



UNIVERSIDAD DE LEÓN
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA. MEDICINA VETERINARIA

**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LA SUBCARENCIA
DE COBRE Y CINC EN GANADO BOVINO DE
LA MONTAÑA LEONESA**

**Memoria que para optar al grado de
Doctor en Veterinaria presenta:
D^a MARÍA DE LOS ANGELES RÍOS GRANJA**

León, Enero, 1996.

La abajo firmante Inmaculada Diez Prieto, Profesora Titular de Patología Animal,

CERTIFICA: Que el trabajo de Tesis Doctoral titulado "Contribución al Estudio de la Subcarencia de Cobre y Cinc en Ganado Bovino de la Montaña Leonesa", presentado por la licenciada en Veterinaria D^a María de los Angeles Ríos Granja, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne, a nuestro entender, las condiciones legales precisas para optar al título de Doctor en Veterinaria.

Y para que conste a los efectos oportunos, signamos el presente en León a catorce de diciembre de mil novecientos noventa y cinco.

Fdo: Prof. Dra. I. Diez Prieto

Este trabajo ha sido posible gracias al
Convenio Diputación-Universidad de
León, del cual la autora ha sido Becaria

Esta Tesis Doctoral ha sido posible gracias a la participación, en aspectos diversos, de muchas personas, algunas de las cuales son citadas expresamente a continuación mientras que otras, a las que también debemos gratitud, deben quedar englobadas en un agradecimiento general, no individualizado. En todo caso, nuestro más sincero agradecimiento a todos ellos.

A la directora de esta Tesis Doctoral Dña. Inmaculada Diez Prieto, Profesora Titular del Departamento de Patología Animal: Medicina Veterinaria, por su constante ayuda y orientación recibidos durante la realización de la misma.

Al Prof. D. Paulino García Partida, Catedrático de Patología Animal, por el apoyo y buenos consejos que nos ha prodigado durante el período de ejecución de nuestra Tesis Doctoral.

Al Prof. D. Felipe Prieto Montaña, Director del Departamento de Patología Animal: Medicina Veterinaria, por haber contribuido a solventar en todo momento aquellas dudas o cuestiones que le consultamos y en las que su información nos ha resultado de gran utilidad.

A D. Carlos César Pérez García, Profesor Titular del Departamento de Patología Animal: Medicina Veterinaria, por la ayuda desinteresada y asesoramiento continuo en diversos aspectos durante todo este tiempo.

A D. Santiago Meléndez Rodríguez, Veterinario Oficial de la Junta de Castilla y León, por su ayuda en la localización de animales y en la recogida de las muestras.

A D. José Fernández Revuelta, Investigador Científico del C.S.I.C., y a D. José Alberto Riol Alvarez, Profesor Titular del Departamento de Producción Animal II, por su colaboración en el estudio estadístico y en el manejo del programa informático para realizarlo.

A los ganaderos que amablemente nos han permitido utilizar los animales para nuestro estudio y se han puesto a nuestra disposición en todo momento.

A todos los demás miembros del Departamento de Patología Animal: Medicina Veterinaria, tanto profesores como becarios o personal de laboratorio (algunos que aún continúan en el Departamento y otros que, por diversos motivos, no forman parte de él en la actualidad) pues sin su ayuda y colaboración, cada uno participando en la medida de sus posibilidades, no hubiera sido posible llevar a término esta Tesis.

Finalmente, a mi familia y amigos por su incondicional apoyo y especialmente a Gonzalo por soportar los estados de humor cambiantes durante la realización de este Trabajo,

a todos **¡gracias!**

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	13
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	19
I. Cobre.....	19
I.1 Metabolismo.....	19
I.1.A. Absorción.....	19
I.1.A.1. Lugar de absorción	19
I.1.A.2. Mecanismo de absorción	20
I.1.A.3. Factores que varían la absorción.....	20
I.1.B. Transporte	21
I.1.C. Excreción	22
I.2. Concentración de cobre en tejidos y líquidos biológicos.....	23
I.2.A. Distribución en el organismo	23
I.2.B. Hígado.....	24
I.2.B.1 Factores que afectan a la concentración de cobre en el hígado	24
I.2.C. Sangre.....	26
I.2.C.1. Factores de variación	27
I.2.D. Pelo	32
I.2.D.1. Factores que afectan a la concentración de cobre en el pelo	33
I.2.E. Leche	34
I.2.E.1. Factores de variación	34
I.2.F. Otros órganos.....	35
I.3. Bioquímica del cobre	36
I.3.A. Proteínas que contienen cobre.....	36
I.3.A.1. Ceruloplasmina.....	36
I.3.A.2. Superóxido dismutasa.....	38
I.3.A.3. Metalotioneína	38
I.3.A.4. Citocromo oxidasa.....	39
I.3.A.5. Polifenil oxidasa. Tirosinasa.....	40
I.3.A.6. Amino oxidasas	40

I.4. Factores alimentarios que influyen sobre la utilización digestiva y metabólica del cobre.....	40
I.4.A. Interrelación cobre-elementos minerales.....	40
I.4.B. Influencia de otros factores.....	45
I.5. Necesidades de cobre.....	46
I.5.A. Límite de toxicidad.....	47
I.6. Estudio clínico de la carencia de cobre en bovinos.....	48
I.6.A. Síntomas.....	48
I.6.A.1 Alteraciones del pelo y de la piel.....	48
I.6.A.2. Alteraciones de la reproducción.....	49
I.6.A.3. Alteración del apetito y del peso.....	50
I.6.A.4. Alteraciones óseas.....	51
I.6.A.5. Reducción de la resistencia a infecciones.....	52
I.6.A.6. Diarrea.....	53
I.6.A.7. Trastornos musculares.....	53
I.6.A.8. Disminución de la producción de leche.....	53
I.6.A.9. Alteraciones cardiovasculares.....	54
I.6.A.10. Anemia.....	54
I.6.A.11. Ataxia enzoótica.....	55
I.6.B. Lesiones.....	55
I.6.B.1. Lesiones óseas.....	55
I.6.B.2. Lesiones cardíacas.....	55
I.6.B.3. Alteraciones del sistema nervioso.....	56
I.6.B.4. Otras alteraciones.....	56
I.7. Diagnóstico de la carencia de cobre.....	57
I.7.A. Diagnóstico clínico.....	57
I.7.B. Diagnóstico analítico.....	57
I.7.B.1. Análisis de suelo.....	58
I.7.B.2. Análisis del alimento.....	58
I.7.B.3. Análisis de sangre.....	58
I.7.B.4. Concentración de cobre en los tejidos.....	59
I.7.B.5. Actividad enzimática.....	60
I.7.C. Diagnóstico Terapéutico.....	61
I.8. Profilaxis de la carencia de cobre.....	61
I.8.A. Actuación sobre el animal.....	62
I.8.B. Actuación sobre el suelo y las plantas.....	62
I.9. Toxicidad por cobre.....	66
II. Cinc	69
II.1. Metabolismo.....	69
II.1. A. Absorción.....	69
II.1.A.1. Lugar de absorción.....	69
II.1.A.2. Mecanismo de absorción.....	69
II.1.A.3. Factores fisiológicos que afectan a la absorción.....	70
II.1.A.4. Factores nutricionales que modifican la absorción.....	71
II.1. B. Transporte y distribución.....	72
II.1. C. Excreción.....	73

II.2. Concentraciones de cinc en tejidos y líquidos biológicos.....	74
II.2.A. Distribución en el organismo	74
II.2.B. Sangre.....	75
II.2.B.1. Factores de variación	76
II.2.C. Pelo	80
II.2.C.1. Factores que afectan a la concentración de cinc en el pelo	80
II.2.D. Leche	81
II.2.D.1. Factores de variación	82
II.2.E. Hígado.....	83
II.2.F. Otros órganos.....	84
II.3. Papel metabólico del cinc.....	86
II.3.A. Metabolismo proteico	86
II.3.B. Actividad enzimática.....	86
II.3.B.1. Fosfatasa alcalina.....	86
II.3.B.2. Anhidrasa carbónica	87
II.3.B.3. Metalotioneína	88
II.3.B.4. Colagenasa.....	89
II.3.C. Protección de membranas	89
II.4. Factores alimentarios que influyen sobre la utilización digestiva y metabólica del cinc	89
II.4.A. Interrelación cinc-elementos minerales	89
II.4.B. Interrelación cinc-vitaminas.....	91
II.5. Necesidades de cinc en los rumiantes.....	92
II.5.A. Límite de toxicidad	93
II.6. Estudio clínico de la carencia de cinc en bovinos.....	93
II.6.A. Síntomas.....	93
II.6.A.1. Alteraciones de la piel y del pelo	95
II.6.A.2. Efecto sobre la reproducción.....	96
II.6.A.3. Efecto sobre la ingestión de alimento.....	97
II.6.A.4. Efecto sobre el esqueleto.....	98
II.6.A.5. Efecto sobre el sistema inmune	98
II.6.B. Lesiones	98
II.6.B.1. Alteraciones de la piel	98
II.6.B.2. Alteraciones del esqueleto	100
II.6.B.3. Otras alteraciones.....	100
II.7. Diagnóstico de la carencia de cinc.....	101
II.7.A. Diagnóstico clínico	101
II.7.B. Diagnóstico analítico.....	101
II.7.B.1. Análisis del alimento	101
II.7.B.2. Análisis de sangre.....	102
II.7.B.3. Concentración en tejidos.....	102
II.7.B.4. Actividad enzimática	102
II.7.C. Diagnóstico terapéutico	103
II.8. Profilaxis de la carencia de cinc.....	103
II.8.A. Actuación sobre el animal.....	104
II.8.B. Actuación sobre el suelo	105
II.9. Toxicidad por cinc.....	105

III. Contenido de cobre y cinc en algunos alimentos para los rumiantes.....	107
Material y Métodos	111
I. Protocolo experimental	111
II. Toma de muestras	112
II.1. Plasma.....	112
II.2. Leche.....	113
II.3. Pelo	114
II.4. Heces	114
II.5. Alimento.....	114
II.6. Metodología Analítica.....	114
II.6.A. Instrumentación	114
II.6.B. Análisis bioquímico	115
II.6.C. Análisis de metales.....	116
II.6.C.1. Ataque de alimento, heces y pelo.....	116
II.6.C.2. Preparación del plasma sanguíneo y leche.....	117
II.6.C.3. Determinación de Cu y Zn.....	117
III. Estudio estadístico	117
Resultados	119
Tablas de resultados y gráficas.....	127
Discusión.....	193
Conclusiones.....	211
Resumen	213
Résumé	215
Summary	217
Bibliografía.....	219

INTRODUCCIÓN

La productividad del ganado bovino se ve mermada por múltiples factores entre los que juegan un papel muy importante las alteraciones nutricionales de origen mineral.

Aún cuando son más aparatosas, no sólo deben ser objeto de atención las carencias graves (que determinan la aparición de cuadros clínicos), sino también las deficiencias subclínicas que, afectando a un mayor número de animales, pueden originar grandes pérdidas económicas (a veces difíciles de cuantificar) como consecuencia de tasas productivas y reproductivas más bajas de los rebaños bovinos (Carcagno et al, 1988b). En todo caso, se hace necesario un diagnóstico precoz de estas deficiencias.

La importancia de los oligoelementos en la nutrición animal se conoce hace muchos años, sin embargo, la relación entre el nivel de estos metales en la dieta y el desarrollo de signos clínicos de deficiencia o exceso todavía no está clara, debido a la interacción con otros constituyentes de la misma (Bremner, 1990).

El cobre y el cinc juegan un papel importante en la bioquímica orgánica del ganado bovino, aunque se encuentren en niveles bajos en los tejidos, ya que para mantener normal el estado de salud y productividad deben oscilar en un rango de concentración orgánica bastante estrecho.

El consumo de alimentos carentes en cobre o en cinc, la presencia de factores que interfieren su absorción o metabolismo, así como los desordenes genéticos del metabolismo de oligoelementos, ocasionan variaciones en las concentraciones orgánicas de los mismos, produciendo trastornos bioquímicos que modifican la productividad de los animales, disminuyendo su crecimiento, su índice de conversión del alimento o su fertilidad (Kirchgessner et al, 1983; Wittwer et al, 1988).

El cinc actúa como integrante de cofactores de diversos sistemas enzimáticos, entre los que destacan: anhidrasa carbónica, fosfatasa alcalina, carboxipeptidasas, polimerasas del ADN y ARN, etc, desempeñando así funciones vitales para el organismo (Selze,

1971; Wittwer et al, 1988). El cobre también interviene principalmente como cofactor enzimático (ceruloplasmina, citocromo-oxidasa, lisil-oxidasa, polifenil-oxidasa) (Riffard, 1989a). Asimismo el cobre y el cinc pueden formar parte eventualmente de hormonas y vitaminas (Paulais, 1978), provocando la deficiencia de uno o ambos alteraciones del metabolismo (Wiesner, 1968).

La deficiencia de estos oligoelementos en rumiantes se presenta fundamentalmente en animales en pastoreo, siendo rara cuando consumen concentrados (Ammerman, 1970), que son normalmente ricos en estos minerales y previenen la posibilidad de que aparezca el problema (Roberts, 1976). En todo caso, bajo condiciones comunes de suplementación el cinc es el oligoelemento más susceptible de ser deficiente (Adams, 1974).

Tanto en el caso del cobre como en el del cinc son raras las carencias graves, mientras que son más frecuentes las subcarencias, en las que los síntomas son más o menos atenuados e incluso los más específicos pueden no llegar a aparecer (Lamand, 1987; Favier, 1990), de modo que, a menudo, no se reconocen fácilmente (MacPherson, 1990).

En rumiantes jóvenes la carencia de cobre se produce de forma primaria y se caracteriza por retraso del crecimiento, cojera, diarrea, desmielinización del sistema nervioso central en recién nacidos y anemia en las últimas etapas de la deficiencia. En cuanto al cinc la manifestación más característica de la deficiencia es la paraqueratosis acompañada de alopecia (Blood et al, 1992) y alteraciones de su sistema de defensa inmunológico con reducción clara del número de linfocitos en los animales carentes respecto a los testigo (García Partida et al, 1985a) así como fuerte involución del sistema linfático en aves en crecimiento (García Partida et al, 1991).

A pesar de que este tipo de carencias ha sido descrito en numerosos lugares, especialmente en zonas tropicales y subtropicales, su distribución es mundial.

Estudios realizados en Iberoamérica, han permitido concluir no sólo que las deficiencias minerales son uno de los principales factores limitantes de la producción ganadera en ciertos países como Argentina (Carcagno et al, 1988b) sino que también han puesto de manifiesto que prácticamente todas las muestras de mezclas minerales administradas a los animales aportaban menos del 50% de las necesidades de algunos oligoelementos como el cobre y el cinc (Ellis et al, 1988).

En África se han obtenido datos de gran relevancia, a partir de lugares tan diversos como Zaire, donde se considera que las carencias de minerales constituyen un elemento decisivo en los bajos resultados productivos del ganado (Mandiki et al, 1986), Etiopía o Malí.

De 54 puntos muestreados en Etiopía 28 eran carentes en cobre (contenido de cobre en pasto inferior a 5 ppm) y 9 subcarentes (contenido de cobre en pasto entre 5-7 ppm), mientras que para el cinc los puntos con carencia grave eran 28 (contenido inferior a 30 ppm) y los subcarentes 17 (contenido en cinc entre 30-45 ppm) (Faye et al, 1986).

Estudios de este tipo realizados en Malí, permitieron comprobar que, de 22 muestras analizadas de arbustos que se utilizaban para la alimentación del ganado, sólo 10 (en el caso del cobre) y sólo 3 (en el caso del cinc) presentaban un contenido adecuado para atender a las necesidades del ganado en estos elementos (Diagayété y Schenkel, 1986).

También en Turquía se ha citado que las deficiencias de minerales limitan de manera decisiva la producción animal (Göksoy et al, 1986). En Indonesia se ha podido incluso ordenar jerárquicamente los oligoelementos en función de la frecuencia de aparición de las deficiencias, estableciendo que el cinc es el elemento más frecuentemente deficiente, seguido por el cobre (Darmono et al, 1988).

Las deficiencias más comunes y que más pérdidas económicas originan en Australia están representadas por selenio, cobre y cobalto (Judson et al, 1987), mientras que la deficiencia de cinc parece estar restringida a estados del oeste de Australia (Langlands, 1987).

Por lo que se refiere a los datos europeos, aparecen algunas diferencias entre países a la hora de valorar la relevancia de las deficiencias en oligoelementos.

En el norte, las deficiencias de cobre, cobalto, yodo y selenio son las más frecuentes en ganado en pastoreo, mientras que la deficiencia de cinc está menos extendida y se relaciona con alimento de poca calidad (Price, 1989).

En Hungría, el 24% del ganado vacuno es deficiente en cobre y el 11% en cinc (Mocsenyi et al, 1988).

En Francia el 95% de los pastos tienen un contenido en cinc inferior al límite de carencia (de los cuales el 28% son suficientemente pobres para originar una deficiencia severa), mientras que el 44% de los henos son carentes en cobre (Lamand, 1991).

No existen en España estudios minuciosos de carencias de oligoelementos, aunque se sabe que las provincias de León, Palencia, Valladolid (Tierra de Campos), Zamora y Salamanca son carentes en selenio (García Partida et al, 1983) y además, hay zonas en la provincia de León en las que los animales presentan manifestaciones clínicas de carencia de cobre, fundamentalmente en ganado bovino (Lavín, 1986).

En ovino también se llevaron a cabo estudios de este tipo en la provincia de Zaragoza, destacando estos investigadores la necesidad de suplementar los animales con cinc, debido a las bajas concentraciones del elemento encontrado en su plasma, con un 27,7% de los rebaños estudiados que presentaban una concentración plasmática de cinc inferior a 60 $\mu\text{g/dl}$ (Ramos et al, 1994), lo que se relacionaría con bajo aporte del elemento en la dieta, ya que se mantenían en régimen de explotación extensivo, aprovechando pastos y subproductos agrícolas y únicamente en algunos casos disponían de bloques minerales para lamer (Ramos et al, 1995). Asimismo, se ha puesto de manifiesto la situación marginal en cuanto a los niveles de cobre en plantas, aunque no se han identificado casos clínicos de carencia en el ganado ovino (Ramos et al, 1993a).

Hace años, en la provincia de León, Calleja Suárez (1976) estudió el contenido mineral en plantas de prados permanentes encontrando niveles de cobre entre 2,94-10,09 ppm mientras que los de cinc oscilaban entre 9,07-27,06 ppm. En ambos casos los valores son notablemente inferiores a los recomendables.

Más recientemente se han llevado a cabo este tipo de estudios en la provincia de Salamanca, en la que se analizaron pastizales de dehesa, obteniendo una concentración media de cobre, también baja, de 3,96 ppm MS (materia seca) (García Ciudad et al, 1983).

Pero no es suficiente conocer las concentraciones de oligoelementos en función de las áreas geográficas, ya que el contenido varía con el tipo de alimento (o planta) y con el estado vegetativo de la misma, lo que repercute sobre los valores plasmáticos de los oligoelementos, permitiendo comprobar variaciones según la época anual.

La existencia de estas variaciones estacionales se ha puesto de manifiesto, aunque sin llegar a establecer criterios unánimes, en estudios llevados a cabo en el pasto. Así, en ocasiones se ha visto que el contenido de cobre era inferior en otoño e invierno, alcanzando un valor máximo en los meses de mayo y junio con un brusco descenso en julio (García Ciudad et al, 1983), mientras que en otros casos este elemento era superior en septiembre que en junio (Farmer et al, 1982).

De acuerdo con los datos de García Ciudad et al (1983), se podría explicar la desaparición de signos como la despigmentación del pelo, que presentaban los animales en primavera, después de pasado un período de tiempo de la salida al pasto (Lavín González et al, 1986a).

En cambio, los hallazgos de Mee (1991), quien observa decoloración del pelo en verano en el 20% de las vacas, recuperándolo en noviembre sin suplementación de cobre sólo pueden ser explicados aceptando los resultados de Farmer et al (1982).

De manera similar a lo que acontece en relación con el contenido de oligoelementos de la planta según la época del año, en los estudios dirigidos a conocer las oscilaciones anuales tanto de la cupremia como de la cincemia también aparecen discrepancias en la literatura. Así, se ha comprobado en algunos casos que la concentración de cobre en plasma era máxima en otoño y disminuía en invierno para alcanzar un mínimo en primavera (Bellanger y Roth, 1968; Wiener y Field, 1974; Dupeux y Michel, 1978; Blood et al, 1992), justificándolo por el mejor manejo de los animales en otoño e invierno y el aporte de mayor cantidad de alimento (Ghosal y Mathur, 1992). En otros casos parece ser que la cupremia se eleva cuando los animales salen al pasto, ya que durante el período de estabulación las proteínas solubles del ensilado de hierba reducen la cantidad de cobre disponible, lo que se agrava por el incremento de la demanda fisiológica de cobre durante la gestación (Ho et al, 1980). Finalmente, algunos autores señalan que la concentración de cobre en suero se mantiene estable durante todo el año (Wiercinski y Ciolek, 1988).

En esta misma línea, Ghosal y Mathur (1984) describen un incremento de la concentración de cinc en suero durante el otoño e invierno respecto a la primavera y el verano, con el argumento de un mayor aporte del elemento durante las dos primeras estaciones.

La falta de unanimidad se extiende también a los valores en el pelo. Así, en unos casos se relata mayor concentración de cobre en las muestras recogidas en agosto, respecto a las obtenidas en marzo (O'Mary et al, 1969), debido a la mayor concentración de cobre en el pasto que en el ensilado de cebada que recibían durante la estabulación (Hidioglou y Spurr, 1975). En otros casos se describe menor concentración de cobre en el pelo durante los meses de junio y julio, tras 1-2 meses de salir al pasto, momento en el que la cantidad de cobre presente en la hierba era muy baja (Wiercinski y Ciolek, 1988). Para concluir, también hay autores que han citado que los animales presentaban niveles similares durante todo el año (Hall et al, 1971).

En el caso del cinc, se ha encontrado menor nivel en el pelo durante el invierno, con incremento del mismo tras la salida de los animales al pasto (Hidioglou y Spurr, 1975).

Todos estos datos no hacen sino justificar la importancia de conocer adecuadamente la zona donde se asientan los animales y el manejo que reciben, para interpretar de manera apropiada los valores clínicos y de laboratorio que se obtienen.

Partiendo de explotaciones situadas en la Comarca Agraria "Montaña de Luna", en la que nosotros hemos encontrado casos aislados de subcarencia de cobre (Ríos Granja et al, 1994), con este trabajo hemos pretendido:

- a) Conocer el contenido de cobre y cinc del alimento del ganado vacuno, valorando si contiene cantidades suficientes para cubrir sus necesidades o si, por el contrario, se trata de una situación de subcarencia.
- b) Conocer las variaciones estacionales del contenido de dichos oligoelementos en la dieta de los animales.
- c) Valorar la evolución de la concentración de cobre y cinc en diversas muestras animales a lo largo del año.
- d) Valorar la necesidad o no de suplementar con alguno de los oligoelementos, y en el caso de ser necesario, el momento adecuado de la suplementación.

Se trata de una experiencia de campo, que se enmarca dentro de los estudios que sobre carencias de oligoelementos en distintas especies animales se vienen realizando en nuestro Departamento desde hace más de una década (Alonso de Vega, 1984; Lavín González, 1986; Rejas López, 1990; Somboro, 1995).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I. Cobre

I.1. METABOLISMO

I.1.A. Absorción

I.1.A.1. Lugar de absorción

En ganado vacuno el cobre se absorbe principalmente en la parte media del intestino delgado (Ivan y Grieve, 1976; McDowell et al, 1993), mientras que en ovino una cantidad importante del elemento se absorbe en el intestino grueso (Underwood, 1977a; Gooneratne et al, 1989; Keen y Graham, 1989).

En rumiantes, parte del cobre ingerido que llega al rumen forma compuestos insolubles y precipitables que lo vuelven inutilizable para su posterior absorción. El resto continúa por el tracto digestivo siendo una parte absorbida y otra excretada (Viejo, 1991). La cantidad de cobre absorbida a nivel intestinal se cifra en menos del 30% en vacuno (Smart et al, 1981) y entre 1-3% según Hidiroglou et al (1990) y McDowell et al, (1993), aunque los animales jóvenes absorben cobre de forma más eficaz que los adultos (Hidiroglou et al, 1990), factor que puede explicar la relación entre la edad y las necesidades de cobre de los animales (Haque et al, 1993).

En rata la mayor parte de la absorción tiene lugar en el estómago, seguido del duodeno (Campen y Mitchell, 1965).

I.1.A.2. Mecanismo de absorción

El cobre se absorbe por dos mecanismos, transporte activo y transporte pasivo, predominando el primero cuando el contenido de cobre en la dieta es bajo o adecuado y el segundo cuando la concentración del elemento es alta (Keen y Graham, 1989; Hidiroglou et al, 1990). En el transporte activo intervienen aminoácidos, principalmente la histidina y en ocasiones una proteína de membrana, la metalotioneína (Riffard, 1989a), que es una proteína de bajo peso molecular (6,500), rica en cisteína, con alta afinidad por metales divalentes (8-10 g átomo/mol) cuya síntesis está regulada, en parte, por los niveles de cobre en las células de la mucosa intestinal (Keen y Graham, 1989); esta enzima interviene en el mantenimiento de la homeostasis del cobre, de tal forma que se ha comprobado que niveles altos de la misma reducían la absorción del cobre (Miller et al, 1993). Después, una proteína de estructura mal definida interviene en el paso del cobre a través de la membrana de las células intestinales (Riffard, 1989a), aunque existen otras proteínas de bajo peso molecular, capaces de unirse al cobre que intervienen en su absorción y son diferentes de la metalotioneína propiamente dicha (Auza, 1983; Oregui y Bravo, 1993b).

I.1.A.3. Factores que varían la absorción

La forma química del cobre en la dieta afecta a la absorción del mismo de manera significativa, de tal modo que en forma de hidróxido, glutamato, citrato, carbonato, nitrato y sulfato es fácilmente absorbido mientras que en forma de sulfuro, óxido, cloruro, cobre metálico y complejos de cobre insolubles en agua, se absorben en menor proporción (Keen y Graham, 1989; Hidiroglou et al, 1990; Oregui y Bravo, 1993b).

Aunque los carbonatos y los nitratos son los que se absorben en mayor proporción, también presentan mayor excreción fecal y urinaria, por lo que su retención es baja, sin embargo, los sulfatos, con una absorción media, presentan mayor retención debido a sus bajos niveles de excreción (Oregui y Bravo, 1993b).

En un estudio *in vitro* en rumiantes Ward y Spears (1993) han demostrado que el cobre unido a la lisina y el sulfato de cobre constituyen fuentes similares de cobre en cuanto a la solubilidad y posibilidad de absorción del elemento, sin embargo, Nockels et al (1993) verificaron en terneros un mayor porcentaje de absorción de cobre (53%) en el primer caso que en el segundo, debido a que el cobre en forma de complejos monoméricos se absorbe mejor que los diméricos.

Varios elementos químicos como el cadmio, mercurio, plata, cinc o hierro interactúan con el cobre, impidiendo su absorción al competir por los lugares de unión dentro de sistemas metabólicos específicos (Underwood, 1977a; Quiroga, 1982; Oregui y Bravo,

1993b), pero son el molibdeno y el azufre los principales antagonistas de la absorción de cobre en rumiantes (Bremner et al, 1987; Oregui y Bravo, 1993b).

Otro factor que interviene en la absorción es el pH, de manera que un pH elevado la disminuye (Laurent, 1985; Riffard, 1989a), lo que está de acuerdo con el hallazgo de Bang et al (1990), quienes demostraron que la infestación por nematodos en corderos interfería con la absorción intestinal de cobre, debido al incremento del pH en abomaso y duodeno.

La absorción de cobre varía con la composición de la dieta, es mayor en dietas a base de concentrados que en aquellas en las que predomina el forraje; este hecho se explica por el efecto que sobre el pH ruminal y duodenal tienen estos alimentos, disminuyéndolo los concentrados, lo cual favorece la solubilidad del cobre y su absorción, e incrementándolo los forrajes. 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, consecuencia del metabolismo de los aminoácidos azufrados, que afecta negativamente a la absorción de cobre (Oregui y Bravo, 1993b).

En cuanto a la diferencia interespecífica se ha visto que la absorción de oligoelementos en especies rumiantes era inferior que en monogástricos, así, se cita una absorción de cobre en corderos lactantes del 70%, cuando su aparato digestivo funciona como en los monogástricos, mientras que se reduce al 10% en los animales destetados, ya que el tránsito del alimento por el rumen reduce la biodisponibilidad del cobre en esta especie (Cappa, 1986).

Wiener et al (1978) encontraron una diferencia en la respuesta a la suplementación con cobre en dos razas ovinas (Scottish Blackface y Welsh Mountain), lo que atribuyeron a la distinta eficacia en la absorción del elemento entre las mismas.

I.1.B. Transporte

Una vez absorbido el cobre, es transportado al hígado y otros tejidos por la albúmina (Underwood, 1977a; Quiroga, 1982; Gooneratne et al, 1989), aunque parece ser que existe otra proteína transportadora de cobre, con mayor afinidad por éste que la albúmina, llamada transcupreína. La albúmina actuaría como reserva circulante de cobre, liberándolo en los hepatocitos por la transcupreína (Kirchgessner, 1988).

En el hígado se realizan varios procesos importantes en el metabolismo del mineral (Quiroga, 1982; Bremner, 1987):

- Depósito temporal del cobre.

- Incorporación a la ceruloplasmina.

- Preparación para su excreción en la bilis.

Además de su incorporación a la ceruloplasmina, el cobre puede encontrarse en el hígado unido a otras cuproenzimas: citocromo oxidasa, superóxido dismutasa y metalotioneína (Bremner, 1987).

El elemento objeto de estudio está repartido en el plasma y en los eritrocitos; en estos últimos una parte de cobre se encuentra en forma movilizable (40%) ligado a aminoácidos y otra parte en forma no movilizable (activa) (60%), en la cual el cobre juega un papel de coenzima de la superóxido dismutasa (Evans, 1973). En el plasma, el cobre nunca se encuentra libre, existiendo bajo dos formas:

1.- El cobre no recambiable (ceruloplasmina), que representa entre el 90-95% del cobre plasmático. La ceruloplasmina es una enzima sintetizada por el hígado, juega un papel de oxidasa y es fundamental en la hematopoyesis. Esta fracción es soluble en ácido tricloroacético.

2.- El cobre recambiable es una simple forma de transporte ligada 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 de cobre entre la sangre y los tejidos, en los que ejerce una función metabólica (Smart et al, 1981; Riffard, 1989a; Oregui y Bravo, 1993b).

I.1.C. Excreción

La bilis es la vía más importante de eliminación de cobre (8-10% del cobre captado por el hígado), mediante la unión del elemento a aminoácidos y ácidos biliares (Roberts, 1976; Underwood, 1977a; Auza, 1983; Oregui y Bravo, 1993b), siendo menor en animales que reciben una dieta baja en cobre y mayor cuando la ración es rica en este elemento, en molibdeno y en azufre (Gooneratne et al, 1994); estos mismos autores han constatado diferencias raciales en cuanto a la concentración y excreción biliar de cobre, así, en la raza Simmental estos dos parámetros eran dos veces superiores que en la raza Angus.

Como consecuencia de la excreción vía biliar se origina una circulación enterohepática, en la cual radica la regulación homeostática del cobre, ya que los niveles del mismo en intestino afectan a la absorción intestinal y a los niveles de cobre hepático (Oregui y Bravo, 1993b). Parece ser que los niveles de cobre en los tejidos se regulan parcialmente mediante excreción biliar (Church et al, 1974).

El cobre fecal procede del eliminado por la bilis, de la descamación celular del intestino y del de origen alimentario (Oregui y Bravo, 1993).

La eliminación de cobre por la leche varía según el estado de lactación y la concentración media en bovino varía entre 0,1 a 0,2 mg/l, con un nivel de 0,2-0,6 mg/l al comienzo de la lactación y 0,04-0,16 mg/l al final de la misma (Auza, 1983).

La cantidad de cobre eliminada por orina es muy baja, representando únicamente el 2% del total absorbido (Roberts, 1976; Kirchgessner y Schwarz, 1982; Auza, 1983); una pequeña fracción del cobre eliminado por esta vía puede provenir de la disociación de complejos cobre-albúmina (Evans, 1973). Esta excreción disminuye durante el estrés en terneros, debido al incremento de la síntesis de metalotioneína en el riñón (Nockels et al, 1993), pues se ha visto que los glucocorticoides estimulan la síntesis de esta enzima en riñón de ratones (Hager y Palmiter, 1981).

I.2. CONCENTRACIÓN DE COBRE EN TEJIDOS Y LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

I.2.A. Distribución en el organismo

La distribución de cobre total en los tejidos varía con la especie y con la edad. Así, los animales jóvenes y recién nacidos de muchas especies son normalmente más ricos en cobre por unidad de peso que los animales adultos de la misma especie.

Se pueden diferenciar los órganos según el contenido de cobre en: a) órganos con bajo contenido (pituitaria, tiroides, timo, próstata, ovarios y testículos) (Underwood, 1977a; NRC, 1984; Rosiles y García, 1987; Keen y Graham, 1989; Riffard, 1989a; Rejas López, 1990; Miller et al, 1993), b) órganos con una concentración intermedia (páncreas, piel, músculo, bazo y hueso) y c) órganos con un nivel relativamente alto (hígado, riñones, corazón, pelo y cerebro) (Underwood, 1977a; Keen y Graham, 1989; Riffard, 1989a; Miller et al, 1993).

Los tejidos difieren en la susceptibilidad a las variaciones de los niveles 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).

I.2.B. Hígado

El hígado es el principal órgano de almacenamiento de cobre (Bellanger y Roth, 1968; Richet, 1972a; Quiroga, 1982; Woolliams et al, 1985; Rosiles y García, 1987), pero no existe acuerdo sobre cuál es el valor normal de cobre en este órgano; así, mientras algunos autores refieren intervalos entre 46-62 ppm MS en ganado bovino (Bellanger y Roth, 1968), otros señalan como normal un valor en torno a 100 mg/kg MS (Wiesner, 1968; Blood et al, 1986; Gay et al, 1988), e incluso niveles de 427 ppm MS (Hellesnes et al, 1975); sin embargo, Roberts (1976) considera como valores normales entre 50-150 ppm MS en vacuno adulto y 200-300 ppm MS en animales jóvenes y valores por debajo de 30 ppm MS serían indicativos de deficiencia, mientras que en ovejas Alonso de Vega et al (1987) citan un nivel medio de cobre en este órgano de $37,2 \pm 8,5$ ppm.

La distribución de este oligoelemento en el parénquima hepático no es uniforme, el lóbulo caudal es más rico que el dorsal (Hogan et al, 1971; Bingley y Duffty, 1972), variando también entre zonas dentro de un mismo lóbulo. En el hígado de oveja cuando la concentración de cobre es baja, la mayor cantidad del mismo se acumula en la zona centrolobulillar y cuando aumenta la carga de cobre hepático, se incrementa la cantidad de éste en hepatocitos más alejados de la zona central (Kumaratilake y Howell, 1987b). Muchas de las diferencias en la distribución del cobre hepático se pueden explicar por los cambios en la concentración de hepatocupreína presente en el hígado (Bremner y Marshall, 1974a; Bremner y Marshall, 1974b).

En 1972 Bingley y Anderson comprobaron, en ganado vacuno, que cuando la concentración de cobre en hígado era baja, un porcentaje importante del mismo se localizaba en las mitocondrias, mientras que con un contenido elevado de cobre en este órgano, aproximadamente dos tercios del total se encontraba en orgánulos diferentes al núcleo y las mitocondrias; años más tarde Jenkins (1989) estudió la distribución del cobre a nivel celular en hígado de terneros, de tal modo que los animales que recibían una dieta control (10 ppm) tenían mayor concentración de este elemento en el núcleo, mientras que aquellos alimentados con dietas que contenían altas concentraciones de cobre (1000 ppm) presentaban marcado incremento del cobre hepático en el núcleo y citosol.

I.2.B.1. Factores que afectan a la concentración de cobre en el hígado

La edad es una fuente importante de variación de los niveles de cobre (Wiener et al, 1974). En muchas especies, incluido el hombre, la concentración de cobre en el hígado es más elevada en el recién nacido que en el adulto (Wiesner, 1968; Underwood, 1977a; Tarazona et al, 1984; Keen y Graham, 1989). Las ovejas y las cabras

constituyen la excepción (Underwood, 1977a; Saylor y Leach, 1980; Keen y Graham, 1989), sin embargo Soli y Froslic (1979) no han encontrado diferencias en la concentración de cobre en hígado de cabras entre animales jóvenes y adultos.

Smart y Christensen (1985) verificaron en vacas de raza Simmental de dos, tres y cuatro años una concentración de cobre en hígado significativamente inferior a la de los animales viejos, relacionando el efecto de la edad con el incremento de la demanda de cobre durante el crecimiento y la gestación. Estos resultados coinciden con los obtenidos unos años antes por Froslic et al (1980), siendo el nivel medio de cobre en hígado de los animales jóvenes de 30 ± 18 ppm MH (materia húmeda) y en los de más de tres años de edad 59 ± 27 ppm MH. También en cerdos parece incrementar esta concentración con la edad (Froslic y Norheim, 1977).

En feto de ciervo se ha comprobado que tras una caída significativa de la concentración de cobre en el hígado alrededor de los 110 días de gestación, ésta se elevaba hasta alcanzar un máximo de 974 ± 379 $\mu\text{g/g}$ MS en el momento del nacimiento. El primer mes tras el mismo, la concentración se reducía a 328 ± 163 $\mu\text{g/g}$ MS, con una disminución progresiva hasta alcanzar los valores de los individuos adultos, aproximadamente cuatro meses tras el nacimiento (Leighton et al, 1990).

La dieta también repercute notablemente sobre el contenido de cobre hepático (Judson et al, 1984a), el cual se incrementa al elevarse los niveles del elemento en la misma (Amer et al, 1973; Saylor y Leach 1980; Judson et al, 1984a; Spears y Hatfield, 1985; Stoszek et al, 1986; Woolliams, 1986; Suttle, 1987; Xin et al, 1993) y disminuye cuando los animales reciben una dieta deficiente en este elemento (Sager et al, 1990). Este almacenamiento se puede reducir significativamente por un incremento de molibdeno en la dieta (Bingley y Anderson, 1972; Underwood, 1977a; Ryssen et al, 1986) e igualmente está influido por los niveles de cinc, cadmio, hierro y carbonato cálcico (Underwood, 1977a), así como por la administración intravenosa de tetratiomolibdato en ovejas, posiblemente debido a la formación de complejos insolubles en ácido tricloroacético, captando las células hepáticas menos cobre de la sangre, que acompañado de una eliminación de cobre normal por la bilis resulta en una pérdida neta de cobre por las células (Kumaratilake y Howell, 1987a).

El sulfato de cobre y el cloruro de cobre producen un aumento igual de la concentración de cobre en hígado de corderos y bovinos (Ivan et al, 1990b), sin embargo, Xin et al (1991b) realizaron un experimento en el que administraron a un grupo de terneros con edades comprendidas entre 4 y 11 días, sulfato de cobre y a otro grupo óxido de cobre, encontrando un incremento de la concentración hepática del mismo en el primer caso, mientras que el óxido de cobre no producía modificaciones del elemento en este órgano respecto a animales que no eran suplementados,

explicando este hecho en base a la edad de los animales, los cuales podrían actuar como monogástricos en términos de absorción y digestión de nutrientes. Sin embargo, Judson et al (1984b), sí encontraron aumento del cobre hepático al suplementar con partículas de óxido de cobre ovejas de 18-20 meses.

