/ml}$, $0,93 \pm 0,06 \mu\text{g Zn/ml}$ y $0,91 \pm 0,04 \mu\text{g Zn/ml}$ respectivamente.

Los niveles de cinc en el pelo de los establos estudiados se encontraban dentro de los valores normales citados por distintos autores (Hall y col, 1971; Nougues y Lamand, 1972; Underwood, 1977; Stöber, 1983), no se encontraron diferencias en relación con la edad y la época de muestreo, pero sí hubo una gran significación estadística ($P < 0,0000$) cuando se relacionaba los tres niveles de alimentación, mayor de 20 $\mu\text{g/g MS}$, entre 10-20 $\mu\text{g/g MS}$ y menor de 10 $\mu\text{g/g MS}$, con la concentración de cinc en el pelo, todo esto concuerda con la bibliografía consultada (Miller y col, 1965; Hidirolou y Spurr, 1975; Underwood, 1977; Tokarnia y col, 1988; Carcagno y col, 1993; Ríos Granja y col, 1997), por lo tanto podemos inferir que el análisis de cinc en el pelo es un buen indicador del estatus animal en dicho oligoelemento.

La concentración de selenio en la alimentación recibida por los animales en estudio, fue superior a los niveles recomendados como umbral por el NRC (1984).

Los valores medios de selenio sérico en los establos muestreados se encuentran por encima de los valores marginales de 35 $\mu\text{g/l}$ (Stevens y col, 1985), y lejanos del valor indicativo de carencia citado por Hidirolou y col (1985) de 20 $\mu\text{g/l}$ de selenio en el suero.

Cuando se analizan los valores individuales de selenio sérico según la edad, el valor medio de las novillas menores de trece meses es menor a el valor medio de las novillas de edad superior, pero con diferencias no significativas estadísticamente.

Stowe y Herdt (1992) mencionan que se produce un incremento gradual de la concentración de selenio sérico con la edad, afirman que es muy importante conocer la edad del animal para poder interpretar los resultados de manera adecuada.

La media de los valores de selenio sérico ha sido mayor en las novillas muestreadas en el invierno ($P < 0,01$).

Braun y col (1991) en un estudio en Suiza, realizado en suero sanguíneo de ganado vacuno, sobre concentración de selenio y vitamina E, vieron una influencia significativa de la estacionalidad, mostrando que el selenio era más elevado en febrero, marzo y noviembre. Encontrando una correlación positiva entre cantidad de selenio en los pastos y su nivel de sangre.

Capaul y col (1992) observaron también que el contenido de selenio en sangre disminuye a medida que avanza la primavera, y Koh y col (1992) menciona que se encuentra menores depósitos de selenio en el hígado, en la primavera y verano.

Los valores medios de GSH-Px en sangre de cada establo estudiado son superiores a los valores citados en la bibliografía como indicativos de carencia (Scholz y Hutchinson, 1979; Koller y col (1983); Stevens y col 1985; Erskine y col, 1987; Von Saun, 1990) y solo la media de valores de GSH-Px del establo 4 con $31,52 \pm 9,18 \text{ UI/g Hb}$. es el más cercano a ese umbral de 25 UI/g Hb.

La medida de GSH-Px en sangre entera es un indicador del estatus de selenio a medio plazo, pues no refleja la ingesta de selenio reciente, esto es debido a que el selenio se incorpora a la GSH-Px de los eritrocitos en su formación, y como estos tienen una vida media de 120 días, este es el tiempo que tarda la GSH-Px en mostrar una variación de selenio dietético (McMurray, 1980).

Los valores de GSH-Px en las novillas con edad inferior a trece meses es superior a las de edad superior ($P < 0,001$). Sandholm y col (1983) señalan que la GSH-Px eritrocitaria muestra una gran variación individual a pesar de una dieta uniforme con niveles de selenio constantes, sugiriendo que la actividad de la GSH-Px tiene un gran componente genético, así mismo remarca que dicha actividad disminuye ligeramente con la edad.

En nuestro estudio hay una estacionalidad muy marcada, siendo superiores los valores obtenidos en invierno ($P < 0,0001$), Zachara y col(1989) muestran que la GSH-Px ofrece una mayor estacionalidad que el selenio sérico, este hecho puede explicarse porque la mayor concentración de selenio se encuentra en los eritrocitos en forma de GSH-Px, y este enzima responde a los posibles daños oxidativos que puedan generarse, teniendo por lo tanto mayores oscilaciones que el selenio sérico que solo reflejaría el ingerido recientemente.

VI. CONCLUSIONES

1. Los animales estudiados presentan concentraciones de cobre en plasma y pelo próximos a los considerados como subcarentes, no existiendo diferencias significativas cuando tomamos en cuenta la edad y época del año. Sin embargo existe correlación significativa entre las concentraciones medias de cobre en plasma y pelo y los niveles de cobre en la alimentación, por lo que podemos deducir que dichos niveles bajos de cobre hallados en la alimentación de estos animales, en ocasiones puntuales, desencadenaran procesos carenciales en cobre.

2. Los niveles de manganeso en suero y pelo, presentan una gran variabilidad, existiendo relaciones positivas con la concentración de manganeso en la alimentación. Se ha encontrado una mayor concentración de manganeso sérico en los animales en época de pastoreo, sin duda debido a las concentraciones más altas de este oligoelemento en el medio ambiente.

3. Los niveles de cinc en el pelo de los distintos grupos estudiados muestran una gran variación estadísticamente significativa en relación con la concentración de este oligoelemento en la alimentación.

4. Las terneras estudiadas de edad inferior a trece meses presentan niveles de cobre y cinc plasmáticos superiores a los animales estudiados de edad superior, pudiéndose considerar a este grupo de animales como subcarentes en estos oligoelementos, mientras que los niveles de selenio en el suero se han comportado de manera inversa, siendo superiores los valores en los animales estudiados con edad superior a los trece meses y siempre dentro del rango normal considerado por la especie.

5. La Glutatión Peroxidasa presenta niveles considerados fisiológicos y en correlación con la concentración de selenio en el suero. La Glutatión Peroxidasa muestra en cambio una variación estacional altamente significativa, y no es tan evidente dicha estacionalidad para los valores de selenio sérico, que reflejan el selenio ingerido a corto plazo de tiempo.

VII. RESUMENES

VII. 1. RESUMEN

Se ha estudiado los niveles de los oligoelementos cobre, manganeso, cinc y selenio, en 200 novillas de raza Parda, en una comarca agraria de la Provincia de León, eminentemente ganadera, y representativa de los pastos de montaña como es la Comarca Agraria de Riaño.

Se realizaron dos tomas de muestras, una en primavera al salir el ganado a los pastos y otra toma se realizó en el invierno cuando el ganado se encuentra estabulado. De los animales estudiados se recogieron muestras de sangre y pelo, realizándose asimismo una ficha individual que reflejase la edad, estado fisiológico, tipo de alimentación, características de manejo, desparasitaciones y antecedentes patológicos si los hubiere. También se realizó una recogida de muestras de la alimentación y del agua de bebida que ingerían los animales estudiados.

Los oligoelementos cobre y cinc se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica con llama aire-acetileno y los oligoelementos manganeso y selenio se empleó para su determinación cuantitativa la espectrofotometria de absorción atómica con cámara de grafito. También se ha realizado una valoración enzimática de la GSH-Px como indicador del estatus de selenio.

Los valores de cobre en los animales estudiados se encuentran dentro de los valores citados como subcarenciales, cuando la alimentación del ganado era unicamente heno de hierba, la concentración en cobre de dichos henos era inferior a los valores considerados adecuados para la nutrición del ganado vacuno.

Los valores de manganeso en el suero mostraban una gran correlación entre la ingesta de este oligoelemento y su concentración sérica. La concentración de manganeso en el suero y en el pelo de los establos estudiados ha reflejado una gran variación entre dichos establos, con una significación estadística muy alta ($P < 0.0001$).

Los valores de cinc plasmático se encontraban cercanos al umbral de subcarencia, en nuestro estudio se ha encontrado una gran correlación entre los valores de cinc en el pelo y la concentración de zinc en la alimentación.

La concentración de selenio en la alimentación de los animales estudiados era suficiente para atender sus necesidades fisiológicas, encontrándose asimismo los niveles de selenio sérico y de GSH-Px dentro del rango adecuado, sin embargo se ha observado una gran variación estacional muy significativa sobre todo en el caso de la GSH-Px, encontrándose valores más bajos en la primavera.

VII. 2. SUMMARY

The levels of the trace elements copper, manganese, zinc and selenium were studied in 200 heifers of the *Parda breed - Brown Swiss*- from the Riaño district of the Province of Leon in Spain. This area has considerable numbers of livestock and is highly representative of hill farming on mountain pastures.

Two sets of samples were taken, the first in Spring when the cattle were taken out to the high pastures and the other in Winter when they were kept indoors in sheds. Blood and hair samples were taken from the cattle, and for each animal a record card was drawn up to show age, health status, type of fodder, how kept, antiparasite treatments received, and previous illnesses, if any. Samples of the feed and water supplied to the animals were also collected.

The trace elements copper and zinc were analyzed by means of atomic absorption spectrophotometry using an air-acetylene flame. Manganese and selenium, by contrast, were measured using atomic absorption spectrophotometry in a graphite furnace. In addition, a glutathione peroxidase enzyme measurement was performed as an indicator of selenium values.

The levels of copper found in the animals studied were in the level considered marginally deficient when the cattle were being fed exclusively on hay. The copper concentrations in hay from the meadows involved were below those seen as adequate for the nutrition of cattle.

Serum manganese values showed that there is a strong correlation between the amount of this trace element in the diet and its levels in serum. Manganese concentrations in the serum and the hair samples from the herds studied showed great variations from herd, highly statistically significant ($P < 0.0001$).

The levels of zinc in blood plasma were close to the threshold of marginal deficiency. The study demonstrated a strong correlation between the quantities of zinc found in hair samples and the amounts in the diet.

The concentration of selenium in the diet of the animals was sufficient to cover their physiological requirements. Serum selenium and glutathione peroxidase levels were also within an appropriate range. However, considerable seasonal variation was observed, particularly in respect of glutathione peroxidase, with the lowest values being found in the Spring.

VII.3. RÉSUMÉ

On a étudié les niveaux des oligo-éléments cuivre, manganèse, zinc et sélénium chez 200 génisses de race Brune dans une région agraire et représentative des pâturages de montagne comme peut l'être la Région Agraire de Riaño.

On a réalisé deux prélèvements, un au printemps quand le bétail sort jusqu'aux pâturages et un autre en hiver lorsque le bétail est à l'étable. On a prélevé des échantillons de sang et de poil sur les animaux étudiés et on a également établi une fiche individuelle que reflète l'âge, l'état physiologique, le type d'alimentation, les caractéristiques de gestion, l'élimination de parasites et les antécédents pathologiques, s'il y avait lieu. On a également recueilli des échantillons de l'alimentation et de l'eau à boire qui recevient les animaux étudiés.

Les oligo-éléments cuivre et zinc ont été analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique avec une flamme air- acétylène et pour déterminer la quantité des oligo-éléments manganèse et sélénium, on a eu recours à la spectrophotométrie d'absorption atomique avec une chambre de graphite. On a aussi effectué une évaluation des enzymes de GSH-Px comme indicateur du statut du sélénium.