Asimismo, este almacenamiento hepático es afectado por el tipo de partículas de forma que, el aumento de las reservas de cobre hepático es mayor cuando se administran partículas de tamaño uniforme respecto a las de tamaño variable (Judson et al, 1984a); estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Suttle (1987) quien no encontró diferencia en la acumulación de cobre en el hígado al variar la forma de las partículas.

En cuanto a la diferencia entre especies se ha verificado un nivel superior de cobre en el hígado de ovejas respecto al de cabras (Soli y Frosliie, 1979) y en el de ovejas respecto al de ratas (Corbett et al, 1978).

También se han apreciado variaciones notables en función de la raza (Underwood, 1977a). En relación con este factor Woolliams et al (1983) han descrito una diferencia en la respuesta del hígado ovino a la administración de una dieta que contenía 4 mg Cu/kg MS, produciéndose mayor disminución en la raza Scottish Blackface que en la Welsh Mountain; estos autores señalan también la existencia de diferencias raciales en cuanto a la absorción y pérdida endógena de cobre.

En ciertos estados patológicos los niveles de cobre hepático experimentan importantes variaciones, así en ratas se ha demostrado disminución de la concentración de cobre en hígado en caso de infección aguda y crónica debido al incremento de la síntesis y secreción de ceruloplasmina por este órgano (Underwood, 1977a). También se reduce en caso de parasitismo intestinal debido a una reducción de la solubilidad del cobre como consecuencia del incremento del pH ocasionado por los nematodos (Poppi et al, 1990).

Durante la gestación aumenta la concentración de cobre en hígado fetal bovino y lógicamente disminuye en el de la madre (Gooneratne y Christensen, 1989; Gooneratne et al, 1989; Xin et al, 1993).

I.2.C. Sangre

Según Underwood (1977a) y Keen y Graham (1989) la concentración normal de cobre en sangre de rumiantes oscila entre 0,5-1,5 $\mu\text{g/ml}$, con alta proporción de valores comprendidos entre 0,8-1,2 $\mu\text{g/ml}$ y varía entre 0,7-1,5 ppm según Smart et al (1981) y entre 0,7-1,3 $\mu\text{g/ml}$ según Lamand et al (1986), mientras que Blood et al (1992) estiman como nivel normal de cobre en plasma de ganado bovino $1,26 \pm 0,31 \mu\text{g/ml}$.

Blood et al (1986) consideran hipocupremia subclínica valores inferiores a 0,8 ppm otros como Faye y Grillet (1984) y Tanner et al (1988) sitúan el límite de carencia en 0,6 ppm en suero, McDowell et al (1993) en 0,65 µg/ml y Gay et al (1988) lo establecen entre 0,4-0,7 ppm. Aunque estos niveles pueden caer por debajo de 3 µmol/l antes del riesgo de disfunción y pérdida de producción en ovejas y ganado vacuno (Suttle, 1986b).

I.2.C.1. Factores de variación

La edad influye en la concentración plasmática de cobre en muchas especies, como se puede constatar en los resultados obtenidos por varios investigadores, así Hidiroglou et al (1970) en ganado vacuno de carne han verificado una caída de los niveles de cobre en plasma desde la semana de edad hasta el destete, también Friot y Calvet (1973) encuentran en esta especie niveles superiores en animales jóvenes que en adultos. Igualmente en cebúes de 6-9 meses Sawadogo et al (1988) citan una cupremia superior que en animales de más edad. Los corderos recién nacidos tienen niveles de cobre en suero inferiores a los de animales adultos, aunque los niveles del adulto se alcanzan en los tres días siguientes al nacimiento (McCosker, 1968). Rico et al (1976) no encontraron diferencias en los valores de cobre plasmático entre corderos de 1,5 meses y los de 3 meses, siendo el valor medio de 1,3 ppm.

Cymbaluk et al (1986) estudiaron en potros la influencia de este factor, observando que los animales recién nacidos eran hipocuprémicos no alcanzando los valores del individuo adulto hasta los once días de edad, presentando al año de vida una concentración de cobre en plasma cinco veces superior respecto al momento del nacimiento; Santamarina et al (1994b) indican mayor concentración de cobre en suero de animales de un año respecto a animales de más edad.

Los cerdos tardan 2-4 semanas desde el nacimiento en alcanzar los valores normales en plasma (Okonkuo et al, 1979).

La concentración de cobre en suero en perros Beagle aumenta con la edad hasta los cinco años y medio y luego disminuye (Keen et al, 1981a); sin embargo, en gatos la concentración plasmática de este elemento no varía con la edad (Broek et al, 1992).

No existe acuerdo entre diferentes investigadores respecto a la influencia de la concentración de cobre en la dieta sobre el nivel de este elemento en la sangre. Algunos autores como Rosiles et al (1987) encontraron niveles de cobre en suero proporcionales a los hallados en el alimento, al igual que Underwood (1977a), Quiroga (1983) y Jones (1984) que relacionaron un nivel bajo de cobre en la dieta con una disminución de la concentración del elemento en sangre. Aunque en ocasiones el nivel de cobre en la dieta es alto, se pueden manifestar deficiencias por interferencia en la

absorción de este elemento con otros oligoelementos (Blood et al, 1992), principalmente con el molibdeno (McFarlane et al, 1990).

Lamand et al (1969), Gleed et al (1983) e Hidiroglou (1989) obtuvieron un aumento del cobre plasmático al suplementar la dieta con este elemento en vacuno y Woolliams et al (1986) y Kawamura y Hamada (1985) en corderos y ratas respectivamente.

Los cambios en la concentración de cobre en suero sanguíneo de vaca en respuesta a la suplementación con este elemento dependen de los niveles del mismo en suero el día que se comienza a suplementar, así, animales con menor concentración de cobre en suero en ese momento, manifiestan una respuesta más marcada que animales con mayor concentración (Boila et al, 1984a). Por otra parte el incremento del nivel de cobre en la dieta de 10 a 50 ppm MS en rata, no provoca variación del cobre plasmático, mientras que un nivel de 100 ppm MS dobla la concentración del cobre plasmático en esta especie (Underwood, 1977a).

Sin embargo algunos autores no han observado cambios en la concentración de cobre en el suero en ovejas (Judson et al, 1984b) y vacas (Wiercinski y Ciolek, 1988) que recibían sales de cobre en la dieta, explicándose esta falta de correlación entre los niveles de cobre en suero y en la dieta por la capacidad de los animales para ajustar su balance mineral mediante mecanismos homeostáticos, reduciendo la excreción fecal, incrementando la absorción intestinal o movilizándolo sus reservas (Wittwer et al, 1988).

Clegg et al (1983) señalan que los niveles de cobre en sangre de ganado vacuno son menores en animales en pastoreo respecto a los que permanecen estabulados, asimismo, Osman (1984) en un estudio realizado en ovejas verifica una concentración de cobre más baja en animales a los que se les administra una dieta poco nutritiva, que en los que se alimentan con una ración altamente nutritiva, señalando que puede ser un efecto directo del bajo nivel de alimento ingerido.

Lamand (1971) estudió la variación plasmática de cobre en diferentes razas bovinas encontrando los siguientes valores, expresados en $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$:

Charolesa	66-121
Saler	74-109
Aubrae	93-109

En esta misma especie Gooneratne et al (1994) relatan valores más altos de cobre plasmático en la raza Angus ($1,27 \pm 0,12 \text{ mg/l}$) respecto a la Simmental ($1,14 \pm 0,16 \text{ mg/l}$) y Fidalgo et al (1988) dan un nivel medio de $1,14 \text{ ppm}$ en suero de raza Frisona.

Wiener y Field (1974) y Wiener et al (1976) han puesto de manifiesto diferencias marcadas en el nivel de cobre plasmático entre distintas razas ovinas, atribuyéndolas a la frecuencia en distintas razas de los alelos Hb (hemoglobina) A y Hb B, siendo los niveles de cobre en sangre significativamente superiores para ovejas con Hb tipo B que con tipo A, mientras que animales con Hb tipo AB presentaban una concentración intermedia (Wiener et al, 1974). En esta misma línea se encuentran los trabajos de Hayter et al (1973), que verificaron valores superiores del elemento en estudio en la raza Merina que en la Finish Landrace, relacionándose estas diferencias con distinta frecuencia de genes asociados con la cantidad de cobre en sangre (Wiener et al, 1969), cuya existencia se ha demostrado mediante selección (Blood et al, 1992). En la raza ovina Gallega, Castillo (1993) cita un valor medio de $0,990 \pm 0,190$ ppm de cobre sérico.

En cabras sin embargo, la concentración de cobre en suero se comporta de forma uniforme en distintos grupos raciales, oscilando las medias entre $1,10 \pm 0,02$ (raza Pirenaica) y $1,45 \pm 0,03$ (raza Murciano-Granadina) (Fernández del Palacio, 1987).

La influencia de este factor se ha puesto de manifiesto también en équidos, pues se han verificado niveles de cobre en plasma en el momento del nacimiento de 1,5 veces superior en potros de razas de tiro que en otras razas estándar (Cymbaluk et al, 1986).

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 11 días tras el mismo siendo inversamente proporcional al nivel de producción de leche (Kappel et al, 1984).

Otros investigadores observan disminución significativa de los valores séricos de cobre en las vacas 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 (Bellanger y Roth, 1968; Roberts, 1976; Underwood, 1977a; Ghergariu et al, 1984; Lavín González et al, 1987; Wittwer et al, 1988). Estos resultados están de acuerdo con los hallazgos de Vinokurov (1983) en los cuales se demostraba que la actividad de la ceruloplasmina era superior en el quinto mes de gestación que en el noveno.

Los resultados obtenidos por Lavín González et al (1987) muestran que los niveles máximos de cobre en suero se alcanzan a los 30-90 días post-parto en aquellos animales que no presentan celo, sin embargo, Benedito et al (1993) refieren niveles superiores en suero de diversas razas pertenecientes a la Agrupación Racial Morenas del Noroeste (Cachena, Frieiresa, Limiana y Vianesa) durante la gestación respecto al período de lactación, mientras que en la raza Caldelana se observa el efecto contrario.

Wiener et al (1970) encuentran en ovejas que paren dos corderos una concentración plasmática de cobre inferior a la de aquellas que paren uno, debido al incremento de la demanda de cobre por la gestación y lactación, mientras que Hayter et al (1973) y McSporryan y Lorentz (1977) no encuentran diferencias en la cupremia entre ovejas preñadas y no preñadas.

Cymbaluk et al (1986), en yeguas, observaron que las diferencias en la concentración plasmática de cobre entre una semana y un mes tras el parto se podían asociar con variaciones hormonales, causadas por un estrógeno que inducía la síntesis de ceruloplasmina. Auer et al (1988) no han hallado diferencias significativas en la concentración de cobre plasmático entre yeguas preñadas y las que no lo estaban.

No parece haber acuerdo sobre el papel de la estación en la concentración de cobre plasmático. Según algunos investigadores la influencia de la estación es altamente significativa, con un contenido de cobre en plasma máximo en otoño que baja en invierno hasta alcanzar un mínimo en primavera (Bellanger y Roth, 1968; Wiener y Field, 1974; Dupeux y Michel, 1978; Blood et al, 1992). Estas variaciones no parecen ser debidas a efectos del clima pudiéndose atribuir, por una parte, a la gestación y por otra, a la disminución del aporte de cobre a partir de la salida al pasto (Bellanger y Roth, 1968; Bingley y Anderson, 1972; Kappel et al, 1984), así como a un mejor manejo de los animales durante el otoño e invierno y a una mayor disponibilidad de alimento durante estas estaciones (Ghosal y Mathur, 1992).

Ho et al (1980) comprobaron, en un grupo de vacas gestantes no suplementadas con cobre que este elemento disminuía en plasma sanguíneo durante el invierno; el grupo de vacas no gestantes y no suplementadas mantenía la cupremia normal durante todo este período, justificando esta hipocupremia en el primer grupo por la importante demanda fisiológica de cobre debida a la gestación. Al comenzar a salir al pasto todos los animales presentaban elevación de la tasa sanguínea de cobre, siendo normal para los dos grupos al final de la estación de pastoreo. Roberts (1976) atribuye la elevación de la cupremia en primavera a la asociación del consumo de plantas jóvenes ricas en cobre (el forraje contenía 6,1 mg Cu/kg MS), al posible aporte suplementario del elemento y a la elevación de la eficacia de absorción del mismo durante la lactación. Sawadogo et al (1988) relatan en cebúes una cupremia superior en primavera que en invierno.

En vacuno, Davies et al (1974) y Boila et al (1984b) encontraron una mayor incidencia de hipocupremia entre los meses de septiembre y noviembre, atribuyéndola a un bajo contenido de cobre en el pasto.

Bain et al (1986) refieren una variación mensual significativa en la concentración de cobre en suero de vacas, con máximos en marzo, abril y junio y mínimos en mayo y

octubre, siendo la lluvia el único factor climatológico que tenía influencia en la concentración de cobre. La correlación inversa entre estos factores se explica porque el cobre forma complejos de solubilidad variable con compuestos orgánicos del suelo, lo que puede estar afectado por la cantidad de agua en éste. En otros casos no se han encontrado diferencias estacionales en la concentración de cobre en suero de vacas (Wierzinski y Ciolek, 1988).

Auer et al, (1988) atribuyen las variaciones de los niveles plasmáticos de cobre en yeguas en los distintos meses a cambios estacionales en los pastos.

La cupremia se puede ver afectada por determinados tipos de enfermedades, tanto en animales como en personas. La hipocupremia se ha asociado con muchas infecciones agudas (Underwood, 1977a) y crónicas (Gerald y Fischer, 1977; Underwood, 1977a).

Así, se ha verificado un incremento de la cupremia en ganado vacuno en diferentes enfermedades como en paratuberculosis, debido a un incremento de la síntesis de ARN en el hígado y consecuentemente de ceruloplasmina (Embury y Lepper, 1984), en terneros con IBR, atribuyéndolo al estrés que sufrían estos animales (Orr, 1990).

En ovejas con infección e inflamación aguda y crónica (Lamand y Levieux, 1981; Masi et al 1987) se ha verificado un incremento de la cupremia, mientras que se han encontrado niveles de cobre en suero inferiores a los normales en corderos afectados por la enfermedad de Border, ya que en estos animales el cobre no se distribuye normalmente entre los tejidos de los animales afectados por esta enfermedad, con un contenido en la médula espinal tres veces superior con respecto a los animales sanos (Patterson et al, 1974). También en ovejas que parían corderos con ataxia se han relatado valores de cobre en suero inferiores a los normales ($0,28 \pm 0,5$ ppm) (Göksoy et al, 1986).

Asimismo, se ha encontrado un incremento del nivel de cobre en sangre en caso de inflamación aguda en caballo (Auer et al, 1989), en pacientes humanos con cáncer (Sullivan et al, 1979) y con insuficiencia renal crónica (Tsukamoto et al, 1980); en relación con este último proceso no se ha encontrado aumento significativo en perros de raza Beagle a los que se le había provocado experimentalmente una insuficiencia renal crónica mediante la administración de un aminoglucósido (Somboro, 1995).

El sexo en la mayoría de las especies no influye sobre la concentración de cobre en el plasma, pues se ha visto que ésta era similares en machos y hembras (Underwood, 1977a; Broek et al, 1992); sin embargo en perros, se han encontrado diferencias estadísticamente significativas, con valores superiores en los machos que en las hembras (Gerald y Fischer, 1977).

También en el Poni Gallego se citan cantidades superiores en los machos respecto a las hembras, relacionándolo con la lactación durante la realización del muestreo (Santamarina et al, 1994b).

Se ha visto que el contenido de cobre en suero era un 14% inferior que el del plasma, debido a la captación de la ceruloplasmina por el coágulo de fibrina y que el factor V de la coagulación es una cuproproteína necesaria para la formación de este coágulo (Kinkaid et al, 1986b; Paynter 1982).

La administración de compuestos de cobre tanto vía subcutánea (Whitelaw et al, 1979) como intramuscular (Lamand, 1978a), se manifiesta por un incremento de los niveles del mismo en el plasma de estos animales. Según Boila et al (1984a) la respuesta a la inyección de compuestos de cobre depende de la concentración de este elemento en el suero en el momento en que se inicia el tratamiento; se obtuvo mayor incremento de la concentración de cobre en suero de bovinos que tenían 0,61 $\mu\text{g/ml}$ el día de la administración, mientras que los animales que tenían un nivel entre 0,61-0,70 $\mu\text{g/ml}$ no manifestaron una respuesta uniforme, produciéndose un gran incremento de cobre en suero en unos casos mientras que en otros no cambiaba o presentaba una ligera disminución.

I.2.D. 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).

El nivel medio de cobre es de $9,5 \pm 0,3$ ppm MS en ganado bovino (Bellanger y Roth, 1968; Riffard, 1989a), oscilando los valores normales entre 6,6-10,0 ppm MS según Stöber (1983) y Blood et al (1986), margen en el que se encuentran los valores medios obtenidos en ganado vacuno por Hidioglou y Spurr (1975), Lavín González (1986) y Fidalgo et al (1988) que los sitúan en 8 ppm MS, $7,58 \pm 0,4$ ppm MS y 8,83 ppm MS, respectivamente. Wiesner (1968) considera la concentración de cobre en pelo normal cuando ésta se encuentra comprendida entre 8-15 ppm MS, mientras que Anke (1967) sitúa el límite de carencia el pelo de ganado vacuno en 7 ppm MS, Lamand (1970) entre 7-8 $\mu\text{g/g}$ MS según y Gay et al (1988) en 5 mg/kg MS.

También se ha determinado la concentración de cobre en pelo en otras especies, como por ejemplo en gatos (Broek et al, 1992), búfalos (Randhawa et al, 1994) y perros (Somboro, 1995), en los que se han encontrado valores medios de 0,4 $\mu\text{mol/g}$, $12,31 \pm 1,42$ ppm MS y 11,5 ppm MS, respectivamente.

En plumas de pollo Rejas López (1990) ha encontrado un valor de 124,22 nmol/g MS.

I.2.D.1. Factores que afectan a la concentración de cobre en el pelo

La edad es uno de los factores que influyen en la composición mineral del pelo, así, en el caso del ganado vacuno, los animales jóvenes presentan niveles de cobre superiores al adulto (O'Mary et al 1969; Combs, 1982).

No existe acuerdo acerca de la influencia del contenido de cobre en la dieta sobre el nivel de este elemento en el pelo. Algunos investigadores han demostrado la influencia del contenido de cobre en la dieta, asegurando que la disminución de la concentración de este elemento en el pelo recién crecido es testimonio de la disminución de la concentración de este oligoelemento en los alimentos o que este elemento es menos asimilable (Miller et al, 1965c; O'Mary et al, 1970; Hidiroglou y Spurr, 1975; Wiercinski y Ciolek, 1988). Lavín González et al (1986b), en ganado vacuno de raza Pardo Alpina, encontraron una disminución de la concentración de cobre en el pelo a medida que éste se reducía en la dieta. Otros investigadores no han observado esta relación en vacas (Combs, 1982) ni en visón (Hornshaw, 1985).

La estación no parece tener un efecto muy claro sobre el contenido de cobre en el pelo. Investigadores como O'Mary et al (1969) encontraron variaciones estacionales de este parámetro con valores superiores en verano; igualmente Hidiroglou y Spurr (1975) obtuvieron mayores concentraciones de cobre en pelo en la época de pastoreo (8 ppm) que durante el período de estabulación (3-5 ppm), debido a la existencia de una mayor cantidad de cobre en el pasto que en el ensilado de cebada con el que se alimentaron los animales durante el invierno. Estos resultados no están de acuerdo con los obtenidos por Wierzinski y Ciolek (1988) según los cuales, la concentración más baja de cobre en pelo apareció en junio y julio, tras uno o dos meses de la salida al pasto. En otros casos los niveles de cobre en pelo de ganado vacuno se mantuvieron similares en todas las épocas del año (5,42-7,55 ppm) (Hall et al, 1971).

Lavín González et al (1987) pusieron de manifiesto una reducción de la concentración de cobre en 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).

Wiesner (1968) señala que en un mismo individuo el pelo pigmentado contiene mayor concentración de cobre que el menos pigmentado, aunque O'Mary et al (1969) defienden que el color no parece tener influencia sobre el contenido de cobre en el pelo, pues han comprobado en ganado bovino de raza Angus que, en el mes de agosto, el pelo blanco contenía más cobre que el pelo rojo, lo que no ocurría en el mes de marzo.

Hidiroglou y Spurr (1975) estudiaron la influencia de la temperatura sobre la concentración de cobre en el pelo, para lo cual utilizaron dos grupos de bueyes de raza Shorthorn, uno en condiciones de estabulación durante el invierno y el otro permaneciendo en el exterior durante el mismo período, no encontrando diferencias significativas entre ambos. Estos resultados coinciden con los encontrados años más tarde por Keen et al (1981a) en perros de raza Beagle.

I.2.E. Leche

En cuanto a la distribución del cobre en la leche de vaca se conoce que el 2% está asociado con la fracción grasa, el 8% se encuentra unido a proteínas del suero lácteo, el 44% a la caseína y el 47% a un compuesto de bajo peso molecular (Flynn, 1992).

El contenido de cobre en la leche varía con la especie y el momento de lactación (Murthy et al, 1972; Underwood, 1977a; De María, 1978). La leche de ratas es excepcionalmente rica en este elemento (Keen et al, 1981b).

Los niveles medios de cobre obtenidos por diferentes autores en leche de vaca son muy diferentes, así mientras García Olmedo et al (1980) y Phillips et al (1982) encuentran los valores más bajos (0,040 y 0,041 mg/l respectivamente), Thomas (1983) refiere cifras de 0,065 mg/l, hasta llegar a Flynn (1992) quien señala los valores más elevados (0,090 mg/l). Similar disparidad aparece en los autores que han estudiado los márgenes normales como Wiesner (1968) para quien oscilan entre 0,150 y 1,400 mg/l, Murthy et al (1972) que señalan valores entre 0,044 y 0,190 mg/l o Blood et al (1992) quienes citan un intervalo entre 0,05 y 0,20 mg/l.

En cabras sucede algo similar pues Akinsoyinu et al (1979) señalan valores medios de 0,280 mg/l, mientras que García Olmedo (1980) no encuentra más que 0,030 mg/l.

Lyford y Huber (1993) citan en leche de oveja una concentración media de cobre de 0,01 mg/100 g.

I.2.E.1. Factores de variación

En vacas los niveles de cobre disminuyen a lo largo de la lactación (Ammerman, 1970; Salih et al, 1987). Underwood (1977a) describe en ovejas una reducción desde 0,2-0,6 ppm al inicio de la lactación hasta 0,04-0,16 ppm varios meses más tarde y en esta misma especie De María (1978) refiere una caída de la concentración de cobre del 50% durante los tres primeros días de lactación.

En todas las especies el calostro es substancialmente más rico en cobre que la leche (Ammerman, 1970; Underwood, 1977a; Keen et al, 1981b; Salih et al, 1987) con niveles de 3,14 mg/l en cabra (Akinsoyinu et al, 1979).

La leche de vacas y ovejas que se alimentan de pastos deficientes en cobre presenta unos niveles del elemento inferiores a los normales, sin embargo, si se añade cobre a una dieta ya adecuada en este elemento tiene poco efecto sobre el cobre contenido en la leche de estas especies (Uunderwood, 1977a).

En un estudio realizado por King et al (1959) se ha visto que la mayoría del cobre radiactivo (^{64}Cu) administrado vía intravenosa se asociaba con proteínas de la leche, mientras que el no radiactivo que ingerían con la dieta se encontraba en la superficie del glóbulo graso.

I.2.F. Otros órganos

En todas las especies estudiadas la mayor concentración de cobre en el ojo se ha encontrado en el iris y coroides seguidos por el humor vítreo, humor acuoso, retina, nervio óptico, córnea, esclerótica y cristalino (Underwood, 1977a).

En cabras se ha encontrado una concentración media de cobre en el riñón de 14 ppm MS, mientras que en cerebro y médula espinal es de 11 y 6 ppm MS respectivamente (Ivan et al, 1990a).

En hueso de rata Kirchgessner y Schwarz (1982) encuentran valores de 10 ± 3 ppm MS.

Fidalgo Alvarez et al (1988) estudiaron la concentración de cobre en el cotiledón de vacas que presentaban retención placentaria (6,85 ppm), comparándola con hembras normales (4,69 ppm) y encontrando diferencias altamente significativas lo que sugiere que a nivel de la placenta la concentración de cobre puede considerarse un factor importante en el proceso de secundinización.

Farmer et al (1982) obtuvieron valores de 55 mg/kg MS de cobre en heces de ganado vacuno suplementado con cobre en el agua de bebida. Lavín (1986), para esta misma especie, cita una media de $14,05 \pm 0,16$ ppm MS, mientras que Grace et al (1994) encuentran un valor medio de 18 ppm MS en alpacas.

Alonso de Vega et al (1987) refieren las siguientes concentraciones de cobre en distintos órganos en ovejas, expresadas 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 $14,8 \pm 0,4$.

Rejas López (1990) determinó valores de cobre en diferentes órganos de pollos, como fueron bazo [17,71 nmol/g MF (materia fresca)], bolsa de Fabricio (25,71 nmol/g MF), buche (19,34 nmol/g MF), corazón (58,73 nmol/g MF), músculo (30,20 nmol/g MF), páncreas (23,70 nmol/g MF), molleja (16,49 nmol/g MF), proventrículo (41,79 nmol/g MF), riñón (43,21 nmol/g MF) y timo (14,23 nmol/g MF).

I.3. BIOQUÍMICA DEL COBRE

Los oligoelementos son constituyentes indispensables de enzimas que aseguran el funcionamiento metabólico de un ser vivo, de tal modo que, una carencia se traduce en una ralentización de estas vías metabólicas (Sauvant y Lautier, 1975; Smith et al, 1975b; Miller et al, 1993) que afectan a la producción del ganado (Gooneratne et al, 1989).

I.3.A. Proteínas que contienen cobre

I.3.A.1. Ceruloplasmina

La ceruloplasmina es una cuproenzima aislada por primera vez por Holmberg y Laurell en 1948. Pertenece al grupo de las alfa₂ globulinas del plasma de vertebrados y contiene de 6 a 8 átomos de cobre por molécula (McCosker, 1961), se sintetiza en el hígado (Underwood, 1977a) y participa en la oxidación del hierro ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$), reacción importante en el metabolismo del hierro y en la formación del grupo hemo (Osiki, 1983; Brewer, 1987; Oregui y Bravo, 1993a) siendo incorporado este hierro Fe^{3+} directamente al reticulocito de la médula ósea (Underwood, 1983b). Muestra actividad oxidativa para la PPD (P-fenilendiamina) que es proporcional al contenido de cobre, de tal manera que el 96,5% de las diferencias en la oxidación de este substrato podrían ser explicadas por cambios en la concentración de cobre plasmático (Amer et al, 1973) en ganado vacuno (McCosker, 1961; Embury y Lepper, 1984; Blakley y Hamilton, 1985; Santamarina et al, 1994a), en ovino (McCosker, 1961; Lorentz y Gibb, 1975; Saylor y Leach, 1980), en cerdo (Hill et al, 1983a), en equino (Smith et al, 1983; Bridges et al, 1984), en perro y en gato (McCosker, 1961), en conejo (Masi et al, 1987) y en rata (Fields et al, 1983).

El aislamiento de la ceruloplasmina equina puso de manifiesto que esta enzima tenía un peso molecular de 115.000 daltons y que se trataba de una alfa₁ globulina (Okumura et al, 1991).

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; Blood et al, 1992). Smith et al (1983) y Blakley y Hamilton (1984) verificaron un coeficiente de correlación entre la ceruloplasmina y el cobre plasmático de 0,695 y 0,60 en equino y vacuno respectivamente.

Faye y Grillet (1984) consideran como valor normal de ceruloplasmina 200 unidades de densidad óptica, aunque otros autores consideran valores entre 10-20 mg/dl como normales para ruminantes y niveles entre 5-10 mg/dl como deficientes, mientras que valores inferiores a 5 mg/dl son indicativos de severa deficiencia (Gay et al, 1988).

El valor medio hallado en potros recién nacidos y clínicamente sanos era de $2,87 \pm 0,40$ mg/dl mientras que en potros de tres meses era de $5,02 \pm 0,92$ mg/dl, valor similar al de los animales adultos alcanzado a los dos años de edad y que era de $6,06 \pm 0,74$ mg/dl (Okumura et al, 1991).

En el hombre se considera que niveles inferiores a 15 mg/dl pueden ser indicativos de deficiencia de cobre (Oski, 1983).

En suero de ratas la actividad de la ceruloplasmina disminuye de forma considerable cuando se alimentan con una dieta deficiente en cobre, así, los animales que recibían una dieta deficiente presentaban valores de $10,4 \pm 2,6$ UI, mientras que en aquellos que se suplementaron con sulfato de cobre estos niveles eran de $34,1 \pm 4,4$ UI (Spears y Hatfield, 1985).

Se ha visto que la actividad de la ceruloplasmina en animales que recibían selenio y cobre (0,7 ppm Se más 100 ppm de Cu) se mantenía durante las primeras seis semanas, para disminuir luego rápidamente, posiblemente debido a que el selenio a esta concentración influya en la síntesis de la enzima (Amer et al, 1973).

Solter et al (1991) afirman que la determinación de la actividad de la ceruloplasmina, para el diagnóstico de la inflamación en perro, es 6 veces más sensible que el recuento de leucocitos, existiendo una correlación positiva entre ambos parámetros, lo que sugiere que los procesos fisiológicos que llevan al incremento del número de glóbulos blancos, también tienden a aumentar la actividad de la enzima. Este incremento de actividad también se ha puesto de manifiesto en ratas a las que se había inducido un proceso inflamatorio experimental mediante la inyección de turpentina (DiSilvestro, 1988), lo cual se explica porque la inflamación produce liberación del cobre de los lugares de reserva y por el incremento de la absorción del cobre de la dieta (McCosker, 1968).

También en ovejas la infestación con *Fasciola gigantica* estimula la síntesis de ceruloplasmina debido al daño producido en el tejido hepático (Gadzhiev y Garaev, 1986).

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; Lorentz y Gib, 1975; Lamand, 1978a), aunque Plasto et al (1983) han visto que estos valores no se elevaban de forma satisfactoria hasta que el tratamiento se efectuaba a intervalos de seis semanas.

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 de antianémico (Riffard, 1989a).

I.3.A.2 Superóxido dismutasa

Las superóxido dismutasas son enzimas que pueden contener cobre y cinc. El tipo cobre-cinc ha sido aislado en las células eucariotas y tiene un peso molecular de 32.000 daltons, componiéndose de dos subunidades cada una con un átomo de cobre y otro de cinc (Underwood, 1977a; Oski, 1983; DiSilvestro, 1988). El cobre participa en la actividad catalítica de la enzima, mientras que el cinc solamente tiene un papel estructural. Este grupo de enzimas, que se localizan en distintos tejidos y células del organismo, reciben distintos nombres según el lugar donde se encuentren (eritrocupreína, cerebrocupreína etc.) y catalizan la reacción (Oregui y Bravo, 1993a):



Se ha puesto de manifiesto la reducción de la actividad de la superóxido dismutasa en ratas que recibían una dieta deficiente en cobre, debido a que esta enzima necesita este elemento para su actividad (DiSilvestro, 1988). Este resultado también se ha obtenido en terneros tratados con molibdeno (Bremner et al, 1987).

I.3.A.3. Metalotioneína

Desde su descubrimiento se ha identificado la metalotioneína en la fracción citosólica del hígado, riñón y otros tejidos parenquimatosos en una gran cantidad de especies animales y también en microorganismos. Su capacidad para unir metales puede implicar una función de reservorio intracelular para elementos esenciales tales como 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 mayor afinidad por la misma que el cinc (Brewer, 1987), uniéndose a ella a nivel de los residuos de cisteína (Bremner, 1987).

Se describen dos funciones de esta enzima en el mantenimiento de la homeostasis 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 para proteger frente a la absorción de niveles tóxicos del elemento (Evans, 1973; Bremner, 1987).

En la oveja se ha visto que incrementando el contenido de cobre de la dieta de 2,2 a 11,3 $\mu\text{g Cu/g}$, aumentaba la fracción del mismo unido a esta enzima, aunque esto no ocurría cuando se incrementaba el cobre a 47 $\mu\text{g Cu/g}$, lo que sugiere que la oveja

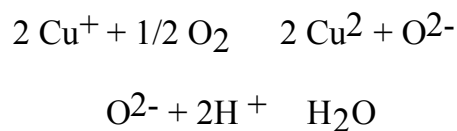
tiene una capacidad limitada para responder al incremento de cobre en la dieta en cuanto a la síntesis de metalotioneína (Saylor et al, 1980).

La metalotioneína hepática en cerdos y pollos y la metalotioneína renal en cerdos, pollos y vacuno aumenta cuando se administra cadmio con el alimento, debido a que este elemento induce la síntesis de la enzima en el hígado y en el riñón (Verma et al, 1978).

I.3.A.4. Citocromo oxidasa

Esta enzima interviene en la respiración celular ya que la cadena respiratoria celular está constituida por una serie de metaloproteínas: los citocromos. Estas moléculas experimentan alternativamente reacciones de oxido-reducción gracias a un ion metálico; esta cascada de oxidorreducciones permite la transferencia de protones y de electrones, base de la respiración celular. El ion metálico del último citocromo de la cadena es el cobre es el aceptor terminal de electrones de la cadena respiratoria mitocondrial sin el cual el proceso respiratorio se bloquearía en su última fase, lo que impediría el desarrollo de vías paralelas (Auza, 1983; Jungermann y Möhler, 1984; Brewer, 1987; Keen y Graham, 1989; Riffard, 1989a).

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 cobre la respiración es imposible (Heller, 1990). La cadena respiratoria está formada por una serie de reacciones que dan lugar a la formación de H_2O y ATP a partir de NADPH formado en la glucolisis y en el ciclo de Krebs y O_2 , que son necesarias para la generación de energía en las células aeróbicas (Oregui y Bravo, 1993a).

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, caquexia, así como alteraciones metabólicas del corazón. (Lamand, 1970; Richet, 1972a; Riffard, 1989a).

Mills et al (1976) encontraron en ganado vacuno que la actividad de la citocromo oxidasa del hígado, en el grupo que recibía una dieta baja en cobre, era significativamente menor que para el grupo que recibía una dieta suplementada con este elemento. Estos mismos resultados fueron obtenidos por Boyne (1978) en ganado vacuno, ovejas y ratas.

I.3.A.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 melanina (Lamand, 1970; Richet, 1972a; Gooneratne et al, 1989; Oregui y Bravo, 1993a); esto explica la decoloración del pelo en caso de deficiencia de cobre (Lamand, 1970; Auza, 1983; Riffard, 1989a).

I.3.A.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 et al, 1976; Lilley et al, 1985; 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 éstos tejidos, dando lugar la carencia de cobre a distrofia ósea asociada (Smart et al, 1981).

No se ha encontrado relación entre la actividad de la diamino oxidasa y la concentración de cobre en suero de caballo (Smith et al, 1983).

I.4. FACTORES ALIMENTARIOS QUE INFLUYEN SOBRE LA UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL COBRE

La deficiencia de cobre en rumiantes se puede atribuir a la presencia de factores en la dieta que forman complejos con este elemento, lo que afecta a su absorción y distribución, reduciendo la biodisponibilidad del mismo y dando lugar a una deficiencia aunque en el alimento haya una cantidad adecuada de cobre (Hidiroglou, 1979; Bremner et al, 1987).

I.4.A. Interrelación cobre-elementos minerales

Campbell et al (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.

Bremner et al (1987) al administrar distintas concentraciones de hierro a terneros comprobaron que se producía una disminución de la concentración de cobre en el hígado. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Humphries et al (1983) en terneras que ingieren una dieta suplementada con hierro, bien porque el

hierro forme complejos con el cobre reduciendo su absorción (Lamand et al, 1986), o bien porque se produzca una competencia entre ambos elementos por los receptores de la mucosa intestinal (Oregui y Bravo, 1993b); 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 et al, 1983).

El consumo de altas concentraciones de hierro agrava la severidad de la deficiencia de cobre, sin embargo, la relación dosis-respuesta no es lineal y cuando se eleva el nivel de hierro de 2,7 a 4,5 mmol Fe/kg se incrementa el grado de deficiencia de cobre, pero ulteriores aumentos de hierro a 9 y 13,5 mmol Fe/kg no siempre tienen efecto adicional; esto sugiere que este suplemento (4,5 mmol Fe/kg) produce el máximo efecto posible en la reducción de cobre en estos animales (Bremner et al, 1987).

Las sales de hierro pueden inhibir la absorción de cobre, así, el sulfuro ferroso (FeS) libera azufre en el medio ácido del abomaso y reacciona con el cobre formando un compuesto insoluble y no disponible (Bremner et al, 1987).

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

La interrelación entre el cobre y el cinc es importante a nivel intestinal ya que la administración de cinc en exceso vía oral reduce la absorción de cobre y viceversa; por el contrario, cuando se administran vía intraperitoneal estos elementos no se advierte este antagonismo. El cinc bloquea la unión del cobre a proteínas en el duodeno y su posterior transporte, disminuyendo su absorción (Kirchgessner et al, 1982; Lamand et al, 1986; Jenkins y Kramer 1989; Riffard, 1989a; Oregui y Bravo, 1993b). 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 et al, 1982).

Hill et al (1983b) pusieron de manifiesto una disminución de la concentración de cobre en el calostro de cerdas que habían sido suplementadas con cinc. Bridges y Ghagan (1990) verificaron en suero de potros suplementados con cinc (1000 y 2000 ppm MS) menor concentración de cobre respecto a los no suplementados.

La disminución de la concentración de cobre en plasma de ovejas suplementadas con cinc y la reducción de la actividad de la ceruloplasmina, se atribuyen a la capacidad del cinc para incorporarse a esta enzima sustituyendo al cobre (Saylor y Leach, 1980).

El efecto antagonista de estos elementos depende del nivel de los mismos en la dieta, así, al aumentar la concentración de cinc de 5 a 180 mg/kg no varía la cantidad de cobre en sangre portal en rata, lo que indica que estos niveles no son suficientes para alterar la absorción de cobre, necesitándose amplias variaciones para que se altere la absorción (Oestreicher y Cousins, 1985).

El cinc inhibe muchos de los cambios de los tipos de lípidos, los cuales son inducidos en los tejidos por exceso de cobre, pudiendo deberse este efecto a que el cinc causa una reducción del contenido de cobre en esos tejidos (Jenkins y Kramer, 1989).

El antagonismo entre el cobre y el cinc se puede aprovechar en caso de intoxicación (Riffard, 1989b), pues se ha verificado en cerdos que la intoxicación por cinc respondía al tratamiento con sulfato de cobre (Pritchard et al, 1985).

Según Campen (1966) el exceso de cinc no afecta a la distribución de cobre en los tejidos, aunque determina una absorción más lenta del elemento.