Les valeurs en cuivre chez les animaux étudiés étaient similaires aux valeurs cités comme étant en- dessous du seuil de carence lorsque l'alimentation du bétail était uniquement constituée de foin; la concentration en cuivre de ces foins étant inférieure aux valeurs considérées appropriées pour la nutrition du bétail bovin.

Les valeurs en manganèse dans le sérum montraient une grande corrélation entre l'ingestion de cet oligo-élément et sa concentration sérique. La concentration de manganèse dans le sérum et dans le poil des étables étudiées a reflété une grande variation entre les différentes étables, avec une signification statistique très haute ($P < 0.0001$)

Les valeurs en zinc plasmatique se situaient sous le seuil de carence et dans notre étude, nous avons trouvé une grande corrélation entre les valeurs en zinc dans le poil et la concentration de zinc dans l'alimentation.

La concentration de sélénium dans l'alimentation des animaux étudiés était suffisante pour répondre à leurs besoins physiologiques, les niveaux de sélénium sérique et de GSH-Px se trouvant également dans un niveau approprié; cependant, on a observé une grande variation saisonnière très significative, surtout dans le cas de la GSH-Px, et on a trouvé des valeurs plus basses au printemps.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Adams RS. Variability in mineral and trace element content of dairy cattle feeds. *J Dairy Sci.* 1974; 58(10):1538-1548

Agar NS, Board PG. Red blood cells of domestic mammals. *Elsevier Science Publishers BV Amsterdam.* 1983.

Agergaard N, Thode-Jensen P. Procedure for blood glutathione peroxidase determination in cattle and swine. *Act Vet Scand.* 1982; 23:515-527

Alonso de la Varga M, Rios Granja MA, Sanchez Garcia J, Riol Alvarez JA, Somboro G, Sanchez Sanchez JM. Niveles plasmáticos de cobre y cinc en bovinos de raza Avileña-Negra ibérica explotados en dos areas geograficas distintas Primeros resultados. *Proceedings XVIII C Buiatria Bolonia.* 1994; 1297-1301

Alonso de Vega F. Carencia crónica experimental de cinc en ovejas. *Tesis Fac Vet Leon.* 1984;

Allen JC, Miller WJ. Transfer of selenium from blood to milk in goats and noninterference of copper with selenium metabolism. *J Dairy Sci.* 1981; 64:814-821

Allen JG, Morcombe PW, Masters HG, Peterson DJ, Robertson TA. Acute zinc toxicity in sheep. *Aust Vet J.* 1986; 63(3):93-95

Allen WM, Mallinson CB. Parenteral methods of supplementation with copper and selenium. *Vet Rec.* 1984; 114(18):451-454

Allen WM, Parr WH, Anderson PH, Bradley R, Patterson DSP. Selenium and the activityñ of glutathione peroxidase in bovine erythrocytes. *Vet Rec.* 1975; 19:360-361

Ambolou D, Lamand M. Variations in the digestibility of trace elements(Cu, Zn, Mn) during the first cycle of cocksfoot growth. *Ann Rech Vet.* 1977; 8(3):241-249

Ambolou D, Lamand M, Rayssiguier Y. Chopping versus grinding and pelleting of hay: effect on availability of trace elements(Cu, Zn, Mn) and major elements (Ca, P, Mg). *Ann Rech Vet.* 1977; 8(1):1-6

Ammerman CB. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: a review. *J Dairy Sci.* 1970; 53(8):1097-1107

Ammerman CB, Miller JM. Selenium in ruminant nutrition: a review. *J Dairy Sci.* 1975; 58:1561-1577

Anderson PH, Berret S, Patterson DSP. The biological selenium status of livestock in Britain as indicated by sheep erythrocyte glutathione peroxidase activity. *Vet Rec.* 1979; 104:235-238

Andresen E, Basse A, Brummerstedt E, Flagstadt T. Lethal tract A46 in cattle. *Nord Vet, Med.* 1974; 26:275-278

Anke M, Grun M, Groppe B, Ludke H, Parstchefeld M. Der ein-salz standortspezifischer mineralstoffgenische für wiederkauer in der mangan, zink, uñnd kúpfer mangelgebieten der DDR. *Tierernabrung Fütterung.* 1978; 9:18

Apgar J, Travis HF. Effect of a low zinc diet on the ewe during pregnancy and lactating. *J Anim Sci.* 1979; 48(5)

Aspila P. Metabolism of selenite, selenomethionine and feed incorporated selenium in lactating goats and dairy cows . *J Agric Sci in Finland.* 1991; 63:9-74

Auza N. Le cuivre chez les ruminants:B30 Une revue. *Ann Rech Vet.* 1983; 14(1):21-37

Backal KA, Scholz R. Reference for a field test to estimate inadequate glutathione peroxidase activity and selenium status in the blood of cattle. *Ann Rech Vet.* 1979; 40:733-738

Bang KS, Familton AS, Sykes AR. Effect of ostertagiasis on copper status in sheep: a study involving use of copper oxide wire particles. *Res Vet Sci.* 1990; 49(3):306-314

Bartle JL, Senger PL, Hillers JK . Influence of injected selenium in dairy bulls on blood and semen selenium, glutathione peroxidase and seminal quality. *Biol Reprod.* 1980; 23:1007-1013

Beattie JH, Avenell A. Trace element nutrition and bone metabolism. *Nutr Res Rev.* 1992; 5:167-188

Becker WM, Hoekstra WG. Effect of vitamin D on ⁶⁵Zn absorption, distribution and turnover in rats. *J Nutr.* 1966; 90(1):301-308

Bedi SPS, Khan SA. Trace element status of feeds, fodders animals and soil of Bareilly district. *Indian J Anim Nutr.* 1989; 6(4):355-358

Beilstein MA, Butler JA, Whanger PD. Metabolism of ⁷⁵Se- selenite by rhesus monkeys. *J Nutr.* 1984; 114:1501-1509

Bell LT, Hurley LS. Histochemical enzyme changes in epidermis of manganese deficient fetal mice . *Proceedings Soc Exp Biol Med.* 1974; 145:1321-1324

Bellanger J, Périgoud S, Lamand M. Carences en oligoéléments chez les ruminants en France III. Eléments d'enquête obtenus par les analyses de fourrages. *Ann Rech Vet.* 1973; 4:565-598

Bellanger J, Roth LC. Relations entre les taux de cuivre sanguin, hépatique et plaire chez 250 bovins d'Abattoir. *Ann Rech Vet.* 1968; 1:127-139

Benedict CR, Kett J, Porter JW. Properties of farnesyl pyrophosphate synthetase of pig liver. *Arch Biochem Biophys.* 1965; 110:611

Benedito JL, Hernandez J, Castillo C, Diez Prieto I, Gutierrez Panizo C, Garcia Partida P. Niveles séricos de cobre y cinc en la Agrupación racial Morenas del Noroeste en gestación y lactación. *Atti FEMESPRUM Teramo.* 1993; 52:1-4

Benedito JL, Hernandez J, Castillo C, Fidalgo L, Rios MA, Prieto F. Estudio de ciertos oligoelementos (Fe, Co, Mo, Mn) en la Agrupación racial Morenas del Noroeste en gestación y lactación. *Atti FEMESPRUM Terrano.* 1993; 51:1-4

Benemariya H, Rabberecht H, Deelstra H. Zinc, copper and selenium in milk and organs of cows on Burundi: Africa. *Science of the total environment* . 1993; 128(1):83-98

Bentley OG, Phillips PH. The effect of low manganese rations upon dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1951; 34:396-403

Bingley JB, Anderson N. Clinically silent hypocuprosis and the effect of molybdenum loading on beef calves in Gippsland, Victoria. *Aust Vet J.* 1972; 23:885-904

Blackley BR, Hamilton DL. Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and sheep. *Can J Comp Med.* 1985; 49(4):405-408

Blackmon DM, Miller WJ, Mortom JD. Zinc deficiency in ruminants Occurrence, effects, diagnosis, treatments. *Vet Med.* 1967; 62:265-270

Blood DC, Radostits OM. Medicina Veterinaria. *Interamericana-Mc Graw Hill 7ª edición vol II* . 1992;

Bloxham PA, Davies GW, Stephenson RL. Selenium status of cattle in Devon. *Vet Rec.* 1979; 105:201

Bocara H. Les Besoins en cuivre des ruminants varient suivant les rations. *L'Élevage bovin, ovin-caprin.* 1980; 94:38-42

Bohman VR, Drake EL, Behrens WC. Injectable copper and tissue composition of cattle. *J Dairy Sci.* 1984; 67(7):1468-1473,

Boila RJ, Devlin TJ, Drysdale RA, Lillie LE. Injectable Cu complexes as supplementary Cu for grazing cattle. *Can J Anim Sci.* 1984; 64(2):365-378

Bostwick JL. Copper toxicosis in sheep. *JAVMA*. 1982; 180:386-387,

Bourne F. Manganese: its relationship to infertility in the bovine. *Fedd Forum*. 1967; 2:33

Brandt M, Keen CL, Ash DE, Schramm VL. En: "Trace element in man and animals" . *Edit Plenum N York*. 1988;

Braun U, Forrer R, Fürer W, Lutz H. Selenium and vitamin E in blood sera of cows from farms with increased incidence of disease. *Vet Rec*. 1991; 128:543-547

Bremner I. Trace elements in animal nutrition: The changing scene. *J Sci Food Agric*. 1990; 50:271-285

Bremner I, Humphries WR, Phillippo M, Walker MJ, Morrice PC. Iron induced copper deficiency in calves: dose, response relationships and interactions with molibdenum and sulphur. *Anim Prod*. 1987; 45:403-414,

Bremner I, Marshall RB. Hepatic copper and zinc binding proteins in ruminants. *Br J Nutr*. 1974; 32:283-300,

Brewer NR. Comparative metabolism of copper. *JAVMA*. 1987; 190(6):654-658,

Buckley RA, Dreosti IE. Radiosotopic studies concerning the efficacy of standard washing procedures for the cleaning of hair before zinc analysis. *Am J Clin Nutr*. 1984; 40:840-846

Burk RF. Selenium in nutrition. *Wild Rec Nutr Diet*. 1978; 30:88-106

Burk RF. Effect of dietary selenium level on ⁷⁵Se binding to rat plasma proteins. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1973; 143:719-722,

Burk RF, Seely RJ, Kiker KW. Selenium: dietary threshold for urinary excretion in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1973; 142:214-216

Butler GW, Peterson PJ. Uptake and metabolism of inorganic forms of selenium-75 by "Spirodella oligorizha". *Austr J Biol Sci*. 1967; 20:77-86

Calleja Suarez A. Mineralización de muestras vegetales para el análisis de minerales por espectrofotometria y colorimetria. *An Fac Vet León*. 1978; 24:175-178,

Calleja Suarez A. Contenido mineral y variaciones producidas por la fertilización fosfatada en plantas aisladas y henos de prados permanentes de la Comarca del Porma(Leon). *Tesis Fac Vet León*. 1976;

Campbell AG, Coup MR, Bishop WR, Whright DE. Effect of elevated iron intake on the copper status of grazing cattle. *NZ J Agric Res*. 1974; 17:393-399

Campen DR van. Copper interference with the intestinal absorption of zinc-65 by rats. *J Nutr.* 1969; 97:104-108

Cano G, Suarez Roca H, Gomez G, Arcaya JL, Aversano C, Latán JC, Bonilla E. Alterations of animal motor activity in early stages of experimental manganese poisoning. *Proc 4 th Simp Metal ions in biology and medicine Barcelona John Libbey Eurotext Paris.* 1996;

Capaul EG, Carcagno AR, Gullace FA, Natiello CA, Santamarina PE, De Bernardi AM. Variación de enzimas musculares en plasma de bóvidos carenciados, luego de la administración de selenio. *Vet Arg.* 1992; 9(861):391-393

Cappa V. La suplementación mineral de la ración: una práctica indispensable por múltiples aspectos teórico-prácticos. *Vet Praxis.* 1986; 2:120-124

Cappa V. Importancia y papel del selenio en la alimentación de los bovinos. *Vet Praxis.* 1996; Vol 11(1):15-20

Carcagno AR, Gullace FA, Soler IJ, Fernandez CA, Bernardi AM, Capaul EG. Cinc en plasma y pelo. Valores y distribución en 150 novillos Aberdeen Angus. *Rev Med Vet.* 1993; 74(1):42-46

Carcagno AR, Gullace FA, Soler IJ, Fernandez CA, Ricci M, Capaul EG. Oligoelementos y ganancia de peso en el bovino. *Proc XV Cong Mundial de Buiatria Palma de Mallorca.* 1988; 375-378

Carda Aparici P, Garcia Partida P, Liñan Olmos C. Miodistrofia en terneros lactantes por deficiencia en vit E. *Bol Col Vet de España vol 1 n° 177;* 1965; IX:177

Carter JC, Miller WJ, Neathery MW, Gentry RP, Stake PE:, Blackmon DM. Manganese metabolism with oral and intravenous Mn-54 in young calves as influenced by supplemental manganese. *J Anim Sci.* 1974; 38:1284

Castillo C, Benedito JL, Hernandez J, Fidalgo LE, Diez Prieto I, Vallejo M. Factores de variación fisiológicas bovinas: minerales y oligoelementos séricos. *Proc XVIII Cong Buiatria Bologna.* 1994; 463-467

Cawley GD, Mc Phee A. Trials with a long acting parenteral selenium preparation in ruminants: sheep. *Vet Rec.* 1984; 565-566

Combs DK:, Goodrich RD, Meiske JC. Mineral concentrations in hair as indicators of mineral status: a review. *J Anim Sci.* 1982; 54(2)

Combs GF, Pesti GM. Influence of ascorbic acid on selenium nutrition in the chick. *J Nutr.* 1976; 106:958-966

Corrigal W, Dalgarno AC, Ewen LA, Willians RB. modulation of plasma copper and zinc concentrations by disease states in ruminants. *Vet Rec.* 1976; 99:396-397

Costa ND, Glead PT Sansom BF, Symonds HW, Allen WM. Monensin and naransin increase selenium and zinc absorption in steers. *Proc Int Simp 5 th meeting.* 1985; 472-474

Cox DJ, Harris DL. Effect of excess dietary zinc on iron and copper in the rat. *J Nutr.* 1960; 70:514-520

Cros JRF, Parker CF. Oral administration of zinc sulphate for control of ovine foot rot. *JAVMA.* 1981; 178(7):704-705

Cummins LJ, Harris DJ. Temporary infertility possibly associated with parenteral copper therapy in cattle. *Aust Vet J.* 1984; 64(5):164-166

Chacornac JP, Barnonin J, Raboisson T. Micro-dosage automatisé de la ceruloplasmine plasmatique per mesure de l'activité oxydasique chez les bovins et les ovins. *Reprod Nutr Dévelop.* 1986; 26(2):417-427

Chamel A. Quelques aspects de l'absorption des oligo-éléments par voie foliare. *CR Acad Agric Fr.* 1990; 76(2):31-41

Chesters JK, Marie W. Zinc transport proteins in plasma. *Br J Nutr.* 1981; 46:111-118

Chevillie NF. Extracellular substances En: Introduction ot veterinary pathology. *Iowa State Univ Press.* 1988; 117-130

Church DC. Elementos vestigiales En: El rumiante: Fisiologia digestiva y nutrición. *Acribia Zaragoza.* 1993; 391-457

Chvapil M. New aspects in the biological role of zinc: a stabilizer of macromolecules and biological membranes. *Life Sci.* 1973; 13:1041-1049

Darmono SB, Gunting N, Stolz DR, Ronohardjo P. Potential mineral deficiency diseases of indonesian ruminant livestock: zinc. *Penyakit Hervan.* 1988; 20(35):42-46

Davies NT, Flett AA. The similarity between alkaline phosphatase (EC 3,1,3,1) and phytase EC 3,1,3,8) activities in rat intestine and their importance in phytate induced zinc deficiency . *Br J Nutr.* 1977; 39:307-316

Debersagues F, Velghe G, Aerts J. L'analyse minerale d'aliments pour le betis par spectrometrie d'emission a plasma. *Ev De l'Agric.* 1988; 41(6):1431-1441

Debski B, Picciano MF, Milner JA. Selenium content and distribution of human, cow and goat milk. *J Nutr.* 1987; 117:1091-1097

Deland MPB, Lewis D, Cunningham PR, Dewey DW. Use of orally administrated oxidised copper wire particles for copper therapy in cattle. *Austr Vet _J.* 1986; 63(1):1-3

Demertzis PN, Mills CF. Oral zinc therapy in the control of infectious pododermatitis in young bulls. *Vet Rec.* 1973; 93(8):219-222

Di Silvestro RA. Influence of copper intake and inflammation on rat serum superoxide dismutase activity levels. *J Nutr.* 1988; 118(4):474-479

Dick AT. Molybdenum in animal nutrition. *Soil Sci.* 1956; 81:229-235

Diez Prieto I, Perez Garcia CC, Rejas Lopez J, Somboro G, Garcia Rodriguez B, Rios Granja MA. Niveles séricos de cinc y cobre en la insuficiencia renal crónica experimental en perros. *Rev Exp Anim.* 1993; 1;4

Dinkel CA, Minyard JA, Whitehead EI, Olson OE. Selenium and cattle. *Circular South Dakota Agric Experiment Station n° 135;* 1957;

Doisey EA Jr. Micronutrient controls on biosynthesis of clotting proteins and cholesterol. *En: Hemphill, DD Trace substances in environmental health Columbia Univ of Missouri.* 1973;

Dreosti IE, Tao S, Hurley LJ. Plasma zinc and leukocyte changes in weaning and pregnant rats during zinc deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1968; 128:169-174

Ducros V, Ruffieux D, Belin N, Favier A. Selenium determination in different biological fluids by stable isotope dilution gas chromatography mass spectrophotometry. *En: Neve J. Favier A selenium in medicine and biology Proc of the 2nd Congr on trace elements Avoriaz France.* 1989; 181-184

Duffy HJ, Bingley JB, Cove LY. The plasma zinc concentration of non pregnant and parturient Hereford cattle. *Aust Vet J.* 1977; 53:519-522

Dupeux D, Michel MC. Les profils métaboliques révèlent des carences. *L'Elevage bovin, ovin-caprin.* 1978; 78:25-35

Egan AR. Reproductive responses to supplemental zinc and manganese in grazing Dorset Horn ewes. *Aust J of Exp Agric and Anim Husbandry.* 1972; 12:131-135

Ekhholm D, Varo P, Aspila P, Koimtoinen P, Syrjäläqvist L. Transport of feed selenium to different tissues of bulls. *Br J Nutr.* 1991; 66(1):49-55

Ellis NJJ, Shallow M, Judson GJ. Weight gains of lambs treated with a soluble glass bullet containing cobalt, selenium and copper. *Aust Vet J.* 1987; 64(3):93-94

Embury DH, Lepper AWD. Serum biochemical changes in calves with Johne's disease. *Aust Vet J.* 1984; 61(9):284-286

Erskine RJ, Everhart RJ, Hutchinson LJ, Scholz RW. Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase in dairy herds with high and low somatic cells counts. *JAVMA.* 1987; 190:1417-1421

Evans GW. Copperhomeostasis in mammarian system. *Physiol Rev* . 1973; 53:535-570

Evans GW. Transferrin function in zinc absorption and transport. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1976; 151:775-778

Favier A. Apports en zinc, sélénium, cuivre et chrome de l'alimentation et conséquences des déséquilibres. *CR Acad Agric Fr.* 1990; 76(2):95-110

Faye B, Grillet C. La carence en cuivre chez les ruminants domestiques de la région d'Awash (Ethiopie). *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 1984; 37(1):42-60

Fell BF. Pathological consequences of copper deficiency and cobalt deficiency. *Phil Trns R Soc London.* 1981; 153-169

Fell BF, Dinsdale D, Mills CF. Changes in enterocyte mitochondria associated with deficiency of copper in cattle. *Res Vet Sci.* 1975; 18:274-281

Fidalgo Alvarez LE, Martin Martin E, Garcia Partida P, Gonzalez Machado MA, Prieto Montaña F. Niveles de cobre y de zinc en la retención placentaria bovina. *Proc XV Cong Mundial de Buiatria Palma de Mallorca.* 1988; 1306-1309

Fisher GL. Function and homeostasis of copper and zinc in mammals. *Science of the total environment* . 1975; 4:373-421

Fisher GL, Hoogendoorn C, Montemurro J. The effect of added dietary selenium on the selenium content of milk, urine and faeces. *Can J Anim Sci.* 1980; 60:78-96

Flagstad T. Intestinal absorption of 65-Zn (Aedema disease) after treatment with oxychinolines. *Nord Vet, Med.* 1977; 29(2):96-100

Flynn A. Minerals and trace elements in milk. *Advances in food and nutrition research.* 1992; 36:209-252

Foley B, Johson SA, Hackley B, Smith JC, Halsted J. Zinc contents of human platelets. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1968; 128:265-269

Forbes RM, Parker HM, Erdman JW. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. *J Nutr.* 1984; 114:1421-1425

Forth W, Rummel R . Intestinal absorption of metal ions, trace elements and radionuclides. *SC Skoryna and Waldon-Edwards, eds Pergamon Oxford.* 1971;

Friot D, Calvet H. Biochemie et élevage au Senegal. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 1973; 26(4):75-98

Gallagher J, Cottrill BR. Methods of copper supplementation to cattle. *Vet Rec.* 1985; 117:468

Garcia Partida P, Gutierrez Panizo C, Alonso de Vega F. Carencia crónica experimental de cinc en ovejas: cuadro anatomoclínico. *An Fac Vet Murcia*. 1985; 1:181-188

Garcia Partida P, Prieto Montaña F, Gutierrez Panizo C, Diez Prieto I. Correlación entre las manifestaciones biopatológicas, cuadro lesional y ultraestructura del músculo blanco del cordero. *Abstracts XII World Vet Congress Perth Aust*. 1983; p 146