Para Gooneratne et al (1989) el mecanismo por el cual el cinc de la dieta reduce las reservas de cobre del organismo se basa en la disminución de la absorción de este elemento, al ser captado por la metalotioneína de los enterocitos y producirse una posterior descamación de los mismos a la luz intestinal.

Diversos estudios realizados en ovejas (Lee y Jones, 1976), en cabras (Allen y Miller, 1981), en novillos de cebo (Gleed et al, 1983) y en vacuno adulto (Hidiroglou, 1989) mostraron que no existía interacción entre el cobre y el selenio.

Kleczkowski et al (1994) relacionaron la disminución del nivel de selenio hepático a medida que la concentración de cobre en el alimento aumentaba, con la incapacidad de asimilación por los microorganismos ruminales y con la saturación del hígado de terneros por el cobre.

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; Oregui y Bravo, 1993b). El exceso de los mismos en el pasto constituye la causa más importante de deficiencia de cobre en Australia (Judson et al, 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 et al (1989) citan los siguientes posibles:

- Limitando la absorción de cobre.
- Uniendo el cobre a la albúmina, retrasando su paso al hígado.

- Reduciendo la concentración de cobre en hígado.
- Uniéndose al cobre hepático y de otros tejidos haciéndolo menos disponible.
- Incrementando la excreción biliar de cobre.
- Limitando la reabsorción del cobre eliminado por bilis.
- Aumentando la excreción urinaria de cobre.
- Aumentando la excreción endógena del cobre.

El exceso de molibdeno reduce la concentración de cobre en el hígado de vacas (Humphries et al, 1983), aunque Nederbragt (1980) verificó en ratas suplementadas con molibdeno un incremento de la concentración de cobre en plasma, hígado y riñón, debido al incremento de la fracción de cobre insoluble en ácido tricloroacético y que no está relacionado con la ceruloplasmina. La aparición de esta fracción en rumiantes se debe a la formación de complejos cobre-molibdeno-proteína los cuales, a nivel tisular, producen 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 et al (1988) esta relación ha de ser inferior a 5/1 para causar este 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 (Sáez de Ocariz, 1993), pues se sabe que el sulfuro de cobre y el molibdato cúprico son insolubles y no absorbibles (Ward, 1978; Miller et al, 1993).

Esta interacción entre el cobre y el molibdeno presente en rumiantes no parece existir en caballos, ya que la suplementación con molibdeno en esta especie no determina la aparición de complejos cobre-molibdeno-proteína que aparece en rumiantes (Strickland et al, 1987); tampoco se da este tipo de interacción en otros monogástricos como la rata y el conejo, los cuales no tienen capacidad para reducir el sulfato a sulfuro en el intestino y la adición de molibdato a la dieta con o sin sulfato no tiene un efecto demostrable sobre el cobre de la sangre y de los tejidos (Dick et al, 1975). Por lo tanto la especie bovina es la menos tolerante al exceso de molibdeno (Ward, 1978; Gooneratne et al, 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; Olkowski et al, 1990), así

como en una reducción de la respuesta inmune (Olkowski et al, 1990), ya que el azufre se une en el rumen con el cobre dando un compuesto insoluble (sulfuro de cobre) (Quiroga, 1982; Laurent, 1985), el cual interfiriendo con la digestibilidad y retención del oligoelemento (Lamand, 1974a). Este hecho se ha podido comprobar porque la ausencia de protozoos en el rumen incrementaba en un 32-50% la utilización del cobre debido a la disminución de la rotura de proteínas que pudieran liberar azufre (Ivan et al, 1990a). Sin embargo, la administración durante 90 días de 2000 mg de $\text{SO}_4^{=}$ /l de agua no modificó la concentración sérica ni hepática de cobre en bovinos (Quiroga, 1983).

Como se ha visto anteriormente, 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 et al, 1981; Quiroga, 1982; Ivan y Veira, 1985; Lamand et al; 1986; Bremner et al, 1987; Riffard, 1989a; Lamand, 1990; Haque et al, 1993) y disminuyen la disponibilidad del cobre en un 50% (Givens y Hopkins, 1978). 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 et al, 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. Este autor afirma en este trabajo que con una dieta que contenga 5,2 g de azufre elemental o sulfato/kg MS, la cantidad mínima de molibdeno para que se produzca la interferencia azufre-molibdeno-cobre es de 2,4 mg Mo/ kg MS.

Se ha visto que la actividad de la ceruloplasmina se reducía de forma importante cuando se administraba tetratiomolibdato y se usaba como sustrato O-dianisidina, pero esta actividad sólo decrecía ligeramente cuando se usaba P-fenilendiamina (PPD), esta relativa insensibilidad explicaría el fallo en la disminución de la actividad *in vivo*, excepto cuando los animales tienen una deficiencia de cobre claramente manifiesta (Kelleher y Mason, 1979).

Leach et al (1990) han utilizado cobre radiactivo para estudiar la interacción con el calcio en pollos Broiler, sugiriendo que el lugar más importante de la misma ocurre a nivel de la absorción intestinal. Cuando la dieta contiene alto nivel de cobre, la adición de calcio a la misma reduce significativamente el contenido de cobre intestinal

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

Lee y Jones (1976) encontraron en ovejas que la suplementación de la dieta con cadmio (7,5 o 15 mg/día) reducía la concentración de cobre en la sangre y en el hígado; este hallazgo coincide con los resultados obtenidos en ratas por Campen (1966) en las que se ha comprobado que este elemento reducía de forma importante la absorción de cobre radiactivo (^{64}Cu), incrementando de manera significativa la proporción de ^{64}Cu en la sangre, en el corazón y en el bazo y disminuyendo la proporción retenida en el hígado, atribuyéndose este efecto a que el cadmio interfería con la generación de energía y con la síntesis de proteínas, aunque también podría reducir la absorción de cobre al interferir el paso normal del elemento a través del epitelio intestinal.

Según Spears y Hatfield (1985) la respuesta al nivel de níquel en la dieta depende del contenido de cobre en la misma y de la duración del experimento, así, cuando se añaden niveles de 15 ó 30 ppm de este elemento a una dieta deficiente en cobre, no existe efecto sobre el engorde de las ratas durante los primeros 21 días del estudio. Sin embargo la suplementación con níquel deprime la ganancia de peso entre los 21-42 días en ratas alimentadas con dietas deficientes en cobre, pero no en animales que reciben dietas adecuadas en este elemento; una posible explicación a la reducción del engorde es la inhibición de la citocromo oxidasa por el níquel, que puede ser más sensible durante la deficiencia de cobre, cuando la actividad de la citocromo oxidasa es baja. Por otra parte, la absorción de cobre no parece ser afectada por el níquel, ya que la concentración de este elemento en los tejidos no disminuye cuando se incrementa el nivel de níquel en la dieta.

I.4.B. Influencia de otros factores

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

Manston et al (1975) encontraron una concentración de cobre sérico más elevada en vacas lactantes a las que administraron una dieta con contenido bajo en proteína, respecto a las que recibían la misma dieta con alto contenido proteico; dado que no existía diferencia en el nivel de cobre en las dietas recibidas por los distintos grupos de animales, 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.

I.5. NECESIDADES DE COBRE

Para poder atender adecuadamente a las necesidades de cobre los animales necesitan ingerir unas cantidades de este elemento al día. No es fácil determinar estas necesidades, ya que dependen de un gran número de factores, 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 (niveles de molibdeno y azufre en la ración) (Hays y Swenson, 1977; Roberts, 1976; McDowell et al, 1993; Miller et al, 1993; Oregui y Bravo, 1993a).

En cuanto al estado fisiológico, se ha visto en ganado vacuno de Canadá que durante la gestación se incrementaban las necesidades del elemento, teniendo que ajustar la dieta a 25 mg/kg MS (Gooneratne et al, 1989).

La raza es un factor a tener en cuenta; así Gooneratne et al (1989) observaron que la raza Simmental excretaba más cobre que la raza Angus por lo que sus necesidades eran mayores.

El análisis de un oligoelemento de la dieta aporta poca información sobre la posterior utilización del mismo, ya que tanto en el proceso de absorción como en el metabolismo intermedio se producen pérdidas. Así, la utilización total de un elemento (Q) se define por el producto de la absorción relativa (A) por la utilización relativa intermedia (V), donde la A se define por el cociente entre la cantidad absorbida (a) y la cantidad ingerida (i) y la V es el cociente entre la cantidad utilizada (v) y la cantidad absorbida (a), expresándose la utilización total por la siguiente fórmula (Kirchgesner, 1988):

$$Q = a/i \times v/a = v/i$$

Se ha categorizado la deficiencia de cobre dependiendo del contenido de minerales en el alimento de la siguiente forma (Ward, 1978; McDowell et al, 1993):

- 1) Alto contenido de molibdeno, alrededor de 100 ppm MS.
- 2) Nivel bajo de cobre pero con un contenido en molibdeno considerable.
- 3) Deficiencia de cobre (menos de 5 ppm MS).

4) Nivel normal de cobre y bajo de molibdeno, con alta proporción de proteína soluble debido a un incremento de sulfuro producido en el rumen, originando sulfuro de cobre que el animal no puede utilizar.

Suttle (1974) aporta una técnica para determinar la biodisponibilidad del cobre en el alimento que consiste en la respuesta de la concentración del cobre en el plasma a la administración de distintos niveles del elemento en la dieta.

Los aportes de cobre recomendados se sitúan en 10 mg de Cu/kg MS ingerida tanto en ganado ovino (Wolter, 1975), como en ganado vacuno de leche (NRC, 1978; Miller, 1979; Lamand et al, 1986; Lamand, 1987), aunque estos niveles pueden ser superiores según la tasa de molibdeno, situándose entre 10-20 ppm (Lamand, 1970; NRC, 1978). En ganado vacuno de carne las necesidades se cifran en 4 ppm (McDowell et al, 1983) y la mayor incidencia de deficiencia de cobre en animales de aptitud cárnica que en vacuno de leche de la misma área geográfica, puesta de manifiesto por Davies et al (1974), se debe a que los animales productores de leche reciben suplementación de cobre en la dieta.

Wolter (1975) sitúa las necesidades de cobre en corderos entre 5-6 ppm MS y en lechones, Hill et al (1983a) y Okonkwo et al (1979) señalan 5 y 6 ppm respectivamente.

Lamand (1971), Paulais (1978) y Lamand (1987) sitúan el límite de carencia de cobre para rumiantes en 7 ppm MS.

I.5.A. Límite de toxicidad

Se consideran tóxicos para bovinos valores por encima de 100 ppm de cobre (Paulais, 1978; NRC, 1984), siendo el nivel máximo tolerable menor en animales jóvenes en crecimiento que en animales adultos (NRC, 1984); Lamand (1987) estima que niveles superiores a 30 ppm ya serían tóxicos para esta especie, mientras que en ovinos 15 ppm serían peligrosas (Paulais, 1978; Lamand, 1987; Suttle, 1995).

I.6. ESTUDIO CLÍNICO DE LA CARENCIA DE COBRE EN BOVINOS

Las manifestaciones clínicas de la deficiencia de cobre varían con la edad, sexo, especie, gravedad y duración de la deficiencia (Underwood, 1977a; Tanner et al, 1988); son poco específicas, comunes a varias carencias, y pueden ser más o menos atenuadas en caso de subcarencia (Lamand, 1971).

En términos generales los síntomas son más graves en terneros hasta un año de edad, menos manifiestos en animales de dos años y ligeros en adultos. Los animales jóvenes son más susceptibles a la carencia primaria que los adultos, debido al escaso contenido de cobre en la leche (Blood et al, 1992), mientras que los animales adultos pueden tener suficientes reservas minerales para atender a sus necesidades (Judson et al, 1987).

I.6.A. Síntomas

Los síntomas de la carencia de cobre en bovinos se pueden resumir de la forma que aparece en la Tabla de la página siguiente (Lamand, 1971; Lamand et al, 1973b; Paulais, 1978; Riffard, 1989b).

I.6.A.1. Alteraciones de la piel y del pelo

Tanto en animales adultos como en jóvenes aparece decoloración del pelo que es uno de los síntomas más específicos de la carencia de cobre (Lamand, 1971; Bellanger et al, 1973; Smith y Coup, 1973; Fell et al, 1975; Roberts, 1976; Combs et al, 1982; Faye y Grillet, 1984; Lavín, 1987; Gay et al, 1988), visible sobre todo en animales de capas oscuras ya que el pelo se vuelve rosáceo. En animales de capas claras esta decoloración es más difícil de visualizar, excepto alrededor de los ojos (Lamand, 1970; Riffard, 1989b); este signo no se considera patognomónico de la deficiencia, ya que el aporte de dietas que no cubran las necesidades nutricionales, principalmente de factores como ácido pantoténico o P-aminobenzoico, producen pérdida de color del pelo (Quiroga, 1983).

Quiroga (1983) puso de manifiesto la presencia de despigmentación del pelo en animales con una concentración sérica y hepática de cobre normales, justificando esta alteración por la calidad del alimento suministrado. Años más tarde Mee (1991) no encontró relación entre los niveles de cobre en plasma y la decoloración del pelo en vacuno ya que a lo largo del año se producía despigmentación y recuperación del color, mientras que los niveles de cobre en plasma permanecían constantes.

	Adultos	Jóvenes
Déficit de crecimiento o engrasamiento	X	X
Disminución de la producción de leche	X	
Inapetencia	X	X
Pica	X	X
Caquexia	X	X
Anemia	X	X
Defectos de aplomo	X	X
Fracturas espontáneas	X	X
Cojeras	X	X
Alteraciones cardíacas	X	X
Disnea	X	X
Diarrea	X	
Decoloración de pelos	X	X
Pelos quebradizos	X	X
Infecundidad	X	
Degeneración muscular	X	X

Tabla. Síntomas de la carencia de cobre en bovinos (varios autores, ver texto).

En los ovinos, lo primero que se observa en la deficiencia de cobre es la decoloración y crecimiento anormal de la lana perdiendo las ondulaciones y disminuyendo la resistencia y elasticidad (Wiesner, 1968; Lamand, 1970; Lamand, 1971; Hays y Swenson, 1973; Church et al, 1974; Riffard, 1989b; Miller et al, 1993). La pérdida del aspecto ondulado de la lana se atribuye a que la carencia de cobre interfiere con la formación de puentes disulfuro (Wiesner, 1968; Underwood, 1983b). La fibra lanosa se vuelve fibrosa y se reduce su longitud y diámetro (Whitelaw et al, 1979).

Se han observado cambios en el color de la piel en búfalos, relacionándolos con bajos niveles de cobre en pelo y con el incremento de la concentración de grupos sulfhidrilo en la piel que inhiben la tirosinasa, debido al incremento de la síntesis de estos grupos por la flora ruminal como consecuencia de un exceso de azufre en la dieta (Randhawa et al, 1994).

I.6.A.2. Alteraciones de la reproducción

No existe acuerdo entre distintos investigadores sobre el papel del cobre en la reproducción, así, se ha podido comprobar que la administración de cobre a vacas que recibían una dieta deficiente en este oligoelemento mejoraba la fertilidad respecto a las

que no lo recibían (Wiesner, 1968; Pickering, 1975), con un porcentaje de preñez en los primeros del 72% mientras que de los no tratados sólo quedaban gestantes el 53% (Hidiroglou, 1979). Se ha relacionado la deficiencia en esta especie con desordenes reproductivos tales como perturbación del funcionamiento de las gónadas y resorción precoz del embrión (Riffard, 1989b).

La administración de Cu, Zn y Mn a vacas reduce a 21 el número de días necesarios para la gestación, mientras que a los animales que no se les administra necesitan 32 días. Este tratamiento no afecta a los días en que aparece el primer estro (Dicostanzo et al, 1986). En Ingraham et al 1987 obtuvieron mejor fertilidad en vacas suplementadas con cobre y magnesio respecto a las suplementadas sólo con cobre o con magnesio.

Un alimento equilibrado desde el punto de vista de su contenido mineral es importante para asegurar una fertilidad adecuada en el ganado vacuno, ya que se ha visto que la deficiencia de cobre reducía la libido en las hembras y en sementales aparecía degeneración del epitelio germinal de los túbulos seminíferos. Esta hipótesis se apoya en el hecho de que se mejoraba la calidad del semen en los machos y la fertilidad en hembras deficientes en cobre tras suplementar a estos animales con este elemento (Hidiroglou, 1979; Annenkov, 1982).

En un estudio realizado por Kappel et al (1984), en ganado vacuno, observó que la concentración de cobre en el plasma no tenía un efecto constante sobre la fertilidad en todos los grupos, siendo más aparente en el de hembras que parían en verano y en vacas con poca producción. En otros casos no se encontraron evidencias de que la deficiencia de cobre causara directamente infertilidad en ganado vacuno (Cummins y Harris, 1984; Gay et al, 1988) sino más bien, las alteraciones de la reproducción serían consecuencia del menor desarrollo corporal debido a la deficiencia de cobre (Lavín González et al, 1987); algunos autores atribuyen la reducción de la fertilidad a la ingestión de altas cantidades de molibdeno y no directamente a la disminución de cobre en el organismo (Grace, 1988).

I.6.A.3. Alteración del apetito y del peso

En la deficiencia de cobre el apetito está siempre modificado. El consumo de forraje puede estar reducido de forma significativa o ser nulo aunque los concentrados siguen siendo consumidos; aparece pica con frecuencia (Lamand, 1970; Richet, 1972a; Tanner et al, 1988; Riffard, 1989b).

Se ha encontrado un peso medio significativamente mayor en animales suplementados con cobre respecto a los que recibían una dieta carente, tanto en vacuno (Mills et al, 1976; Plasto et al, 1983) como en ovino (Whitelaw et al, 1979), en cerdos (Okonkuo et

al, 1979; Hill et al, 1983a) y en ratas (DiSilvestro, 1988), siendo para Gay et al (1988) la reducción media del engorde la manifestación más común de deficiencia de cobre.

Todd et al (1967) no encontraron diferencias entre el crecimiento de terneras que padecían hipocupremia severa y animales tratados con cobre, sugiriendo la existencia de determinados factores medioambientales necesarios para que se manifiesten los síntomas de la deficiencia de cobre y que el hecho de que estas manifestaciones clínicas respondan al tratamiento con cobre, indica que estos factores ambientales sólo expresan su capacidad patológica en presencia de hipocuprosis. Hidiroglou (1989) compara el crecimiento de terneras alimentadas con una dieta carente en cobre y terneras suplementadas con este elemento, no encontrando diferencias, quizás porque estos animales no eran hipocuprémicos al inicio del estudio.

Se ha visto que la adición de cobre y cobalto a la dieta en cantidades superiores a las recomendables mejoraba la digestibilidad de la materia seca, posiblemente debido a que estos cationes divalentes actúan como puentes entre las cargas negativas de la planta y la pared de la célula bacteriana (López-Guisa y Satter, 1992).

I.6.A.4. Alteraciones óseas

El cobre juega un papel bioquímico importante en la formación del hueso participando en el normal funcionamiento de los osteocitos y condrocitos (Hidiroglou, 1980).

Se han descrito defectos del esqueleto relacionados con deficiencia de cobre en ganado vacuno (Tanner et al, 1988), en ovino (Whitelaw et al, 1979), en potros (Bridges et al, 1984; Bridges y Ghagan, 1990) y en pollos (Rucker et al, 1975). Estas alteraciones tienen su origen en una reducción de la actividad de cuproenzimas amino o lisil oxidasas que disminuyen la estabilidad y fortaleza del hueso (Mills et al, 1976; Hidiroglou, 1980; Auza, 1983; Tinker y Rucker, 1985; Gaby y Wright, 1990) y se caracterizan por hinchazón de las articulaciones y aumento de la fragilidad de los huesos (Lamand, 1971). En los bóvidos jóvenes se observa inflamación de las articulaciones especialmente a nivel del corvejón (Lamand, 1970; Underwood, 1977a; Hidiroglou, 1980) y en los adultos se describe osteomalacia que provoca fracturas espontáneas (Lamand, 1970; Lamand, 1991).

En la deficiencia primaria de cobre, inducida experimentalmente, el esqueleto es osteoporótico y se observa además crecimiento notable del cartílago epifisario, especialmente en las uniones costocondrales, arqueamiento de las extremidades, engrosamiento a nivel de los corvejones y mayor crecimiento de las pezuñas (Suttle y Angus, 1978; Radostits et al, 1992). La osteoporosis también se observa en corderos que padecen una deficiencia secundaria de cobre producida por exceso de molibdeno (Whitelaw et al, 1979); este signo clínico se atribuye a la depresión de la actividad

osteoblástica que ocurre en casos de deficiencia (Underwood, 1983b; Blood et al, 1992).

Según Wiesner (1968) se puede observar raquitismo y fracturas a pesar de la presencia de cantidades adecuadas de calcio y fósforo, siempre que el mecanismo enzimático controlado por el cobre y que activa el metabolismo fosfo-cálcico sea deficiente. Esta forma de raquitismo dependiente del cobre puede producirse indirectamente si el suelo contiene un exceso de molibdeno o de sulfatos que actúan como antagonistas de la asimilación del cobre.

Smith et al (1975a) asociaron cojeras en terneros con deficiencia secundaria de cobre ocasionada por exceso de molibdeno, apoyándose en el hecho de que la concentración de cobre en suero era baja y en muestras de forraje era alto el nivel de molibdeno y normal el de cobre. En estudios realizados posteriormente no se ha podido confirmar la relación entre procesos podales (laminitis fundamentalmente) y niveles de cobre en plasma, no encontrando diferencias significativas entre animales enfermos y sanos (Santamarina et al, 1994)

Bridges et al (1984) destacaron el papel del cobre en la patogenia de la osteocondrosis en potros antes del destete, ya que en estos animales la concentración de cobre en plasma era inferior a la normal.

I.6.A.5. Reducción de la resistencia a infecciones

Suttle (1986a) y Suttle y Jones (1989) han observado en corderos claras evidencias de menor resistencia a infecciones en animales deficientes en cobre, atribuyéndolo a la disminución de la función de linfocitos.

En esta línea, Boyne y Arthur (1986) y Olkowski et al (1990) verificaron una menor capacidad de los leucocitos polimorfonucleares para fagocitar *Cándida albicans* en vacas y ovejas deficientes en cobre respecto a animales que recibían una mayor cantidad del oligoelemento. Esto es debido a la disminución de la función de los neutrófilos, como consecuencia de la reducción de la actividad de las enzimas intracelulares superóxido dismutasa (Grace, 1988; Xin et al, 1991a) y de la citocromo oxidasa (Lilley et al, 1985). Esta disminución de la capacidad bactericida puede ser causada por una menor protección de las células fagocíticas frente a la oxidación mediada por radicales libres de oxígeno durante el proceso bacteriano (Xin et al, 1991a).

Los hallazgos de Bala et al (1992) ponen de manifiesto, en cerdos, la importancia de la presencia de cobre en la dieta sobre la inmunidad, pues una dieta deficiente altera la actividad funcional de las células T, originando problemas debidos a infecciones.

Wiesner (1968) afirma que el cobre juega un papel en la defensa contra la infección, al inhibir las enzimas bacterianas y ralentizar la multiplicación de bacterias en la sangre y en los tejidos.

I.6.A.6. Diarrea

Muchos autores asocian la diarrea directamente con el contenido en molibdeno de los forrajes (Lamand, 1970; Boccara, 1980; Nicolás et al, 1986; Gay et al, 1988; Hungerford, 1989; Riffard, 1989b; Blood et al, 1992). De acuerdo con esta afirmación están los hallazgos de Farmer et al (1982) en ganado vacuno que pasta en un área rica en molibdeno, el cual ocasiona una diarrea que responde al tratamiento con cobre.

Según Lamand (1970) y Blood et al (1986) la carencia primaria de cobre sin intervención del molibdeno no provoca diarrea, sin embargo, Mills et al (1976) indujeron deficiencia de cobre de forma experimental en ganado vacuno de raza Frisona apareciendo diarrea en estos animales. Para comprobar si era debida al bajo contenido de cobre en la dieta se administró a todos los animales 10 mg de cobre cesando la diarrea en 12 horas en todos los casos. Esta diarrea se ha relacionado con atrofia de la mucosa intestinal y atrofia parcial de las vellosidades, que junto con una menor actividad de la enzima citocromo oxidasa en el intestino delgado, pueden provocar un síndrome de malabsorción que da como resultado una menor transformación del pienso y diarrea (Miller et al, 1993).

I.6.A.7. Trastornos musculares

Rosiles y García (1987) describieron un caso de miositis en ganado ovino asociada con deficiencia de cobre y diagnosticada en el laboratorio mediante análisis del hígado (7,5 ppm de cobre); en el músculo se encontró degeneración de las fibras musculares y pequeños focos de infiltración linfocitaria que denotaban una miositis degenerativa.

La deficiencia de cobre se asocia también con cambios ultraestructurales en el miocardio, a nivel de las miofibrillas y morfología mitocondrial, lo cual se relaciona con la disminución de la actividad de la citocromo oxidasa (Leigh, 1975).

I.6.A.8. Disminución de la producción de leche

La caída de la producción es consecuencia de la pérdida de apetito y de las perturbaciones de la respiración celular y que son difíciles de cuantificar (Tanner et al, 1988; Riffard, 1989b; Lamand, 1991) salvo por el aumento de la producción de leche debido al tratamiento con cobre (Lamand, 1970).

I.6.A.9. Alteraciones cardiovasculares

Las alteraciones cardíacas son síntomas muy específicos de la carencia de cobre (Faye y Grillet, 1984), provocando en caso de deficiencia grave colapso cardíaco y muerte súbita (Riffard, 1989b). El fallo cardíaco se asocia con hipertrofia cardíaca (Tanner et al, 1988; Keen y Graham, 1989). Cuando la carencia es menos manifiesta pueden aparecer accidentes congestivos (pulmonares, mamarios, podales) (Lamand, 1971).

En porcinos alimentados con dietas carentes en cobre, de forma experimental, se han provocado muertes bruscas por rotura del corazón y grandes vasos (Blood et al, 1986).

La deficiencia de este oligoelemento determina la reducción de la actividad de la lisil oxidasa, con lo que se reduce el paso de lisina a desmosina que forma el enlace transversal de la elastina, lo que lleva a una reducción de la elasticidad de la aorta y aparición de roturas en los vasos (Underwood, 1983b).

I.6.A.10. Anemia

El cobre es indispensable para la eritropoyesis Wiesner (1968), Smith et al (1975b) y Underwood (1977a) ya que es necesario para la síntesis de hemoglobina al facilitar la inclusión del hierro en la molécula. De esta forma participa en la maduración de los eritrocitos en la médula ósea y alarga la vida media de los mismos, lo que explica que la concentración de hemoglobina sea más alta en corderos tratados con cobre que en animales carentes (Whitelaw et al, 1979).

Para Lamand et al (1973) la anemia es un síntoma inconstante de la carencia de cobre y cuando se produce es de tipo hipocrómica y macrocítica; aparece sólo cuando el grado de hipocuprosis es extremo (Roberts, 1976) y puede agravarse durante la gestación y la lactación (Lamand, 1970).

Sin embargo, Underwood (1983b) y Keen y Graham (1989) consideran la anemia como la alteración más frecuente en la deficiencia crónica de cobre; en ratas se han descrito cambios morfológicos en los eritrocitos durante la deficiencia (Boyne y Arthur, 1990).

Un nivel de cobre en la sangre de 0,10-0,12 $\mu\text{g Cu/ml}$ limita la hematopoyesis en la oveja y 0,2 $\mu\text{g Cu/ml}$ es el nivel mínimo necesario para que tenga lugar la hematopoyesis en el cerdo (Underwood, 1977a); sin embargo, Ho et al (1980) realizaron estudios hematológicos en vacas hipocuprémicas comprobando que la hematopoyesis no estaba afectada y que no sufrían anemia.

I.6.A.11. Ataxia enzoótica

La ataxia neonatal es la manifestación más típica de la carencia de cobre en pequeños rumiantes, manifestándose en corderos cuando la concentración de cobre en hígado baja de 1 $\mu\text{g/g}$ MS (Wiesner, 1968), aunque es rara en bovinos (Lamand, 1971; Church et al, 1974; Underwood, 1977a; Faye y Grillet, 1984; Riffard, 1989b).

Chamberlain y Clarke (1981) y Faye et al (1991) relacionaron la aparición de ataxia enzoótica en corderos con una deficiencia secundaria de cobre asociada con altas concentraciones de molibdeno y sulfato en los pastos. Ivan et al (1990a) asociaron esta patología con un exceso de azufre y de hierro en el alimento, pudiéndose relacionar el incremento de azufre con deficiencia de selenio que favorece la sintomatología de este cuadro clínico (García Partida, 1995).

La enfermedad se caracteriza por incoordinación de movimientos, parálisis parcial de los cuartos posteriores y elevada mortalidad de los animales afectados (Underwood, 1983b; Ivan et al, 1990a). Se distinguen dos tipos de ataxia enzoótica: una forma congénita que aparece al nacimiento donde los animales pueden morir en ese momento mostrando parálisis total, y otra, que aparece a las 6-8 semanas de vida (Lamand, 1970; Underwood, 1983b).

En el encéfalo de corderos atáxicos los niveles de citocromo oxidasa y de cobre son inferiores a los normales, siendo la menor actividad de esta enzima lo que altera la síntesis de fosfolípidos y puede llevar a aplasia de la mielina; también está alterada la biosíntesis de catecolaminas: dopamina y norepinefrina en la que participan enzimas cuprodependientes lo que contribuye a explicar el trastorno locomotor en la ataxia (Underwood, 1983b).

I.6.B. Lesiones

I.6.B.1. Lesiones óseas

Las anomalías articulares son el resultado de un crecimiento normal del cartílago sin osificación (Lamand, 1970) así como de la alteración de las propiedades biomecánicas de los ligamentos y de los tendones como consecuencia de la disminución del contenido de elastina que origina osteoporosis con degeneración de cartílagos (Riffard, 1989b).

I.6.B.2. Lesiones cardíacas

Las alteraciones descritas en la deficiencia de cobre son atrofia progresiva del miocardio y sustitución por tejido colágeno denso (Wiesner, 1968; Riffard, 1989b). El miocardio aparece anormalmente engrosado (Lamand, 1970; Riffard, 1989b) y al corte

se observan petequias y aspecto de hoja muerta, así como adelgazamiento de la lámina propia de las venas cavas (Riffard, 1989b).

I.6.B.3. Alteraciones del sistema nervioso

Lamand (1991) al realizar una craneotomía en ovinos encontró abundante líquido cefalorraquídeo y dilatación de los espacios subaracnoideos con atenuación de las circunvoluciones cerebrales. Microscópicamente observó cavidades grandes en la sustancia blanca rellenas de un líquido gelatinoso.

La lesión que aparece en la ataxia enzoótica es la desmielinización de la médula espinal (Wiesner, 1968), que puede ser debida a una menor actividad de la citocromo oxidasa, así como de la β -glicerofosfato aciltransferasa y dopamina β -hidroxilasa del tejido nervioso, cuya actividad es menor en caso de carencia de cobre (Auza, 1983).

I.6.B.4. Otras alteraciones

En la mayoría de los animales que reciben dietas bajas en cobre se observa una marcada atrofia de las vellosidades del intestino delgado (Fell et al, 1975). Esta lesión puede ser responsable de la reducción del peso y de la menor utilización del alimento por muchos animales de este grupo (Mills et al, 1976). La reducción de la actividad de la citocromo oxidasa intestinal en la deficiencia de cobre podría ser la responsable de esta atrofia, comprometiendo la integridad de las células del tracto digestivo e incrementando la susceptibilidad a infecciones (Lilley et al, 1985). La reducción de esta actividad se relaciona con la alteración en la síntesis de fosfolípidos, principales componentes de la membrana mitocondrial, lo que explica las alteraciones observadas por Fell et al (1975) en las mitocondrias de los enterocitos.

La atrofia del timo encontrada en ratones con deficiencia de cobre puede ser el resultado de la alteración en la producción de energía debido a la disminución de la actividad de la citocromo oxidasa o, quizás, de la necrosis acelerada del tejido como consecuencia de una disminución en la actividad de la superóxido dismutasa (Prohaska et al, 1983).

I.7. DIAGNÓSTICO DE LA CARENCIA DE COBRE

I.7.A. Diagnóstico clínico

El objetivo del diagnóstico clínico es determinar *in situ* qué elemento está ausente cuando se sospecha una deficiencia mineral y constituye una primera orientación para posteriores análisis más precisos, aunque no permite diferenciar entre una carencia primaria y una secundaria (Thevenet, 1990).

La identificación de una carencia de cobre es un problema complejo dado que los signos clínicos son poco específicos y un animal puede no manifestar todos los síntomas de la misma; en caso de subcarencia éstos tienden a desaparecer, por lo que sólo es posible realizar un diagnóstico certero en el laboratorio (Bellanger y Roth, 1968; Lamand, 1970; Lamand y Périgaud, 1973; McDowell et al, 1983; Renoult, 1985; Grace, 1988; Riffard, 1989b; MacPherson, 1990; Echeandia, 1993). La dificultad de diagnóstico se acentúa porque la deficiencia severa es poco frecuente (Judson et al, 1987).

En el ganado bovino la decoloración del pelo es relativamente específica de la carencia (Lamand, 1973; Blood et al, 1986; Judson et al, 1987; McDowell et al, 1993) y la diarrea no parasitaria y persistente en los adultos, hace pensar en una carencia de cobre inducida por exceso de molibdeno.

En el ganado ovino la ataxia enzoótica cuando no es de origen tóxico, puede ser considerada como específica de la carencia de cobre. La modificación del vellón puede hacer pensar en una carencia de cobre sin ser un síntoma muy específico (Lamand, 1970), así como una frecuencia anormal de fracturas espontáneas y alteraciones cardíacas (Lamand et al, 1973).

I.7.B. Diagnóstico analítico

Se han llevado a cabo varias pruebas diagnósticas para identificar una determinada deficiencia mineral; tradicionalmente se ha determinado la concentración del mineral en sangre y otros tejidos accesibles, así como la actividad de las metaloenzimas.

Los estudios a nivel de suelo y plantas tienen limitaciones para poder predecir la biodisponibilidad de los minerales para el ganado en pastoreo, aunque el análisis de plantas ha sido utilizado para identificar áreas en las que puede haber riesgo de deficiencias minerales (Judson et al, 1987).

I.7.B.1. Análisis de suelo

El análisis del suelo no es seguro ya que la presencia de una roca madre habitualmente pobre en cobre constituye simplemente una presunción de la carencia (Riffard, 1989b). El contenido de oligoelementos en el suelo tiene un valor limitado en el diagnóstico del estado de oligoelementos en ganado en pastoreo porque influyen muchos factores en la cantidad asimilada por la planta y por otra parte, no todas las formas químicas en las que se encuentra el cobre en el suelo están disponibles para éstas (Gay et al, 1988). Los suelos formados sobre basalto contienen cantidades de cobre más altas que los suelos arenosos (Haque et al, 1993).

I.7.B.2. Análisis del alimento

Según McDowell et al (1983) y Haque et al (1993), las desventajas del análisis del pasto como elemento diagnóstico para determinar si los aportes minerales son adecuados para el ganado incluyen:

- Falta de certeza de que las muestras representen lo que el ganado consume.
- 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 elemento de diagnóstico en ganado vacuno (McDowell et al, 1983; Underwood, 1983b; Gay et al, 1988; McDowell et al, 1993). En este sentido, Lamand (1970) sitúa el límite de carencia entre 6-7 ppm MS, elevándolo hasta 15-20 ppm MS dependiendo del contenido de molibdeno y sulfato en el pasto; Gay et al (1988) consideran que pastos con concentración menor de 5 ppm de cobre son deficientes en este elemento.

I.7.B.3. 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 en cobre del alimento, aunque la oscilación normal es amplia (Underwood, 1983b); Smart et al (1981) consideran que esta determinación, por si sola, no es totalmente fiable, pudiendo ser engañosa en las siguientes circunstancias:

- 1.- Cuando la concentración de cobre total en el plasma esta afectada por otros minerales tales como el Mo.
- 2.- Cuando la ceruloplasmina, que une el 90% del cobre total del plasma se eleva significativamente durante la inflamación.
- 3.- Las enfermedades que afectan a la síntesis de proteínas, tales como la albúmina y la transferrina, influyen sobre el nivel de ceruloplasmina independientemente del estado de cobre (Xin et al, 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 de tener en cuenta la pérdida de ceruloplasmina y por tanto de cobre durante el proceso de coagulación, defendiendo este autor que el nivel por debajo del cual se consideraría deficiente un animal sería 7,5 $\mu\text{mol/l}$ en suero. Gay et al, (1988) sitúan el límite de carencia entre 0,4-0,7 ppm en suero; Faye y Grillet (1984) y Tanner et al (1988), en 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ y McDowell et al (1993) en concentraciones por debajo de 0,65 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de suero. En cambio Bellanger y Roth (1968), refiriéndose a plasma, señalan como contenido medio de cobre valores de $132 \pm 4\ \mu\text{g}/100\text{ ml}$.

I.7.B.4. Concentración de cobre en los tejidos

Suttle (1986a) estima que el criterio convencional de deficiencia, representado por una baja concentración de cobre en hígado y sangre no es fácil de interpretar, dado que los valores pueden caer por debajo de los niveles aceptados como límites de normalidad en animales sanos.

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 de cobre en sangre (Gay et al, 1988).

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

El hígado se considera uno de los órganos más importantes en el diagnóstico de la deficiencia de cobre (Rosiles y García, 1987), por ser el lugar en el que este elemento se almacena en mayor cantidad (Kirchgeßner y Schwarz, 1982), con un contenido medio de 53 ppm MS (Bellanger y Roth, 1968). McDowell et al (1993) consideran como niveles críticos entre 25-75 ppm, aunque este tipo de determinación raramente se utiliza por ser poco accesible en condiciones prácticas y por la necesidad de realizar

biopsia (Lamand, 1970; Lamand, 1971). Brochart (1975) afirma que, en la rata, el hígado es el único tejido en el que el contenido en cobre está directamente relacionado con la cantidad del elemento administrado, manifestándose esta relación tras cuatro meses de comenzar la suplementación.

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 et al, 1978). 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 (Underwood, 1977a; Gay et al, 1988; Wiercinski y Ciolek, 1988).

I.7.B.5. Actividad enzimática

La ceruloplasmina parece ser un buen indicador del estado nutricional de cobre en vacas y ovejas (Blakley y Hamilton, 1985; Stoszek et al, 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; Kirchgessner et al, 1983). La ceruloplasmina es muy estable y mantiene su actividad en plasma tras varias semanas de congelación (Chacornac et al, 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.

A pesar de todo ello, su determinación no siempre se realiza con facilidad, ya que como ha observado Diez Prieto (1995) instrumentalmente, en ocasiones, provoca variaciones atípicas en los resultados.

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 de cobre, indicando niveles bajos de esta enzima una deficiencia de cobre prolongada e intensa (Suttle y McMurray, 1983).

La actividad de la enzima se encuentra directamente relacionada con la concentración de cobre en plasma en terneros (Xin, 1991a), en ovino (Andrewartha y Caple, 1980; Jones y Suttle, 1981; Woolliams et al, 1986), en ratas (Jones, 1984) y en el hombre (Richard et al, 1991), pero no en ganado equino (Smith et al, 1983).

La determinación de la actividad de la citocromo oxidasa 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 et al, 1983).

I.7.C. Diagnóstico Terapéutico

Según McDowell et al (1983), el método más fiable para confirmar deficiencias minerales es la respuesta derivada de la suplementación mineral específica.

I.8. PROFILAXIS DE LA CARENCIA DE COBRE

Para contrarrestar niveles bajos de cobre o la imposibilidad de su adecuada utilización, se debe aumentar su cantidad en el conjunto de 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 mineral se han encontrado algunos problemas que se resumen a continuación (McDowell et al, 1983):

- Insuficientes análisis químicos y datos biológicos para determinar qué minerales son necesarios y en qué cantidades.
- Ausencia de datos de consumo mineral, 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.

I.8.A. 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 et al, 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.

Para Cappa (1986) el uso de esta práctica no sólo no resuelve el problema sino que puede empeorarlo ya que como los rumiantes sienten una gran apetencia por el cloruro sódico y en los bloques existen otros elementos cuyo consumo no está en relación con sus necesidades, la ingesta de estas sales puede resultar exagerada durante los primeros días, para disminuir gradualmente hasta reducirse a cantidades limitadas.

La deficiencia de cobre en ganado vacuno lechero y en ganado ovino puede ser tratada de forma efectiva con dosis ampliamente espaciadas de partículas de óxido de cobre (Whitelaw et al, 1980; Suttle, 1981b; Whitelaw et al, 1984; Richards et al, 1985; Deland et al, 1986; Rogers y Poole, 1988); estas partículas tienen un efecto más prolongado que los bolos solubles y elevan los valores de cobre en los terneros nacidos de hembras tratadas con este compuesto (Gallagher y Cottrill, 1985). También en ovejas, aunque presenta la desventaja del manejo individual de los animales e incremento en el coste, el tratamiento con este compuesto es más eficaz cuando se administra en forma de partículas que en forma de polvo, dado que las primeras se retienen durante 44 días en el abomaso mientras que en el caso del polvo, se estima que aproximadamente la mitad de la dosis se elimina por las heces en cuatro días (Langlands, 1987; Langlands et al, 1989).

Suttle (1981b) verificó en ovejas que el nivel normal de cobre en plasma se recuperaba más rápidamente, aunque durante menos tiempo, cuando se administraba SO_4Cu que cuando la administración era de óxido de cobre.

En vacas alimentadas con una dieta que contenía exceso de molibdeno Kinkaid et al (1986a) han verificado una mayor biodisponibilidad del elemento en el proteinato de cobre que en el SO_4Cu .

Radostits et al (1994) proponen como tratamiento de la deficiencia, tanto primaria como secundaria, la administración por vía oral de 4 g de SO_4Cu para terneros de 2-6

meses de edad y de 8-10 g para ganado vacuno adulto semanalmente durante 3-5 semanas.

Para Ellis et al (1987), Zervas y Telfer (1987) y Zervas et al (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. El fallo en el mantenimiento de la normocupremia encontrado en ovejas tratadas con bolos de liberación controlada puede deberse al bajo nivel de absorción del cobre en el intestino en la raza Caras Negras y la alta concentración de azufre y molibdeno de la hierba (Allen y Sansom, 1985), o a una liberación insuficiente de cobre en situaciones en las que su biodisponibilidad es baja (exceso de molibdeno y azufre), ya que estos compuestos se formulan para prevenir que se acumule excesiva cantidad del elemento en los tejidos (Langlands, 1987).

La administración de cobre en el agua de bebida es más regular que cuando ésta 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 del elemento (Langlands, 1987).

Humphries (1980) comprobó que suplementando el agua de bebida con 5 mg de Cu/l era suficiente para elevar y mantener niveles normales de cobre en suero en un rebaño con bajas reservas del mismo y Farmer et al (1982) consiguieron, con un nivel de cobre de 2-3 mg/l, mantener normal el nivel de cobre en sangre y evitar la deficiencia secundaria inducida por exceso de molibdeno.

Una de las limitaciones de este método de suplementación es que la deficiencia suele aparecer en animales que consumen pastos jóvenes y beben poca cantidad de agua (Judson et al, 1987).

Smith y Moon (1976) recomiendan la administración de SO_4Cu en el agua de bebida a dosis de 700 mg por día y vaca y Lamand et al (1969) aconsejan el aporte de una solución de SO_4Cu vía oral (4 g de SO_4Cu en 5 litros de H_2O) durante 10 días en bovino adulto.

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

a) Que se produzca la menor reacción posible en el lugar de inyección.

b) El almacenamiento hepático ha de ser satisfactorio (90-100% de la dosis administrada).

c) 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; Oregui, 1993). La cantidad retenida en hígado varía con el tipo de compuesto, así, sólo una pequeña proporción de cobre del metionato de cobre y del óxido de cobre es transferido al hígado, mientras que casi todo el cobre del edrato de calcio y cobre se almacena en ese órgano (Allen y Mallinson, 1984).

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 elemento (Allen y Mallinson, 1984).

El aminoacetato de cobre es muy irritante, el 30% de los animales presentan abscesos en el punto de inoculación y una reacción febril transitoria (Riffard, 1989b).

Los preparados a base de metionato de cobre se caracterizan por producir una marcada reacción en el lugar de inyección, que persiste aproximadamente durante un mes y escasa movilización al lugar de almacenamiento (Mahmoud y Ford, 1981; Suttle, 1981a; Riffard, 1989b).

En vacas lecheras se ha comprobado que la inyección de glicinato de cobre incrementaba la cupremia hasta valores aceptados como normales (0,97 mg/l), pero en dos meses se reducía a 0,64 mg/l (Smith et al, 1975b) debido a que el cobre es secuestrado por el hígado (Bohman et al, 1984).

Aunque la reacción local es una característica no deseada cuando se administra un compuesto inyectable, por la posibilidad de producir una reacción local en la zona Gay et al (1988) consideran que este secuestro del compuesto a nivel local permite una liberación lenta al organismo durante un largo período de tiempo, con la ventaja de proteger frente a un posible efecto tóxico.

El óxido de cobre se administra por vía intramuscular y la inyección no provoca reacción local (Riffard, 1989b). Se han tratado ovejas que pastan en zonas deficientes con 60 mg de este compuesto, quedando protegidas durante dos meses y medio (Lamand, 1978b)

Bohman et al (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 ligera y poco persistente (Mahmoud y Ford, 1981).

Al comparar la eficacia de la administración de metionato y de óxido de cobre respecto al edrato de cobre Allen y Mallinson (1984) han comprobado que este último compuesto administrado vía subcutánea es el más satisfactorio en ovejas y Mahmoud y Ford (1981) recomiendan una dosis de 50 mg de cobre por oveja.

I.8.B. Actuación sobre el suelo y las plantas

Se considera que un buen método profiláctico es la aplicación de 50 kg de SO_4Cu /hect. (hectárea), 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 parece ser que en condiciones secas es suficiente con 1,1 kg SO_4Cu /hect. para impedir la aparición de hipocupremia en vacuno (MacPherson et al, 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 éstas 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 las hojas (Chamel, 1990).

Lamand (1976) ha observado que la digestibilidad del SO_4Cu (16,1%) es superior que la del 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 tras 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 et al, 1986; Langlands, 1987; Riffard, 1989b).

I.9. TOXICIDAD POR COBRE

Existen diversas clasificaciones de la toxicidad inducida por exceso de cobre. Desde un punto de vista general se pueden establecer dos grandes grupos: 1) tiene como origen un aporte excesivo de cobre debido a fenómenos muy diversos, tanto industriales como agrícolas y de manejo y, 2) se origina como consecuencia de un proceso patológico que aumenta la sensibilidad del animal al cobre (Tarazona et al, 1984).

Bostwick (1982) y González (1993) dividen las intoxicaciones por cobre en agudas y crónicas. La forma aguda es atribuida a la acción directa de dosis únicas muy elevadas de sales de cobre, administradas de forma accidental o con fines terapéuticos, 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 et al (1984) proponen las siguientes causas de la intoxicación crónica en ovinos:

- Desequilibrio en la relación cobre-molibdeno.
- Contaminación de los alimentos, de origen industrial o de origen doméstico, como es el caso de las intoxicaciones producidas por tuberías de cobre.
- Pastos que crecen en zonas con suelos ricos en cobre.
- Alteraciones hepáticas que aumentan la afinidad del hígado por el cobre y en general, la sensibilidad de los animales.

Cuando el nivel de molibdeno en la ración es inferior a 0,2 ppm MS un aporte de cobre de 15 mg/kg MS se considera como límite de toxicidad (Lamand, 1991).

La intoxicación fitógena se produce en animales que consumen pastos con concentraciones de cobre entre 8-10 ppm 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, puesto que acumulan una cantidad normal o alta de cobre pero escasa de molibdeno (Bostwick, 1982).

Se han descrito casos de intoxicación por cobre en ganado vacuno alimentado con paja que había sido usada como cama para pollos y cuyo contenido en cobre era de 620

ppm MS, mientras que en sangre se obtuvieron valores de 7,5 ppm y en hígado, de 436 ppm (Banton et al, 1987).

En condiciones normales el ovino es más susceptible que el vacuno a dicha intoxicación, reflejando una menor eficacia de acumulación de cobre en el hígado (Lamand et al, 1973; Roberts, 1976; Soli, 1980; Humphries et al, 1987; Bremner, 1990; Suttle, 1995); esto puede sumarse a la incapacidad que presenta el ganado ovino para aumentar la excreción biliar y urinaria y reducir la concentración del elemento en el organismo (Viejo, 1991; González, 1993; Suttle, 1995), y a diferencias en la capacidad del cobre para inducir la síntesis de metalotioneína (Bremner, 1990).

Estas diferencias entre especies se han detectado también entre ovino y caprino, donde el primero es más susceptible de sufrir intoxicación por cobre (Suttle, 1995). Zervas et al (1990) comprobaron que la concentración de cobre en suero se elevaba en corderos que recibían 30 ó 60 mg Cu/kg MS, mientras que en las cabras, la concentración era normal durante todo el período experimental. Humphries et al (1987) encontraron una susceptibilidad similar a la intoxicación cúprica en ovejas y cabras y Woolliams et al (1982) y Suttle (1995) citan una mayor susceptibilidad al padecimiento de este tipo de intoxicación en la raza ovina Suffolk que en la Blackface debido a la diferente retención del cobre consumido.

La edad influye sobre la susceptibilidad a la intoxicación por cobre, siendo más fácil que ocurra en los animales jóvenes (Wolter, 1975; Roberts, 1976) dado que la absorción del oligoelemento se realiza con mayor eficacia en éstos. Se citan niveles de absorción en corderos lactantes entre 40-80% del cobre ingerido, mientras que en animales adultos sólo se absorbe en torno al 10% (Soli, 1980; González, 1993).

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 elemento a la sangre con hemólisis intensa; la mayoría de los animales mueren poco después de comenzar la ictericia (Church et al, 1974; Lamand, 1991). El desarrollo de la enfermedad y principalmente la fase sintomática de la misma se debe a un conjunto de factores entre los que puede señalarse un incremento de la permeabilidad celular de los eritrocitos originado, al menos en parte, por la afinidad del cobre por los grupos sulfhidrilo (SH) de las membranas que conduce a la lisis celular (Tarazona et al, 1984); asimismo el cobre disminuye rápida y marcadamente la habilidad del eritrocito para deformarse, y este fenómeno podría originar la rotura del hematíe al atravesar las zonas de muy pequeño calibre de las microcirculaciones hepática y sobre todo esplénica (Adams et al, 1979). También se rompen los lisosomas de los hepatocitos, debido al exceso de cobre acumulado en su interior, con la

consiguiente liberación de hidrolasas al citoplasma que originan degeneración y necrosis de los mismos (González, 1993).

El cuadro patológico desarrollado por los animales puede resumirse de la siguiente forma:

decaimiento, anorexia, sed intensa, diarrea verdosa, dolor abdominal, hemoglobinuria, ictericia generalizada, riñones hinchados, presencia de líquido marrón en la cavidad abdominal, temperatura corporal de 40 °C con muerte súbita a los tres días de la presentación del cuadro patológico (Church et al, 1974; Soli y Nafstad, 1976; Bostwick, 1982; Tarazona et al, 1984; Viejo, 1991).

Al realizar la necropsia se observa el tinte icterico de toda la canal, hígado hipertrofiado con color de hoja seca y necrosis hepática (Lengronne y Legardinier, 1983; González, 1993).

Estudios histoquímicos revelaron que la acumulación inicial y más marcada de cobre tiene lugar dentro de los hepatocitos de la zona centrolobular (Viejo, 1991).

La administración intravenosa de tetratiomolibdato amónico es una medida efectiva para el tratamiento de la fase aguda de la intoxicación por cobre en ovejas ya que reduce el 65% del cobre plasmático (Humphries et al, 1986; Gooneratne et al, 1989).

Humphries et al (1987) y Humphries et al (1988) trataron de forma efectiva la intoxicación por cobre en cabras y ovejas mediante la inyección subcutánea de tetratiomolibdato amónico, administrando tres dosis de 3,4 mg/kg de peso vivo en días alternos en el caso de las ovejas; este tratamiento reduce significativamente el contenido de cobre hepático y el daño hepático y también disminuye la mortalidad media en animales que han desarrollado la crisis hemolítica. Los tiomolibdatos constituyen ligandos que alteran la distribución del cobre en los tejidos y causan una disminución del elemento (Mason et al, 1988).

La intoxicación por cobre también se puede prevenir mediante la administración de dietas ricas en proteína (18-19%), las cuales actúan mediante la liberación de iones sulfato y molibdeno asociados a las mismas (González, 1993).

II. Cinc

II.1. METABOLISMO

II.1.A. Absorción

II.1.A.1. Lugar de absorción

En el ganado bovino el cinc se absorbe principalmente en el abomaso y en el intestino delgado, mientras que en el ciego la absorción de este elemento es despreciable (Miller y Cragle, 1965; Miller, 1970; Underwood, 1977b).

En terneros, Hampton et al (1976) utilizaron ^{65}Zn para determinar los lugares de máxima absorción del elemento a lo largo del intestino delgado, encontrando que ésta era similar en toda su longitud, mientras que en el intestino grueso sólo se absorbía alrededor del 2% de la cantidad total. Jain y Atreja (1990), utilizando también este isótopo, estimaron que la absorción más importante en cabras se producía en la parte media del intestino delgado seguida del duodeno e íleon y en menor proporción en el intestino grueso, produciéndose también una absorción considerable en el rumen.

En la mayoría de los monogástricos el cinc se absorbe principalmente en el duodeno, yeyuno e íleon y una pequeña cantidad en el estómago (Keen y Graham, 1989). En la rata (Campen y Mitchell, 1965; Underwood, 1977b; Seal y Heaton, 1983) y en el perro (Naveh et al, 1988) la absorción de cinc en el duodeno es superior que en yeyuno e íleon.

II.1.A.2. Mecanismo de absorción

Evans (1976) propone el siguiente mecanismo para explicar la absorción de cinc: el páncreas secreta un factor a la luz intestinal que se une al cinc y lo transporta al interior de la célula intestinal, posteriormente el cinc es transferido a los lugares de unión en la membrana de los vasos sanguíneos donde la apotransferrina capta el cinc y la transferrina lo transporta a través de la sangre portal al hígado, donde se incorpora a la albúmina y a otras proteínas. El factor pancreático se encontró en la mucosa del intestino y en páncreas de ratas y en secreciones pancreáticas de perros (Underwood, 1977b). Los resultados obtenidos por Davies (1980) en rata no parecen estar de acuerdo con esta teoría, ya que al administrar diferentes dosis de cinc (1-50 μg), la absorción excede a la media de unión del cinc con este factor pancreático. Dentro de los enterocitos el cinc absorbido se localiza en gran parte en el citosol asociado a proteínas de alto peso molecular y metalotioneína (Keen y Graham, 1989). En rumiantes el nivel de cinc unido a la metalotioneína en varias partes del tracto

digestivo, se relaciona con la cantidad absorbida, de tal manera que cuando la síntesis de esta proteína es inhibida, se deprime la absorción del elemento (Whanger et al, 1981).

En ratas Jackson et al (1981) han observado que tras la administración de una dieta carente en cinc el nivel de absorción del elemento es del 90%, mientras que con una dieta adecuada en este elemento ésta se reduce al 60%.

II.1.A.3. Factores fisiológicos que afectan a la absorción

El porcentaje de cinc absorbido disminuye con la edad (Favier, 1990), así en terneros de una semana es del 55%, en animales de 5-12 meses de edad es del 20% y en individuos adultos es aproximadamente del 12% (Miller y Cragle, 1965). Kirchgessner et al (1993) proponen que la disminución de la absorción de este elemento tras el destete se debe a un incremento del alimento ingerido por lo que reducen la absorción media como mecanismo de regulación, con el fin de mantener el equilibrio homeostático.

En animales gestantes la absorción aumenta aún cuando el contenido de cinc en la ración permanezca constante (Favier, 1990; Kirchgessner, 1993). La cantidad de cinc retenido en este estado es superior a las necesidades para el desarrollo fetal, a fin de crear un excedente que es utilizado en la siguiente lactación (Kirchgessner et al, 1993).

Durante la gestación se retienen cantidades importantes de cinc en el organismo debido a la actividad anabólica que se produce durante este período, ya que en general los procesos anabólicos determinan un aumento de la retención de cinc en el organismo, mientras que los procesos catabólicos causan disminución de este contenido (Reichlmayr y Kirchgessner, 1988).

El proceso de malabsorción hereditaria se ha detectado por primera vez en bovinos de Escocia por MacPherson et al (1964). Se trata de una enfermedad autosómica recesiva y el factor letal (A46) sólo se manifiesta en individuos homocigóticos (Andresen et al, 1974).

Se demostró que el principal factor en la aparición de paraqueratosis hereditaria era una alteración en el mecanismo de absorción de cinc a nivel intestinal y que la respuesta a la administración oral del elemento se podía explicar por un mecanismo de difusión sin que interviniesen mecanismos de transporte activo (Flagstad, 1976; Flagstad, 1977). Este proceso fue diagnosticado en España por García Partida (1966) en una granja de los alrededores de Madrid.

II.1.A.4. Factores nutricionales que modifican la absorción

El porcentaje de cinc absorbido varía en respuesta a muchos factores, siendo la concentración del mismo en el alimento el que más influye (Miller, 1979; Favier, 1990), así, el porcentaje de cinc absorbido es mayor cuanto menor sea el contenido de cinc en el alimento (Neathery et al, 1973b; Neathery et al, 1973c; NRC, 1978; Miller et al, 1993) y disminuye cuando se incrementa el nivel de cinc en la dieta (Martinsson y Ekman, 1976). En vacuno se citan porcentajes de absorción hasta del 80% del cinc contenido en la dieta cuando ésta es baja en este elemento (Miller, 1970).

Tras un período de carencia la suplementación con cinc desencadena una mayor absorción en terneros (Miller et al, 1967a; Miller et al, 1968a). Los animales deficientes pueden absorber y retener más cinc cuando los tejidos están necesitados (Church et al, 1974).

En un trabajo realizado por Stake et al (1975) se observó que la absorción de ^{65}Zn disminuía rápidamente lo que indicaba una rápida adaptación homeostática debida a la suplementación con 600 ppm del elemento. Esta adaptación también se producía en caso de deficiencia, aumentando la absorción, movilizándose las reservas corporales y disminuyendo la excreción (Reichlmayr y Kirchgessner, 1988).

El tipo de compuesto ingerido es un factor importante que afecta a la absorción. Los compuestos en los que el cinc está unido a aminoácidos son de fácil absorción, mientras que los complejos orgánicos (fumarato de cinc) y las sales inorgánicas poco solubles lo son menos (Kirchgessner et al, 1993). Nockels et al (1993), en terneros, no encontraron diferencia en la absorción del elemento al administrar sulfato de cinc o metionato de cinc y Spears (1989), en corderos, tampoco la encontró entre el óxido de cinc y metionato de cinc.

El óxido de cinc y el sulfato de cinc se utilizan de forma más eficaz que el sulfuro (Hays y Swenson, 1977).

Según Hill y Miller (1983), en cerdos, el cinc del carbonato de cinc se encuentra más disponible que el del óxido de cinc, mientras que Seal y Heaton (1983) observaron que en ratas la absorción duodenal de este elemento sigue esta secuencia en orden decreciente: sulfato de cinc, cloruro de cinc y fosfato de cinc.

La digestibilidad y retención del cinc contenido en forrajes pajosos y en henos secados en malas condiciones meteorológicas es menor que en aquellos tratados de forma adecuada (Lamand et al, 1977).

Kennedy y Bunting (1991) encuentran una disminución de la absorción de cinc cuando incrementan la relación concentrado-forraje, relacionándolo con un cambio del pH ruminal y con la acumulación de cinc por las bacterias.

La absorción de cinc disminuye ligeramente en vacas a las que se les administra plomo en la dieta (White et al, 1985).

Flagstad (1977) atribuye el incremento de la absorción de cinc, en terneros tratados con oxiquinolinas vía oral, a que estos compuestos quelan el cinc y lo transportan a través de la barrera intestinal.

Lamand (1985) observó en ovejas que elevando el nivel de cinc de 11,7 a 300 mg Zn/kg se inducía un incremento de su contenido en plasma en todos los animales tratados, independientemente del nivel de proteína de la dieta. Sin embargo en animales en crecimiento, la restauración del nivel de cinc en el plasma se producía cuando el incremento de cinc en la dieta era de 50 a 150 mg Zn/kg MS y el nivel de proteína ingerido era el adecuado para cubrir las necesidades de los animales.

Evans y Johnson (1980) verificaron que la absorción diaria de cinc era menor en ratas alimentadas con una dieta baja en proteína (5% de caseína) que las suplementadas con triptófano o ácido picolínico, sin embargo en ovejas, el ácido picolínico no permitía aumentar la absorción de cinc (Ivan y Lamand, 1981). Se puede concluir que el nivel de proteínas de la dieta influye en la absorción de cinc, así las proteínas de soja disminuyen la biodisponibilidad del elemento y este efecto se acentúa cuando se aumentan los aportes de calcio en la dieta (Favier, 1990).

La monensina, antibiótico con efecto anticoccidiósico (Roberson, 1987), administrada en la dieta parece incrementar la absorción y la retención del cinc en un 50% y un 45% respectivamente; además se ha verificado un descenso del elemento a nivel del fluido ruminal ya que la monensina favorece el paso de iones a través de las membranas celulares (Kirk et al, 1985).

II.1.B. Transporte y distribución

El cinc absorbido se une primariamente a la albúmina y un pequeño porcentaje forma complejos con los aminoácidos; el elemento unido a la albúmina es transportado al hígado (Keen y Graham, 1989) interviniendo en este proceso la transferrina, lo que fue demostrado por Evans (1976) utilizando ^{65}Zn .

Una vez absorbido el cinc es llevado a distintos tejidos. El elemento unido a los huesos y el que se fija al sistema nervioso central se almacena durante largos períodos de tiempo, sin embargo el que se fija al pelo no se encuentra disponible para los tejidos y sólo se pierde cuando el pelo muda. Los órganos de más rápida acumulación y

recambio de cinc en rumiantes son el hígado, el páncreas, el riñón y el bazo (Underwood, 1977b).

El órgano más importante involucrado en el metabolismo del cinc es el hígado. El citosol de las células hepáticas de rumiantes contiene componentes ligadores de cinc de diferente peso molecular y labilidad y la proporción de los mismos varía con la concentración del elemento en el animal (Underwood, 1977b). Dentro del hepatocito el cinc se encuentra aproximadamente en un 50% en el citosol, con una considerable proporción asociada a la metalotioneína (Keen y Graham, 1989).

II.1.C. Excreción

La homeostasis del cinc en rumiantes se regula por la excreción intestinal del mismo, al producirse una mayor eliminación del ^{65}Zn endógeno en animales que reciben una dieta con un contenido adecuado (46 ppm) que en animales a los que se administra una dieta deficiente en este elemento (6 ppm) (Miller et al, 1966b; Miller et al, 1967a); estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Neathery et al (1973c) y Miller (1979) en ganado bovino y con los de Evans et al (1979) quienes afirman que la homeostasis del cinc en ratas se debe más al control de la eliminación intestinal que a la regulación de la absorción.

Haenlein (1980) comprobó que la excreción de cinc por las heces era de un 88% de la cantidad administrada, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Miller y Cragle (1965) quienes comprobaron que la excreción fecal de ^{65}Zn en terneras era del 72% y en vacas, del 86%, aumentando este porcentaje a medida que aumenta la concentración del elemento en la dieta (Jenkins e Hidioglou, 1991). El cinc excretado por esta vía proviene del cinc no absorbido por la mucosa intestinal, del eliminado por el jugo pancreático (representando éste alrededor de una cuarta parte del cinc endógeno total perdido en terneros), de la bilis y de la descamación del intestino delgado (Miller, 1970; Hays y Swenson, 1973; Underwood, 1977b).

Hiers et al (1968b) han utilizado ^{65}Zn para estudiar la excreción endógena de cinc, observando que ésta se producía en el rumen y en el retículo, seguida de una reabsorción variable en el abomaso; asimismo se excretaban cantidades importantes del isótopo en la parte anterior del intestino delgado, con posterior reabsorción a lo largo del mismo. La excreción tanto fecal (Miller et al, 1967a; Miller et al, 1968a; Johnson et al, 1988) como láctea (Neathery et al, 1973c) en vacas que consumían una dieta baja en este elemento, era menor que en animales que recibían una cantidad adecuada del mismo.

Jaw y Jeffery (1988) atribuyen la reducción de la excreción biliar de cinc en ratas alimentadas con una dieta con alto contenido en este elemento al secuestro del mismo por la metalotioneína, quedando menor cantidad de metal libre para ser excretado.

El nivel de cinc de la dieta no afecta "per se" a la excreción urinaria en animales normales (Miller et al, 1966b; Conde Moreira, 1991); esta eliminación por orina representa una media inferior al 0,2% del cinc administrado diariamente (Miller y Cragle, 1965), tendiendo a aumentar en cabras y vacas deficientes, posiblemente debido a una alteración patológica causada por la deficiencia (Miller et al, 1966b). En caso de estrés disminuye la excreción en terneros como consecuencia del incremento de la síntesis de metalotioneína en el riñón (Nockels et al, 1993).

Ivan y Lamand (1981) demostraron que la perfusión de ácido picolínico intrarruminal incrementa la excreción urinaria del elemento, no permitiendo modificar la absorción de cinc en los rumiantes. Asimismo, la administración de cinc con determinados agentes quelantes como el EDTA incrementa la excreción urinaria del mismo (Hays y Swenson, 1977).

II.2. CONCENTRACIONES DE CINC EN TEJIDOS Y LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

II.2.A. Distribución en el organismo

En la especie humana el cinc es un elemento intracelular y sólo 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% del mismo (Thompson, 1991). En animales los lugares más importantes de depósito son el pelo, la lana y las plumas (Underwood, 1977b, Alonso de Vega, 1984; Rejas López, 1990), al igual que los ojos, los testículos, la próstata, el hígado y el páncreas (Kirchgessner et al, 1993).

En el ganado vacuno la mayor concentración se encuentra en el páncreas, seguido del hígado, glándula pituitaria, riñones y glándulas adrenales (Church et al, 1974), mientras que Rejas López (1990) afirma que en pollos, el fémur es uno de los órganos más ricos en cinc.

Este elemento se acumula en un porcentaje muy bajo de forma que la cantidad disponible en situación de carencia es muy pequeña (Stöber, 1983), ya que como han demostrado Dreosti et al (1968) en la rata, los depósitos no son movilizados para atender al incremento de la demanda por parte del animal.

Los mamíferos recién nacidos no tienen concentraciones tan elevadas de cinc corporal como los animales maduros de la misma especie, elevándose éstas durante el período de lactación (Underwood, 1977b).

Miller et al (1967a) han comprobado que los tejidos de cabras y terneros deficientes en cinc retenían este elemento más eficazmente que animales que recibían dietas con un contenido adecuado.

II.2.B. Sangre

En la especie humana los eritrocitos contienen una cantidad importante de este oligoelemento, relacionada con la anhidrasa carbónica (Thompson, 1991). En un experimento realizado por Milne et al (1985) no se modificó el contenido de cinc en plaquetas, leucocitos mononucleares, polimorfonucleares ni tampoco en los eritrocitos, en los individuos que recibían suplemento mineral respecto a los que no lo recibían. En esta especie se ha puesto de manifiesto la existencia de una mayor concentración de cinc (16%) en el suero que en el plasma, probablemente debido a la destrucción de elementos celulares durante la coagulación. La concentración media de cinc en el suero de personas sanas es de 115 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, mientras que en plasma es de 97 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (Foley et al, 1968).

En ganado vacuno los niveles normales de cinc en plasma están comprendidos entre 0,8-1,2 mg/l, situándose el límite de carencia en 0,7 mg/l (Stöber, 1983; Lamand, 1987). En bovinos adultos Swadogo et al (1988) dan un valor medio de $0,93 \pm 0,02$ mg/l, encontrando Spais y Papasteriadis (1974), para la misma especie, manifestaciones clínicas ligeras con una concentración de cinc en plasma comprendida entre 60-100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, mientras que con valores entre 40-60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ los animales presentan una deficiencia grave, concluyendo estos autores que niveles inferiores a 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ de cinc en plasma se encuentran por debajo del límite considerado como normal. Ghosal y Mathur (1992) estiman que una concentración de 40 mg/100 ml de suero es indicativo de subcarencia.

En un estudio realizado en Chile sobre un total de 1.073 muestras de suero bovino, la concentración media encontrada fue de 0,98 ppm con valores entre 0,68 y 1,30 ppm, las concentraciones más bajas se presentaron en las vacas con menos de 4 meses de lactación (0,92 ppm). Se observó que el 19% de los animales presentaba concentraciones de cinc inferiores a 0,80 ppm, considerando este valor como el mínimo de referencia (Wittwer et al, 1988).

Friot y Calvet (1973) encontraron en suero de ganado vacuno de Senegal un contenido de cinc que oscilaba entre 1,04-2,23 mg/l.

En ganado vacuno de Hawái, Irwin et al (1979) encontraron una concentración media de cinc en suero muy elevada (3,72 ppm) sin poder explicar la causa de este hecho.

Alonso de Vega (1984) refiere valores de cinc en suero ovino de $1,9 \pm 0,03$ ppm en animales que recibían una dieta con 60 ppm de cinc, mientras que aquellos que recibían una dieta carente (20 ppm) tenían un valor de $1,5 \pm 0,02$ ppm.

Los valores dados como normales por Caro (1989) en perro oscilan entre 0,45 y 0,85 ppm y entre 0,9 y 1,8 ppm según Somboro (1995).

II.2.B.1. Factores de variación

En la especie bovina la concentración plasmática de cinc se reduce con la edad (Friot y Calvet, 1973; Sawadogo et al, 1988), habiendo encontrado algunos autores valores hasta 3,2 veces superiores en animales adultos que en jóvenes (Wittwer et al, 1990); Rico et al (1976) encontraron en corderos de un mes y medio una concentración plasmática de 1,5 ppm de cinc mientras que en animales de tres meses ésta descendía hasta 0,9 ppm. Cymbaluk et al (1986) observaron que la concentración plasmática de cinc en potros recién nacidos de una raza estándar era un 30-80% más alto que para caballos de un año y caballos adultos, sin embargo, no encontraron diferencia en la concentración plasmática de cinc entre potros recién nacidos de razas de tiro y sus madres.

En el caso de los perros no existe unanimidad en cuanto a los niveles de cinc en sangre con respecto a la edad, así, Keen et al (1981a) comprobaron que la concentración de este elemento en suero se incrementaba un 20% con la edad hasta los 7,5 años, momento en el que comenzaba a disminuir, mientras que Caro (1989) realizó un estudio en perros de diferentes edades, concluyendo que no era posible establecer correlación entre la cincemia y la edad de los animales.

En razas rústicas bovinas del noroeste español Hernández (1992) encontró niveles elevados de cinc en suero relacionándolos con un contenido elevado del elemento en la dieta.

La raza es asimismo un factor importante en el momento de valorar e interpretar la concentración de cinc en el plasma de équidos; así, Cymbaluk et al (1986) observaron que ésta era un 22% más alta en caballos de tiro que en otras razas.

En relación con el sexo existen discrepancias en cuanto a su efecto sobre la cincemia; Friot y Calvet (1973) no encontraron diferencias en la concentración sérica de cinc en ganado vacuno de distinto sexo, mientras que en équidos, Santamarina Pernas et al (1994b) citan un contenido de cinc más elevado en yeguas que en machos. Las perras

presentan una cincemia significativamente más elevada que los machos de su especie (Gerald y Fisher, 1977; Caro, 1989).

Se sabe que al elevar el nivel de cinc en la dieta se incrementa la cincemia en ganado bovino (Miller et al, 1967b; Underwood, 1977b; Neathery et al, 1973a; Wittwer et al, 1990; Hernández Bermúdez, 1992; Alonso de la Varga et al, 1994), en porcino (Hill y Miller, 1983), en ovino (Masters y Moir, 1983; García Partida et al, 1985a) y en pollos (Rejas López, 1990; Rejas López, 1991).

En otros casos no se observa variación de los niveles de cinc en el plasma de vacuno tras suplementar la dieta con este elemento (Miller et al, 1963a; Price y Humphries, 1980), ya que la variación en la concentración de cinc en el suero de las vacas no es consecuencia únicamente del contenido de este elemento en la dieta, afirmando Wiercinski y Ciolek (1990) que este valor no refleja el contenido del elemento en el alimento.

Se ha demostrado en ganado vacuno (Miller y Miller 1960; Wittwer et al, 1990), ovino (Underwood, 1977b; Darmono et al, 1988), primates (Swenerton y Hurley, 1980), rata (Dreosti et al, 1968; Duncan y Hurley, 1978; Hickory et al, 1979; Lowe et al, 1991), cerdos (Kalinowski y Chavez, 1986) y pollos (O'Dell et al, 1990) que la cincemia empieza a caer pocos días después de la administración continuada de una dieta deficiente en cinc.

En el ganado vacuno y en las proximidades del parto el contenido de cinc plasmático disminuye sobre todo en aquellos animales que sufren una distocia (Underwood, 1977b; Hidiroglou, 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 del elemento en el hígado (Xin et al, 1993), elevándose la cincemia una vez que se ha producido el mismo (Dufty et al, 1977; Lavín González et al, 1988; Stabel y Goff, 1990).

Contrariamente a lo que acabamos de exponer, Benedito et al (1993) han descrito en vacas pertenecientes a la Agrupación Racial Morenas del Noroeste cifras de cinc sérico superiores durante la gestación que durante la lactación.

La administración de una dieta deficiente en cinc a cerdas, ha supuesto una reducción de la concentración de cinc en plasma entre los 100 y 113 días de gestación y entre los 7 y 14 días de lactación, siendo la diferencia sólo significativa durante los días de lactación (Kalinowski y Chavez, 1984).

No se han señalado diferencias significativas en la concentración plasmática de cinc entre yeguas preñadas (0,46-1,01 $\mu\text{g/ml}$) y no preñadas (0,51-1,19 $\mu\text{g/ml}$) (Auer et al, 1988).

Se ha verificado en plasma de gallinas ponedoras una concentración de cinc 2-3 veces superior a la hallada en pollos inmaduros de ambos sexos y en gallinas de la misma edad que no ponían y que no tenían folículos ováricos desarrollados, sin embargo, en gallinas que no ponían pero sus ovarios tenían varios folículos en diferentes estados de desarrollo, la concentración de cinc en plasma era más alta que en gallinas que ponían normalmente, concluyendo que el contenido del elemento en plasma de gallinas sexualmente maduras dependía de la actividad funcional del ovario (Panic et al, 1974).

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

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

La administración de leche con *Salmonella dublin* produce, en las terneras, una reducción de la concentración de cinc en el plasma (Groothuis et al, 1981), al igual que en animales a los que se les administran toxinas de *Escherichia coli*; este proceso parece estar asociado con ligero incremento de la temperatura y con la presencia de mediadores liberados por leucocitos activados (Depelchin et al, 1985).

Orr et al (1984) estudiaron el comportamiento del cinc sérico en ganado vacuno al que trasladaban y posteriormente infectaban experimentalmente con el virus del IBR, encontrando una disminución de la concentración del elemento, que se asoció con el cambio de alimentación y con el estrés de la infección, pero al comparar estos animales con los pertenecientes a un grupo testigo sin infección se vio que la disminución del cinc se mantenía a pesar de restaurar el régimen alimenticio, por lo que se concluye que quizás debido al incremento del catabolismo proteico, causado por el estrés, se liberan aminoácidos que uniéndose al cinc van a facilitar su filtración y posterior eliminación a nivel renal (Orr et al, 1990).

En esta línea se encuentran los estudios realizados por Nockels et al (1993) que provocaron estrés en terneros mediante la administración de hormona adrenocorticotropa; observaron que durante el período de administración de la hormona se incrementaba la concentración sérica de cinc, justificando este hecho por la liberación del elemento que se producía durante el catabolismo muscular; tras este período de estrés, aunque los animales se suplementaban con cinc se producía un

descenso del mismo en el suero, debido al incremento de la síntesis de metalotioneína que se producía en el hígado y en el intestino durante la fase aguda del estrés, con la consiguiente acumulación del elemento en ambos tejidos.

Osman et al (1984) observaron que ovejas infestadas con *Schistosoma bovis* presentaban una alta concentración de cinc en el suero y baja actividad de la fosfatasa alcalina respecto a los animales control.

En caballos a los que se había producido una inflamación experimental Auer et al (1989) encontraron una reducción de la concentración de cinc en plasma, debido al secuestro del mismo por la metalotioneína hepática.

Los niveles de cinc en suero disminuyen en perros con alteraciones hepáticas e hipotiroidismo (Gerald y Fisher, 1977); en caso de dermatosis que responden al tratamiento con cinc se reduce este elemento en plasma (Broek y Stafford, 1988) y también en caso de fracturas óseas, debido a la reducción de cinc ligado a la albúmina (Begliomini et al, 1980). En perros Beagle con insuficiencia renal crónica experimental no se encontró variación en la concentración plasmática de cinc (Somboro, 1995), no siendo necesario suplementar con este elemento la dieta de estos animales durante este proceso (Diez Prieto et al, 1995).

En pacientes humanos con insuficiencia renal crónica (Tsukamoto et al, 1980), con tumores malignos y con enfermedades hepáticas (Underwood, 1977b), así como en pacientes urémicos dializados (Marumo et al, 1984; Richard et al, 1991), se ha encontrado una concentración plasmática de cinc significativamente más baja que en individuos normales. La menor concentración de cinc en el plasma de pacientes humanos con cirrosis alcohólica se explica en parte por la ausencia del oligoelemento en la dieta, por los vómitos, la diarrea y el síndrome de malabsorción que conlleva el alcoholismo (Sullivan et al, 1979).

La influencia de la estación parece estar relacionada con el contenido del elemento en el alimento que reciben los animales. Ghosal y Mathur (1992) encuentran en ganado vacuno y ovino una concentración de cinc sérico superior en el otoño en el invierno respecto a la primavera y el verano, mientras que Mehta y Gangwar (1984) refieren niveles de cinc más elevados en el plasma de búfalos en la primavera y Sawadogo et al (1988) encuentran en cebúes valores ligeramente superiores en verano que en primavera.

Keen et al (1981a) encontraron una correlación positiva entre los niveles de cinc en suero de perros y la temperatura ambiente, mientras que Caro (1989) obtuvo en esta misma especie los valores más bajos en el mes de mayo y los más altos en febrero.