Garcia Partida P, Prieto Montaña F, Gutierrez Panizo C, Diez Prieto I. Relationship between the biopathological manifestations lesional description and the ultrastructure of the "White muscle" in lambs. *Proc XXII World Vet Congress Perth Australia*. 1983;

Gay CC, Pritchett LC, Madson W. Copper deficiency in ruminants. *The bovine proceedings*. 1988; 134-138

Genin F., Wolter R. Experimental diagnosis of selenium deficiency Practical method of determining blood glutathione peroxidase in the cow. *Rev Med Vet*. 1981; 132:173-180

Georgievskii VI, Annenkov BN, Samokhin VT. Mineral nutrition of animals. *Studies in the agricultural and food studies Bittenworth & Co(Publishers) Ltd*. 1982;

Gerald L, Fisher PHD. Effects of disease on serum copper and zinc values in the Beagle. *An J Vet Res*. 1977; 38:925-940

Ghosal AK, Mathur G:N. Zinc, copper and iron contents of blood serum of cattle in semi-arid tract of Rajasthan. *Indian J Anim Sci*. 1992; 65(5):441-442

Gissel-Nielsen G. Transport and metabolism of selenium in plants En: selenium, Glutathione peroxidase and vitamin E. *12 th Linderström Lang conference IUB simp Iceland*. 1982;

Gissel-Nielsen G. Selenium in soils and plants. *Proc of the simposium in selenium-tellurium in the environment Univ Notre Dame Indiana*. 1976;

Giugliano R, Millward DJ. The effects of seven zinc deficiency on protein turnover in muscle and thymus. *Br J Nutr*. 1987; 57:139-155

Goff J, Stabel J. Decreased plasma retinol O-tocopherol and zinc concentration during the periparturient period Effect of milk fever. *J Dairy Sci*. 1990; 73:3195-3199

Göksoy K, Gúcüs AI, MorÇöl T. Evaluation of dose response effects related to nutritional diseases (mineral deficiencies) in ruminants. *IAEA-SR*. 1986; 115(11):171-183

Gomez B, Tappel AL. Selenoprotein P receptor from the rat. *Biochem Biophys Acta*. 1989; 979:20-26

Gonzalez L. Intoxicación por cobre. *Ovis*. 1993; 26:51-56

Gooneratne SR, Christessen DA. A survey of maternal copper status and fetal tissue copper concentrations in Saskatchewan bovine. *Can J Anim Sci.* 1989; 69:141-150

Gooneratne SR, Symonds HW, Bailey JV, Christessen DA. Effects of dietary copper, molybdenum and sulphur on biliary copper and zinc excretion in Simmenthal and Angus cattle. *Can J Anim Sci.* 1994; 74:315-325

Grace ND. Recent developments in Trace elements in animal production. *Proc Aust Soc Anim Prod.* 1988; 17:42-46

Grace ND, Watkinson JH. Se, Cu, Zn and Fe metabolism of young lamb. *Proc N Zealand Soc Anim Prod.* 1988; 48:257-260

Graham TW, Thurmond MC, Clegg MJ, Keen CL, Holmberg CA, Shanker MR, Goodger WJ. An epidemiologic study of mortality inveal calves subsequent to an episode of zinc toxicosis on a California real calf operation using zinc sulfate-supplemented milk replacer. *JAVMA.* 1987; 190(10)

Greenough PR, Mac Callum FM, Weaver AD. Lameness incattle. *JB Lippincott Company Philadelphia.* 1976;

Greger IL, Marcus RE. Effect of dietary protein, phosphorus and sulphur aminoacids on selenium metabolism of adult males. *Ann Nutr Metab.* 1981; 25:97-108

Gregus Z, Klaassen CD. Disposition of metal in rats: a comparative study of faecal urinary and biliary excretion and tissue distribution of eighteen metals. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1986; 85:24-28

Gruden N. Nutritional bioavailability of manganese. *Am Chem Soc Washington DC.* 1987;

Haaranen S. The effect of zinc on itching til root eczema in cattle. *Nord Vet, Med.* 1962; 14(4):265-269

Haenlein GFW. Mineral nutrition of goats. *J Dairy Sci.* 1980; 63:1729-1748

Hague I, Adnayi EA, Sibanda S. Copper in soils, plants and ruminant animal nutrition with special reference to sub-saharian Africa. *J Plant Nutr.* 1993; 16(11):2149-2212

Hainline A. Hemoglobin in standard methods of clinical chemistry. *D Selignon vol 2 Academic Press.* 1958;

Hall RF, Sanders WL, Bell MC, Reynolds RA. Effects of season and grass tetany on mineral composition of Herefords cattle hair. *Am J Vet Res.* 1971; 32(10):1613-1619

Hankinson DJ. Potencial sources of copper contamination of farm milk supplies measured by AAS. *J Dairy Sci.* 1975; 58(3):326-336

Hansard SL. In isotope studies on phisiology of domestic animals. *IAEA Vienna.* 1972;

Harrison JH, Conrad HR. Selenium content and glutathione peroxidase activity in tissues of the dairy cow after short-term feeding. *J Dairy Sci.* 1984; 67:2464-2470

Harrison JH, Conrad HR. Effect of selenium intake on selenium utilization by the nonlactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 1984; 67:219-223

Harrison JH, Hancock DD, Conrad HR. Vit E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci.* 1984; 67:123-132

Hartmans J. Tracing and treating mineral disorders in cattle under field conditions. *En: Hoekstra WG, Suttie JW, Ganther HE, Mertz W (eds) Trace element metabolism in animals Baltimore Univ Park Press.* 1974; 261-273

Hawkins GE, Wise GH, Matrone G, Waugh RK, Lott WL. Manganese in the nutrition of young dairy cattle fed different levels of calcium and phosphorus. *J Dairy Sci.* 1955; 38:536

Hays VW, Swenson MJ. Minerales En: Dukes HH, Swenson MJ eds *Fisiología de los animales domésticos. Aguilar 4º edición Madrid.* 1977; 847-882

He Y, Zhu L. The effect of dietary vitamin E on the metabolism of selenium in rats raised with Keshan disease diets. *Yingyang Xuebao.* 1988; 10:16-21

Heller R. Rôle des oligo-éléments chez le végétal. *CR Acad Agric Fr.* 1990; 76(2):7-16

Hellesnes I, Underdal B, Lunde G, Harre GN. Selenium and zinc concentrations in kidney, liver and muscle of cattle from different parts of Norway. *Act Vet Scand.* 1975; 16:481-491

Hernandez Bermudez J. Estudio de distintos parametros hematológicos y séricos en razas bovinas (Bos Taurus, Linnaeus, 1758) rústicas de Galicia. *Tesis Fac Vet Lugo Univ Sant de Compostela.* 1992;

Hidiroglou M. Trace elements deficiencies and fertility in ruminants: a review. *J Dairy Sci.* 1979; 62(8):1195-1206

Hidiroglou M. Zinc, copper and manganese deficiencies and the ruminant skeleton: a review. *Can J Anim Sci.* 1980; 60(3):579-590

Hidiroglou M. Nutritional muscular dystrophy of young ruminants. *Agric Can Public n° 1706. Ottawa.* 1980;

Hidiroglou M. 54-Mn uptake by the ovaries and the reproductive tract of cycling and anestrous ewes. *CanJ Physiol Pharmacol.* 1975; 53:969

Hidiroglou M, Ivan M, Bryan MK, Ribble CS, Janzen ED, Proulx JG, Elliot JI. Assesment of the role of manganese incongenital joint laxity and dwarfism in calves. *Ann Rech Vet.* 1990; 21(4):281-284

Hidiroglou M, Ivan M: McDowell DL. Copper metabolism and status in cattle. *En: Bogin E. Otto F. Ibañez A eds Proc XVI Cong Mundial de Buiatria Bahia Brasil.* 1990; 1247-1251

Hidiroglou M, Knipfel JE. Zinc in mammalian sperm: a review. *J Dairy Sci.* 1984; 67(6):1147-1156

Hidiroglou M, McAllister AJ, Williams CJ. Prepartum supplementation of selenium and vitamin E to dairy cows: Assesmente of selenium status and reproductive perfomance. *J Dairy Sci.* 1987; 70:1281-1288

Hidiroglou M, Proulx J. Intraruminal selenium pellet for control of nutritional muscular dystrophy in cattle. *J Dairy Sci.* 1985; 68:57-66

Hidiroglou M, Shearer DA. Concentration on manganese in the tissues of cycling and anestrous ewes. *Can J Comp Med.* 1976; 40:306

Hidiroglou M, Spurr DT. Influence of cold exposure and diet change on the trace element composition of hair from Shortorn cattle. *Can J Anim Sci.* 1975; 55:31-38

Hignett SL. The influence of nutrition on female fertility in some of the large domestic animals . *Proc Nutr Soc.* 1960;

Hill CH. Reversal of selenium toxicity in chicks by mercury, copper and cadmium. *J Nutr.* 1974; 104:593-594

Hill GM, Miller ER. Effect of dietary zinc levels on the growth and development of the gilt. *J Anim Sci.* 1983; 57(1):106-113

Hill GM, Miller ER, Ku PK. Effect of dietary zinc levels on mineral concentration in milk. *J Anim Sci.* 1983; 57(1)

Hogan JS, Smith KL, Weiss WP, Todhunter D,A, Schockey WL. Relationships among vitamin E, selenium and bovine blood neutrophils. *J Dairy Sci.* 1990; 73:2372-2378

Hogan KG, Money DF, Walker RS. The distribution of copper in the liver of pigs and sheeps its effects on valor of chemical analysis by biopsie . *NZ J Agric Res.* 1971; 14:132-141

Hoshing Y, Ichiso S, Osame S, Takahashi E. Studies on serum tocopherol, selenium levels and blood glutathione peroxidase activites in calves with white muscle disease. *Jpn J Vet Sci.* 1989; 51(4):741-748

Hsieh HJ, Ganther HE. Biosynthesis of dimethyl selenide from sodium selenate in rat liver and kidney cell-free systems. *Biochem Biophys Acta.* 1977; 497:205

Hudman JF, Glenn AR. Selenite uptake and incorporation by "Selenomonas ruminantum". *Arch Microb.* 1984; 140:252-256

Humphreys DJ. Toxicologia veterinaria. *Interamericana- McGraw Hill 3ª eds Madrid.* 1990;

Humphries WR, Phillippo M, Young BW, Bremner I. The influence of dietary molybdenum and iron on copper metabolism in calves. *Br J Nutr.* 1983; 49(1):77-86

Hurley LS, Keen CL. Trace elements in human and animal nutrition. *W Mertz eds 5th vol 1 Academic Press.* 1987;

Hurley LS, Swenerton H. Congenital malformations resulting from zinc deficiency in rats . *Proc Soc Exp Biol Med.* 1966; 123:692-696

Ingraham RH, Kappel LC, Morgan EB, Srikandakumar A. Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. *J Dairy Sci.* 1987; 70:167-180

Ivan M, Grieve CM. Effects of zinc, copper, and manganese supplementation of high concentrate ration on gastrointestinal absorption of copper and manganese in Holstein calves. *J Dairy Sci.* 1976; 59(10):1764-1768

Ivan M, Proulx JG, Morales R, Cadagnone HCV, Dayrell MJ. Copper accumulation in the liver of sheep and cattle fed diets supplemented with copper sulfate or copper chloride. *Can J Anim Sci.* 1990; 70(2):727-730

Jacobson BE, Lockitch G. Direct determination of selenium in serum by graphite furnace atomic absorption spectrometry with deuterium background correction and a reduced palladium modifier: Age specific reference ranges. *Clin Chem.* 1988; 34(4):709-714

Jelinek PD, Steele P, Masters HG, Allen JG, Copland MD, Petterson DS. Erythrocyte selenium-75 sulphate as a measure of selenium status in weaner sheep, and its relationship to erythrocyte glutathione peroxidase activity. *Aust Vet J.* 1985; 62:327-331

Jenkins KJ. Effect of copper loading of preruminant calves on intracellular distribution of hepatic copper, zinc, iron and molybdenum. *J Dairy Sci.* 1989; 72(9):2346-2350

Jenkins KJ, Hidioglou M. The incorporation of 75 Selenite into dystrophogenic pasture grass The chemical nature of the selenocompounds and their availability to young ovine. *Can J Biochem.* 1967; 45:1027-1040

Jenkins KJ, Hidioglou M. Tolerance of the calf for excess copper in milk replacer. *J Dairy Sci.* 1989; 72(1):150-156

Jenkins KJ, Kramer JKG. Influence of excess dietary copper on lipid composition of calf tissues. *J Dairy Sci.* 1989; 72(10):2582-2591

Jones DG. Effects of dietary copper depletion on acute and delayed inflammatory responses in mice. *Res Vet Sci.* 1984; 37:205-210

Jones DG. Stability and storage characteristics of enzymes in cattle blood. *Res Vet Sci.* 1985; 38:301-306

Judson GJ, Brown TH, Gray D, Dewey DW, Babidge PJ. Oxidised copper wire as a copper supplement for sheep: a study of some variables which may alter copper availability. *Aust Vet J.* 1984; 61(9):294-295

Judson GJ, Caple IW, Langlands JP, Peter DW. Mineral nutrition of grazing ruminants in Southern Australia. *Comm Scientific and Industrial REs Org Melbourne Australia.* 1987; 377-385

Jungermann K, Möhler H. Bioquímica. *Edit Piramide Madrid.* 1984;

Kal' nitskii BD, Kharitonova OV, Kalashnik VI. Characteristics of mineral nutrition of high yielding cows. *Zootekhniya.* 1988; 4:41-44

Kamal S, Hussein M, Jones EV . Effects of selenium administration on erythrocyte and blood plasma glutathione peroxidase activity in goats. *Act Vet Scand.* 1982; 23:559-564

Kantola M, Saaranen M, Vanha-Perttula T. Selenium and glutathione peroxidase in seminal plasma of men and bulls. *J Reprod Fert.* 1988; 83:785-794

Kappel LC, Morgan EB, Kilgore L, Ingraham RH, Batcock DK. Seasonal changes of mineral content of southern forages. *J Dairy Sci.* 1985; 68:1822-1827

Keen CL, Leach RM. Handbook on toxicity of inorganic compounds. *HG Seiler and Sigel Eds Marcel Dekker New York.* 1987;

Keen CL, Lönnerdal B, Hurley LS. Biochemistry of the essential ultratrace elements. *Plenum New York.* 1985;

Keen CL, Lönnerdal IB, Clegg M, Harley LS. Developmental changes in composition of rat milk trace elements mineral, protein, carbohydrate and fat. *J Nutr.* 1981; 111:226-230

Keen CL, Zidenberg-Cherr S, Lönnerdal. Nutritional bioavailability of manganese. *ACS simp Amer Chem Soc Washington DC.* 1987;

Keen JJ, Graham TW. Trace elements. *En: Kaneko JJ: Clinical Biochemistry of domestic animals Academic Press 4^o edición California.* 1989; 753-795

Kellaway RC, Sitorus P, Leibholz JML. The use of copper levels in hair to diagnose hypocuprosis. *Res Vet Sci.* 1978; 24:352-357

Kemmerer AR, Elvehjem CA, Hart EB. Studies on the relation of manganese to the nutrition of the mouse. *J Biol Chem.* 1931; 92:623-630

Kfoury GA, Reinhold JG, Simonian JJ. Enzyme activities in tissues of zinc deficient rats. *J Nutr.* 1968; 95(1):102-110

Kincaid R L. Biological availability of zinc from inorganic sources with excess dietary calcium. *J Dairy Sci.* 1979; 62:1081-1085

Kincaid R L, Cronrath JD. Zinc concentration and distribution in mammary secretions of peripartum cows. *J Dairy Sci.* 1992; 72(2):481-484

Kirchgessner M, Paulicks B, Roth HP. Zinc in animal nutrition: Function, deficiency, diagnosis, requirements, supply and absorption. *Ciencia e investigación agraria.* 1993; 20(2):182-201

Kirchgessner M, Schwarz FJ. The use of isotopes to detect moderate mineral imbalances in farm animals. *IEA Vienna.* 1982; 69-90

Kirchgessner M, Schwarz FJ, Roth Maier DA. Trace elements metabolism in man and animals. *Aust Acad Sci.* 1981;

Kirchgessner M, Schwarz FJ, Schnegg A. Interactions of essential metals in human physiology. *En: Prasad AS eds Clinical, biochemical and nutritional aspects of trace elements New York: Alan R Liss, Inc.* 1982; 477-512

Kleczkowskii M, Barej W, Klucinski W, Sikora J, Dembele K. Effect of different concentrations of copper, molybdenum, zinc and sulphur in diet on content of selenium in the liver of bulls. *Proc XVIII Cong Buiatria Bologna.* 1994; 653-655

Koenig KM, Buckley WT, Shelford JA. Measurement of endogenous fecal excretion and true absorption of selenium in dairy cows. *Can J Anim Sci.* 1991; 71(1):167-174

Koh TS, Bansemer PC, Melynczin KA. Copper and selenium in South Australia cattle. *Proceedings of New Zealand trace elements group conference.* 1992; 123-129

Kojima Y, Kägi JHR. Metallothionein. *Trends in Biol Sci.* 1978; 4:90-93

Koller LD, Exon JH. The two faces of selenium deficiency and toxicity are similar in animals and man. *Can J Vet Res.* 1986; 50:297-306

Koller LD, South PJ, Exon JH, Whitbeck GA, Maas J. Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase activity in bovine whole blood. *Can J Comp Med.* 1984; 48:431-433

Lamand M. Les oligoéléments en médecine et biologie. *Tec & Doc Paris.* 1991; 77-110

Lamand M. Diagnostic des carences en oligoéléments chez l'animal. *Ann Nutr Alim.* 1971; 379-410

Lamand M. Influence of silage contamination by soil upon trace elements availability in sheep. *Ann Nutr Alim.* 1979; 10(4):571-573

Lamand M. Place du laboratoire dans le diagnostic des carences en oligoéléments chez les ruminants. *Rec Med Vet.* 1987; 163(11):1071-1082

Lamand M. Les oligoéléments dans la chaîne alimentaire et leur absorption par l'animal. *CR Acad Agric Fr.* 1990; 76(2):79-93

Lamand M, Barlet JP, Rayssiguier Y. Particularités de la biologie clinique des minéraux chez les ruminants. *Rec Med Vet.* 1986; 162:1127-1132

Lamand M, Lab C, Mignon M, Tressol JC. A zinc deficient diet for ruminants: Diagnosis and treatment of deficiency. *Ann Rech Vet.* 1983; 14(3):211-215

Lamand M, Levieux D. Effects of infection on plasma levels of copper and zinc in ewes. *Ann Rech Vet.* 1981; 12(2):133-136

Langlands JP . Recent advances in copper and selenium supplementation of grazing ruminants. *En: Farrell DJ eds Recent advances in animal nutrition in Australia Univ of New England Printery.* 1987; 144-151

Langlands JP, Bowles JE, Donald GE, Smith AJ . Selenium excretion in sheep. *Aust J Agric Res.* 1986; 37:201-209

Laurant J . Test biochimiques utilisant la spectrophotométrie d'absorption moléculaire pour la mise en évidence des carences en oligoéléments et macroéléments chez les bovins. *Tesis Ecole Nat Vet Alfort.* 1985;

Lavín S, Monreal L, Abad M, Fernandez L. Niveles de cobre en plasma y pelo de ganado vacuno en diferentes estados reproductivos. *Med Vet.* 1987; vol4(9):415-420

Lavín S, Monreal L, Viñas L. Deficiencia de cobre en ganado vacuno: revisión clínica. *Med Vet.* 1989; Vol 6(5):263-273

Leach RM. Role of manganese in mucopolysaccharide metabolism. *Fed Proc.* 1971; 30:991-994

Leach RM. Manganese in metabolism and enzyme function. *Schramm and Wedler Eds Academic Press Orlando Florida.* 1986;

Leach RM, Muenster AM. Studies on the role of manganese in bone formation . *J Nutr.* 1962; 78:51-56

Legg SP, Sears L. Zinc sulphate treatment of parakeratosis in cattle. *Nature.* 1960; 186:1061-1062

Leigh LC. Changes in the ultrastructure of cardiac muscle in steers deprived of copper. *Res Vet Sci.* 1975; 18:282-287

Lengronne D, Legardinier JC. Observation des plusieurs séries d'intoxications par le cuivre chez le veau d'élevage. *Point Vet.* 1983; 15(7):59-61

Lilley CW, Hamas DW, Gerlach M, Johnson JL . Linking copper and bacteria with abomasal ulcers in calves. *Vet Med .* 1985; 80(10):85-88

Lónnerdal B, Keen CL, Bell JG, Sandstróm B. Nutritional bioavailability of manganese. *ACS Simp Amer Chem Soc Washington DC.* 1987;

Lorentz PP, Gib FM. Caeruloplasmin activity as an indicator of plasma copper levels in sheep. *NZ J Agric Res.* 1975; 23:1-3

Luecke RW, Olman ME, Baltzer BV. Intestinal alkaline phosphatase activity in the zinc deficient rat. *Fed Proc.* 1967; 26:253

Mac Donald DW, Christian RG, Wheham GR, Howel J. A review of some aspects of vitamin E, selenium responsive diseases with note on their possible incidence in Alberta. *Can Vet J.* 1976; 17:61-71

Mac Pherson EA, Beattis IS, Young GB. An inherited defect in Friesian calves. *Nord Vet, Med.* 1964; 16:533-540

Macpherson A, Chalmers JJ. Methods of selenium supplementation of ruminants. *Vet Rec.* 1984; 24:544-546

Macpherson A, Voss RC, Moon FE. Effects of foliar application of copper sulphate on the copper content and yield of hay. *J Br grass Soc.* 1975; 30:107-110

Mahmoud OH, Ford ESH. Injection of sheep with organic compounds of copper. *Vet Rec.* 1981; 108:114-117

Maier EA, Rastagan R, Ruch C, Heimbürger R, Christophe C, Leroy MSF. Direct determination of selenium in human and animal plasma by energy dispersive X-ray fluorescence. *En: Neve J. Favier A selenium in medicine and biology Proc of the 2nd Congr on trace elements Avoriaz France.* 1989; 321-325