II.2.C. Pelo

El contenido de cinc en el pelo bovino es homogéneo oscilando entre 100 y 200 $\mu\text{g/g}$ MS, independientemente de cual sea el color y atribuyéndose las diferencias encontradas entre pelo negro y blanco en algunos rebaños a influencias raciales (Hall et al, 1971; Nougues y Lamand, 1972; Underwood, 1977b), Stöber (1983) sitúa el nivel de cinc en pelo entre 90-140 ppm MS, Carcagno et al (1993) en novillos de raza Aberdeen Angus sanos cita valores entre 66-174 $\mu\text{g/g}$ MS, Fidalgo et al (1988) verificaron un nivel medio de 212,91 ppm de cinc en pelo de raza Frisona e Hidiroglou y Spurr (1975) encontraron valores de 110 ppm MS en raza Shorthorn.

El nivel de cinc normal encontrado en pelo de búfalos sanos es de $78,36 \pm 8,68$ ppm MS (Randhawa et al, 1994).

Wang et al (1985) obtienen en pelo de cerdos valores que oscilan entre 116-330 ppm MS.

En perros Somboro cita concentraciones entre 73 y 356 ppm MS.

La concentración media de cinc en pluma de pollos registrada por Rejas López (1990) fue de 3.111,40 nmol/g MS.

II.2.C.1. Factores que afectan a la concentración de cinc en el pelo

El incremento del contenido de cinc en la dieta se manifiesta por un aumento de la concentración del elemento en el pelo (Miller et al, 1965b; Hidiroglou y Spurr, 1975) por lo cual la determinación de la concentración de cinc en este tejido refleja, de forma más representativa que en otros, la cantidad ingerida; este hecho se ha comprobado en diferentes especies como bóvidos (Miller et al, 1966a; Hidiroglou y Spurr, 1975), ratas, cerdos y cabras (Underwood, 1977b) y primates (Swenerton y Hurley, 1980).

Alonso de Vega (1984) en la lana de ovejas encontró niveles medios de cinc de $119 \pm 1,4$ ppm MS y $95,7 \pm 3,06$ ppm MS, en animales testigo y carentes respectivamente; en esta misma especie Göksoy et al (1986) obtuvieron valores de $87,53 \pm 4,75$ ppm MS en animales testigo y $58,12 \pm 3,31$ ppm MS en individuos carentes, mientras que en los suplementados el nivel era de $108,19 \pm 7,31$ ppm, de tal forma que se comprobó una influencia clara del nivel de cinc en la dieta sobre el contenido del elemento en este tejido. White et al (1994) no encontraron relación entre el contenido de cinc en la lana y en la dieta cuando la concentración del elemento estaba comprendida entre 10-27 mg/kg y sólo cuando ésta era suficientemente baja para causar cambios histológicos en la fibra lanosa (4 mg/kg) la concentración de cinc en la lana disminuía.

Otros autores no encontraron relación entre la concentración de este oligoelemento en el pelo y el alimento (Hornshaw et al, 1985; Wiercinski y Ciolek, 1990).

En plumas de pollos que recibían una dieta suplementada con cinc, se ha encontrado una concentración significativamente superior de cinc (3.847,33 nmol/g MF), respecto a aquellos animales que consumían una dieta deficiente (2.451,60 nmol/g MF) (Rejas López, 1991).

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 (Underwood, 1977b; Tokarnia et al, 1988), con valores en esta estación comprendidos entre 20-30 ppm y en verano entre 40-60 ppm, considerándose adecuadas 50 ppm (Hidiroglou y Spurr, 1975).

Hall et al (1971) verificaron en ganado bovino una diferencia significativa en la concentración de cinc en pelo entre enero (117 ppm) y julio (104 ppm), sin embargo, O'Mary et al (1969) no encontraron variaciones estacionales del contenido de cinc en el pelo.

Parece ser que la temperatura no tiene efecto sobre este parámetro y así Hidiroglou y Spurr (1975) no encontraron diferencias significativas entre el grupo de bueyes de raza Shorthorn que permanecía estabulado durante el invierno y el grupo no estabulado.

No existe unanimidad sobre la influencia del color sobre la concentración de cinc en el pelo, así, mientras Miller et al (1965b) encuentran diferencias significativas entre pelo negro y blanco (124,1 y 112,2 ppm MS) de raza Frisona, otros investigadores obtienen resultados similares en pelo de diferente color (Hall et al, 1971; Nougues y Lamand, 1972; Combs et al, 1982).

El papel que juega la edad en la concentración de cinc en el pelo de los animales no está suficientemente aclarado (Combs et al, 1982). Miller et al (1965b) encontraron en ganado bovino de cinco meses mayor concentración de cinc en el pelo que en animales adultos, aunque los dos grupos no recibían la misma dieta, factor que podría influir en esta diferencia y Martin et al (1969) obtuvieron en terneros de cuatro meses niveles superiores a los de animales de seis meses (133 y 118 ppm MS), mientras que O'Mary et al (1969) no refieren diferencias significativas en el contenido de cinc en el pelo en vacuno de distintas edades.

II.2.D. Leche

La concentración de cinc en la leche se ve afectada por la especie animal, estado de lactación, cantidad de cinc en la dieta y condiciones de almacenamiento (Murthy et al, 1972; Underwood, 1983a; Wittwer et al, 1988; Flynn, 1992).

Los valores normales en el ganado vacuno oscilan entre 2 y 6 $\mu\text{g/ml}$ (Parkash y Jenness, 1967; Murthy et al, 1972; Underwood, 1977b; Thomas, 1983; Wittwer et al, 1988; Flynn, 1992). Wiesner (1968) encuentra en leche de vaca un contenido medio de 3,32 mg Zn/l, mientras que García Olmedo et al (1980) cita en leche de cabra un valor medio de 0,38 mg/l.

En cuanto a la distribución del cinc en la leche de vaca, se sabe que la mayoría se encuentra en la nata y sólo 1% en la fracción grasa. Del cinc contenido en la nata un 95% está unido a micelas de caseína, con una pequeña proporción asociada a un compuesto de bajo peso molecular que ha sido identificado como citrato. Dentro de las micelas de caseína un tercio se encuentra unido laxamente a residuos de fosfoserina y dos tercios se unen firmemente con el fosfato cálcico (Flynn, 1992). La caseína bovina es más fosforilada que la humana, tiene mayor capacidad para unir cationes divalentes (Kincaid y Cronrath, 1992) y su coagulación produce un cuajo que retiene cinc lo que explica la baja biodisponibilidad del elemento en la leche bovina (West, 1986).

II.2.D.1. Factores de variación

Se ha visto que el nivel de cinc en la dieta no afectaba significativamente a la producción de leche en vacuno (Miller et al, 1965b; Neathery et al, 1973a). La suplementación con el elemento aumentaba el contenido del mismo en la leche (Flynn, 1992), sin embargo, el aumento progresivo de cinc en la dieta disminuía este efecto, así concentraciones más altas de este oligoelemento en la dieta, 2.000 ppm, implicaban menos cinc en la leche que cuando el alimento contenía 1.000 ppm (Miller et al, 1965b).

Por otro lado se ha encontrado que vacas en período de lactación (Neathery et al, 1973b) y cerdas alimentadas con una dieta baja en cinc (Kalinowski y Chavez, 1986), presentaban una reducción del contenido de este elemento en la leche.

La leche procedente de cuarterones con mamitis tiene menor concentración de cinc que la leche normal, debido a dos causas (Verheijden et al, 1983), por un lado a la disminución de la concentración del elemento en el plasma y por otro, a una brusca redistribución del cinc en los cuarterones inflamados .

En todas las especies el calostro es tres o cuatro veces más rico en cinc que la leche (Underwood, 1977b; De María, 1978; Stöber, 1983; Rosero et al, 1984; Salih et al, 1987; Kincaid y Cronrath, 1992), lo que puede ser debido a la descarga de glucocorticoides que tiene lugar antes del parto, los cuales pueden facilitar el paso del cinc a través de la glándula mamaria, pues se ha visto que la inyección de dexametasona a vacas determinaba un incremento del cinc en la leche y éste era superior después de 24 horas que a las 12 horas, como consecuencia de un retraso en

la estimulación del transporte (Vaillancourt y Allen, 1990). En calostro de vaca se han referido valores de 14-20 ppm (Stöber, 1983).

En ovejas la concentración de cinc se reduce alrededor de un 50% durante los tres primeros días de lactación.

Akinsoyinu et al (1979) encontraron en calostro de cabras un valor de 14,11 mg/l y estos mismos autores comprobaron que el cinc contenido en la leche se incrementaba desde 3,10 mg/l en la segunda semana de lactación hasta 4,86 mg/l en la novena semana, para caer luego a valores de 3,65 mg/l la semana dieciocho tras el parto.

En rata la concentración de cinc no disminuye durante la primera semana de lactación, pero cae desde 14 $\mu\text{g/ml}$ en la segunda semana hasta 8-10 $\mu\text{g/ml}$, niveles que se mantienen durante toda la lactación (Keen et al, 1981b).

II.2.E. Hígado

En el hígado el cinc está presente tanto en el núcleo como en las mitocondrias (Underwood, 1977b) y en el citosol, y de este último, el mayor porcentaje se encuentra unido a la metalotioneína (Whanger et al, 1981). La concentración hepática de cinc varía con el nivel de este elemento en la dieta, así altas concentraciones en el alimento, producen en un incremento del mismo en el hígado (Miller et al, 1971; Zhang et al, 1995) y bajos niveles reducen la concentración en este órgano (Norheim y Bjorland, 1981; Alonso de Vega, 1984; Rejas López, 1990). En ratas, Jaw y Jeffery (1988) relacionaron un incremento del cinc en la dieta (1.150 $\mu\text{g/g}$) con un aumento de este elemento en el hígado, pero esta relación no la encontraron Lowe et al (1991) en la misma especie, así como tampoco Martinsson y Ekman (1976) la observaron en cerdos, en los que los niveles más elevados de cinc habían sido de 500 ppm.

Kincaid et al (1976) consiguieron elevar la concentración de cinc hepática en terneros un 600% mediante el incremento del contenido de cinc en la dieta (42 a 642 ppm), sin embargo, un incremento similar en vacas adultas no modificó el nivel hepático de cinc, asociando este hecho con la mayor efectividad en los animales adultos de los mecanismos de control homeostático que regulan el contenido de cinc en los tejidos respecto a los jóvenes.

Los valores de cinc en el hígado de diferentes especies animales se presentan en la tabla siguiente:

Animal	Concentración	Referencia
Bovino	98-427 ppm MS	Hellesnes et al (1975)
Ovino	59,5 ± 1,3 ppm MS	Alonso de Vega (1984)
Cabra	137 µg/g MS	Ivan et al (1990a)
Cerdo	202-440 µg/g MS	Wang et al (1985)
Pollo	673,80 nmol/g MF	Rejas López (1990)
Rata	100 ± 4 µg/g MS	Kirchgessner y Schwarz (1982)

II.2.F. Otros órganos

Las concentraciones más altas de cinc conocidas en tejidos vivos se encuentran en el ojo; así en el iris y la coroides de ovejas se han encontrado 436 y 277 ppm MS de cinc y en bovinos, 246 y 139 ppm MS respectivamente (Underwood, 1977b).

Hellesnes et al (1975) encontraron en riñón de vacuno de distintas partes de Noruega una concentración de cinc entre 80-248 ppm MS y en músculo 110-552 ppm MS. Alonso de Vega (1984) encontró en riñón de ovejas un nivel de 29 ± 2,2 ppm, mientras que en cabra Ivan et al (1990a) relatan un nivel de 103 µg/g MS.

Norheim y Bjorland (1981) citan concentraciones de cinc en páncreas de ganado vacuno que oscilan entre 18-51 µg/g MS, mientras que Stöber (1983) refiere valores comprendidos entre 160-170 ppm MS; en ovejas Alonso de Vega (1984) encontró un valor medio de 30,9 ± 0,5 ppm en este órgano.

La suplementación de una dieta para bovino con 200 ppm de cinc no parece aumentar el contenido de este elemento en el músculo, incremento que sí se ha detectado en otros órganos tales como el hígado, páncreas, riñón, posiblemente porque en el músculo exista un solo tipo de proteínas a las que se une el cinc, mientras que en los otros órganos hay mayor número de las mismas (Miller et al, 1971). Según Thompson (1991) en el hombre aproximadamente el 60% del cinc contenido en el organismo se encuentra en el músculo esquelético.

Fidalgo Alvarez et al (1988) encuentran una diferencia altamente significativa entre la concentración de cinc en el cotiledón de vacas con retención placentaria (2,58 ppm) y vacas que no presentaban este proceso (3,42 ppm), lo que 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 forma inmediata durante períodos de baja ingesta del mismo o incremento de la demanda de este oligoelemento. Los niveles de cinc en el hueso disminuyen con la edad en el vacuno. (Hidiroglou, 1980). Se citan valores del elemento en hueso de vacuno entre 90-105 ppm MS.

Neathery et al (1973c) verificaron en vacas lactantes que recibían una dieta baja en cinc que sólo los cartílagos costales y la pared del rumen tenían una concentración reducida de este elemento.

La administración de una dieta con bajo contenido de cinc a ratas, determina la disminución de la concentración de este elemento en el hueso (Lowe et al, 1991), estos resultados estan de acuerdo con los obtenidos un año antes por Rejas López (1990) en pollos.

En heces se han encontrado concentraciones que oscilaban entre 250-310 ppm MS (Stöber, 1983). White et al (1985) obtuvieron una media de $213 \pm 11,3$ ppm de cinc. Conde Moreira (1991) obtiene niveles de cinc en heces elevados en relación con el cinc ingerido, lo que puede ser debido a la movilización de las reservas corporales del elemento con alta secreción endógena o a la contaminación de las heces por las jaulas metabólicas. Para Miller et al (1968b) el contenido de cinc en las heces depende de forma importante de la concentración del mismo en el alimento.

White et al (1985) estudiaron las concentraciones de cinc en diferentes órganos de ganado vacuno, obteniendo los resultados que se señalan a continuación, todos en ellos expresados en ppm: 106,8 en páncreas, 97,8 en hígado, 77,3 en bazo, 71,2 en corazón, 66,1 en testículos, 53,0 en riñón, 45,8 en músculo, 33,6 en tibia, 32,3 en cerebro, 1,3 en orina y 1,1 en bilis.

Los resultados obtenidos por Wang et al (1985) en distintos tejidos de cerdos fueron: 83-212 en riñón, 110-253 en bazo, 66-207 en músculo cardíaco y 114-267 $\mu\text{g/g}$ MS en músculo esquelético.

Un estudio similar ha sido llevado a cabo en pollos, que recibían una dieta adecuada en este elemento, por Rejas López (1990), quien refiere los siguientes valores expresados en nmol/g MF: 555,66 en bazo, 477,26 en bolsa de Fabricio, 489,63 en buche, 572,73 en corazón, 4.557,66 en fémur, 635,40 en molleja, 951,06 en músculo, 767,53 en páncreas, 534,26 en proventrículo, 613,66 en riñón y 409,26 en timo.

II.3. PAPEL METABÓLICO DEL CINCO

II.3.A. Metabolismo proteico

Estudios *in vitro* indican que la integridad y estabilidad de los ribosomas dependen de la presencia de cinc (Chvapil, 1973; Keen y Graham, 1989; McDowell et al, 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 et al, 1974). Se ha identificado como componente estructural o catalítico de más de 200 enzimas entre las que destacamos la anhidrasa carbónica, superóxido dismutasa, fosfatasa alcalina etc. (Kirchgessner et al, 1993), disminuyendo la actividad de las mismas durante la deficiencia de cinc, lo que se atribuye a la disminución de la concentración de estas enzimas o a la imposibilidad de poder mantener su integridad estructural si la carencia es importante (Kfoury et al, 1968). La carencia provoca el bloqueo de la ADN polimerasa dando lugar a una inhibición de la multiplicación celular y de la síntesis proteica, lo cual se manifiesta principalmente a nivel de la piel (Lamand, 1979), provocando envejecimiento cutáneo (Favier, 1990).

Fosmire et al (1976) encontraron en ratas destetadas deficientes en cinc que la concentración de ADN y ARN era significativamente menor que en animales control. La reducción en los niveles de ADN se atribuyó a la duración de la deficiencia y a la edad de los animales y la de ARN, a la reducción del alimento ingerido y a la deficiencia de cinc. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Hays y Swenson (1977) según los cuales el cinc forma parte de un sistema enzimático necesario para la síntesis de ácido ribonucleico, el cual está presente en el citoplasma y en los nucleolos y cromosomas de los núcleos, siendo por lo tanto necesario para el crecimiento de células germinales y somáticas.

II.3.B. Actividad enzimática

Los oligoelementos son constituyentes indispensables de enzimas que aseguran el funcionamiento metabólico del ser vivo por lo cual una carencia de los mismos se traduce en una ralentización de las vías metabólicas (Sauvant y Lautier, 1975).

II.3.B.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 desempeñaban un papel catalítico (Kirchgessner et al, 1993), que se ve reducido en caso de deficiencia de cinc (Blackmon et al, 1967).

La actividad de la fosfatasa alcalina se puede modificar en determinadas condiciones fisiológicas; Peter et al (1987) observaron que en la gestación la actividad enzimática se incrementaba un día antes del parto, alcanzando un valor máximo el día del parto seguido por un gradual descenso tres días después del mismo. Un exceso de cinc provoca una reducción de la actividad de esta enzima, debido a la competencia entre el cinc y el magnesio por la misma (Beattie y Avenell, 1992).

Se ha verificado una reducción de la actividad de la fosfatasa alcalina relacionada con la disminución de los niveles de cinc en el alimento, en ovejas (Alonso de Vega, 1984), en pollos (Britton y Hill, 1967), en ratas (Adeniyi y Heaton, 1980), en conejos (Eltohamy y Eldeghedy, 1985) y en cerdos (Pond et al, 1966; Kirchgessner et al, 1987). Se ha citado un aumento de su actividad tras suplementar la dieta con cinc en cerdos (Hoefler et al, 1960; Hill y Miller, 1983), en ratas (Kirchgessner y Roth, 1975), en vacas (Haaranen, 1962; Underwood, 1977b) y en ovejas (Göksoy et al, 1986).

Otros investigadores no obtienen relación entre el cinc de la dieta y la actividad de esta enzima, ni en rumiantes (Lamand et al, 1983) ni en cerdos (Kalinowski y Chavez, 1984), posiblemente porque cuando se determina esta actividad, todavía no ha reaccionado a la administración del elemento (Lamand et al, 1983).

Rejas López (1990) encuentra niveles superiores de la enzima en pollos carentes en cinc, probablemente debido a la falta de especificidad de la enzima por el cinc o al incremento de la concentración de glucocorticoides en estos animales, que podrían inducir una elevación de la fosfatasa alcalina sérica.

Los márgenes que se consideran normales en ganado vacuno son amplios y oscilan entre 0-488 U/l (Brooks et al, 1984) y en ternero entre 30-70 U/l (Plonait, 1984), mientras que en ovino se refieren valores comprendidos entre 68-387 (Brooks et al, 1990) y en corderos, Rico et al (1976) encontraron como valor normal de fosfatasa alcalina 230 U/l.

II.3.B.2. Anhidrasa carbónica

La anhidrasa carbónica está presente en los eritrocitos, en los túbulos renales, en la mucosa gastrointestinal y en el epitelio glandular. En los eritrocitos actúa combinando el dióxido de carbono y el agua en la sangre capilar periférica 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 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

(Kirchgessner et al, 1993), el cual constituye el centro activo de la enzima y está ligado a tres restos de histidina y una molécula de agua (Neuzil, 1990).

Miller y Miller (1960), Church et al (1974) y Underwood (1977b) obtuvieron en la deficiencia experimental de cinc en terneros una reducción de la actividad de la anhidrasa carbónica respecto a los animales control.

II.3.B.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 y Marshall, 1974; Bremner et al, 1983).

La síntesis de la metalotioneína en el hígado está influida por la cantidad de cinc contenida en la dieta y factores hormonales, siendo inducida por los glucocorticoides, el glucagón y la norepinefrina (Keen y Graham, 1989). La influencia del contenido de cinc en la dieta sobre esta síntesis se ha puesto de manifiesto en ratas, pues se ha visto que al incrementar la concentración del oligoelemento desde 0,8 ppm MS hasta 150 ppm MS, la cantidad del elemento unida a la metalotioneína en el hígado y en el citosol de células de la mucosa intestinal aumenta en respuesta a la misma (Richards y Cousins, 1976). Jaw y Jeffery (1988) también han observado en esta especie que al administrar 1.150 µg/g MS de cinc, la enzima incrementaba de forma significativa en el hígado con respecto a animales que recibían 45 µg/g MS de cinc. Esta respuesta se manifiesta primariamente en los órganos de absorción y excreción (intestino y riñones) (Blalock et al, 1988). Garvey y Chang (1981) vieron que en ratas a las que se les inyectaba cinc (5 mg) la cantidad de metalotioneína en suero era de 2-5 ng/ml, mientras que en animales control el rango oscilaba entre 1-3 ng/ml.

En hígado de ovejas, sin embargo, sólo una pequeña fracción de cinc se encuentra asociada a la metalotioneína puesto que la mayor parte del elemento está unido a dos proteínas de alto peso molecular; por otra parte, las células de la mucosa intestinal tienen una pequeña cantidad de cinc unido a esta enzima y el incremento del mismo en la dieta no determina el aumento de la fracción de cinc unido a la metalotioneína, lo que sugiere una capacidad limitada de estas especies para sintetizar metalotioneína (Saylor et al, 1980).

II.3.B.4. Colagenasa

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

II.3.C. Protección de membranas

Algunos de los problemas relacionados con la deficiencia de cinc son consecuencia directa de la reducción del contenido del elemento en las biomembranas y es una de las lesiones bioquímicas más tempranas asociadas con esta carencia (Keen y Graham, 1989).

II.4. FACTORES ALIMENTARIOS QUE INFLUYEN SOBRE LA UTILIZACIÓN DIGESTIVA Y METABÓLICA DEL CINCO

II.4.A. Interrelación cinc-elementos minerales

Cox y Harris (1960) y Pocino et al (1990) han demostrado el antagonismo existente entre el cinc y el cobre contenidos en la dieta, que puede ser debido a la disminución de la absorción a nivel del tracto gastrointestinal (Campen, 1966). Esta hipótesis se basa en estudios en los que tras la administración de cobre y ^{65}Zn vía oral, se aprecia una disminución en la absorción del isótopo, mientras que si el ^{65}Zn se administra intraduodenalmente y el cobre vía intraperitoneal, no aparece este efecto (Campen, 1969). Posteriormente se ha comprobado que el cobre compite con el cinc saturando la metalotioneína en la célula intestinal (Lamand, 1991).

Hoefler et al (1960) demostraron en cerdos afectados de paraqueratosis que el crecimiento era más rápido en aquellos animales cuya dieta se suplementaba con cinc que en los que se suplementaban con hierro o hierro y cinc; el hecho de que esta combinación sea menos efectiva que el cinc solo, sugiere que existe un antagonismo entre ambos elementos.

Por otra parte, el exceso de cinc determina una disminución del almacenamiento del hierro en el hígado debida a una competición por la transferrina sanguínea que además de hierro transporta cinc (Kirchgessner et al, 1982).

A la hora de evaluar la interrelación entre el cinc y el cadmio es importante tener en cuenta la especie estudiada, así, se ha visto que administrando a terneros una dieta baja en cinc y suplementada con cadmio (350 ppm MS) se reducía la absorción y la excreción urinaria de ^{65}Zn (Miller et al, 1967c), incrementándose su eliminación fecal

(Miller et al, 1968b), aunque no se sabe con seguridad si existe interacción entre los dos elementos o si el cadmio induce trastornos patológicos que alteren el metabolismo del cinc (Powell et al, 1967).

En el intestino de las ratas la interrelación entre el cinc y el cadmio tiene lugar porque ambos elementos compiten por los mismos lugares de unión (Sahagian et al, 1967).

También en pollos se ha puesto de manifiesto este tipo de interrelación, pues se ha visto que el incremento de cadmio en la dieta potenciaba los efectos de la deficiencia de cinc, reduciendo el crecimiento de los animales y la actividad de la fosfatasa alcalina (Britton y Hill, 1967).

En cerdos, sin embargo, si se suplementa con 154 ppm de cadmio una ración pobre en cinc no se observan síntomas de carencia, salvo una disminución del crecimiento. En estos animales parece ser que entre el cinc y el cadmio no existe antagonismo, sino más bien que el cinc protegería contra la toxicidad del cadmio (Pond et al, 1966).

White et al (1985) observaron en terneros alimentados con dietas a las que se había añadido plomo (500 o 1500 ppm), que la absorción de cinc se reducía ligeramente no teniendo 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.

Según Sahagian et al (1967) en las ratas el manganeso compite con el cinc por los lugares de unión a nivel intestinal, sin embargo, Kirchgessner y Schwarz (1982) no encontraron variación en la absorción del manganeso en ratas deficientes en cinc, así como que tampoco se modificaba la absorción y el transporte de cinc en animales deficientes en manganeso; Black et al (1985) han llegado a la conclusión de que el manganeso de la dieta incrementaba el depósito de cinc en el hígado.

En rumiantes se ha visto que el calcio disminuía la absorción de cinc (Lamand et al, 1986; Lamand, 1990).

Selze (1971) observó en ratas una ligera disminución en la absorción de ^{65}Zn cuando recibían una dieta rica en calcio (1,5%) y suplementada con 53 ppm MS de cinc. Otros estudios realizados en esta misma especie por Kinkaid (1979) administrando una dieta pobre en cinc y suplementada con 1,4% ó 0,4% de calcio determinaron que, en el primer caso, existía una mayor cantidad de cinc en el suero debido a que el exceso de calcio estimula, bien la movilización del cinc de los tejidos o bien la disminución del recambio de cinc endógeno. En el mismo experimento, cuando la ración se suplementaba con cinc éste aumentaba en el suero de las ratas suplementadas con

0,4% de calcio pero no en el otro grupo, ya que el calcio de la dieta actúa como antagonista de la absorción del cinc.

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

El ácido fítico interfiere con la absorción intestinal de cinc en monogástricos pero no en rumiantes (Kincaid, 1979; Lamand, 1991). Se ha comprobado en ratas que el incremento de peso era menor a medida que se incrementaba el ácido fítico de la dieta y también que disminuía el contenido de cinc en la tibia, debido a la menor biodisponibilidad del elemento en presencia de ácido fítico (Forbes et al, 1984).

En pollos a los que se administraba un preparado artificial de proteína de soja unida a ácido fítico se observó que crecían lentamente y que presentan síntomas de deficiencia severa de cinc debido a que el ácido fítico y la proteína de soja forman complejos insolubles con el cinc (O'Dell y Savage, 1960). Este fitato de cinc insoluble al pH del intestino (6,5-7) produce paraqueratosis en cerdos (Oberleas et al, 1961).

Se ha comprobado que la administración a bovinos de una dieta con 1,15% de magnesio determina una reducción de la excreción de cinc y un aumento de la retención en hígado e intestino grueso, elevándose también el cinc estable en hígado y riñones, por lo que el efecto de altas cantidades de magnesio sobre el metabolismo del cinc parece ser sistémico; además la disminución del apetito y la diarrea que se observan con estos niveles de magnesio en la dieta, demuestran que el magnesio en estas cantidades es tóxico (Quillian et al, 1980).

II.4.B. Interrelación cinc-vitaminas.

Becker y Hoekstra (1966) aseveran que el efecto de la vitamina D en la absorción de ^{65}Zn en ratas es más pronunciado cuando ésta se añade durante un breve período de tiempo a la dieta o cuando se administra a animales carentes en ella. Estos autores creen que la suplementación con la vitamina estimula la calcificación y aumenta el crecimiento del hueso, incrementando las necesidades de cinc del animal.

Kirchgessner et al (1987) comprobaron que en cerdos a los que se suplementaba la dieta con cinc se incrementaba la media de engorde en un 17% respecto a los no suplementados, los que recibían únicamente suplementación con vitamina A experimentaban un incremento del 9% y los animales que recibían ambos compuestos, experimentaban un incremento del engorde del 19%.

En ratas (Duncan y Hurley, 1978) y en monos rhesus (Golub et al, 1984) a los que se administraba una dieta deficiente en cinc en el último tercio de la gestación se ha visto

que presentaban una reducción en la concentración de vitamina A en el plasma; esta reducción se debe a una menor movilización de la vitamina desde el hígado (Church et al, 1974; Duncan y Hurley, 1978; Underwood, 1983a), al disminuir la síntesis de proteínas que se unen a la vitamina A ya que en la deficiencia de cinc se reduce la actividad de la enzima ARN polimerasa (Underwood, 1983a; Boron et al, 1988).

II.5. NECESIDADES DE CINCO EN LOS RUMIANTES

Las necesidades mínimas de cinc resultan difíciles de establecer, pues varían en dependencia de un gran número de factores como son la edad, especie, raza, estado fisiológico, actividad funcional, composición de la dieta y particularmente, con la cantidad de algunos componentes orgánicos e inorgánicos que afectan a la absorción y a la utilización del cinc, como son el calcio y la temperatura ambiente ya que cuando ésta causa sudor hay pérdida del elemento por esta vía (Blackmon et al, 1967; Underwood, 1977b; Darmono et al, 1988).

El efecto de la diferencia de la raza sobre los requerimientos minerales se observa en rumiantes, existiendo diferencias marcadas en la eficacia de la absorción del mineral de la dieta. En ocasiones el ganado introducido en un área muestra signos de deficiencia, mientras que las razas nativas de crecimiento lento y madurez tardía no manifiestan esta carencia en el mismo grado (McDowell et al, 1993).

Diferentes autores han encontrado adecuadas distintas cantidades de cinc en la dieta dependiendo de las condiciones en las que realizaban el estudio. Se ha observado que los bovinos de nueve meses de edad no necesitan más de 8,6 ppm MS de cinc para un normal crecimiento (Miller et al, 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 ppm MS es adecuada para el engorde de terneros y 10-14 ppm MS eran suficientes para mantener la cincemia (Underwood, 1977b); sin embargo se han observado signos de deficiencia de este elemento en bovinos mantenidos en pastos que contenían 18-42 ppm MS (Leg y Sears, 1960) y entre 20-30 ppm MS (Spais y Papasteriadis, 1974) y, asimismo, toros jóvenes que recibían una dieta que contenía entre 30-50 ppm MS de cinc desarrollaban pododermatitis infecciosa, que respondía al tratamiento con este elemento (Demertzis y Mills, 1973).

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

Los bovinos jóvenes en crecimiento y machos presentan en general mayores necesidades que otros animales (Blackmon et al, 1967).

NRC (1978) y McDowell et al (1983) sitúan las necesidades de cinc para ganado vacuno de leche en 40 ppm MS, mientras que McDowell et al (1983) cifran las necesidades para vacuno de carne entre 20-30 ppm MS.

El aporte recomendado para rumiantes por otros autores es de 50 ppm MS (Wolter, 1973; Hidiroglou y Spurr, 1975; Paulais, 1978; Redshaw et al, 1978) y Richet (1972b) y Lamand (1990) aconsejan una cantidad comprendida entre 45-50 ppm MS.

Según Underwood (1983) y McDowell et al (1993) los niveles de cinc en la dieta para que el crecimiento y la fertilidad de ovejas y ganado vacuno sean óptimos deben hallarse próximos a 30 ppm MS y en ganado caprino, ser superiores a 10 ppm MS.

Mills et al (1967) concluyeron, en un estudio realizado en corderos, que las necesidades de cinc para el crecimiento no eran superiores a 7 ppm MS.

En ratas, Williams y Mills (1970) sitúan las necesidades de cinc para el crecimiento en 12 ppm MS.

II.5.A. Límite de toxicidad

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

Miller et al (1993) observaron en vacas lecheras que toleraban 1300 ppm de cinc sin disminución de la producción.

Jenkins e Hidiroglou (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.6. ESTUDIO CLÍNICO DE LA CARENCIA DE CINC EN BOVINOS

II.6.A. Síntomas

La deficiencia de cinc se caracteriza clínicamente en todas las especies por inapetencia, retraso o interrupción del crecimiento (debida en parte a la reducción del consumo de pienso y en parte al peor aprovechamiento del mismo) y lesiones en los

tegumentos; 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 et al, 1988b; Keen y Graham, 1989; White et al, 1994). Sin embargo, aunque los niveles de cinc plasmáticos descienden rápidamente tras la administración de una dieta deficiente, para la aparición de signos clínicos evidentes ésta debe prolongarse durante varias semanas en grado severo (Carcagno et al, 1988b).

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 los adultos (Lamand, 1991; Kirchgessner et al, 1993).

En la rata el inicio de la deficiencia de cinc se manifiesta por una disminución de la ingestión de pienso. Cuando la disminución es progresiva muestran alopecia y suspensión del crecimiento y en estado carencial grave aparecen lesiones importantes en las patas, ojos y maxilar inferior (Kirchgessner y Roth, 1975; Kirchgessner et al, 1993).

En los rumiantes los síntomas de la deficiencia se pueden resumir en el siguiente cuadro (Lamand, 1970; Paulais, 1978; Riffard, 1989b):

	Adultos	Jóvenes
Déficit de crecimiento	X	X
Disminución de la producción de leche	X	
Inapetencia	X	
Caquexia	X	X
Defectos de aplomos	X	X
Cojeras	X	X
Pelos quebradizos	X	X
Alopecias	X	X
Dermatitis	X	X
Infecundidad	X	
Deformación de las pezuñas	X	X

La utilización de dietas semisintéticas con bajo contenido en cinc ha servido para reproducir experimentalmente la deficiencia de este oligoelemento, tanto en terneros como en animales adultos (Miller y Miller, 1960; Pitts et al, 1966; Lamand et al,

1983), en cabras (Miller et al, 1964; Neathery et al, 1972), en ovejas (Alonso de Vega, 1984), en corderos (Masters et al, 1985), en ratas (Williams y Mills, 1970; Kirchgessner y Roth, 1975) y en pollos (Rejas, 1990).

II.6.A.1. Alteraciones de la piel y del pelo

La deficiencia severa de cinc se asocia en todas las especies con marcadas anormalidades funcionales y estructurales de la piel y sus accesorios (Underwood, 1966; Richet, 1972b). Este hecho se explica porque en ella se almacenan cantidades importantes del elemento y es una de las principales vías de eliminación y en caso de deficiencia presenta una serie de manifestaciones clínicas muy características de la enfermedad como piel seca, escamosa y rajada en diversas zonas corporales, manifestando asimismo dolor a la palpación (Alonso de Vega, 1984; García Partida et al, 1985b; McDowell et al, 1993).

Rejas López (1990) describe en pollos alimentados con una dieta que contenía 12 ppm MS dermatitis seca, heridas en cabeza y patas y alteraciones del desarrollo del plumaje.

El pelo se vuelve áspero (Miller et al, 1964), deja de crecer (Reichlmayr y Kirchgessner, 1988) e incluso cae (Miller y Miller, 1960; Blackmon et al, 1967; Luecke et al, 1967; Mills et al, 1967; Lamand, 1970; Root et al, 1979).

Spais y Papasteriadis (1974) observaron en vacuno deficiente en cinc pérdida de pelo y enrojecimiento de la piel, variando en intensidad según el grado de deficiencia. Estos signos se pueden atribuir al prurito que este proceso determina y hace que los animales se laman y se froten (Stöber, 1983).

En ovejas deficientes en cinc la lana deja de crecer, el vellón se vuelve frágil y quebradizo, desprendiéndose con facilidad particularmente en zonas dorsales del cuerpo y cuello y la piel aparece engrosada y con costras (Nelson et al, 1984; García Partida, 1985b; Göksoy et al, 1986; White et al, 1994).

Las cabras carentes mostraban signos de prurito e hiperemia de la piel particularmente en las extremidades posteriores y cola, con pérdida del pelo (Reuter et al, 1987).

En cerdos la piel aparecía seca y descamada en las orejas y costrosa y arrugada en el escroto (Blackmon et al, 1967). En ratas se observaba dermatitis exfoliativa y alopecia (Vruwink et al, 1987).

II.6.A.2. Efecto sobre la reproducción

Se ha visto que el consumo de una dieta que contenía 4 ppm de cinc, no afectaba a la función reproductora de novillos de dos a cinco meses de edad al compararlos con animales que consumían la misma dieta pero con 40 ppm de este elemento mineral (Blom y Wolstrup, 1976), sin embargo en monas rhesus de 7-15 años este nivel de cinc en la dieta determinaba en el último tercio de la gestación, la aparición de signos de deficiencia incluyendo dermatitis, anorexia y bajos niveles de cinc en el plasma (Golub et al, 1984).

En cabritos de tres meses de edad a los que se administraba una dieta carente en cinc (4 ppm) los testículos eran más pequeños, la libido era menor y la espermatogénesis no se afectaba severamente por la carencia hasta después de cuatro semanas de comenzar a consumir la dieta deficiente, momento en el que sólo estaban presentes las espermatogonias (Neathery et al, 1972; Whitelaw et al, 1980). Darmono et al (1988) estudiaron la relación entre la aparición de lesiones degenerativas no infecciosas en testículos de búfalos y los niveles de cinc en suero de estos animales, no hallando diferencias en el nivel de este elemento en suero entre animales con dichas lesiones y los que presentaban una estructura testicular normal.

Underwood y Somers (1969) y Lamand (1970) observaron en corderos alimentados con una dieta deficiente en cinc (dieta con 2,5 ppm Zn) una reducción del desarrollo testicular y un cese completo de la espermatogénesis.

Entre los factores responsables de una menor fertilidad en ovejas con una ración baja en este elemento se encuentra la mortalidad embrionaria precoz dado que el óvulo de las ovejas que recibían dietas pobres en cinc, no se implantaba en la mucosa uterina (Hidiroglou, 1979). En vacas se encontró una disminución de la fertilidad y estros anormales en la deficiencia de cinc (Underwood, 1977b) y se ha atribuido la menor fertilidad a la disminución del contenido de ADN en los espermatozoides, debido a una menor actividad de la ADN polimerasa (Hidiroglou y Knipfel, 1984).

Hurley y Swenerton (1966) observaron en ratas a las que administraban una dieta deficiente en cinc que perdían peso durante la gestación, parían menos crías y éstas pesaban menos que las de los animales control, presentando un 98% de malformaciones congénitas por efecto directo de la carencia sobre los tejidos fetales y sobre los lugares de implantación maternos. Las malformaciones van acompañadas de depresión de la incorporación de timidina en el ADN (Göksoy et al, 1986) y se relacionan con el papel que juega el cinc en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos y en la expresión genética (Keen y Graham, 1989).

II.6.A.3. Efecto sobre la ingestión de alimento

Uno de los efectos más destacados de la deficiencia de cinc es la reducción voluntaria de la ingestión de alimentos (Miller et al, 1970; Demertzis y Mills, 1973), no afectando esta deficiencia a la digestibilidad de la materia seca en vacas y cabras (Miller et al, 1966c). La menor eficacia en la utilización del alimento ingerido en animales deficientes en cinc se debe a la reducción en la utilización de los nutrientes digeridos (Miller et al, 1966d).