Mallinson CB, Allen WH, Sansom BF. Barium selenate injections in cattle, effects on selenium concentrations in plasma and liver and residues at site of injection. *Vet Rec.* 1995; 19:405-407

Mandiki SNM, Kiatoko M, Olenga L. Composition minérale des fourrages de la sous région de L'Ituri (Zaire) et proposition de complémentation pour bovins. *Rev Elev MedVet Pays Trop.* 1986; 39(3-4):425-434

Manston R, Russell AM, Dew SM, Payne JM. The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet Rec.* 1975; 96:497-502

Martin JL. Selenium assimilation in animals En: Organic selenium compounds: Their chemistry and biology. *Eds Klayman DL. Günther WHH Wiley New York.* 1973; 663-691

Mason J. The relationship between copper, molybdenum and sulphur in mineral and non ruminant animals: a review. *Vet Sci Comm.* 1978; 2:85-94

Masters DG, Chapman RE, Vaughan JD. Effects of zinc deficiency on the wool growth, skin and wool follicles of pre ruminant lambs. *Aust J Biol Sci.* 1985; 38(4):355-364

Matrat M. N'Oubliez pas le sel, ni les oligoéléments. *L'Elevage bovin, ovin-caprin.* 1976; 57:35-39

Matrone G, Hartmen RH, Clawson AJ. Studies of a manganese- iron antagonism in the nutrition of rabbits and baby pigs. *J Nutr.* 1959; 67:309-317

Maus R, Martz FA, Belyea RL+A189, Weiss MF. Relationship of dietary selenium to selenium in plasma and milk from dairy cows. *J Dairy Sci.* 1980; 63:532-537

Mc Cosker PJ. Paraphenylenediamine oxidase activity and copper levels in mammalian plasma. *Nature.* 1961; 190(4779):887-889

Mc Farlane JD, Judson GJ, Gonzos J. Copper deficiency in ruminants in the South East of South Australia. *Aust J Exp Agric.* 1990; 30:187-193

Mc Murray CH. Nutritional supplies requirements and effects of deficiencies of vitamin E and selenium. *Proc of the Roche Simp London.* 1980;

Mc Murray CH, Rice DA, Kennedy S. Nutritional miopathy in cattle from clinical problem to experimental models for studying selenium, vitamin E and polyunsaturated fatty acids interactions. *Br Soc Anim Prod.* 1983;

McConnell KP, Cho GJ. Active transport of L-selenomethionine in the intestine. *Am J Physiol.* 1967; 213:150-156

McDowell LR. Nutrition of grazing ruminants in warm climates. *Academic Press N York.* 1985;

McDowell LR, Conrad JH, Ellis GL. Mineral deficiencies, imbalances and diagnosis: part II. *Feedstuffs.* 1983; 55(39):21-25

McDowell LR, Conrad SH, Hembry FG, Rojas LX, Valle G, Velasquez J. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales; 2ª edición. 1993;

McDowell LR, Williams S:N. En: Annual Florida ruminant nutrition simposium. *Univ of Florida Gainesville.* 1991;

McLaughlin JG, Cullen J, Forristal T. Blood selenium concentrations in cattle on seleniferous pastures. *Vet Rec.* 1989; 124:426-427

Meng X, Yu W, Zhon B, Kang B. Influence of manganese on selenium metabolism in rats. *Yingyang Xuebao.* 1987; 9:97-104

Mikkanen HM, Hamaloja T. Effect of lead on the intestinal absorption of sodium selenate and selenomethionine(75-Se) in chicks. *Biol Trace Elem Res.* 1984; 6:11

Miltimore JE, Mason JL. Copper to molibdenum and copper concentrations in ruminant feeds. *Can J Anim Sci.* 1971; 51:193-200

Miller JK, Cragle RG. Gastrointestinal sites of absorption and endogenous secretion of zinc in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1965; 48(1):370-373

Miller JK, Ramsey N, Madsen FC. Elementos vestigiales En: El rumiante: Fisiología digestiva y nutrición. *Ed Acribia.* 1993; 391-457

Miller WJ. Zinc nutrition of cattle: a review. *J Dairy Sci.* 1970; 53(8):1123-1135

Miller WJ. New concepts and developments in metabolism and homeostasis of inorganic elements in dairy cattle A review. *J Dairy Sci.* 1975; 58(10)

Miller WJ. Dairy cattle feeding and nutrition. *Academic Press Inc Orlando Florida.* 1979;

Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP, Powell GW, Perkins HF. Influence of zinc deficiency on zinc and dry matter content of ruminant tissues and on excretion of zinc. *J Dairy Sci.* 1966; 49(11):1446-1453

Miller WJ, Blackmon DM, Hiers JM, Fowler PR, Clifton CH, Gentry RP. Effects of adding two forms of supplemental zinc to a practical diet on a skin regeneration in Holstein heifers and evaluation of a procedure for determining rate of wound healing. *J Dairy Sci.* 1967; 50(5):715-721

Miller WJ, Blackmon DM, Powell GW, Gentry RP, Hiers JM. Effects of zinc deficiency and of dietary zinc level on urinary and endogenous fecal excretion of Zn⁶⁵ from a single intravenous dose by ruminants. *J Nutr.* 1966; 90:335-341

Miller WJ, Martin YG, Gentry RP, Blackmon DM. Zn 65 and stable zinc absorption, excretion and tissue concentrations as affected by type of diet and level of zinc in normal calves. *J Nutr.* 1968; 94(1):391-401

Miller WJ, Pitts WJ, Clifton CM, Schmittle SC. Experimental produced Zn deficiency in the goat. *J Dairy Sci.* 1964; 47(1):556-558

Miller WJ, Powell GW, Pitts WJ, Perkins HF. Factors affecting zinc content of bovine hair. *J Dairy Sci.* 1965; 48:1091-1095

Miller WJ, Stake PE, Neathery MW, Gentry RP, Blackmon DM. Metabolism of manganese in calves as affected by dietary manganese and intravenous or duodenal manganese-54 dosing. *J Dairy Sci.* 1987; 70:2085-2090

Miller WJ, Wells ES, Gentry RP, Neathery MW. Endogenous zinc excretion and Zn⁶⁵ metabolism in Holstein calves fed intermediate to high but non toxic zinc levels in practical diets. *J Nutr.* 1971; 101(2):1673-1682

Mills CF. The physiological and pathological basis of trace elements deficiency disease. *Br Soc Anim Prod.* 1983;

Mills CF, Dalgarno AC, Williams RB, Quaterman J. Zinc deficiency and the zinc requirements of calves and lambs. *Br J Nutr.* 1967; 21(1):751-768

Ministerio de Agricultura. Evaluación de recursos agrarios Mapa de cultivos y aprovechamientos. *Madrid.* 1975; n°79 y 104

Moknes K, Norheim G. Selenium and glutathione peroxidase levels in lambs receiving feeds supplemented with sodium selenate or selenomethionine. *Act Vet Scand.* 1983; 24:45-58

Morisi G., Patriarca M, Menotti A. Improved determination of selenium in serum By Zeeman Atomic Absorption Spectrometry. *Clin Chem.* 1988; 34(1):127-130

Motsenboker MA, Tappel AI. Effect of dietary selenium on plasma selenoprotein P, selenoprotein P1 and glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr.* 1984; 114:279-285

Murphy GK, Rhea VS, Peeler JT. Copper, iron, manganese, strontium and zinc content of market milk. *J Dairy Sci.* 1972; 55(12):1666-1674

National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. *Nat Academic Press Washington DC.* 1984;

Ndweni N, Field TR, Williams MR, Booth JM, Finch SM. Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vit E and selenium in dairy herds in England. *Vet Rec.* 1991; 129(5):86-88

Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP. Zinc-65 metabolism, secretion into milk, and biological half-life in lactating cows. *J Dairy Sci.* 1973; 56(12):1526-1530

Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP. Absorption and tissue zinc content in lactating dairy cows as affected by low dietary zinc. *J Anim Sci.* 1973; 37(3):848-852

Neathery MW, Miller WJ, Gentry RP, Crowe CT, Alfaro E. Influence of high dietary lead on selenium metabolism on dairy calves. *J Dairy Sci.* 1987; 70:645-652

Nelson DR, Wolff WA, Blodgett DJ, Luecke B, Ely RW, Zachary JF. Zinc deficiency in sheep and goats, three field cases. *JAVMA.* 1984; 184(12):1480-1485

Neuzil E. Les oligoéléments chez l'animal: de l'atomistique a la physiologie. *CR Acad Agric Fr.* 1990; 76(2):69-78

Neve J. Biological functions of selenium. *Proc II Congress on Trace Elements in Medicine and biology Avoriaz France.* 1989; 97-112

Nockels CF, De Bonis J, Torrent J. Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources. *J Anim Sci.* 1993; 71:2539-2545

Norheim G, Bjorland J. Zinc concentrations in pancreas and liver of cattle in Norway. *Acta Vet Scand.* 1981; 22:286-288

Norrman E. Selenium content in cow's milk. *Nord Vet+C283 Med.* 1984; 36:296-304

Nougues CL, Lamand M. Possibilités et limites de l'utilisation du poil dans le diagnostic de la carence en zinc chez la bovin. *Ann Rech Vet.* 1972; 3:505-509

NRC. Mineral tolerance of domestic animals. *Nat Acad of Sci-Nat Res Council Washington DC.* 1980;

NRC. Selenium in nutrition. *Nat Acad of Sci-Nat Res Council Washington DC.* 1983;

NRC. Nutrient requirements of beef cattle. *Nat Acad of Sci-Nat Res Council Washington DC.* 1984;

NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. *Nat Acad of Sci-Nat Res Council Washington DC.* 1989;

Nwokolo EN, Bragg DB, Kitts WD. A method for estimating the mineral availability in feedstuffs. *Poultry Sci.* 1976; 55:2217-2221

O'Dell BL, Burpo GE, Savage JE. Evaluation of zinc availability in foodstuffs of plants and animal origin. *J Nutr.* 1972; 107:653-660

O'Mary CC, Butts WT Jr, Reynolds RA, Bell MC. Effects of irradiation, age, season and colour on animal composition of Hereford cattle hair. *J Anim Sci.* 1969; 28:268-271

Obermeyer BD, Palmer IS, Olson OE, Halverson AW. Toxicity of trimethylselenium chloride in the rat with and without arsenite. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1971; 20:135-146

Olkowski AA, Gooneratne SR, Christensen DA. Effects of diets of high sulphur content and varied concentrations of copper, molybdenum and thiamine on in vitro phagocytic and candidacidal activity of neutrophils in sheep. *Res Vet Sci.* 1990; 48:82-86

Olson OE. Selenium in plants as cause of livestock poisoning Affects of poisonous plants on livestock. *Academic Press Inc New York.* 1978;

Olson OE, Novaleck EJ, Whitehead EI, Palmer IJ. Investigations on selenium in wheat. *Phytochemistry.* 1970; 9:1181-1188

Oregui LM. Profilaxis y tratamiento de las deficiencias e intoxicaciones por cobre. *Ovis.* 1993; 26:77-87

Oregui LM, Bravo MV. El cobre, funciones y necesidades. *Ovis.* 1993; 26:9-26

Orent ER, McCollum EV. Effects of deprivation of manganese in the rat. *J Biol Chem.* 1931; 92:651-678

Overnes G, Moksnes K, Froslic A. Barium selenate: a long acting selenium preparation for subcutaneous injection. *Act Vet Scand.* 1985; 26:164-168

Overnes G, Moksnes K, Froslic A, Norsteb SG, Flaatt J. The effect of different levels of selenium in mineral mixtures and salt licks on selenium status in sheep. *Act Vet Scand.* 1985; 26:405-416

Parkash S, Jennes R. Status of zinc in cow's milk. *J Dairy Sci.* 1967; 50(2):127-134

Parsons MS, Ku PK, Ullrey DE, Stowe HD, Whitter PA, Miller ER. Effects of rivoflavin supplementation and selenium source on selenium metabolism in the young pigs. *J Anim Sci.* 1985; 60:451-461

Paulais AM. Carences en oligéléments soyez vigilants. *L'Elevage bovin, ovin-caprin.* 1978; 73:63-68

Paulson GC, Baumann CA, Pope A-L. Metabolism of ⁷⁵Se-selenite, ⁷⁵Se-selenate, ⁷⁵Se-selenomethionine and ³⁵S-sulphate by rumen microorganism in vitro. *J Anim Sci.* 1968; 27:497-504

Paynter DI, Moir RS, Underwood EJ. Changes in activity of the Cu-Zn superoxide dismutase enzyme in tissues of the rat with changes in dietary copper. *J Nutr.* 1/06/05; 109:1570-1576

Perez CC, Diez I, Garcia MB, Somboro G, Rios MA, Garcia Partida P. Plasma copper and zinc evolution in renal failure. *Proc 4^o C306Simp Int Metal ions in biology and medicine Barcelona.* 1996;

Pèrigoud S, Bellanger J, Lamand M. Les oligoéléments dans les foin en France. *Fourrages.* 1972; 52:11-37

Perry TW, Peterson RC, Beeson WM. Selenium+B352 in milk from feeding small supplements. *J Dairy Sci.* 1977; 60:1698-1700

Peterson PS, Butler GW. The uptake and assimilation of selenite by higher plants. *Aust J Biol Sci.* 1962; 15(126)

Pitts WJ, Miller WJ, Fosgate OT, Morton JD, Clifton CM. Effect of zinc deficiency and restricted feeding from two to five months of age on reproduction in Holstein bulls. *J Dairy Sci.* 1966; 49:995-1000

Pocino M, Malave I, Bante L. Zinc administration restores the impaired immune response observed in mice excess copper by oral route. *ImmunoPharm-Inm+C341unotoxicol.* 1990; 12(4):697-713

Pope AL, Moir RJ, Somers M, Underwood EJ, White CI. The effect of sulphur on ⁷⁵Se absorption and retention in sheep. *J Nutr.* 1979; 109:1448-1455

Powell GW, Miller WJ, Blackmon DM. Effects of dietary EDTA and cadmium on absorption, excretion and retention of orally administered ⁶⁵Zn in various tissues of zinc deficient and normal goats and calves. *J Nutr.* 1967; 93:201-202

Price J, Humphries WR. Investigation on the effect of supplementary zinc on growth rate of beef cattle on farms in New Scotland. *J Agric Sci.* 1980; 95:135-139

Prieto Montaña F. Aportaciones a la biopatología del parto en el ganado bovino. *Tesis Univ de Oviedo Fac Vet León.* 1975;

Pritchard GC, Lewis G, Wells GAH, Stopforth A. Zinc toxicity, copper deficiency and anaemia in swill fed pigs. *Vet Rec.* 1985; 117(21):545-548

Putnam ME, Comben N. Vitamin E. *Vet Rec.* 1987; 121:541-545

Quiroga MA . Deficiencia de cobre en bovinos Actualización bibliográfica. *Gac Vet .* 1982; 44(371):513-530

Raghib MH,, Chan WY, Rennert OM. Comparative studies of selenium-75 (selenate and selenomethionine) Absorption from various milk diets in suckling rats. *J Nutr.* 1986; 116:1456-1463

Rahim AGA, Arthur JR, Mills CF. Effects of dietary copper, cadmium, iron, molibdenum and manganese on seleniumutilization by the rat. *J Nutr.* 1986; 116:403-411

Rao RR. Manganese deficiency and reproductive phenomena in beef cattle and rats. *Tesis Washington State Univ.* 1963;

Reichlmayr AM, Kirchgessner M. Limits of trace element contents in organism as parameters for trace element metabolism. *En: Brätter P. Schramel P eds Trace element analytical chemistry in medicine and biology, vol5 Berlin.* 1988; 199-219

Rejas Lopez J. Estados carenciales de zinc en animales de experimentación. *Tesis Univ de León.* 1990;

Reuter R, Bowden M, Besier B, Master H. Zinc responsive alopecia and hiperkeratosis in Angora goats. *Austr Vet _J.* 1987; 64(11):351-352

Rice DA, Blanchflower WJ. Evaluation of a new test kit for measuring whole blood glutathione peroxidase using cattle blood. *Vet Rec.* 1986; 118:479-480

Rice DA, McMurray CH, Kennedy S, Ellis WA. Lack of effect of selenium supplementation on the incidence of weak calves in dairy herds. *Vet Rec.* 1986; 119:571-573

Richards DH, Hewett GR, Pamy JM, Yeoman GH. Bovine copper deficiency: use of copper oxide needless. *Vet Rec.* 1985; 116:618-619

Richet GC. En: Oligoèlèments et ruminants domestiques. *Versailles: SEI.* 1972;

Riffard J. Le cuivre et les ruminants 1ª parte. *Point Vet.* 1989; 20(118):905-911

Riffard J. Le cuivre et les ruminants 2ª parte. *Point Vet.* 1989; 21(119):63-70

Rios Granja MA. Contribución al estudio de la subcarencia de cobre y cinc en ganado bovino de la montaña leonesa. *Tesis Univ de León.* 1995;

Rios MA, Garcia B, Melendez S, Rejas J, Perez CC, Diez I. Niveles plasmáticos de cobre y cinc en bovinos de raza Parda Alpina de una zona montañosa sospechosa de deficiencia en cobre Estudio preliminar. *Proc XVIII World Buiatrics Congress Bologna.* 1994; 1293-1297

Rios MA, Melendez S, Garcia B, Cano MJ, Perez CC, Diez I. Cupremia en el ganado vacuno influencia de la época del año. *Actas del V Congreso Nacional de Buiatria Zaragoza.* 1996; 233-237

Rios MA, Melendez S, Garcia B, Perez CC, Diez I, Garcia Partida P. Evolución de los niveles de cobre y cinc en el pasto consumido por rumiantes de la comarca agraria "Montaña de León". *FEMESPRUM Murcia.* 1996; 669-675

Rios MA, Perez CC, Garcia B, Cano MJ, Diez I. Oligoelementos en el pelo de vacas adultas explotadas en condiciones semiextensivas. *Buiatria Esp.* 1997; vol 7(2):295-302

Roberts HE. Bovine hypocuprosis. *Vet Rec.* 1976; 99(2):496-498

Robinson JR, Robinson MF, Levander OA, Thompson CD. Urinary excretion of selenium by New Zealand and North American human subjects on differing intakes. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41:1023-1031

Roger PAM, Poole DBR. Copper oxide needless for cattle: A comparison with parenteral treatment. *Vet Rec.* 1988; 123:147-151

Rojas MA. Manganese deficiency in bovine. *Tesis Washington State Univ.* 1965;

Rojas MA, Dyer IA, Cassatt WA. Manganese deficiency in the bovine. *J Anim Sci.* 1965; 664-667

Roneus B, Hakkarainen J. Vitamin E in serum and skeletal muscle tissue and blood glutathione peroxidase activity from horses with azoturia Tying up syndrome. *Act Vet Scand.* 1985; 26:425-427

Root AW, Dukett G, Sweetland M, Reiter ED. Effects of zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. *J Nutr.* 1979; 109:958-964

Ropstad E, Frosli A, Landsverk K. Selenium levels and glutathione peroxidase activity in blood, plasma and reproductive organs in dairy cows. *Act Vet Scand.* 1988; 29(3-4):431-435

Rosenberger G. Exploración clínica de los bovinos. *Hemisferio Sur 3ª edición Buenos Aires.* 1994;

Rosenfeld I, Beath OA. Selenium: geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition. *Acad Press New York.* 1964;

Rosero OR, McDowell LR, Conrad JH, Ellis GL, Martin FG. Nutritional factors affecting mineral status and long term carry over effects in sheep. *Tropical Animal Production*. 1984; 9(4):285-291(abstract)

Rosiles M, Garcia RM. Informe de un caso de miositis en ovinos asociados con deficiencias de cobre. *Vet Mex*. 1987; 18(2):133-134

Rosiles MR, Cordoba VC, Romero MJ. Interrelación de las concentraciones de elementos minerales en suelo, planta y ovinos de Parres. *VI Congreso Latinoamericano de Buiatria Mexico*. 1987; 741-745

Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Selenium: biochemical role as a compound of glutathione peroxidase. *Science*. 1973; 179:588-590

Saez de Ocariz C, Lavín S. Deficiencia de cobre en ganado ovino. *Ovis*. 1993; 26:39-49

Sager RL, Hamar DW, Gould DH. Clinical and biochemical alterations in calves with nutritionally induced polioencephalomalacia. *Am J Vet Res*. 1990; 51(12):1964-1969

Sahagian BM, Barlow IH, Perry MH Jr. Transmural movements of zinc, manganese, cadmium and mercury by rats small intestine. *J Nutr*. 1967; 93:291-300

Salih Y, McDowell L:R, Hentges JF, Mason RM, Wilcox CJ. Mineral contents of milk, colostrum, and serum as affected by physiological state and mineral supplementation. *J Dairy Sci*. 1987; 70(3):608-612

Sandholm M, Atroshi F, Sankari S. Genetical variation of erythrocyte glutathione peroxidase in finnsheep. *Abstracts XII World Vet Congress Perth Aust* . 1983; 652-659

Sankari S. Plasma glutathione peroxidase and tissue selenium response to selenium supplementation. *Acta Vet Scand*. 1985; 81:1-127

Sansom BF, Gibbons RA, Dixon SN, Russell AM, Symonds HW. Nuclear Techniques in animal production and health. *IAEA Vienna*. 1976;

Savey M. Sélénium et cuivre: nouvelles méthodes d'apport. *Point Vet*. 1985; 0,726388

Sawadogo G, Sagui-Sannes P, Burgat V. Note sur les effets de l'âge et du sexe sur les concentrations plasmatiques de cuivre, zinc et magnésium chez les zèbus Gobra. *Rev Vet Med*. 1988; 139(3):311-313

Scott ML, Thompson JN. Selenium content of feedstuffs and effects of dietary selenium levels upon time selenium in chicks and poults. *Poultry Sci*. 1971; 50:1742-1748

Scrutton MC, Utter MF, Mildvan AS. Pyruvate carboxylase. *J Biol Chem*. 1966; 241:3480-3487