Miller y Miller (1960), Mills et al (1967) y Price y Humphries (1980) observaron que el peso medio ganado diariamente en terneros suplementados con cinc era significativamente mayor que el de animales no suplementados. Estas afirmaciones coinciden con los datos obtenidos en cabras (Miller et al, 1964; Neathery et al, 1972; Whitelaw et al, 1980), en corderos (Underwood y Somers, 1969) y en ratas (Vruwink et al, 1987; Johnson et al, 1988). Sin embargo, estos resultados no están de acuerdo con los hallazgos de Miller et al (1963a) quienes no encontraron diferencias significativas en el peso ganado y alimento ingerido en terneros de raza Frisona, entre animales que consumían una dieta control (8,6 ppm Zn) y los suplementados con este elemento. Tampoco Golub et al (1984) pudieron relacionar la anorexia que aparecía en el 25% de las monas rhesus con el contenido de cinc en la dieta (4 ppm MS), atribuyéndolo a variaciones genéticas entre los distintos grupos.

En ratas alimentadas *ad libitum* con una dieta deficiente en cinc, el nivel de ingestión de alimento era de un 85% menor respecto al grupo control que recibía un nivel adecuado de este elemento (Vruwink et al, 1987); igualmente las ratas destetadas (Luecke et al, 1967; Williams y Mills, 1970) y las adultas alimentadas con una dieta carente en cinc presentaban menor peso corporal que los animales control (Root et al, 1979, Blalock et al, 1988).

En pollos una reducción de la tasa de cinc en la dieta que provoque una deficiencia severa, se manifiesta por una media de engorde en animales deficientes menor del 50% respecto a los animales que reciben una cantidad adecuada de este elemento en su alimentación (Pimentel y Cook, 1988; O'Dell et al, 1990; Rejas López, 1990).

La administración a cerdas de una dieta con bajo nivel en cinc durante la gestación no afectaba a la cantidad de alimento ingerido ni al peso de estos animales, sin embargo, presentaban un parto prolongado y estresante (Kalinowski y Chavez, 1986). Kirchgessner et al (1987) observaron en cerdos que recibían una dieta suplementada con oligoelementos y vitaminas, que la media de engorde era un 60% más alta y el porcentaje de utilización del alimento era un 30% mayor respecto a los animales que no recibían suplementación.

Sanecki et al (1985) realizaron un estudio en perros encontrando que tanto los animales que recibían una dieta deficiente en cinc como los que recibían una dieta adecuada en este elemento consumían aproximadamente la misma cantidad de alimento.

II.6.A.4. Efecto sobre el esqueleto

En vacuno se ha encontrado, como trastorno de la osificación, un arqueamiento en mayor o menor grado de los miembros posteriores (Lamand, 1970), modo de andar rígido e hinchazón de las rodillas en terneros carentes (Miller y Miller, 1960). Estos trastornos también se han observado en cerdos (Blackmon et al, 1967) y en crías de rata se ha encontrado fusión de las costillas, curvatura pronunciada de la columna vertebral y osificación incompleta de vértebras y costillas (Hurley y Swenerton, 1966).

II.6.A.5. Efecto sobre el sistema inmune

Ellis et al (1987) y Carcagno et al (1988a) han comprobado que la deficiencia severa de cinc incrementa la susceptibilidad de los animales a infecciones.

En ratas también se han descrito defectos en las células mediadoras de la inmunidad (Vruwink et al, 1987). Favier (1990) considera el cinc como un cofactor importante de la inmunidad celular puesto que el número de linfocitos disminuye en caso de carencia, aunque no se han encontrado cambios significativos en el recuento total de leucocitos en ratas deficientes (Dreosti et al, 1968).

Mientras Rejas López (1990) y García Partida et al (1991b) encontraron en pollos deficientes en cinc una disminución de linfocitos en la sangre, el timo, el bazo y la bolsa de Fabricio, Pimentel y Cook (1988) verificaron en pollos que recibían 58 ppm MS de cinc una marcada reducción en la respuesta inmune humoral respecto a los animales que recibían 8 ppm MS.

II.6.B. Lesiones

II.6.B.1. Alteraciones de la piel

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, con retención de núcleos y aparición de edema en estos tejidos. Las papilas del rumen muestran excesivo crecimiento y moderada formación de queratina (Tucker y Salmon, 1955; Miller y Miller, 1960; Miller y Miller, 1963b; Miller et al, 1964; Spais y Papasteriadis, 1974).

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

Mills et al (1967) y Masters et al (1985) observaron lesiones alrededor del hocico y ojos en corderos y terneros al cabo de dos semanas de administrar una dieta deficiente en cinc. Estos resultados sugieren que los corderos prerrumiantes pueden ser más susceptibles a la deficiencia de cinc que animales de más edad.

También en cerdos, la reducción de los niveles de cinc en la dieta, se traduce por una elevada incidencia de paraqueratosis observándose porcentajes de hasta el 80% (Pond et al, 1966; Lamand, 1970; Kirchgessner et al, 1987). El desarrollo de esta enfermedad a nivel cutáneo en esta especie parece condicionado por la cantidad absoluta de cinc en la ración, por el nivel de calcio o fósforo en la misma y por las necesidades en cinc relativamente altas en esta especie (Tucker y Salmon, 1955).

A nivel microscópico se ha verificado en ovejas con deficiencia experimental de cinc, la desaparición de folículos pilosos así como la pérdida de algunas áreas del estrato lúcido del epitelio e infiltración edematosa, dando lugar a la aparición de úlceras en las zonas afectadas. Las papilas ruminales se desestructuran y sus células epiteliales se vacuolizan, observándose pérdida de queratina y presencia de células inflamatorias en el tejido conectivo; también se encontraron gingivitis y úlceras en la mucosa bucal (Alonso de Vega, 1984; Nelson et al, 1984).

En los perros se han encontrado las siguientes lesiones relacionadas con la deficiencia de este elemento: piel seca, seborrea generalizada, inflamación cutánea, ulceraciones, erosiones, vesiculación, focos de costras amarillentas bilaterales, marcado espesor del estrato córneo de la mucosa bucal, así como carencia de linfocitos en el timo y en áreas de células T de nódulos linfoides y bazo (Sanecki et al, 1982; Sanecki et al, 1985; Broek y Thoday, 1986; Guaguere y Kenesi, 1989). El estudio microscópico reveló que el estrato córneo estaba aumentado y deformado con focos necróticos en la superficie, con algunas lesiones y ulceraciones, encontrándose ocasionalmente en estas áreas agregados de neutrófilos (Sanecki et al, 1982).

II.6.B.2. Alteraciones del esqueleto

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; Richet, 1972b), forma de andar rígida (Miller y Miller, 1960) y malformaciones en el paladar (Keen y Graham, 1989).

Según Hickory et al (1979) la calcificación de los huesos de fetos de ratas que reciben una dieta carente en cinc (1,3 ppm MS) es considerablemente menor si se compara con los controles suplementados con este elemento (100 ppm MS), puesto que el cinc al formar parte de ciertas enzimas está relacionado con el metabolismo del calcio.

La deficiencia de cinc en pollos determina deformación de la tibia, debido a la alteración del metabolismo del colágeno óseo, con significativa reducción de su síntesis y recambio ya que la colagenasa es una metaloenzima que contiene cinc (Starcher et al, 1980).

II.6.B.3. Otras alteraciones

Carcagno et al (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 que contienen este elemento.

Prohaska y Lukasewycz (1981) comprobaron que en ratones deficientes en cinc, el bazo y el timo eran atróficos, debido a la hipertrofia adrenal que determina la deficiencia y que está acompañada por un incremento de los niveles plasmáticos de corticosterona, lo que explicaría la atrofia tímica y la disminución de la capacidad de respuesta inmune característica de estos animales (DePasquale-Jardieu y Fraker, 1979).

Asimismo la inducción de una deficiencia de cinc en pollos provoca una disminución del número de células linfoides en el timo, la bolsa de Fabricio y el bazo (Rejas López, 1990). En animales severamente deficientes, el cortex tímico presenta una pérdida importante de células linfáticas, predominando el tejido conectivo de los septos interfoliculares, rico en fibroblastos y fibras de reticulina, que ocupan los espacios dejados por los linfocitos, apreciándose en los folículos escasos cordones con estas células después de 50 días de administrar la dieta carente (García Partida et al, 1991a).

Este cuadro lesional es similar al observado por García Partida (1995) en terneros con deficiencia genética para la absorción de cinc.

II.7. DIAGNÓSTICO DE LA CARENCIA DE CINC

El diagnóstico de la deficiencia de oligoelementos debe basarse en la realización de una historia clínica completa, evaluación de los animales implicados, de los alimentos, del agua de bebida, de sangre y tejidos y no será adecuado si se basa en la determinación de uno solo de estos parámetros (Smart et al, 1981).

II.7.A. Diagnóstico clínico

La observación de los síntomas y las lesiones debe ser la base para diagnosticar la carencia de cinc. La presencia de lesiones de paraqueratosis, así como alopecias deben hacernos pensar en una posible carencia de este elemento (Selze, 1971; Lamand, 1991).

La forma grave de la deficiencia de cinc se puede diagnosticar con facilidad en animales domésticos mediante la observación de los trastornos clínicos y patológicos (Underwood, 1983a), aunque esta forma es menos frecuente que la subcarencia (Blackmon et al, 1967). En terneros podemos establecer una triada concreta para elaborar un diagnóstico clínico, como es una detención del crecimiento, alteraciones cutáneas y síndrome de inmunodeficiencia (García Partida, 1995).

II.7.B. Diagnóstico analítico

II.7.B.1. Análisis del alimento

Este tipo de análisis puede resultar útil, ya que comparando el contenido de cinc de una dieta determinada con otras que se sabe que son adecuadas para los animales, podemos saber si estamos aportando la cantidad de cinc necesaria, aunque existen factores que modifican la absorción del elemento, como son la fuente de cinc, el contenido de calcio y otros componentes de la dieta que limitan el valor de estos análisis (Underwood, 1983a). Se sabe que en condiciones experimentales la concentración de cinc en suero de animales severamente carentes responde claramente a cambios en la cantidad de cinc de la dieta, sin embargo en condiciones de campo los niveles de cinc en suero son muy variables, porque pueden modificarse en respuesta a infecciones, situaciones de estrés, estado fisiológico y catabolismo tisular (Kirchgessner et al, 1993).

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 de cinc en el forraje y en el plasma constituyen un buen indicador del estado de este elemento (McDowell et al, 1993).

II.7.B.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 la administración de una dieta carente (Nougues y Lamand, 1972; Lamand, 1979; Alonso de Vega, 1984; Rejas López, 1990). Una ventaja de la utilización del plasma es la facilidad de la toma de muestras (Kirchgessner y Schwarz, 1982). Por el contrario Underwood (1983a) y Stöber (1983) afirman que este tipo de análisis carece de sensibilidad para el diagnóstico, ya que los límites en los animales sanos y enfermos se superponen, por lo que es difícil diagnosticar por este método enfermedades que responden al tratamiento con cinc.

II.7.B.3. Concentración en tejidos

La determinación de cinc en el pelo como único método de diagnóstico de un estado deficiente no es un indicador preciso (Combs et al, 1982), así, niveles de cinc inferiores a los normales en pelo pueden constituir un elemento de apoyo de la existencia de una deficiencia en la dieta aunque no se pueden considerar como criterio fiable para el diagnóstico (Underwood, 1983a), pues el contenido de cinc en el pelo no puede ser utilizado para determinar el estado actual del elemento, ya que sólo aporta información retrospectiva (Carcagno et al, 1993).

Es posible que el contenido de cinc en las heces tenga interés para diagnosticar la deficiencia (Lamand, 1971). Se ha visto que en caso de carencia se reducía la excreción fecal endógena del elemento, así en terneros que recibían una ración con 2 mg Zn/kg MS, el cinc fecal era de 12 mg Zn/kg MS, y para los animales testigo que recibían una ración que contenía 38 ppm MS el cinc fecal era de 166 mg Zn/kg MS (Miller et al, 1968a).

Thompson (1991) afirma que el contenido de cinc en la saliva puede ser un reflejo de los niveles del elemento en el plasma y aunque las muestras son fáciles de obtener, tiene el inconveniente de la contaminación en el morro además de depender del contenido de proteínas y de células, por lo que no se recomienda este análisis.

La excreción renal de cinc es muy baja y cambia muy poco con los distintos niveles del elemento en la dieta, por lo que la determinación en orina no parece ser adecuada como parámetro de diagnóstico (Miller et al, 1968a; Kirchgessner y Schwarz, 1982).

II.7.B.4. Actividad enzimática

La determinación de la actividad de la fosfatasa alcalina no resulta fiable en el diagnóstico de una carencia de cinc puesto que este parámetro no sólo responde a cambios en la concentración del elemento en la dieta sino que también varía según la

edad y de un individuo a otro (Kirchgessner et al, 1983; Lamand, 1991; Kirchgessner et al, 1993).

II.7.C. Diagnóstico terapéutico

Este diagnóstico constituye el elemento decisivo y por el momento la prueba más sensible. La supresión de los síntomas por la administración de uno ó más oligoelementos es una prueba suficiente para admitir la carencia, pero este diagnóstico tiene que incluir la existencia de un grupo de animales testigo no tratados (Lamand, 1971; Kirchgessner y Schwarz, 1982). Para Darmono et al (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 controles y evaluaciones adecuados (McDowell et al, 1993).

Para realizar un diagnóstico certero se considera decisiva la comprobación histológica de las modificaciones cutáneas de paraqueratosis y su rápida curación tras suplementar con cinc (Stöber, 1983).

Cabras y ovejas afectadas de hiperqueratosis y alopecia respondían a la suplementación con cinc, a pesar de que los niveles del mismo en plasma eran similares a los encontrados en animales no afectados (Reuter et al, 1987); también se administró cinc a animales de esta misma especie con lesiones cutáneas (14 g de sulfato de cinc diariamente durante seis semanas) observado una recuperación en 7-10 días y tras el período de suplementación las lesiones reaparecían en 2-3 semanas (McDowell et al, 1991).

Swenertton y Hurley (1980) comprobaron que la suplementación oral con sulfato de cinc en primates, revertía rápidamente las lesiones dérmicas y la pérdida de pelo de los animales deficientes.

Guaguere y Kenesi (1989) administraron metionato de cinc a perros que presentaban síntomas de paraqueratosis marcada con acantosis severa, verificándose una remisión de las lesiones en 3-4 semanas y reapareciendo al suspender el tratamiento.

II.8. PROFILAXIS DE LA CARENCIA DE CINC

El cinc debe estar presente en la dieta de todos los animales domésticos. Los bovinos tienen capacidad limitada para almacenar este elemento, por lo que se debe administrar continuamente ya que no pueden mantener tasas máximas de producción cuando el aporte en la dieta es bajo (Carcagno et al, 1988b; McDowell et al, 1993). En países

donde la deficiencia de cinc es prácticamente generalizada, como Francia, debe realizarse una profilaxis sistemática (Bellanger et al, 1973).

II.8.A. 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; Stöber, 1983).

Este tipo de compuestos suelen contener entre 30-40% de sal común, lo que estimula su consumo debido a su palatabilidad, asegurando así el consumo adecuado de otros minerales presentes en la mezcla (McDowell et al, 1993).

Este método sólo se considera adecuado para animales en régimen de pastoreo que no tienen acceso a concentrados, ya que este tipo de alimento suele aportar una cantidad adecuada de oligoelementos (McDowell et al, 1993).

Los oligoelementos se pueden administrar en forma de preparados para mezclar con el pienso; en esta línea Blood et al (1986) consideran que administrando 200 g de sulfato o carbonato de cinc a cada tonelada de alimento resulta eficaz como método preventivo de esta deficiencia.

No se encontraron diferencias en la biodisponibilidad del cinc en cuatro fuentes inorgánicas (cloruro, sulfato, óxido y carbonato), administrado a terneros de 9 semanas de edad, siendo mayor la respuesta a la suplementación cuando los niveles de cinc en el plasma eran bajos (Kincaid, 1979; McDowell et al, 1993). Tampoco Spears (1989) verificó diferencias en la biodisponibilidad del cinc entre el metionato de cinc y óxido de cinc, sin embargo la retención era más alta en el primer caso y detectándose en este grupo menor excreción urinaria, lo que sugiere que el cinc presente en estas dos fuentes se absorbe de forma similar pero se metaboliza de forma diferente después de la absorción.

Hill et al (1986) observaron en cerdos tratados con metionato de cinc y ácido picolínico una mayor ganancia de peso e ingestión de alimento que en animales tratados únicamente con metionato de cinc. Tucker y Salmon (1955) verificaron en esta especie que suplementando la dieta con 0,02% de carbonato de cinc, se prevenía e incluso curaba la paraqueratosis.

Se ha demostrado un efecto beneficioso cuando se suplementaba con sulfato de cinc la dieta de corderos con pedero, si éstos se mantenían en condiciones secas (Cross y Parker, 1981; Katitch et al, 1986). El tratamiento de perros con metionato de cinc (15 mg/10 kg/día) dio buenos resultados en caso de dermatosis (Guaguere y Kenesi,

1989). En esta misma especie Broek y Thoday (1986) han comprobado que la administración de sulfato de cinc resolvía los signos clínicos de la deficiencia.

Blood et al (1986) recomiendan para el tratamiento de la deficiencia de cinc la inyección de 2-4 mg Zn/kg p.v./día durante 10 días. La dosis recomendada por Lamand (1991) es de 600 mg Zn/10 ml en suspensión oleosa.

II.8.B. Actuación sobre el suelo

El tratamiento de los suelos con fertilizantes que contienen cinc, determina generalmente un incremento importante en la concentración del oligoelemento en forrajes y cereales (McDowell et al, 1993). La cantidad necesaria de cinc para este propósito varía con el medio ambiente, aunque en suelos deficientes en este elemento la aplicación de 5-7 kg/hect. de SO_4Zn cada 2-3 años es suficiente para mantener la concentración de este elemento en el forraje (Underwood, 1977b).

II.9. TOXICIDAD POR CINC

Los bovinos y los ovinos son poco tolerantes a altos niveles de cinc en la dieta, ya que éstos modifican el metabolismo del rumen provocando una reducción de la concentración de ácidos grasos volátiles y ácido acético; mientras que este elemento es poco tóxico para las aves (Underwood, 1977b; McDowell et al, 1993), esta diferencia de tolerancia al cinc entre distintas especies, puede ser debida a la fuente del elemento, pues, la disponibilidad del mismo no es igual en todos los compuestos (Hill y Miller, 1983).

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

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

En la rata intoxicada por cinc se desarrolla una anemia hipocrómica y microcítica, debida a la interferencia del cinc con la absorción y utilización de cobre y de hierro,

acompañada de bajos niveles de hierro, citocromo oxidasa, cobre y catalasa (Underwood, 1977b).

Los niveles de cinc en la dieta, necesarios para evidenciarse efectos tóxicos, dependen de forma importante de los niveles de cobre en la misma. En cerdos destetados altos niveles de cinc reducen el engorde, el apetito, se produce artritis y hemorragias internas, presentándose una anemia y baja tasa de cobre y alta de cinc en las vísceras, siendo alta la mortalidad con niveles entre 4000 y 8000 ppm MS de cinc (Martinson y Ekman, 1976; Underwood, 1977b; Savey, 1987).

III. Contenido de cobre y cinc en algunos alimentos para los rumiantes

En la literatura existen notables diferencias en cuanto a las concentraciones de cobre y cinc presentes en los alimentos del ganado rumiante. Dichas diferencias no sólo aparecen en relación con el alimento estudiado sino que también distintos autores señalan valores diferentes para el mismo alimento. El tipo de suelo, la especie vegetal, el período del año, la localización geográfica, y otros factores señalados anteriormente en la revisión, influyen de manera notable sobre las cantidades de oligoelemento presentes en el alimento, por lo que desde un punto de vista general no podemos sino esbozar algunas ideas globales (al final de este capítulo se incluyen unas tablas en las que se precisan valores concretos de cobre y cinc en diferentes alimentos para el ganado rumiante).

En cuanto a la localización geográfica, Wittwer et al (1988) señalan concentraciones de cobre en pastos de Chile superiores a las encontradas por Farmer et al (1982) en Gran Bretaña y por Grace et al (1994) en Nueva Zelanda, asimismo los niveles de cinc son superiores en el primer caso con respecto al último.

La acidez del suelo también influye sobre el contenido mineral de los pastos, así, al disminuir el pH se incrementa la disponibilidad de algunos metales catiónicos tales como el cobre (Smart et al, 1981; Lamand, 1990; McDowell et al, 1993) y el cinc (Cappa, 1986).

Se sabe que las leguminosas son, generalmente, más ricas en cobre y cinc que las gramíneas que crecen en las mismas condiciones (Underwood, 1966; Church et al, 1974; Gay et al, 1988; McDowell et al, 1993), lo cual puede atribuirse a una diferente absorción o a una distinta estructura radicular (Oregui y Bravo, 1993b). Este hecho concuerda en parte con los datos encontrados por Lamand (1990) el cual obtiene valores de cobre de 9,3 mg/kg MS en leguminosas y 5,9 mg/kg MS en gramíneas mientras que cita valores de cinc en leguminosas y gramíneas de 24,2 y 27,4 mg/kg MS, respectivamente. En suelos pobres en cobre las gramíneas son más ricas en este elemento que las leguminosas por ser estas últimas más sensibles a la deficiencia de cobre (Périgaud et al, 1972; Riffard, 1989a).

Se han descrito diferencias en el contenido de cobre dependiendo de la parte de la planta de que se trate, así, las hojas son más ricas que los tallos y a su vez, las hojas jóvenes son más ricas que las viejas (Riffard, 1989a).

Las manipulaciones efectuadas sobre las plantas suelen provocar una pérdida de hojas y con ello, un empobrecimiento en cobre (Bellanger et al 1973).

Bellanger et al (1973) comprobaron que los henos de primer corte de prados a base de alfalfa eran más ricos en cobre que los primeros cortes de prados naturales de la misma región, siendo los segundos cortes más ricos que los primeros. Estos mismos autores estiman que el 45 % de los henos en Francia tienen menos de 5 mg/kg MS de cobre y el 94 %, menos de 7 mg/kg MS, mientras que el 99 % de los henos procedentes de prados naturales tienen un contenido de cinc inferior al límite de carencia.

Otro factor a tener en cuenta a la hora de estudiar la concentración de cobre y cinc en los pastos es la estación del año. Según McDowell et al (1993) la cantidad de minerales contenida en el pasto en la estación seca en países tropicales era menor que durante el período de lluvia. También García Ciudad et al (1983) estudiaron estas variaciones estacionales observando que la concentración de cobre se mantenía estable durante el otoño y comienzo del invierno para alcanzar un valor máximo en mayo, siguiendo un brusco descenso en el período estival. Asimismo, Farmer et al (1982) encontraron cifras de 11 ppm MS en el mes de junio y 16,1 ppm MS en el mes de septiembre. Sin embargo, Kappel et al (1985) han obtenido un incremento de cobre entre abril y julio, para disminuir en septiembre.

Es importante tener en cuenta el clima como factor que interviene en el contenido de cobre en los vegetales, de modo que dependiendo de la zona climática se pueden observar variaciones de hasta un 100% para la misma especie vegetal.

También el año influye notablemente, de forma que incluso variaciones de un 20%, tanto hacia arriba como hacia abajo, pueden ser justificadas en función del año (Périgaud, 1970).

Los alimentos concentrados suelen tener un nivel adecuado de cobre, mientras que este hecho es menos probable en los pastos, sobre todo al comienzo de la primavera cuando el crecimiento de la hierba es rápido (Ho et al, 1977; Blood et al, 1992).

Parece ser que el cobre y el cinc se encuentran entre los oligoelementos más susceptibles de ser deficientes en el pasto (Peducasse et al, 1983). En este alimento se citan como valores normales de cobre entre 4-15 mg/kg MS y de cinc entre 8-50 mg/kg MS (Lamand, 1990), Wittwer et al (1988) obtienen valores de 14,4 ppm MS y 81,8 ppm MS respectivamente y Grace et al (1994) refieren niveles de 6,8 y 21 mg/kg MS respectivamente; observando otros investigadores márgenes más reducidos de cobre (4,2-10,6 ppm MS) en pastos recogidos en distintas zonas y en varios períodos del año (Todd et al, 1967); Bingley y Anderson (1972) citan, en pastos recogidos mensualmente durante un año, niveles de este elemento comprendidos entre 2,4-6,7 ppm MS, mientras que Smith y Moon (1976) observan una concentración media entre mayo y julio de 6 mg/kg MS.

		Cobre ($\mu\text{g/g MS}$)	Cinc ($\mu\text{g/g MS}$)
Granos	Avena	2,7-4,9	17-37
	Trigo	3,2-5,2	19-49
	Haba	11-15	39-46
	Maíz	1,7-3,4	14-31
	Guisante	7,2	37,0
	Cebada	2,6-5,5	20-30
	Centeno	4,5	30,0
	Tortas	Cacahuete	14,3-14,7
Colza		5,2-5,9	64-65
Lino		20,9-21,1	67-79
Girasol		24-32	82-100
Harina de carne	9,1	108,0	
Levadura de destilería	79,0	11,0	
Salvado	11,7	59,0	
Alfalfa deshidratada	4,2-5,5	17-29	
Pulpa de remolacha	4,2-5,2	8-11	

Concentraciones de cobre y cinc en alimentos para el ganado (Lamand et al, 1976)

	Cobre ($\mu\text{g/g MS}$)	Cinc ($\mu\text{g/g MS}$)	Referencia
Pasto	4,9-12		(Laredo y Cuesta, 1984)
Pasto	5,86-6,8	21,09-29,16	(Mandiki et al, 1986)
Pastos	4,86	30	(McDowell et al, 1991)
Maíz pasto	6	22	(Wolter, 1973)
Alfalfa	7,6 \pm 0,51	34 \pm 4,6	(Ivan et al, 1990a)
Alfalfa	10,1-14,1		(Haque et al, 1993)
Hierba	8,4 \pm 0,83	27 \pm 3,4	(Ivan et al, 1990a)
Heno de chufa	3,3		(Miltimore y Mason, 1971)
Heno de hierba	5,81	15,32	(Lavín et al, 1986b)
Heno	3,49 \pm 1,14	59,8 \pm 17,9	(Kleczkowski et al, 1994)
Ensilado	4,56 \pm 1,64	56,4 \pm 12,2	(Kleczkowski et al, 1994)
Leguminosas	7,2 \pm 2	23 \pm 8	(Miltimore et al, 1970)
Concentrados	13,71	93,5	(McDowell et al, 1991)
Concentrados	6,6 \pm 1,12	31,3 \pm 18,1	(Kleczkowski et al, 1994)
Pienso simple	5,89	18,02	(Lavín et al, 1986b)
Pienso compuesto	12,84	41,62	(Lavín et al, 1986b)
Maíz grano	4,3-7,7		(Haque et al, 1993)
Avena	3,9-4,4		(Haque et al, 1993)
Soja	9,4-17,8		(Haque et al, 1993)
Sorgo	6,0 \pm 0,34	25 \pm 2,6	(Ivan et al, 1990a)

Concentraciones de cobre y cinc en alimentos para el ganado (diversos autores).

De modo general, el alimento principal en cada época del año (pasto o heno) se complementaba con pienso y, en algunas ocasiones, con alfalfa granulada (explotaciones A y C).

Específicamente y respecto a cada una de las granjas, la alimentación fue la siguiente:

Ganadería A: de enero a marzo, heno y pienso compuesto mezclado con alfalfa, y de abril a diciembre, pasto y pienso compuesto mezclado con alfalfa.

Ganadería B: de enero a marzo, heno y pienso compuesto, y de abril a diciembre, pasto y pienso compuesto.

Ganadería C: de diciembre a abril, heno y pienso compuesto mezclado con alfalfa, y de mayo a noviembre, pasto y pienso compuesto mezclado con alfalfa.

Ganadería D: de enero a abril, heno y pienso compuesto, y de mayo a diciembre, pasto y pienso compuesto.

De cada establo se muestrearon un 20-30% de los animales, eligiendo para ello vacas con edades comprendidas entre 3-14 años. Para recoger el mayor número posible de datos de cada animal se elaboró la ficha que aparece en la página siguiente.

II. Toma de muestras

En las ganaderías A y B se inició el muestreo el mes de octubre, mientras que en las ganaderías C y D el muestreo comenzó en diciembre.

De cada animal se obtuvieron las siguientes muestras: plasma, leche, pelo y heces, que se etiquetaron y almacenaron convenientemente hasta su análisis.

En cada establo recogimos una muestra representativa de cada uno de los alimentos que consumía el ganado: heno, pasto, pienso compuesto o simple o/y alfalfa.

II.1. PLASMA

Para obtener el plasma se recogieron 10 ml de sangre mediante punción con aguja de acero inoxidable en la vena yugular, en un tubo de plástico químicamente puro y seco que contenía 2 gotas de heparina, agitándolo ligeramente para evitar la coagulación de la sangre.

Una vez recogida la sangre, antes de que pasaran 30 minutos, se centrifugaron los tubos durante 10 minutos a 3.000 rpm para evitar la hemólisis de los glóbulos rojos.

Fecha Número Crotal

Nombre de la vaca

Ganadero

Localidad

Raza Edad Celo

Nº de parto Días Post-parto Días de gestación

Desparasitación

Enfermedades anteriores

Alimentación

Heno

pasto

Pienso

Corrector

Piedra de sal

Otros

Trastornos o Alteraciones:

Déficit de crecimiento Pica

Disminución de la producción de leche

Defectos de aplomo Cojeras

Dermatitis Alopecias

Decoloración de pelos Diarreas

Infertilidad

Observaciones

.....

Después se recogió el plasma con pipetas de plástico y se depositó en tubos que fueron congelados a - 18°C para su posterior análisis (Carcagno et al, 1993).

II.2. LECHE

Tras la limpieza de la ubre, tomamos una muestra de leche de cada mama, previa eliminación de los primeros chorros. La leche se recogió en un tubo de plástico y posteriormente se congeló a - 18°C.

II.4. HECES

Las heces las recogimos directamente del recto ayudándonos con un guante de plástico; una vez en el laboratorio las secamos en una estufa durante 12 horas a 100°C y a continuación se depositaron en bolsas de plástico secas.

II.3. PELO

El pelo se obtuvo de la región de la nuca, previo cepillado de la zona, utilizando tijeras de acero inoxidable, ya que el arrancamiento y afeitado agregan piel o folículos pilosos que son más ricos en cinc (Carcagno et al, 1993). Una vez obtenido lo depositamos en bolsas de plástico convenientemente identificadas.

II.5. ALIMENTO

El heno lo tomamos de varios puntos de la paca que estaban consumiendo en ese momento, recogiendo aproximadamente 500 gr. Una vez en el laboratorio el heno se picó de forma muy fina y se mezcló, quedándonos con 50 g, que secamos en una estufa a 100°C durante 12 horas para eliminar la humedad.

Igualmente tomamos 50 g de la mezcla de pienso que estaban consumiendo, depositándolo en bolsas de plástico.

Para la recogida de muestras de pasto seguimos las indicaciones preconizadas por Lamand (1979), y así, se recogieron muestras de pasto de alrededor de 500 g, que se tomaron en varios sitios de la pradera sin separar las hojas de los tallos para que la muestra tomada fuera representativa; en el laboratorio se picó y se mezcló, eligiendo 50 g, que se depositaron en una estufa a 100°C durante 12 horas.

II.6. METODOLOGÍA ANALÍTICA

II.6.A. Instrumentación

Las determinaciones colorimétricas se realizaron en un espectrofotómetro Spectronic 601 (Milton Roy), mientras que el análisis de oligoelementos se realizó en un espectroscopio de absorción atómica Smith-Hieftje 11, con una llama de aire-acetileno.

II.6.B. Análisis bioquímico

La cuantificación de la glucosa se realizó por una técnica enzimático-colorimétrica basada en la catalización por la glucosa oxidasa del paso de glucosa a ácido glucurónico, produciéndose finalmente tras una serie de reacciones un compuesto coloreado que proporciona la concentración de glucosa en la muestra (Glucosa, método Trinder, Knickerbocker).

Para la valoración de los lípidos totales se empleó una técnica colorimétrica basada en la reacción de los lípidos no saturados con el ácido sulfúrico, dando lugar a la aparición de iones carbonio que en presencia de fosfórico vainilla dan una coloración rosada, proporcional a la concentración lipídica (Lípidos totales, método de Chabrol-Charonnat, Knickerbocker).

El nivel de proteínas plasmáticas totales se determinó en un refractómetro (Bausch & Lomb), equilibrando el aparato a cero con agua destilada.

La determinación de la actividad de la ceruloplasmina se basa en la propiedad de la enzima para oxidar la P-fenilendiamina, el proceso se realizó a 37 °C y en oscuridad, empleando un blanco para cada problema (Sunderman y Nomoto, 1970); el pH se modificó mediante la adición de hidróxido sódico 1 mol/l, ya que se ha visto que en bovino la actividad oxidasa óptima se obtenía a pH 6,4 (Bingley y Dick, 1969).

Técnica

	Problema	Blanco
Solución tampón de acetato	2,0 ml	2,0 ml
Plasma problema	0,1 ml	0,1 ml
Solución P-fenilendiamina	1,0 ml	1,0 ml
Solución de nitrato sódico		50,0 µl
Se mezcla y mantiene en baño a 37 °C durante 30 minutos.		
Solución de nitrato sódico	50,0 µl	

Se leen los dos tubos problema y blanco en el espectrofotómetro a 530 nm en cubetas de 1 cm de paso de luz y el cálculo se realiza de la siguiente forma: $g/l = 0,752 (A_p - A_b)$, donde A_p es la absorbancia del problema y A_b la absorbancia del blanco.

La bilirrubina tanto total como conjugada se determinó fotométricamente a partir del cambio de color determinado por la reacción del ácido sulfanílico diazotado con la bilirrubina, dando azobilirrubina (Bilirrubina total y directa, método de Malloy-Evelyn, Knickerbocker).

Se valoró mediante una técnica cinética la actividad de la aspartato amino transferasa (AST), basada en la catalización de la reacción del alfa-cetoglutarato con el L-aspartato (Determinación de AST según IFCC, Boehringer Mannheim) y de la alanina aminotransferasa (ALT), que se fundamenta en la reacción del Alfa-cetoglutarato con el L-alanina (Determinación de ALT según IFCC, Boehringer Mannheim).

También se determinó cinéticamente la actividad de la fosfatasa alcalina tras reaccionar con el P-Nitrofenilfosfato (Fosfatasa alcalina optimizada, Boehringer Mannheim).

Todas estas determinaciones se realizaron dentro de las 24 horas siguientes a la recogida de las muestras.

II.6.C. Análisis de metales

Para determinar la concentración de estos elementos, se emplearon reactivos purísimos utilizando vidrio de borosilicato tipo PYREX durante el ataque y análisis de las muestras, con el propósito de evitar contaminaciones químicas de las mismas.

En todos los casos, el material de vidrio previamente a cualquier análisis se mantenía 12 horas con mezcla crómica concentrada, realizándose posteriormente 3 lavados con agua destilada.

II.6.C.1. Ataque de alimento, heces y pelo.

Previo ataque del pelo, éste se lavó con un detergente neutro (Texapón-TH) al 4 por 1000 dos veces, con una duración de 20 minutos cada vez, aclarándolo seguidamente varias veces con agua destilada, secándolo en estufa a 100 °C durante 12 horas (Nougues y Lamand, 1972).

El ataque del alimento, heces y pelo, se realizó por vía húmeda, siguiendo el método de Calleja (1978) y Buckley y Dreosti (1984).

Tras pesar 1 g de muestra en una balanza con sensibilidad de 1 milésima de gramo, se depositó en un matraz kjeldahl de 50 ml de capacidad, añadiendo 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, 2 ml de ácido perclórico 60% y 5 ml de ácido nítrico concentrado. El ataque se realizó en digestor lentamente hasta que el residuo era completamente líquido y transparente.

A continuación se vertió 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.

II.6.C.2. Preparación del plasma sanguíneo y leche

Para la determinación de cinc y cobre en plasma y leche y con objeto de desproteinizar las muestras, añadimos 3 ml de ácido tricloroacético 0,75 M a 1 ml de muestra, se agitó y dejó reposar durante 5 minutos, para posteriormente centrifugarlo a 4.000 rpm durante 10 minutos, realizando a continuación la lectura en el sobrenadante. Se considera una dilución de 1/4 (Rejas López, 1990).

II.6.C.3. Determinación de Cu y Zn

Para el análisis del cobre y el cinc en el espectroscopio de absorción atómica, se realizaron las curvas de calibración con patrones que se obtuvieron a partir de soluciones patrón TITRISOL de la casa Merck.

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

El cinc se determinó a una longitud de onda de 213,9 nm, con un rango lineal hasta 0,4 ppm (Bellanger, 1971).

Para la determinación de estos elementos en alimento, pelo, heces, leche y plasma se realizaron 3 lecturas de 1 segundo de duración, por cada elemento, con una espera entre lecturas de 0,5 segundos.

El nivel de estos elementos se obtuvo restando de la concentración leída por el espectroscopio de absorción atómica la equivalente al blanco. El valor obtenido se multiplicó por la dilución realizada.

III. Estudio estadístico

El estudio estadístico realizado se ha efectuado con un programa informático Statistica, versión 4.5. Para cada uno de los parámetros estudiados, se obtuvieron el valor medio y la desviación estándar en cada una de las granjas y en cada uno de los meses. Así mismo, se procedió a un análisis de varianza de doble vía que nos permitiera comparar los resultados de cada granja, los de cada mes y la interacción de ambos, en este caso sólo se procesaron los datos correspondientes a los meses en los que se muestrearon las cuatro granjas, de modo que en el caso de las ganaderías A y B se descartaron los valores de octubre y noviembre (del primer año) y en el caso de las ganaderías C y D se descartaron los mismos meses, estos correspondientes al segundo año.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos para cada parámetro durante el período de estudio se presentan como sigue:

- a) Los valores individuales de cada animal para cada parámetro a lo largo de un año se presentan en forma de tablas y aparecen reflejados en las Tablas numeradas desde el nº 1 al nº 68.
- b) Se expresan en forma de tabla (Tablas nº 69 a nº 85) los valores medios y la desviación estándar de cada uno de los parámetros en cada granja, también durante el mismo período.
- c) El contenido de cobre y cinc de los alimentos y el agua de bebida de cada una de las explotaciones estudiadas se reflejan en las Tablas numeradas del 86 al 93.
- d) La Tabla nº 94 muestra los resultados del análisis de doble vía efectuado para cada uno de los parámetros, en dependencia del mes, de la granja y de ambos. En este caso, dado que el período de recogida de muestras no es completamente coincidente, no se han utilizado los valores de los dos primeros meses en las ganaderías A y B ni los de los dos últimos meses en las ganaderías C y D, esto es el análisis se refiere a un período de diez meses en el que se muestrearon todas las granjas.
- e) En las figuras numeradas de la 1 a la 34 se refleja la evolución mensual de las medias de los valores obtenidos en cada uno de los parámetros. En unas gráficas (las impares) se presenta la evolución de la media de todos los individuos estudiados según el mes del año en el que se muestrearon. En las gráficas pares la evolución media que aparece es la de cada una de las granjas, con la salvedad señalada anteriormente respecto a que sólo se presentan los diez meses de muestreos coincidentes.