Scholz RW, Hutchinson LJ. Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows. *Am J Vet Res*. 1979; 40:245-249

Selze JC. Le zinc dans l'alimentation animale. *Tesis Ecole Nat Vet Alfort.* 1971;

Shamoo AE. Manganese in metabolism and enzyme function. *Academic Press Orlando Florida.* 1986;

Sharma V, Prasad T. Erythrocyte superoxide dismutase activity in goats fed on different levels of dietary available copper. *Indian J Anim Sci.* 1985; 55(11):967-970

Shrift A. Aspects of selenium metabolism in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol.* 1969; 20:475-494

Siddons RC, Mills CF. Glutathione peroxidase activity and erythrocyte stability in calves differing in selenium and vitamin E status. *Br J Nutr.* 1981; 46:345-355

Smart ME, Christensen DA. The effect of cow's copper intake, sire breed, age on her copper status and that on her fetus in the first ninety days of gestation. *Can J Comp Med.* 1985; 49:156-158

Smart ME, Gudmundson J, Christensen DA. Trace mineral deficiencies in cattle: a review. *Can Vet J.* 1981; 22:372-376

Smith BP, Coup MR. Hypocuprosis: a clinical investigation of dairy herds in Northland. *NZ Vet J.* 1973; 21(12):252-258

Snedecor GW, Cochran W. Métodos estadísticos. *Continental 1ª 2 Reimp.* 1974;

Soli NE. Chronic copper poisoning in sheep. *Nord Vet, Med.* 1980; 30(2):75-89

Soli NE, Nafstad I. Chronic copper poisoning in sheep Structural changes in erythrocytes and organs. *Acta Vet Scand.* 1976; 17:316-327

Solomons NW, Cousins RJ. Absorption and malaabsorption of mineral nutrients. *Alan R Liss C373 New York.* 1984;

Somboro G. Estudio de oligoelementos en la insuficiencia renal crónica. *Tesis Univ de León.* 1995; 213 pag.

Sonja E, Hicks AJ, Wallwork J. Effect of dietary zinc deficiency on protein synthesis in cell-free systems isolated from rat liver. *Am Institute of Nutri.* 1987; 1234-1240

Spais AG, Papasteriadis AA. Zinc deficiency in cattle under greek conditions. *En: Hoekstra WG, Suttie JW, Ganther HE, Mertz W (eds) Trace element metabolism in animals Baltimore Univ Park Press.* :1974; 628-631

Spears JW . Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *J Anim Sci.* 1989; 67(3):835-843

Stabel JR, Reinhart TA, Nonnecke BJ. Effect of selenium and reducing agents on in vitro immunoglobulin M synthesis by bovine lymphocytes. *J Dairy Sci.* 1991; 74(8):2501-2506

- Stevens JB, Olson WG, Kraemer R, Archambeau J.** Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentration. *Am J Vet Res.* 1985; 46:1556-1560
- Stöber M.** Enfermedades metabólicas y carenciales. *En: Rosenberger G, Dirksen G, Gründer HD, Stöber M. Enfermedades de los bovinos Edit Hemisferio Sur Buenos Aires.* 1983;
- Stoszek MJ, Mik PG, Oldfield SE, Wernig PH.** Influence of copper supplementation on blood and liver copper in cattle fed tall fescue or quack grass. *J Anim Sci.* 1986; 62(1):263-271(abstract)
- Stowe HD, Herdt H.** Clinical assessment of selenium status of livestock. *J Anim Sci.* 1992; 70:3928-3933
- Suttle NF.** Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet Rec.* 1986; 16:148-152
- Suttle NF.** Copper poisoning in ruminants. *News Sheet.* 1995; 2(7):1-6
- Suttle NF, Angus KW.** Effects of experimental copper deficiency on the skeleton of the calf. *J Comp Path.* 1978; 88(1):137-148
- Suttle NF, McMurray CH.** Use of erythrocyte copper: zinc superoxide dismutase activity and hair or fleece copper concentrations in the diagnosis of hypocuprosis in ruminants. *Res Vet Sci.* 1983; 35(1):47-52
- Sviatko P, Hiscàková M.** Content of manganese in biological materials of dairy cows. *Vet Med Czech.* 1993; 38(9):539-546
- Symonds HW, Mather DL, Vagg MJ.** The excretion of selenium in bile and urine of steers: the influence of farm and amount of Se salt. *Br J Nutr.* 1981; 46:487-493
- Tarazona JV, Muñoz MJ, Ortiz JA.** Intoxicación crónica por zinc en ganado ovino. *Zootecnia.* 1984; 33:122-128
- Tesink J.** Onderzoek naar de relatie Bodem-Plant-Dier in Zeeland. *Tijdschr Diergeneesk.* 1960; 18:1131-1158
- Thevenet G.** Diagnostic visual des carences: quelques éléments de méthodologie. *CR Acad Agric Fr.* 1990; 76(2):147-150
- Thompson PPH.** Assessment of zinc status. *Proc Nutr Soc.* 1991; 50:19-28
- Todd JR.** A survey of the copper status of cattle using copper oxidase (caeruloplasmin) activity of blood serum. *En: Mills CF, eds Trace element metabolism in animals Edimburg.* 1970;
- Toledo LRA de, Perry TW.** Distribution of supplemental selenium in the serum, hair, colostrum and fetus of parturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 1985; 68:3249-3254

Turner JC, Osborn PJ, McVeagh SM. Studies on selenate and selenite absorption by sheep using eversted method and an isolated vascularly perfused system. *Comp Bioch.* 1990; 95:297-301

Ullrey PS, Brady PA, Whetter PK, Magee WT. Selenium supplementation of diets for sheep and beef cattle. *J Anim Sci.* 1977; 46:559-565

Underwood EJ. Trace elements in human and animal nutrition. 4ª edición *Academic Press New York.* 1977;

Underwood EJ. Los minerales en la alimentacion del ganado. *Acribia Zaragoza 2ª edición.* 1983;

US EPA. Health effects assesment for selenium (and compounds) . *US Environmental Protection Agency Washington DC.* 1984;

Vaillancourt JJ, Allen JC. Elevation of zinc concentration in milk and calostrum by glicocorticoids. *J Dairy Sci.* 1990; 73(1):153

Valle BL, Wacker WEC. The proteins. *H Neurath, eds, vol 5, Academic Press New York.* 1976;

Van Fleet JF. Current knowledge of selenium-vitamin E deficiency of domestic animals. *J Am Vet Assoc.* 1980; 176:321-325

Van Ryssen JB, Miller WJ, Gentry RP, Neathery MW. Effect of added dietary cobalt on metabolism and distribution of radioactive selenium and stable minerals . *J Dairy Sci.* 1987; 70:639-644

Verde MT, Sanz MC, Ramos JJ, Fernandez A, Marca MC, Saez T. Selenium and glutathione peroxidase correlation in different blood samples in sheep. *J Appl Anim Res.* 1995; 8:21-27

Verheijden JHM, Schotman ASH, Van Miert ASJ, van Duin CTM. Zinc concentrations in skimmed milk and whole milk samples from healthy and mastitic cows. *Am J Vet Res.* 1983; 44(9):1637-1640

Viejo RE. Intoxicación por cobre en ovino. *Arch Med Vet.* 1991; 23(2):109-121

Ward G. Molibdenum toxicity and hypocuprosis in ruminants: a review. *J Anim Sci.* 1978; 46(4):1078-1085

Watkinson JH. Prevention of selenium deficiency in grazing animals by annual top dressing of pasture with sodium selenate:. *NZ Vet J.* 1983; 31:78-85

Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, Hoblet KM. Relantionship among selenium, vitE and mammary gland health in commercial dairy herds. *J Dairy Sci.* 1990; 73:381-390

West DW. Structure and function of the phosphorilated residues of casein. *J Dairy Sci.* 1986; 53(2):333-352

Whanger PD, Sang-Hwan OH, Deagen JF. Ovine and bovine metallothioneins: Accumulation and depletion of zinc in various tissues. *J Nutr.* 1981; 111:1196-1206

White CL, Martin GB, Hynd PI, Chapman RE. The effect of zinc deficiency on wool growth and skin and wool follicle histology of males Merino lambs. *Br J Nutr.* 1994; 71:425-435

White FD, Neathery MW, Gentry RP, Miller WJ, Logner KR, Blackmon DM. The effect of different levels of dietary lead on zinc metabolism in dairy calves. *J Dairy Sci.* 1985; 68(5):1215-1225

Whitelaw A. Copper deficiency in cattle and sheep. *In practice.* 1985; 98-100

Whitelaw A, Armstrong RH, Evans CC, Fawcett AR. An investigation into copper deficiency in young lambs on an improved hill pasture. *Vet Rec.* 1971; 101:229-230

Wiener G, Hall JG, Hayter S. Relationship between haemoglobin type and copper concentrations in sheep of different breeds. *Anim Prod.* 1974; 19:291-299

Wiercinski J, Ciolek J. Concentration d'éléments dans le poil comme l'indice de l'approvisionnement des vaches laitières en constituants minéraux Mg et Cu. *Rev Med Vet.* 1988; 139(11):1015-1021

Wiercinski J, Ciolek J. Concentration d'éléments dans le poil comme l'indice de l'approvisionnement des vaches laitières en constituants minéraux Fe, Mn et Zn. *1990; 141(8):677-684*

Wiesner E. Oligo-éléments. *En Wamberg KEncyclopédie Vétérinaire vol 3 Paris.* 1968; 1758-1774

Wilson JG. Bovine functional infertility in Devon and Cornwell: response to manganese therapy. *Vet Rec.* 1966; 9:562-566

Wittwer F, Contreras P, Böhwald H, Aurique R, Fuchslocher R. Concentraciones de zinc y cobre en forrages y suero sanguíneo de 40 predios lecheros de la X Región Chile. *Arch Med Vet.* 1988; 20(2):118-125

Wolter R. Intoxication par le cuivre. *Rev Med Vet.* 1975; 126(2):317

Xin Z, Waterman DF, Hemken RW, Harmon RJ. Copper status and requirements during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. *J Dairy Sci.* 1993; 76(9):2711-2716

Zachara BA, Labedzka H, Trafikowskka U, Sosnowski A, Borowska K, Kaptur M. Seasonal changes of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in sheep and cows milk. *6th International Trace Element Symposium Leipzig.* 1989; 3:1005-1012

Zahrai M, Etmiwani A. Etude du cuivre et la céruloplasmine chez les ovins de race iranienne. *Rev Med Vet.* 1986; 137(2):355-357

Zerras G, Telfer SB, Al-Tekrity A, Jones D. Prevention of trace elements deficiencies in grazing ruminants. *I sheep Deltion tes Ellenikes Kteniatrikes Etaireas.* 1987; 38(4):258-263

Zhang P, Duhamel GE, Mysore JV, Carlson M, Schneider NR. Prophylactic effect of dietary zinc in a laboratory mouse model of swine dysentery. *Am J Vet Res.* 1995; 56(3):334-339

Zust J, Breda Hrovatin. Assessment and prevention of selenium and vitamin E deficits in dairy herds. *Proc XVIII Cong Buiatria Bologna.* 1994; 657-660