Los valores individuales de glucosa en plasma en las vacas de las cuatro ganaderías, que se presentan en las Tablas nº 1 a 4, se mantuvieron a lo largo del año entre 42,59 y

84,78 mg/dl, oscilando las medias entre 46,11 y 77,06 mg/dl. Los valores medios más elevados aparecieron en las dos granjas de Omaña en los meses de octubre del primer año y agosto del segundo (Tabla nº 69). Al estudiar el conjunto de las cuatro ganaderías, que muestran los valores más altos en agosto y los más bajos entre febrero y abril, las diferencias entre meses se hacen estadísticamente significativas, probablemente como consecuencia del pico que aparece en el mes de agosto (Figura 1). Considerando la evolución de cada una de las ganaderías (Figura 2), apreciamos que, en general, los valores se mantienen bastante estables; la excepción aparece en la ganadería A, en la cual se dan los valores medios más bajos y los más altos.

Los niveles individuales de lípidos totales en plasma aparecen en las Tablas nº 5 a 8, oscilando entre 0,98 y 4,93 g/l, presentando la ganadería D valores medios más elevados (con un máximo de 4,14 g/l el mes de octubre) que las otras ganaderías (el valor más elevado se dio el mes de agosto en la ganadería C, alcanzando los 3,76 g/l) (Tabla nº 70). Considerando los valores globalmente (Figura 3), el período en el que la lipidemia es más elevada coincide con el otoño, mientras que las cifras se mantienen bastante estables durante el resto del año. El estudio de la evolución según la granja (Figura 4), nos ha permitido observar un comportamiento similar entre las dos ganaderías de cada uno de los valles, que a su vez se comportan de manera diferente, siendo los valores más altos los de Babia.

Las concentraciones individuales de proteínas totales plasmáticas (g/dl) en las vacas de las cuatro ganaderías se presentan en las Tablas nº 9 a 12 y están comprendidas entre 6,0 y 8,9 g/dl, encontrándose los valores medios más altos (Tabla nº 71) en la ganadería A durante la primavera (período en el que se superan como media los 8 g/dl). La proteinemia más baja aparece durante el invierno (Figura nº 5) y la más elevada en el mes de julio, no observándose diferencias significativas entre los distintos meses. Tampoco aparecen diferencias estadísticamente significativas cuando se estudia la interacción entre las granjas y los meses (Tabla nº 94), a pesar de que prácticamente durante todo el año los valores de la granja A superan a los de las demás (Figura 6) y sí dan significación estadística tanto granjas como meses cuando se estudian individualmente (Tabla nº 94).

Los resultados individuales de la determinación de ceruloplasmina plasmática (g/l) en las vacas de las cuatro ganaderías aparecen reflejados en las Tablas nº 13 a 16. Los valores medios oscilaron entre un mínimo de 0,29 y un máximo de 0,62 g/l, manifestándose las concentraciones medias más elevadas (Tabla nº 72) en las cuatro explotaciones en el mes de junio. Aun cuando existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos meses (Figura 7), los valores se nos presentan como bastante similares cuando "olvidamos" el importante pico que aparece en el mes de junio (valores medios superiores a 0,55 g/l). El comportamiento de las cuatro

ganaderías (Figura 8) es muy similar, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ellas (Tabla nº 94) aunque sí cuando se estudia la interacción granja-mes.

Los valores individuales de bilirrubina total en plasma (mg/dl) se relacionan en las Tablas nº 17 a 20. El margen de variación se mantuvo entre 0,16 y 0,89 mg/dl. Los niveles medios (Tabla nº 73) se mantuvieron estables a lo largo de todo el año en todas las ganaderías, oscilando entre 0,23 y 0,58 mg/dl. El comportamiento de este parámetro a lo largo de los meses es similar al observado en el caso de la proteína, con valores bajos en el invierno y niveles más elevados en el entorno del mes de julio (Figura nº 9), con diferencias significativas entre meses y entre granjas (Figura nº 10).

Las cifras individuales de bilirrubina directa (mg/dl), que se relacionan en las Tablas nº 21 a 24, han dado lugar a valores medios relativamente homogéneos en todas las granjas y en todos los meses, con oscilaciones entre 0,15 y 0,32 mg/dl (Tabla nº 74), apareciendo las cifras medias más elevadas en las dos ganaderías de la zona de Luna. El estudio estadístico revela, diferencias significativas tanto entre meses como entre granjas o en su interacción (Figuras 11 y 12, Tabla nº 94).

Los valores individuales de AST en las vacas de todas las explotaciones oscilaron entre 14 y 51 U/l (Tablas nº 25 a 28), manteniéndose los valores medios (Tabla nº 75) bastante más estables, con un rango de variación entre 22,50 y 39,50 U/l. Estadísticamente apreciamos la no existencia de diferencias significativas en la interacción mes-granja (Figura nº 14) aunque sí existe cuando se estudian los meses (Figura nº 13); en este caso, los valores más bajos aparecen al inicio del otoño y se mantienen durante el invierno, para recuperarse en la primavera.

Los datos individuales de ALT (U/l) (Tablas nº 29 a 32), oscilaron entre 9 y 29 U/l, mientras que los valores medios (Tabla nº 76) experimentaron una variación muy discreta a lo largo del año en las cuatro ganaderías. Esa variación, aunque llega a mostrar diferencias significativas cuando se estudian independientemente el mes (situándose los valores más bajos en el mes de febrero) o la granja (con cifras medias más elevadas en las dos ganaderías de la zona de Luna) (Figura nº 15, Tabla nº 94), no permite similar conclusión cuando el elemento estudiado es la interacción entre mes y granja (Figura nº 16).

La actividad de fosfatasa alcalina plasmática por nosotros valorada en las distintas vacas se presenta en las Tablas nº 33 a 36, con valores medios comprendidos entre 25 y 90 U/l (Tabla nº 77). Las diferencias entre granjas (a destacar que las cifras más elevadas aparecen en las ganaderías A y B y las más bajas corresponden a las otras dos ganaderías y aparecen en el mismo mes, febrero) (Tabla nº 94) o meses (mínimos en enero y febrero, estabilidad en los demás meses) (Figura nº 17), considerados

individualmente, no se traduce en similar significación estadística cuando se estudia la interacción (Figura nº 18).

En las Tablas nº 37 a 40 se reseñan los resultados individuales de cobre en plasma ($\mu\text{g/ml}$), que se mantuvieron en un margen comprendido entre 0,61 y 1,72 $\mu\text{g/ml}$. Las medias más altas (Tabla nº 78) se encontraron entre los meses de mayo y julio. La evolución mensual muestra que se produce un descenso al inicio del otoño, que continúa hasta estabilizarse y se mantiene durante el invierno y sólo se recuperan los valores con la llegada de la primavera, obteniéndose el máximo en el mes de junio (Figura nº 19). La diferencia existente entre los distintos meses alcanza valores altamente significativos ($p < 0,000$). El comportamiento de las cuatro granjas, aunque en general similar respecto a la evolución, permite advertir diferencias estadísticamente significativas como consecuencia de los valores más elevados que se observan en las dos explotaciones de Omaña (Figura nº 20), en las cuales los niveles medios son superiores a 1,15 $\mu\text{g/ml}$ durante más de las dos terceras partes del período estudiado.

La concentración individualizada de cinc en plasma ($\mu\text{g/ml}$) se presenta en las Tablas nº 41 a 44 y ha permitido comprobar una importante oscilación media entre meses (Tabla nº 79) incluso dentro de la misma ganadería, pues la máxima diferencia apareció en la ganadería C donde el valor máximo se situó en 2,38 y el mínimo en 1,39 $\mu\text{g/ml}$. Cuando estudiamos la evolución mensual observamos los valores más bajos en el mes de diciembre y los más elevados entre abril y septiembre (con cifras muy similares en los seis meses de este período), alcanzando diferencias estadísticamente significativas (Figura nº 21). Similar significación aparece entre las explotaciones, situándose los valores más elevados en las granjas B y C, una de cada una de las dos zonas investigadas. La interacción, sin embargo, no adquiere esa significación (Figura nº 22).

Los valores individuales de cobre en leche ($\mu\text{g/ml}$) (Tablas nº 45 a 48) oscilaron entre 0,03 y 0,29 $\mu\text{g/ml}$. Los valores medios (Tabla nº 80) más elevados aparecieron en los meses de febrero y marzo y los más bajos en el final del verano, simulando una evolución inversa a la del mismo oligoelemento en plasma. Las diferencias entre meses son altamente significativas (Figura nº 23), mientras que entre ganaderías la significación estadística es algo menor (Figura nº 24) no apreciándose similitud alguna en cuanto al comportamiento en las granjas de cada zona.

Las cifras individuales de cinc en leche se representan en las Tablas nº 49 a 52 y han sido muy variables a lo largo del período de estudio, oscilando entre 4,05 y 15,35. Cabe destacar que, de manera general los valores medios más bajos (Tabla nº 81) aparecen en todas las explotaciones entre febrero y marzo y que, de manera inversa a

lo reseñado para el parámetro anterior, los valores más elevados aparecen al final del verano (Figura nº 25). La variabilidad antes citada se ha traducido en la inexistencia de significación estadística cuando se estudia la interacción entre los meses y las granjas (Figura nº 26 y Tabla nº 94), pero sí debemos citar que durante el período de valores más elevados, existe diferencia entre las ganaderías de las dos zonas, apareciendo las cifras más altas en la zona de Omaña.

La concentración individual de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) (Tablas nº 53 a 56) osciló de manera importante (entre 6,34 y 38,20 $\mu\text{g/g MS}$), apreciándose notables diferencias entre los valores medios (Tabla nº 82) de las distintas ganaderías. Ello no ha impedido que el estudio de las diferencias entre meses (Figura nº 27), entre granjas (Tabla nº 94) y la interacción de ambos reflejen diferencias significativas. En general ha sido en la ganadería D donde se han dado los valores de excreción fecal más elevados durante todo el período estudiado.

La cantidad de cinc en heces en cada una de las vacas ($\mu\text{g/g MS}$) se presenta en las Tablas nº 57 a 60, encontrándose un amplio margen de variación (32,00 a 299,97 $\mu\text{g/g MS}$), con los valores medios (Tabla nº 83) más altos en las vacas de la ganadería D. La evolución mensual de este parámetro ha sido mucho más homogénea que en el caso anterior, percibiendo los valores más bajos en el período invernal (Figura nº 29). En cuanto al comportamiento de las granjas, no hemos podido comprobar la existencia de similitud alguna entre ellas (Figura nº 30), si exceptuemos el hecho ya avanzado antes de que a lo largo de todo el año (excepto en un mes) siempre el valor más elevado ha aparecido en la ganadería D.

Los niveles individuales de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) se reflejan en las Tablas nº 61 a 64, con una oscilación entre 6,05 y 14,85 $\mu\text{g/g MS}$, siendo los niveles medios muy estables (Tabla nº 84) a lo largo de toda la experiencia, con cifras entre 7,53 y 11,93 $\mu\text{g/g MS}$. No se ha observado una tendencia definida en cuanto al comportamiento ni por lo que se refiere a la evolución mensual, en la que se pueden ver una imagen en forma de sierra (Figura nº 31) ni por lo que se refiere a la evolución dentro de la misma granja (Figura nº 32).

Como se puede apreciar en las Tablas nº 65 a 68 los valores individuales de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) varían dentro de un amplio margen (102,23 a 497,60 $\mu\text{g/g MS}$), hallándose importantes diferencias en las concentraciones medias (Tabla nº 85) entre las distintas ganaderías. En cuanto a la distribución mensual hemos observado una ligera tendencia a encontrar los valores más bajos en el período primaveral (Figura nº 33). Por lo que se refiere a las granjas, su comportamiento ha sido similar al citado para la concentración de cobre en pelo (Figuras nº 34).

En cuanto a las concentraciones de estos oligoelementos en el agua de bebida, diremos que no se han detectado niveles apreciables de cobre en el agua consumida por las vacas de las explotaciones B, C y D, mientras que en el agua de la ganadería A estos niveles, aunque claramente superiores a los de las otras, nunca superaron los 0,2 $\mu\text{g/ml}$. No sucede lo mismo en el caso del cinc, encontrándose valores importantes, en torno a 7 $\mu\text{g/ml}$, en la ganadería A y niveles mucho más bajos en las otras (inferiores a 0,05 $\mu\text{g/ml}$ en el caso de la ganadería B y en una cantidad menor de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ en los casos de las granjas denominadas C y D).

Los valores de los oligoelementos en los distintos tipos de alimento que consume el ganado de cada una de las granjas se presentan en las Tablas nº 86 (Granja A), 87 (Granja B), 88 (Granja C) y 89 (Granja D) en el caso del cobre y en las Tablas nº 90 a 93, respectivamente para las mismas granjas, en lo que se refiere al cinc.

La granja A proporcionaba a los animales además del pasto y el heno (dependiendo del período anual) y del pienso, alfalfa granulada. La concentración de cobre en el pasto osciló entre 8,72 (en diciembre, inmediatamente antes de la estabulación invernal) y 13,10 $\mu\text{g/g MS}$ (en agosto) (Tabla nº 86). La oscilación de dicho oligoelemento en el pienso se cifró entre 10,81 y 23,10 $\mu\text{g/g MS}$, comprobándose los valores más elevados en el pienso que se administraba a los animales entre los meses de julio y septiembre. La alfalfa granulada, que se aportaba a lo largo de todo el año, como elemento complementario, se mantuvo en cifras entre 8,43 y 15,50 $\mu\text{g/g MS}$. En esta ganadería, el heno destinado a la alimentación era relativamente pobre en este oligoelemento, con cifras que nunca llegaron a superar los 8 $\mu\text{g/g MS}$.

La explotación B, que no incluía el complemento de alfalfa granulada (y por lo tanto alimentaba a sus animales con pasto o heno y pienso), disponía de un pasto con valores de cobre aun más bajos que en el caso anterior (en un mes llegamos a encontrar valores de 5,51 $\mu\text{g/g MS}$ y en seis de los nueve meses no se llegó a los 8 $\mu\text{g/g MS}$) (Tabla nº 87). Los valores del heno fueron similares a los de la ganadería anterior. Lo mismo sucedía en el caso del pienso, aunque respecto a este producto el margen de variación fue más estrecho en esta ganadería y se estableció entre 10,60 y 17,40 $\mu\text{g/g MS}$.

Las dos ganaderías de la zona de Babia, para alimentar a sus animales, disponían de henos aún más pobres en cobre que las dos citadas anteriormente (las de Omaña), pues apenas se pudo comprobar una vez una cifra algo superior a los 6 $\mu\text{g/g MS}$ (Tablas nº 88 y 89). Respecto al pasto, las variaciones fueron entre 7,99 y 11,23 $\mu\text{g/g MS}$ (en la granja C) y entre 7,65 y 13,42 (en la D). En esta última ganadería la concentración de cobre en el pienso se mantuvo muy estable (entre 12 y algo más de 19 $\mu\text{g/g MS}$), mientras que en la anterior el margen de variación fue bastante mayor (entre 8,20 y

21,96 $\mu\text{g/g MS}$), pero sin observarse tendencia periódica alguna. La ganadería C, de manera similar a lo que aconteció en el caso de la primera explotación del otro área investigada, proporcionó a sus animales un complemento de alfalfa granulada, el cual mantuvo unos valores de cobre muy estables (de 9,45 a 11,59 $\mu\text{g/g MS}$).

Por lo que se refiere al cinc, cabe decir que tanto el pasto (en las dos ganaderías de Omaña), como el heno (en las cuatro ganaderías) y como la alfalfa granulada (en las dos ganaderías en las que se administraba, una de cada una de las dos zona) presentaron valores de este oligoelemento inferiores a los 50 $\mu\text{g/g MS}$ prácticamente en todos los casos (Tablas nº 90 a 93).

El comportamiento del contenido de cinc en el pasto en las dos ganaderías de Babia fue algo mejor pues, aunque se mantuvo en la mayor parte de las ocasiones en las cercanías de dicha cifra, sus valores habitualmente la sobrepasaban (Tablas nº 92 y 93).

El pienso proporcionado en los cuatro casos fue relativamente rico en este oligoelemento, no apreciándose más diferencia que la derivada del margen de variación propio de cada una de las ganaderías (entre 66,50 y 189,72 $\mu\text{g/g MS}$ en la ganadería A; entre 62,79 y 152,52 en la granja B; entre 51,52 y 120,19 en la explotación C, y entre 69,93 y 169,42 en la ganadería D).

Otro elemento a valorar a la hora de conocer el papel de los oligoelementos en relación con parte de las muestras estudiadas es la concentración de los mismos en la heparina utilizada como anticoagulante, en este sentido señalaremos que el nivel de cobre no superó nunca los 0,11 $\mu\text{g/ml}$, mientras que en el caso del cinc se encontraron valores cercanos, pero siempre inferiores, a los 3 $\mu\text{g/ml}$.

TABLAS DE RESULTADOS Y GRÁFICOS

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	68,49	69,23	73,62	73,62	59,34	65,56
Nov	55,03	52,34	44,29	51,34	57,38	54,36
Dic	55,32	51,54	48,10	58,41	58,76	54,29
Ene	59,70	52,38	53,84	50,91	56,41	50,91
Feb	56,98	53,04	48,02	49,82	63,79	52,68
Mar	50,71	50,71	50,71	53,95	69,78	47,84
Abr	63,85	65,96	49,47	55,78	61,75	53,68
May		73,56	68,96	60,15		64,36
Jun		54,19	45,80	51,14		51,52
Jul		48,51	46,66	46,66		42,59
Ago		78,69	77,82	72,17	79,56	
Sep		51,78	48,21	51,42	54,64	

Tabla nº 1. Valores individuales de glucosa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	68,18	81,81	77,27	68,18	65,45	62,27	68,63
Nov	58,72	59,06	68,45	72,14	69,12	68,12	71,14
Dic	58,07	61,16	70,79	65,63	70,44	63,23	60,82
Ene	53,84	51,64	62,27	57,50	58,24	51,28	54,57
Feb	56,98	62,72	54,48	52,68	55,19	54,12	51,97
Mar	55,75	53,59	54,31	58,27	53,59	48,20	50,35
Abr	51,22	61,40	55,43	64,56	55,08	58,59	63,50
May	62,45	64,75	66,66	72,03	67,43	59,38	71,26
Jun	57,63	66,41	61,45	64,12	76,71	65,26	64,12
Jul	64,72	44,36	52,00	53,10	62,90		45,45
Ago	78,26	84,78	78,26	77,82	72,17		63,04
Sep	61,42	61,07	57,50	81,42	56,07		58,21

Tabla nº 2. Valores individuales de glucosa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	56,94	56,25	68,40	69,09	67,36	60,76
Ene	57,87	62,27	60,80	62,63	61,53	62,63
Feb	51,24	51,24	56,58	59,07	52,66	51,95
Mar	55,59	55,22	55,97	54,10	51,11	57,46
Abr	55,85	45,70	48,82	57,03	53,12	55,46
May	54,31	60,07	52,51	52,15	53,23	56,11
Jun	55,35	63,21		56,78	63,57	63,21
Jul	54,62	57,56		58,40	66,80	
Ago	56,29	57,77	64,81	57,03	68,51	
Sep	54,64	56,13	56,13	50,92		
Oct	59,31		56,27	63,49		37,64
Nov	45,75		62,73	61,25		56,08

Tabla nº 3. Valores individuales de glucosa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	48,95	59,42	58,33	65,27	56,25	67,36				
Ene	58,24	59,70	59,34	67,39	50,91	50,70	58,6	63,36	61,90	63,73
Feb	55,16	54,44	57,65	59,43	50,53	42,70	52,31	55,16	52,66	57,65
Mar	54,10	61,56	60,44	58,58	56,34	54,85	58,95	58,95	63,06	65,29
Abr	50,78	60,93	47,65	47,26		52,34	46,85	46,87	50,78	51,95
May	52,51	61,87	52,51	53,59	47,12	50,71	54,31	51,79	60,07	52,87
Jun	62,85	56,07	60,00		46,78	48,57	58,21		71,78	54,64
Jul	73,94	70,16	57,56		63,44	67,64	63,86	60,95	67,64	68,06
Ago	68,51	57,40	58,14	62,22	53,33	61,85	61,11	60,37	57,77	64,44
Sep	57,99	61,33	69,14	64,31	60,22	63,19		61,33	54,27	46,09
Oct	57,03	57,79	69,58	57,79	61,97	63,87		58,17	55,13	67,30
Nov	61,62	61,99	63,46	67,15	60,14	71,25	62,36	57,56	65,68	56,45

Tabla nº 4. Valores individuales de glucosa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	3,52		2,88	2,11	1,05	2,08
Nov	2,08	4,42	2,32	2,69	2,65	1,40
Dic	1,33		3,42	1,26	2,26	1,13
Ene	1,25	1,45	1,25	1,18	1,98	1,07
Feb	1,29	1,22		1,16	2,67	2,53
Mar	0,98	2,47	2,26	1,17	2,65	
Abr	2,54	2,57	3,67	1,57	2,35	1,79
May		2,81	4,00	2,03		1,21
Jun		2,68	2,06	1,98		1,31
Jul		3,01	1,88	2,00		2,88
Ago		2,92	3,64	2,17	2,08	
Sep		3,79	4,15	2,62	2,50	

Tabla nº 5. Valores individuales de lípidos totales en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	1,11	4,85	2,23	3,88	3,35	2,46	3,20
Nov	4,46	4,69	2,07	3,38	3,15	3,46	3,34
Dic		1,86	1,73	4,13	3,53	1,47	1,20
Ene	1,40	1,12	1,07	2,41	2,25	1,07	1,18
Feb	1,40	2,08	1,19	1,24	1,92	1,52	1,78
Mar	1,48	3,32	1,84	3,05	1,99	1,96	1,81
Abr	1,38	2,98	2,26	3,11	1,88	1,63	1,76
May	1,51	3,60	2,57	3,45	2,33	2,87	2,33
Jun	1,23	2,26	2,32	1,68	1,51	1,92	1,33
Jul	1,91	3,25	3,15	2,29	2,81		2,94
Ago	2,59	2,44	2,47	2,59	2,50		1,58
Sep	1,73	2,62	3,34	3,83	3,66		2,21

Tabla nº 6. Valores individuales de lípidos totales en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	1,43	2,83	2,41	3,70	3,29	3,83
Ene	2,68	2,39	2,81	3,75	1,87	4,26
Feb	1,87	2,11	2,58	2,47	1,96	3,70
Mar	2,15	2,27	2,59	2,41	1,83	2,85
Abr	1,87	1,87		1,99	1,82	2,84
May	1,47	1,97	2,03	1,81	2,75	2,39
Jun	2,35	1,78		1,87	3,30	3,08
Jul	3,25	3,00		2,25	2,83	
Ago	3,43	3,97	3,05	4,26	4,05	
Sep	3,72	3,47	2,92	3,45		
Oct	3,72		2,78	3,91		3,33
Nov	3,13		3,30	4,33		3,70

Tabla nº 7. Valores individuales de lípidos totales en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	3,86	3,21	3,89	2,54	3,94	2,81				
Ene	4,15	3,61	4,18	2,62	3,13	2,41	3,40	2,94	3,67	
Feb	4,86	3,07	2,28	2,47	2,97		3,55	2,80	3,05	2,09
Mar	4,12	3,06	2,23	2,69	2,62	1,70	2,41	2,10	3,96	2,27
Abr	4,58	1,94	2,76	2,26	1,77	1,59	2,79	2,24	2,24	1,73
May	4,45	2,95	2,33	1,58	2,84	1,55	2,75	1,86	1,94	1,50
Jun	3,68	2,95	4,46		3,56	2,77	2,32		1,87	2,42
Jul	3,03	1,75	2,31		4,02	2,34	1,98	2,17	2,75	2,45
Ago	4,39	3,13	3,68	3,38	3,13	3,76	2,80	3,84	4,93	4,56
Sep	4,31	3,98	3,75	3,05	3,32	2,95		4,15	4,15	3,08
Oct	4,53	4,24	4,43	3,85	4,88	3,94		4,17	3,98	3,20
Nov	4,83	4,13	4,16	3,70	4,20	3,56	2,00	3,26	2,66	3,13

Tabla nº 8. Valores individuales de lípidos totales en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	7,9	8,5	7,4	7,6	6,7	7,8
Nov	7,8	8,1	7,9	7,7	7,6	8,9
Dic	7,9	8,3	7,4	7,9	7,1	8,9
Ene	8,0	7,6	7,9	7,8	6,8	8,1
Feb	7,4	8,0	8,0	7,6	6,7	8,2
Mar	8,5	8,4	7,7	7,9	6,9	7,5
Abr	8,5	8,8	8,0	8,3	7,1	8,0
May		8,7	8,1	8,0		7,8
Jun		8,2	7,9	8,1		8,5
Jul		7,9	8,0	8,1		8,5
Ago		7,8	7,8	7,1	6,6	
Sep		8,1	8,0	7,6	6,2	

Tabla nº 9. Valores individuales de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	7,6	8,8	7,0	7,7	8,2	7,1	8,4
Nov	6,7	7,3	6,5	6,9	7,1	6,6	8,2
Dic	7,3	7,7	7,0	7,6	7,3	6,6	8,3
Ene	7,6	7,6	6,7	7,2	7,1	6,0	7,2
Feb	7,8	7,9	6,7	7,0	7,2	6,3	7,9
Mar	7,4	8,4	7,0	7,0	7,3	7,3	8,0
Abr	7,2	8,1	6,0	7,1	7,0	6,6	8,0
May	7,0	8,7	7,3	7,3	7,6	6,8	8,2
Jun	7,1	8,0	7,3	6,9	7,6	7,3	7,7
Jul	7,4	8,0	7,5	7,0	8,1		7,9
Ago	7,0	7,9	7,0	7,6	7,2		7,5
Sep	7,3	8,0	6,8	8,4	7,5		7,7

Tabla nº 10. Valores individuales de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	7,1	6,7	7,4	7,3	7,7	6,9
Ene	7,2	6,5	7,6	7,3	7,7	6,9
Feb	7,0	6,6	6,8	7,3	7,3	6,6
Mar	7,0	6,6	7,0	7,4	7,1	6,3
Abr	7,2	7,0	7,8	8,0	6,9	6,5
May	6,6	6,7	8,0	7,6	7,8	6,3
Jun	7,2	6,1		7,1	7,6	6,6
Jul	7,8	6,9		7,8	7,9	
Ago	7,3	7,4	8,3	7,5	8,3	
Sep	7,3	7,5	7,8	7,3		
Oct	8,0		8,5	7,5		7,0
Nov	7,4		8,6	7,6		7,0

Tabla nº 11. Valores individuales de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	7,2	6,9	8,0	6,9	6,8	7,5				
Ene	7,3	6,9	7,6	7,0	6,8	7,5	8,0	7,0	7,1	7,6
Feb	7,6	7,1	8,1	7,5	7,1	7,8	8,3	7,8	7,9	8,0
Mar	7,2	6,6	7,8	7,4	7,2	7,3	7,9	6,8	7,2	7,5
Abr	7,4	7,3	7,8	7,3		7,0	8,1	7,2	7,2	7,4
May	7,8	7,8	8,0	7,8	7,6	7,6	8,1	6,6	6,7	7,5
Jun	7,5	6,9	8,1		7,4	8,3	7,9		8,7	8,6
Jul	7,7	7,2	8,5		7,7	8,6	8,0	7,3	7,6	8,3
Ago	7,9	7,6	8,5	7,1	7,5	8,2	7,9	7,6	7,5	8,8
Sep	7,3	7,4	8,1	7,6	7,1	8,0		7,5	7,2	8,1
Oct	7,5	7,5	8,0	7,5	7,5	8,0		7,7	7,5	8,0
Nov	7,0	7,0	7,8	7,4	7,0	7,6	8,4	7,2	7,0	8,0

Tabla nº 12. Valores individuales de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	0,49	0,60	0,56	0,50	0,55	0,51
Nov	0,31	0,19	0,49	0,55	0,54	0,43
Dic	0,35	0,26	0,20	0,48	0,35	0,44
Ene	0,35	0,30	0,39	0,32	0,27	0,37
Feb	0,33	0,36	0,37	0,34	0,22	0,32
Mar	0,46	0,38	0,43	0,39	0,35	0,34
Abr	0,49	0,44	0,45	0,52	0,29	0,41
May		0,51	0,47	0,59		0,56
Jun		0,55	0,59	0,70		0,64
Jul		0,31	0,32	0,36		0,39
Ago		0,24	0,39	0,37	0,30	
Sep		0,34	0,37	0,39	0,28	

Tabla nº 13. Valores individuales de ceruloplasmina en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	0,59	0,52	0,44	0,57	0,53	0,35	0,56
Nov	0,55	0,44	0,57	0,51	0,46	0,31	0,69
Dic	0,50	0,43	0,34	0,44	0,15	0,26	0,42
Ene	0,41	0,45	0,32	0,40	0,40	0,23	0,30
Feb	0,39	0,50	0,26	0,29	0,26	0,23	0,41
Mar	0,46	0,62	0,34	0,34	0,24	0,33	0,54
Abr	0,42	0,52	0,36	0,43	0,32	0,27	0,54
May	0,50	0,58	0,53	0,48	0,39	0,35	0,60
Jun	0,67	0,69	0,67	0,51	0,39	0,50	0,69
Jul	0,32	0,40	0,39	0,37	0,26		0,40
Ago	0,33	0,41	0,36	0,43	0,26		0,34
Sep	0,34	0,46	0,34	0,50	0,31		0,41

Tabla nº 14. Valores individuales de ceruloplasmina en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	0,52	0,38	0,38	0,38	0,47	0,39
Ene	0,26	0,29	0,30	0,30	0,30	0,28
Feb	0,28	0,31	0,34	0,42	0,28	0,28
Mar	0,28	0,29	0,33	0,39	0,37	0,29
Abr	0,29	0,39	0,40	0,44	0,20	0,76
May	0,24	0,32	0,36	0,37	0,44	0,27
Jun	0,42	0,46		0,47	0,57	0,44
Jul	0,34	0,45		0,49	0,47	
Ago	0,35	0,35	0,43	0,34	0,47	
Sep	0,36	0,40	0,49	0,46		
Oct	0,40		0,51	0,42		0,31
Nov	0,39		0,51	0,42		0,33

Tabla n° 15. Valores individuales de ceruloplasmina en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	0,48	0,27	0,44	0,46	0,31	0,39				
Ene	0,43	0,31	0,41	0,39	0,24	0,39	0,41	0,33	0,28	0,43
Feb	0,42	0,26	0,35	0,40	0,30	0,31	0,30	0,26	0,30	0,28
Mar	0,34	0,29	0,39	0,45	0,32	0,35	0,30	0,29	0,30	0,35
Abr	0,30	0,43	0,39	0,35		0,28	0,29	0,31	0,34	0,35
May	0,44	0,38	0,48	0,41	0,47	0,52	0,31	0,31	0,31	0,45
Jun	0,60	0,46	0,63		0,41	0,67	0,46		0,65	0,55
Jul	0,52	0,33	0,49		0,38	0,47	0,34	0,37	0,36	0,43
Ago	0,63	0,35	0,43	0,59	0,48	0,50	0,29	0,31	0,32	0,40
Sep	0,50	0,31	0,39	0,50	0,35	0,41		0,32	0,30	0,37
Oct	0,43	0,32	0,39	0,43	0,35	0,43		0,35	0,31	0,32
Nov	0,39	0,30	0,44	0,43	0,35	0,42	0,38	0,30	0,31	0,33

Tabla n° 16. Valores individuales de ceruloplasmina en plasma (g/l) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	0,39	0,52	0,52	0,52	0,52	0,37
Nov	0,16	0,18	0,29	0,24	0,27	0,24
Dic	0,31	0,31	0,22	0,55	0,29	0,46
Ene	0,34	0,37	0,28	0,31	0,28	0,45
Feb	0,24	0,37	0,40	0,33	0,18	0,37
Mar	0,65	0,37	0,42	0,30	0,47	0,32
Abr	0,50	0,47	0,29	0,47	0,26	0,62
May		0,55	0,27	0,35		0,80
Jun		0,35	0,52	0,27		0,42
Jul		0,61	0,37	0,32		0,45
Ago		0,67	0,52	0,27	0,30	
Sep		0,38	0,27	0,21	0,24	

Tabla n° 17. Valores individuales de bilirrubina total en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	0,40	0,45	0,26	0,45	0,42	0,45	0,22
Nov	0,45	0,64	0,27	0,19	0,40	0,32	0,88
Dic	0,42	0,41	0,40	0,37	0,77	0,34	0,34
Ene	0,40	0,60	0,25	0,47	0,89	0,43	0,42
Feb	0,32	0,40	0,24	0,22	0,27	0,20	0,35
Mar	0,37	0,53	0,22	0,22	0,25	0,35	0,27
Abr	0,32	0,41	0,29	0,26	0,38	0,23	0,41
May	0,27	0,44	0,22	0,22	0,30	0,22	0,22
Jun	0,65	0,29	0,27	0,31	0,35	0,18	0,31
Jul	0,34	0,28	0,26	0,26	0,34		0,28
Ago	0,25	0,47	0,25	0,27	0,35		0,52
Sep	0,32	0,32	0,24	0,43	0,19		0,30

Tabla n° 18. Valores individuales de bilirrubina total en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	0,35	0,37	0,37	0,35	0,53	0,22
Ene	0,40	0,22	0,45	0,37	0,30	0,20
Feb	0,22	0,45	0,27	0,40	0,42	0,22
Mar	0,32	0,35	0,30	0,30	0,30	0,22
Abr	0,30	0,33	0,47	0,50	0,36	0,47
May	0,31	0,34	0,48	0,62	0,56	0,28
Jun	0,29	0,31		0,33	0,40	0,35
Jul	0,58	0,45		0,64	0,64	
Ago	0,42	0,40	0,50	0,34	0,34	
Sep	0,30	0,33	0,67	0,60		
Oct	0,27		0,76	0,43		0,35
Nov	0,25		0,76	0,36		0,39

Tabla n° 19. Valores individuales de bilirrubina total en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	0,20	0,24	0,55	0,25	0,30	0,30				
Ene	0,22	0,22	0,63	0,25	0,30	0,35	0,47	0,42	0,27	0,86
Feb	0,19	0,30	0,60	0,18	0,25	0,16	0,30	0,25	0,25	0,25
Mar	0,25	0,35	0,53	0,20	0,37	0,42	0,39	0,23	0,25	0,63
Abr	0,27	0,33	0,61	0,55		0,38	0,50	0,55	0,58	0,50
May	0,53	0,53	0,51	0,56	0,37	0,59	0,53	0,51	0,31	0,36
Jun	0,35	0,42	0,82		0,42	0,89	0,60		0,62	0,35
Jul	0,61	0,58	0,80		0,35	0,82	0,64	0,45	0,38	0,51
Ago	0,48	0,34	0,56	0,45	0,34	0,40	0,56	0,40	0,40	0,64
Sep	0,39	0,36	0,54	0,64	0,30	0,30		0,36	0,30	0,27
Oct	0,32	0,20	0,40	0,30	0,25	0,32		0,30	0,25	0,30
Nov	0,31	0,25	0,50	0,56	0,36	0,28	0,33	0,36	0,28	0,48

Tabla n° 20. Valores individuales de bilirrubina total en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct						
Nov	0,13	0,13	0,26	0,13	0,13	0,13
Dic	0,18	0,23	0,14	0,22	0,21	0,25
Ene	0,19	0,22	0,23	0,19	0,27	0,22
Feb	0,16	0,22	0,19	0,14	0,15	0,18
Mar	0,20	0,25	0,15	0,15	0,35	0,17
Abr	0,26	0,31	0,26	0,23	0,23	0,20
May		0,38	0,16	0,16		0,39
Jun		0,23	0,25	0,12		0,23
Jul		0,26	0,18	0,13		0,18
Ago		0,22	0,25	0,15	0,20	
Sep		0,30	0,21	0,19	0,21	

Tabla nº 21. Valores individuales de bilirrubina directa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct							
Nov	0,13	0,33	0,13	0,18	0,32	0,27	0,30
Dic	0,29	0,23	0,29	0,21	0,30	0,27	0,22
Ene	0,25	0,31	0,19	0,31	0,33	0,30	0,30
Feb	0,30	0,28	0,19	0,15	0,25	0,18	0,30
Mar	0,22	0,37	0,15	0,15	0,22	0,25	0,20
Abr	0,29	0,29	0,26	0,20	0,29	0,17	0,20
May	0,24	0,27	0,19	0,19	0,27	0,16	0,16
Jun	0,35	0,21	0,25	0,25	0,23	0,14	0,18
Jul	0,26	0,20	0,17	0,20	0,20		0,23
Ago	0,17	0,22	0,17	0,17	0,25		0,17
Sep	0,27	0,21	0,16	0,19	0,13		0,24

Tabla nº 22. Valores individuales de bilirrubina directa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	0,27	0,22	0,24	0,27	0,27	0,12
Ene	0,22	0,17	0,15	0,25	0,15	0,15
Feb	0,16	0,33	0,13	0,25	0,22	0,20
Mar	0,15	0,23	0,29	0,20	0,23	0,12
Abr	0,19	0,22	0,38	0,33	0,30	0,31
May	0,22	0,28	0,22	0,25	0,33	0,25
Jun	0,20	0,26		0,22	0,26	0,31
Jul	0,25	0,32		0,32	0,32	
Ago	0,21	0,26	0,26	0,21	0,21	
Sep	0,21	0,27	0,33	0,37		
Oct	0,17		0,38	0,17		0,20
Nov	0,16		0,25	0,22		0,28

Tabla nº 23. Valores individuales de bilirrubina directa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
D	0,10	0,15	0,36	0,12	0,21	0,24				
E	0,15	0,12	0,35	0,21	0,15	0,27	0,32	0,32	0,17	0,32
F	0,13	0,22	0,25	0,16	0,11	0,10	0,15	0,13	0,13	0,13
M	0,17	0,27	0,33	0,12	0,23	0,25	0,19	0,22	0,17	0,30
A	0,16	0,27	0,31	0,36		0,36	0,27	0,37	0,38	0,36
My	0,25	0,25	0,36	0,25	0,19	0,35	0,31	0,39	0,25	0,25
Jn	0,29	0,35	0,39		0,20	0,31	0,39		0,24	0,17
Jl	0,22	0,29	0,29		0,29	0,34	0,31	0,35	0,35	0,31
Ag	0,24	0,18	0,21	0,18	0,18	0,18	0,26	0,24	0,21	0,32
S	0,33	0,24	0,18	0,21	0,21	0,21		0,30	0,21	0,15
O	0,17	0,10	0,17	0,15	0,15	0,17		0,27	0,17	0,20
N	0,19	0,16	0,22	0,25	0,16	0,16	0,19	0,25	0,16	0,22

Tabla nº 24. Valores individuales de bilirrubina directa en plasma (mg/dl) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	27	31	30	32	42	47
Nov	23	24	30	28	48	25
Dic	24	23	35	29	48	26
Ene	20	35	25	21	30	30
Feb	18	26	32	26	48	22
Mar	20	24	28	27	46	23
Abr	19	30	30	29	65	38
May		20	28	30		29
Jun		34	37	30		26
Jul		26	34	33		28
Ago		17	32	26	36	
Sep		23	26	30	35	

Tabla n° 25. Valores individuales de AST en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	24	30	38	40	34	35	32
Nov	29	23	32	33	30	27	23
Dic	40	32	40	44	35	29	35
Ene	21	26	30	30	33	20	25
Feb	34	32	32	35	29	34	35
Mar	31	28	30	33	29	38	27
Abr	35	29	34	46	35	50	33
May	35	29	51	35	30	35	27
Jun	36	26	46	36	26	33	32
Jul	34	32	35	31	40		30
Ago	28	22	37	37	39		32
Sep	26	21	35	26	33		35

Tabla n° 26. Valores individuales de AST en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	32	35	33	36	41	46
Ene	25	27	37	27	35	40
Feb	17	17	24	23	28	26
Mar	27	32	30	28	36	36
Abr	23	37	32	25	35	41
May	20	27	29	22	50	39
Jun	30	36		27	45	42
Jul	31	46		32	49	
Ago	40	43	35	31	48	
Sep	32	34	30	29		
Oct	32		30	29		42
Nov	34		28	14		42

Tabla n° 27. Valores individuales de AST en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	35	30	37	42	44	37				
Ene	36	26	37	40	37	34	46	35	28	39
Feb	24	17	28	24	35	21	31	26	31	21
Mar	33	24	35	39	31	31	43	39	33	26
Abr	35	22	28	34		27	48	33	30	24
May	36	23	44	35	42	44	45	27	31	29
Jun	42	46	33		43	37	49		33	29
Jul	31	29	29		38	34	43	39	42	30
Ago	34	32	32	31	38	34	42	40	34	27
Sep	25	24	27	32	32	29		33	24	22
Oct	33	30	28	38	37	38		40	31	27
Nov	27	31	31	37	36	36	32	38	28	26

Tabla n° 28. Valores individuales de AST en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	14	13	16	17	15	16
Nov	14	16	21	18	24	13
Dic	15	15	21	17	26	16
Ene	9	9	21	28	26	14
Feb	15	9	12	13	25	13
Mar	16	14	15	15	27	15
Abr	9	14	18	14	26	12
May		11	17	13		11
Jun		12	18	14		11
Jul		15	20	17		15
Ago		9	16	14	16	
Sep		14	17	16	12	

Tabla n° 29. Valores individuales de ALT en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	13	16	20	18	17	20	17
Nov	13	10	16	16	16	13	11
Dic	16	14	23	21	20	14	15
Ene	13	11	11	20	21	11	12
Feb	20	15	19	14	16	12	11
Mar	18	12	15	17	17	18	14
Abr	17	16	10	14	16	17	16
May	15	14	15	14	12	18	14
Jun	17	12	17	12	11	17	13
Jul	14	11	15	12	18		16
Ago	17	12	20	16	22		16
Sep	14	9	17	17	17		10

Tabla n° 30. Valores individuales de ALT en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	11	15	17	13	19	17
Ene	18	19	29	20	18	26
Feb	15	16	17	14	11	19
Mar	12	18	20	16	19	20
Abr	13	17	20	15	17	22
May	11	16	17	15	23	26
Jun	11	14		18	22	23
Jul	16	17		13	25	
Ago	23	23	20	19	28	
Sep	16	18	16	17		
Oct	15		14	15		16
Nov	16		13	14		16

Tabla n° 31. Valores individuales de ALT en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	14	18	18	16	19	19				
Ene	17	18	21	22	19	23	20	20	18	24
Feb	12	12	12	16	12	12	12	15	16	9
Mar	16	15	16	18	15	17	21	18	20	16
Abr	20	14	15	18		15	22	17	19	16
May	23	14	15	19	14	16	25	17	16	26
Jun	24	11	16		19	18	25		14	17
Jul	16	14	14		18	19	22	19	20	11
Ago	17	22	18	10	11	19	22	25	22	16
Sep	16	16	19	16	18	19		24	17	14
Oct	20	21	16	19	18	20		24	18	16
Nov	16	19	19	19	18	22	14	24	17	14

Tabla n° 32. Valores individuales de ALT en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	46	76	53	86	46	116
Nov	31	48	39	65	59	131
Dic	39	58	34	62	56	121
Ene	33	43	40	43	56	47
Feb	35	74	56	57	63	157
Mar	45	73	48	74	63	162
Abr	45	69	69	76	115	118
May		67	66	60		53
Jun		67	51	67		32
Jul		61	52	61		90
Ago		71	58	85	60	
Sep		40	30	66	59	

Tabla n° 33. Valores individuales de fosfatasa alcalina en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	43	91	96	85	44	64	49
Nov	44	54	85	113	45	28	28
Dic	38	51	100	117	52	42	40
Ene	36	40	33	83	33	30	40
Feb	37	47	57	118	37	38	25
Mar	53	47	70	151	45	38	36
Abr	49	86	86	189	40	109	66
May	64	94	96	164	46	97	71
Jun	57	30	120	135	44	91	64
Jul	46	97	68	90	47		55
Ago	41	65	89	113	45		55
Sep	20	53	83	83	36		33

Tabla n° 34. Valores individuales de fosfatasa alcalina en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	70	39	47	57	43	61
Ene	59	44	48	48	40	64
Feb	30	17	27	36	13	30
Mar	54	37	50	48	41	67
Abr	68	38	41	47	58	73
May	59	56	43	48	29	79
Jun	32	42		59	100	144
Jul	69	43		46	61	
Ago	75	45	41	66	58	
Sep	77	54	52	82		
Oct	72		42	57		68
Nov	63		46	53		68

Tabla n° 35. Valores individuales de fosfatasa alcalina en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	42	37	50	36	39	48				
Ene	38	38	21	24	44	30	9	38	122	64
Feb	23	13	30	20	26	23	20	33	59	13
Mar	51	18	57	41	46	26	49	60	119	16
Abr	58	30	46	31		32	56	70	153	44
May	56	35	44	42	48	31	54	63	109	58
Jun	32	40	48		50	38	51		123	66
Jul	63	38	61		96	54	66	72	157	61
Ago	115	40	57	39	68	51	56	75	125	56
Sep	59	39	53	37	62	55		79	116	51
Oct	66	36	50	38	55	47		69	138	61
Nov	57	35	53	34	50	53	41	68	129	51

Tabla n° 36. Valores individuales de fosfatasa alcalina en plasma (U/l) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	1,15	1,31	1,25	1,11	0,84	1,08
Nov	0,90	1,20	1,16	0,94	0,80	1,04
Dic	1,25	1,11	1,01	1,21	0,96	1,06
Ene	0,97			1,20	0,87	0,99
Feb	1,26	1,30	1,28	1,26	0,98	1,02
Mar	1,42	1,34	1,30	1,15	0,91	0,93
Abr	1,44	1,53	1,31	1,56	1,11	1,15
May		1,54	1,37	1,72		1,41
Jun		1,50	1,40	1,61		1,46
Jul		1,33	1,31	1,43		1,32
Ago		1,33	1,32	1,33	1,09	
Sep		1,35	1,48	1,47	1,05	

Tabla n° 37. Valores individuales de cobre en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	1,05	0,75	1,35	1,47	1,31	1,12	1,21
Nov	0,98	0,61	1,39	0,77	1,26	1,15	1,73
Dic	1,37	0,83	1,01	1,46	1,17	1,13	1,27
Ene	1,03	1,11	0,91	1,45	0,98	1,02	1,07
Feb	1,01	1,30	0,80	1,17	0,92	1,12	1,26
Mar	1,22	1,55	1,10	1,16	0,86	1,33	1,44
Abr	1,26	1,33	1,11	1,31	1,06	1,13	1,58
May	1,53	1,39	1,47	1,37	1,33	1,29	1,65
Jun	1,60	1,23	1,72	1,10	1,12	1,46	1,51
Jul	1,32	1,42	1,24	1,22	1,13		1,22
Ago	1,18	1,39	1,42	1,33	1,02		1,10
Sep	1,27	1,55	1,35	1,63	1,32		1,31

Tabla n° 38. Valores individuales de cobre en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	0,93	1,04	1,04	1,11	1,33	1,33
Ene	1,15	1,06	1,19	1,00	1,11	1,25
Feb	1,00	0,96	1,25	1,05	1,09	1,16
Mar	0,85	1,05	1,11	1,00	1,14	1,19
Abr	0,92	1,24	1,33	1,10	1,11	1,12
May	0,93	1,20	1,15	1,12		0,86
Jun	1,24	1,07			1,36	1,09
Jul	1,22	1,27		1,38	1,32	
Ago	1,24	1,21	1,40	1,07	1,35	
Sep	1,05	1,36	1,22	1,11		
Oct	1,31		1,21	1,36		0,94
Nov	1,35		1,20	1,29		0,90

Tabla n° 39. Valores individuales de cobre en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	1,48	0,95	1,37	1,13	1,00	1,11				
Ene	1,17	0,87	1,35	1,16	1,00	1,04	0,97	1,05	1,20	1,22
Feb	1,21	1,00	1,34	1,32	1,07	0,97	1,03	1,08	1,10	1,13
Mar	1,00	0,82	1,16	1,16	1,05	0,93	0,99	0,95	1,03	1,11
Abr	1,39	1,12	1,08	1,04		1,01	0,96	1,02	1,04	1,14
May	1,21	1,18	1,32	1,08	1,31	1,32	0,89	1,08	1,13	1,28
Jun	1,12	1,02	1,58		0,95	1,68	0,91		1,76	1,31
Jul	1,24	1,06	1,29		0,99	1,27	0,86	1,07	1,27	1,32
Ago	1,46	1,05	1,23	1,38	1,16	1,22	0,83	1,02	1,12	1,34
Sep	1,21	1,08	1,15	1,18	0,94	1,07		0,99	1,01	1,29
Oct	1,20	0,92	1,07	1,04	0,96	1,13		1,02	1,05	1,12
Nov	1,06	0,98	1,05	0,94	0,95	1,13	0,86	0,92	0,96	0,95

Tabla n° 40. Valores individuales de cobre en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	1,07	1,16	1,21	1,56	1,12	0,90
Nov	1,09	1,07	1,18	1,54	1,26	0,95
Dic	1,09	1,13	1,20	1,47	1,30	0,99
Ene	1,13			1,77	1,21	1,22
Feb	1,15	2,20	2,14	1,47	1,06	1,39
Mar	1,31	1,85	2,38	1,50	1,20	1,64
Abr	0,89	1,97	2,47	1,86	1,33	2,06
May		2,17	2,30	1,85		0,85
Jun		1,85	2,55	1,60		2,08
Jul		2,15	2,03	1,74		1,79
Ago		2,15	2,39	1,59	1,91	
Sep		2,21	2,42	1,96	1,81	

Tabla nº 41. Valores individuales de cinc en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	1,43	1,25	2,67	1,32	1,62	1,54	1,63
Nov	1,27	1,50	2,76	1,79	1,66	1,49	1,61
Dic	1,14	1,47	2,51	1,56	1,52	1,39	1,62
Ene	1,39	2,12	2,61	1,69	1,53	1,56	1,48
Feb	1,17	2,19	2,58	1,77	1,96	1,78	1,23
Mar	2,15	2,07	2,63	2,17	1,55	1,71	2,72
Abr	2,47	1,99	2,16	1,78	1,66	1,55	2,38
May	2,79	2,21	2,46	2,19	1,18	1,90	2,83
Jun	2,55	2,13	2,22	2,13	2,04	1,76	2,49
Jul	2,48	2,62	2,48	2,52	1,83		2,89
Ago	2,50	2,00	2,40	2,31	2,12		2,83
Sep	2,57	2,38	2,47	2,04	2,14		2,79

Tabla nº 42. Valores individuales de cinc en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	1,37	2,02	1,56	1,85	1,16	1,03
Ene	1,97	2,01	1,47	1,88	2,10	2,44
Feb	1,33	1,76	1,22	1,80	1,07	1,13
Mar	1,51	2,03	1,12	2,06	1,92	2,01
Abr	2,95	2,89	1,92	1,97	2,05	2,19
May	2,72	2,85	1,87	2,40		1,87
Jun	2,57	2,20			2,01	2,50
Jul	2,59	2,82		2,17	1,95	
Ago	2,25	2,13	1,27	1,54	1,93	
Sep	1,75	2,99		2,04		
Oct	2,23		1,30	2,10		2,49
Nov	2,65		1,53	2,19		2,17

Tabla n° 43. Valores individuales de cinc en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	0,81	0,91	0,80	1,12	2,45	2,64				
Ene	1,75	1,95	0,88	0,99	2,48	2,32	2,66	1,58	1,56	
Feb	2,38	1,88	0,88	0,98	1,84	2,34	1,74	1,60	1,62	1,62
Mar	2,21	2,02	0,84	2,39	1,94	2,22	1,70	1,54	2,08	1,64
Abr	1,09	2,23	1,91	2,62		1,92	1,64	1,56	1,99	1,34
May	2,05	1,51	2,06	2,22	1,83	1,41	1,61	1,80	1,88	1,19
Jun	2,43	1,90	1,99		1,33	1,30	1,55		1,70	1,54
Jul	2,02	1,82	2,01		1,12	1,38	1,78	1,88	1,58	1,75
Ago	1,62	1,77	1,82	2,31	1,77	1,24	1,52	1,66	1,78	1,52
Sep	2,00	2,11	2,56	2,16	1,92	1,67		1,71	1,58	1,67
Oct	2,34	2,45	1,85	2,22	1,85	1,58		1,79	2,01	1,90
Nov	2,10	2,02	2,06	2,05	1,70	1,45	1,94	2,02	1,83	1,61

Tabla n° 44. Valores individuales de cinc en plasma ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	0,17	0,16	0,16	0,16	0,18	0,14
Nov	0,12	0,18	0,15	0,15	0,17	0,16
Dic	0,10	0,16	0,19	0,12	0,13	0,18
Ene				0,16	0,15	0,15
Feb		0,20	0,29		0,19	
Mar	0,27	0,23	0,20		0,16	
Abr	0,21	0,26	0,23	0,21	0,04	
May		0,11	0,13	0,29		0,21
Jun		0,16	0,12	0,19		0,15
Jul		0,11	0,18	0,16		0,13
Ago		0,09	0,18	0,15		
Sep		0,06	0,15	0,13		

Tabla n° 45. Valores individuales de cobre en leche ($\mu\text{g/ml MS}$) en las vacas de la ganaderías A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	0,17	0,13	0,17	0,17	0,17	0,14	0,17
Nov			0,16	0,12	0,14	0,18	0,15
Dic	0,20		0,17	0,15		0,14	
Ene	0,15	0,17		0,15	0,15		
Feb	0,20	0,22		0,24	0,11	0,21	0,18
Mar	0,19	0,22		0,17	0,20	0,25	0,24
Abr	0,20	0,16			0,13	0,08	0,15
May	0,15	0,13	0,22			0,17	0,12
Jun	0,10	0,13	0,15			0,20	0,16
Jul	0,09	0,05	0,09	0,11	0,07		0,14
Ago		0,12	0,08	0,15	0,09		0,13
Sep		0,08	0,08	0,06	0,06		0,12

Tabla n° 46. Valores individuales de cobre en leche ($\mu\text{g/ml MS}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	0,15	0,17	0,16	0,15	0,19	0,14
Ene	0,17	0,17	0,16	0,15		0,15
Feb	0,17	0,15	0,16	0,14		0,14
Mar		0,11	0,13	0,18		0,14
Abr			0,16			0,13
May					0,20	0,16
Jun	0,18				0,03	0,13
Jul	0,13	0,22		0,11	0,10	
Ago	0,11	0,19	0,17	0,07	0,07	
Sep	0,11	0,14	0,15	0,09		
Oct	0,09		0,10	0,05		0,06
Nov	0,22		0,10	0,05		0,07

Tabla n° 47. Valores individuales de cobre en leche ($\mu\text{g/ml MS}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	0,21	0,17	0,14	0,19	0,19	0,20				
Ene	0,18	0,15	0,14	0,15	0,18	0,18	0,21	0,18	0,16	
Feb	0,16	0,17		0,18			0,18	0,14	0,14	
Mar	0,18	0,15		0,21			0,15	0,19	0,16	
Abr	0,21			0,20			0,14	0,18		
May	0,17		0,18	0,16	0,23	0,12	0,14			0,23
Jun	0,15		0,06		0,13	0,15	0,12		0,26	0,11
Jul	0,11	0,23	0,16		0,17	0,20	0,15	0,23	0,21	0,16
Ago	0,09	0,10	0,11	0,12	0,11	0,19	0,14	0,18	0,08	0,10
Sep	0,10	0,13	0,10	0,11	0,10	0,13		0,14	0,11	0,11
Oct	0,13	0,08	0,07	0,09	0,10	0,12		0,12	0,08	0,09
Nov	0,11	0,07	0,08	0,11	0,11	0,06		0,11	0,08	0,07

Tabla n° 48. Valores individuales de cobre en leche ($\mu\text{g/ml MS}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	5,08	5,59	6,42	5,64	6,54	6,34
Nov	6,16	7,29	8,68	4,72	5,49	7,02
Dic	4,32	4,95	10,15	6,39	5,35	5,55
Ene				6,30	5,55	5,45
Feb		6,40	6,70		5,40	
Mar	7,75	5,40	7,75		4,80	
Abr	6,85	9,20	4,46	10,45	6,08	
May		8,12	13,15	12,58		7,12
Jun		8,20	12,06	12,06		11,90
Jul		12,94	12,84	11,80		10,92
Ago		7,59	15,02	8,73		
Sep		8,42	12,48	9,62		

Tabla n° 49. Valores individuales de cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	5,54	4,72	9,28	5,37	5,95	4,89	5,47
Nov			7,02	7,02	6,52	4,50	5,76
Dic	8,55		6,75	8,65		4,90	
Ene	9,05	12,05		6,65	6,50		
Feb	4,15	4,30		4,20	4,00	5,50	4,45
Mar	5,40	5,50		6,25	5,10	6,75	6,40
Abr	4,45	4,85			5,87	4,16	5,61
May	11,70	10,14	11,75			8,22	9,72
Jun	9,30	9,10	11,28			10,76	6,96
Jul	11,54	7,64	10,97	11,02	9,88		10,14
Ago	7,07	9,67	7,28	9,51	6,39		7,17
Sep		8,99	7,28	10,55	6,44		10,41

Tabla n° 50. Valores individuales de cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	5,76	5,22	6,52	6,93	5,89	7,69
Ene	6,61	5,75	6,84	7,25		7,92
Feb	4,10	4,20	5,75	5,35		6,70
Mar		4,40	6,60	4,20		5,85
Abr			5,40			7,60
May					5,60	4,50
Jun	11,39				6,91	7,85
Jul	7,43	8,89		12,63	6,44	
Ago	8,21	8,11	11,28	4,83	4,73	
Sep	11,12	5,92	4,36	7,43		
Oct	9,62		5,04	10,34		7,74
Nov	10,76		8,52	11,07		15,35

Tabla n° 51. Valores individuales de cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	6,43	5,40	4,05	6,66	10,26	11,16				
Ene	7,24	6,34	4,27	7,20	8,95	9,31	8,69	5,15	11,52	
Feb	4,25	5,35		6,45			5,10	7,30	5,40	
Mar	8,25	5,30		7,40			5,70	5,15	5,80	
Abr	7,15			7,10			7,75	4,55		
May	4,65		4,35	4,90	6,80	15,75	6,55			13,95
Jun	8,73		4,94		5,60	10,66	6,81		10,66	6,60
Jul	10,03	9,30	5,30		6,39	7,33	8,16	11,96	11,12	8,37
Ago	5,98	6,08	5,92	9,51	8,52	7,12	7,95	8,99	7,69	5,51
Sep	7,59	10,03	8,84	6,96	7,02	7,69		8,63	7,95	5,30
Oct	12,79	11,49	9,20	9,83	10,77	10,4		12,43	14,90	10,35
Nov	4,73	5,25	5,40	6,13	4,44	11,82		7,28	12,94	7,59

Tabla n° 52. Valores individuales de cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	14,95	32,07		27,71	18,22	20,14
Nov	10,71	14,40	11,48	10,80	12,24	14,74
Dic	11,52	11,50	9,96	8,16	10,63	12,18
Ene	12,80	11,60	11,94	11,68	11,42	10,78
Feb	24,19	12,00	19,82	17,52	13,13	20,37
Mar	14,36	13,51	14,99	15,87	11,52	15,68
Abr	23,13	22,89	21,88	27,46	23,17	21,54
May		23,58	26,69	13,58		20,40
Jun		15,37	14,60	18,43		12,56
Jul		38,20	22,00	18,75		22,02
Ago		17,77	20,49	19,67	22,64	
Sep		14,17	17,00	13,15	16,34	

Tabla n° 53. Valores individuales de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	15,27	17,78	15,35	19,05	14,47	16,77	15,87
Nov	12,68	13,87	14,27	10,22	9,58	15,66	11,55
Did	14,54	9,73	9,13	6,66	9,57	11,22	8,68
Ene	10,34	10,13	9,73	11,97	11,70	10,43	9,20
Feb	20,28	13,28	16,47	18,81	18,60	13,35	13,22
Mar	19,23	9,51	13,52	13,15	11,28	10,85	12,61
Abr	23,52	18,74	10,94	10,76	14,05	20,73	15,74
May	17,94	21,90	26,90	12,84	21,78	34,37	22,65
Jun	12,04	6,34	20,19	12,13	10,64	14,54	10,02
Jul	23,75	12,55	15,05	20,71	16,98		18,50
Ago	13,28	16,38	15,77	17,49	7,46		11,52
Sep	21,57	20,33	20,09	18,93	24,30		13,45

Tabla n° 54. Valores individuales de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	10,42	12,64	10,00	9,42	10,11	11,60
Ene	15,16	16,76	13,03	10,95	14,09	13,19
Feb	13,21	8,57	11,29	14,17	7,61	13,57
Mar	7,03	12,09	7,38	12,02	10,35	12,72
Abr	21,38	14,39	21,25	19,27	20,74	18,65
May	9,40	6,68	7,50	8,75	10,94	8,74
Jun	9,76	14,48		11,17	10,39	9,52
Jul	15,13	15,30		12,42	14,39	
Ago	13,61	16,17	12,23	13,55	9,60	
Sep	10,74	11,94	14,53	10,73		
Oct	9,38		10,52	16,50		15,47
Nov	13,44		10,81	14,72		9,13

Tabla n° 55. Valores individuales de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	12,67	13,95	13,43	12,26	27,95	10,28				
Ene	27,15	23,77	25,74	24,70	17,44	10,89	19,48	33,32	31,86	37,10
Feb	25,97	22,71	20,70	25,81	14,80	30,55	32,43	20,26	16,83	22,26
Mar	23,55	20,43	20,55	15,23	26,28	22,37	23,58	18,84	30,49	23,83
Abr	30,34	31,95	23,54	29,45	36,00	36,02	34,22	37,81	34,66	33,55
May	25,87	15,98	18,75	23,00	27,11	26,15	21,67	11,98	24,59	19,02
Jun	22,19	18,88	17,28		23,99	23,22	21,99		31,33	24,91
Jul	24,83	17,91	20,27		25,00	25,51	37,75	21,07	24,78	16,01
Ago	28,44	16,25	18,98	20,57	16,15	21,78	25,57	24,23	16,80	30,56
Sep	18,25	27,63	11,21	15,75	14,83	25,12		20,40	21,75	19,60
Oct	16,72	15,76	22,35	19,01	22,09	19,47		21,41	17,85	35,49
Nov	34,40	26,46	23,04	29,85	22,18	25,83	27,50	27,21	20,99	34,24

Tabla n° 56. Valores individuales de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	68,80	117,60		92,00	100,00	124,00
Nov	92,00	112,80	87,20	84,80	68,80	117,60
Dic	60,80	44,33	42,47	34,10	44,95	98,40
Ene	64,00	56,00	56,80	58,40	50,40	52,00
Feb	106,40	58,00	77,60	60,00	44,80	84,00
Mar	55,20	64,00	71,20	91,20	62,40	84,00
Abr	170,40	135,20	164,00	139,20	124,80	155,20
May		129,60	165,60	56,80		98,40
Jun		164,80	143,20	183,20		130,80
Jul		163,62	191,16	69,66		76,95
Ago		135,27	166,86	164,43	200,07	
Sep		132,31	172,71	107,06	166,65	

Tabla n° 57. Valores individuales de cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	68,80	86,40	70,00	69,60	67,20	69,60	72,00
Nov	105,60	118,40	104,00	77,60	71,20	120,00	80,80
Dic	104,00	83,20	68,00	45,60	67,20	79,20	58,40
Ene	49,60	44,80	43,20	55,20	46,40	55,20	48,00
Feb	87,20	44,70	76,00	80,00	71,20	51,20	50,40
Mar	101,60	52,80	80,80	66,40	62,40	60,00	67,20
Abr	122,40	109,60	56,80	47,20	66,40	125,60	88,00
May	100,00	162,40	182,40	71,20	114,40	182,40	131,20
Jun	83,20	72,00	110,40	100,80	74,40	92,00	81,60
Jul	80,19	59,13	62,37	81,00	65,61		75,33
Ago	157,95	118,26	184,68	131,22	85,86		101,25
Sep	133,32	178,77	168,67	174,73	119,17		115,14

Tabla n° 58. Valores individuales de cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	96,00	111,20	70,40	64,80	92,00	102,40
Ene	69,60	65,60	60,80	52,00	75,21	66,40
Feb	62,40	32,00	52,80	70,40	148,40	46,40
Mar	29,45	42,40	35,34	124,80	156,00	42,40
Abr	88,50	66,96	82,44	69,16	75,33	65,16
May	121,60	100,80	63,20	48,00	123,20	48,00
Jun	103,20	131,20		105,60	97,60	80,00
Jul	93,60	100,80		73,60	100,00	
Ago	57,51	59,13	41,31	42,12	42,93	
Sep	103,68	123,12	110,16	105,30		
Oct	93,93		105,04	157,56		141,40
Nov	128,80		84,84	116,15		129,28

Tabla nº 59. Valores individuales de cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	68,00	116,80	104,80	72,00	148,00	68,80				
Ene	88,00	69,68	88,80	120,00	80,00	81,00	89,60	116,80	117,60	147,20
Feb	119,20	116,00	88,00	117,60	96,00	148,00	179,20	96,80	74,40	92,80
Mar	151,20	132,80	146,40	63,20	190,40	115,20	151,20	108,00	116,80	185,60
Abr	137,16	142,00	111,00	146,50	174,00	235,90	179,00	211,40	220,50	247,10
May	215,20	109,60	144,80	109,60	231,20	216,80	241,60	92,80	236,80	139,20
Jun	277,60	143,20	236,00		146,40	143,20	119,20		299,20	117,70
Jul	228,80	142,40	188,80		216,80	252,00	293,60	221,60	211,20	124,80
Ago	95,58	62,37	55,08	64,80	93,96	268,11	85,05	76,95	51,03	113,40
Sep	182,25	124,81	114,21	174,15	144,18	272,16		212,22	223,56	208,98
Oct	192,91	180,79	228,26	237,35	299,97	227,25		282,80	202,00	101,98
Nov	158,55	259,57	237,35	294,92	199,98	268,66	267,65	254,52	191,90	140,37

Tabla nº 60. Valores individuales de cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	6,15		9,80	7,22	9,70	9,10
Nov	8,63	9,99	7,10	8,79	12,68	7,10
Dic	9,53	10,36	8,46	8,15	12,38	7,22
Ene	7,82	9,09	7,38	8,18	9,52	8,31
Feb	10,16	9,35	10,64	9,64	12,67	7,95
Mar	9,63	9,20	9,12	8,57	9,94	7,59
Abr	9,81	8,70	9,61	10,96	11,75	8,57
May		11,12	6,53	9,83		10,43
Jun		10,63	7,43	9,48		8,08
Jul		13,13	12,11	11,77		10,69
Ago		9,73	10,57	9,97	11,04	
Sep		11,14	11,80	10,73	10,40	

Tabla n° 61. Valores individuales de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	7,90	7,40	8,24	9,20	6,20	6,60	12,40
Nov	9,24	11,81	9,10	12,63	12,03	7,34	10,75
Dic	7,82	8,79	8,12	6,47	8,89	6,07	6,76
Ene	8,51	7,76	7,94	8,02	7,16	7,94	7,20
Feb	9,69	8,61	6,13	9,21	7,93	8,68	7,83
Mar	9,02	7,38	7,28	9,37	11,06	9,99	7,32
Abr	11,67	11,9	9,76	12,17	10,74	9,83	6,46
May	11,68	8,27	9,76	12,36	8,44	6,75	9,86
Jun	9,26	8,27	8,41	9,43	9,11	8,91	10,26
Jul	12,62	8,68	10,55	13,43	9,46		9,53
Ago	8,40	6,30	12,05	9,07	9,01		12,13
Sep	6,86	9,50	10,59	9,80	9,00		8,59

Tabla n° 62. Valores individuales de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	8,97	6,05	8,54	8,81	9,70	9,50
Ene	10,73	7,14	9,10	8,88	8,66	11,91
Feb	10,07	7,35	8,83	9,04	11,75	6,06
Mar	8,20	8,90		7,95	10,35	8,89
Abr	8,28	8,38	7,86	7,84	8,25	9,37
May	9,25	9,42	9,55	8,79	11,95	11,50
Jun	7,03	7,12		7,45	9,81	9,15
Jul	8,51	7,74		7,43	8,83	
Ago	7,38	6,17	10,09	7,90	13,23	
Sep	10,13	11,04	13,32	8,94		
Oct	9,74		8,30	10,01		10,80
Nov	8,92		7,00	6,90		8,86

Tabla n° 63. Valores individuales de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	6,90	8,78	14,85	11,28	12,16	8,95				
Ene	11,61	12,42	13,34	10,64	11,36	8,63	10,88	9,32	12,31	10,91
Feb	9,33	11,14	12,22	11,65	11,64	11,71	11,90	11,04	13,33	11,68
Mar	9,29	9,12	8,08	8,58	8,57	8,38		9,00	10,15	9,73
Abr	10,43	10,59	9,82	9,68	9,34	10,02	8,80	8,88	10,07	10,17
May	8,31	12,14	10,78	11,77	12,74	11,76	11,89	11,36	8,79	8,14
Jun	9,21	9,84	9,62		9,25	9,38	8,38		9,38	9,71
Jul	9,62	10,75	7,52		9,28	7,41	9,74	7,70	7,71	9,14
Ago	9,90	11,80	10,24	7,00	11,47	10,05	9,68	9,60	10,16	10,29
Sep	13,40	11,60	10,83	13,14	12,28	12,80		8,02	10,90	13,22
Oct	10,93	13,64	10,79	8,97	10,14	11,34		8,96	9,64	9,36
Nov	9,97	9,37	9,91	10,07	11,89	9,94	8,52	8,78	10,36	10,18

Tabla n° 64. Valores individuales de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Vaca A1	Vaca A2	Vaca A3	Vaca A4	Vaca A5	Vaca A6
Oct	311,40		256,80	334,80	331,50	373,70
Nov	149,60	378,90	150,50	349,20	429,30	319,20
Dic	215,60	212,80	210,70	265,30	332,50	263,90
Ene	374,40	351,20	356,80	236,70	440,00	378,40
Feb	149,60	184,80	266,00	215,20	266,00	170,40
Mar	207,20	171,20	180,52	184,80	208,80	160,00
Abr	164,80	108,90	181,99	258,64	189,60	193,79
May		394,90	148,60	372,79		483,00
Jun		228,80	135,20	218,40		171,20
Jul		289,87	395,92	322,19		277,75
Ago		394,43	232,30	308,05	251,49	
Sep		300,98	233,31	444,40	343,40	

Tabla nº 65. Valores individuales de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería A.

Mes	Vaca B1	Vaca B2	Vaca B3	Vaca B4	Vaca B5	Vaca B6	Vaca B7
Oct	233,40	154,80	175,80	171,00	199,20	260,40	202,20
Nov	250,60	239,40	221,20	209,30	243,60	131,60	235,90
Dic	193,30	229,60	167,30	102,23	203,70	183,40	204,40
Ene	282,40	295,20	261,60	250,40	287,20	261,60	261,60
Feb	200,80	188,00	119,20	232,00	173,60	153,60	184,00
Mar	165,60	132,80	214,40	152,80	174,40	182,40	126,40
Abr	120,13	140,57	136,12	141,60	240,00	132,00	196,00
May	311,12	317,30	275,50	345,42	166,56	282,80	311,40
Jun	108,80	113,36	136,32	136,00	166,40	129,60	152,00
Jul	293,91	182,81	264,62	363,60	231,29		185,84
Ago	160,59	114,13	308,05	184,83	208,06		174,73
Sep	128,27	219,17	225,23	173,72	224,22		155,54

Tabla nº 66. Valores individuales de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería B.

Mes	Vaca C1	Vaca C2	Vaca C3	Vaca C4	Vaca C5	Vaca C6
Dic	186,90	238,70	255,70	206,50	204,40	239,40
Ene	357,00	239,40	403,20	282,80	215,60	307,30
Feb	272,80	318,40	328,00	276,80	320,00	183,20
Mar	224,80	307,20	228,00	277,60	272,80	256,00
Abr	159,20	139,20	110,90	145,60	151,20	151,20
May	174,40	154,40	162,75	129,51	184,80	343,93
Jun	147,20	113,60		258,40	189,60	264,80
Jul	169,60	162,40		178,40	161,60	
Ago	173,34	168,48	279,77	182,81	306,03	
Sep	213,11	327,24	279,77	248,46		
Oct	217,15		198,97	197,96		178,77
Nov	189,88		176,75	167,66		189,88

Tabla n° 67. Valores individuales de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería C.

Mes	Vaca D1	Vaca D2	Vaca D3	Vaca D4	Vaca D5	Vaca D6	Vaca D7	Vaca D8	Vaca D9	Vaca D10
Dic	170,80	256,90	233,80	257,60	256,20	301,00				
Ene	408,10	482,40	440,00	360,00	464,40	496,00	470,70	443,20	458,00	263,60
Feb	255,20	350,40	388,80	317,60	387,20	169,60	394,40	441,60	497,60	379,20
Mar	344,00	396,00	311,20	277,60	304,80	264,80		321,60	345,60	283,20
Abr	217,60	242,40	218,40	182,40	209,60	220,00	227,20	208,80	211,20	188,00
May	123,20	415,11	169,60	188,80	193,60	281,60	221,60	212,00	181,60	118,40
Jun	194,40	314,22	196,00		152,00	438,02	152,00		207,14	228,00
Jul	209,60	239,00	184,80		240,80	154,40	200,80	216,00	189,60	228,80
Ago	348,30	364,50	282,69	242,19	268,11	251,49	176,58	264,87	312,66	289,87
Sep	379,76	425,21	261,59	367,64	324,21	355,52		283,56	406,02	340,37
Oct	367,64	359,56	276,74	478,74	267,65	315,12		419,15	378,75	336,33
Nov	451,47	257,55	225,23	417,13	292,90	301,99	203,01	215,13	319,16	247,45

Tabla n° 68. Valores individuales de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en las vacas de la ganadería D.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	68,31 ± 5,39	70,26 ± 6,84	-	-
Nov	52,46 ± 4,53	66,48 ± 5,51	-	-
Dic	54,41 ± 4,09	64,31 ± 4,89	63,14 ± 5,87	59,32 ± 6,60
Ene	54,03 ± 3,47	55,62 ± 3,95	61,29 ± 1,82	59,39 ± 5,32
Feb	54,06 ± 5,67	55,45 ± 3,60	53,80 ± 3,26	53,77 ± 4,75
Mar	53,96 ± 7,99	53,44 ± 3,33	54,91 ± 2,16	59,22 ± 3,54
Abr	58,42 ± 6,43	58,55 ± 4,90	52,67 ± 4,48	50,60 ± 4,47
May	66,76 ± 5,79	66,28 ± 4,54	54,74 ± 2,98	53,74 ± 4,30
Jun	50,67 ± 3,52	65,10 ± 5,88	60,43 ± 4,01	57,37 ± 7,98
Jul	46,11 ± 2,50	53,76 ± 8,54	59,35 ± 5,23	65,92 ± 4,97
Ago	77,06 ± 3,34	75,72 ± 7,39	60,89 ± 5,46	60,52 ± 4,20
Sep	51,52 ± 2,63	62,62 ± 9,44	54,46 ± 2,46	59,77 ± 6,57
Oct'	-	-	54,18 ± 11,42	60,96 ± 5,02
Nov'	-	-	56,46 ± 7,68	62,77 ± 4,42

Tabla nº 69. Glucosa plasmática (mg/dl) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	2,33 ± 0,93	3,02 ± 1,21	-	-
Nov	2,60 ± 1,01	3,51 ± 0,87	-	-
Dic	1,89 ± 0,97	2,32 ± 1,21	2,92 ± 0,90	3,38 ± 0,61
Ene	1,37 ± 0,33	1,51 ± 0,58	2,96 ± 0,89	3,35 ± 0,63
Feb	1,78 ± 0,76	1,60 ± 0,34	2,45 ± 0,68	3,02 ± 0,83
Mar	1,91 ± 0,77	2,21 ± 0,69	2,35 ± 0,36	2,72 ± 0,79
Abr	2,42 ± 0,74	2,15 ± 0,67	2,08 ± 0,43	2,40 ± 0,87
May	2,52 ± 1,19	2,67 ± 0,72	2,07 ± 0,45	2,38 ± 0,91
Jun	2,01 ± 0,56	1,75 ± 0,43	2,48 ± 0,69	3,00 ± 0,85
Jul	2,45 ± 0,58	2,73 ± 0,52	2,84 ± 0,42	2,54 ± 0,67
Ago	2,71 ± 0,73	2,37 ± 0,39	3,76 ± 0,50	3,77 ± 0,69
Sep	3,27 ± 0,83	2,90 ± 0,84	3,39 ± 0,34	3,64 ± 0,54
Oct'	-	-	3,44 ± 0,50	4,14 ± 0,48
Nov'	-	-	3,62 ± 0,53	3,57 ± 0,83

Tabla nº 70. Lípidos totales plasmáticos (g/l) de las cuatro ganaderías. Se expresan como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	7,65 ± 0,60	7,83 ± 0,67	-	-
Nov	8,00 ± 0,47	7,04 ± 0,58	-	-
Dic	7,92 ± 0,64	7,40 ± 0,54	7,18 ± 0,36	7,22 ± 0,46
Ene	7,70 ± 0,47	7,06 ± 0,56	7,20 ± 0,45	7,28 ± 0,39
Feb	7,65 ± 0,55	7,26 ± 0,63	6,93 ± 0,32	7,72 ± 0,40
Mar	7,82 ± 0,59	7,49 ± 0,52	6,90 ± 0,39	7,29 ± 0,40
Abr	8,12 ± 0,58	7,14 ± 0,74	7,23 ± 0,57	7,41 ± 0,34
May	8,15 ± 0,39	8,56 ± 0,68	7,17 ± 0,72	7,55 ± 0,51
Jun	8,18 ± 0,25	7,41 ± 0,38	6,92 ± 0,58	7,93 ± 0,63
Jul	8,13 ± 0,26	7,65 ± 0,42	7,60 ± 0,47	7,88 ± 0,50
Ago	7,33 ± 0,59	7,37 ± 0,36	7,76 ± 0,50	7,86 ± 0,51
Sep	7,48 ± 0,88	7,62 ± 0,56	7,48 ± 0,24	7,59 ± 0,39
Oct'	-	-	7,75 ± 0,65	7,69 ± 0,24
Nov'	-	-	7,65 ± 0,68	7,44 ± 0,50

Tabla nº 71. Proteínas plasmáticas totales (g/dl) de las cuatro ganaderías. Se expresan como valores medios ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	0,54 ± 0,04	0,51 ± 0,08	-	-
Nov	0,42 ± 0,14	0,50 ± 0,12	-	-
Dic	0,35 ± 0,10	0,37 ± 0,12	0,42 ± 0,06	0,40 ± 0,08
Ene	0,34 ± 0,04	0,36 ± 0,08	0,29 ± 0,01	0,37 ± 0,07
Feb	0,33 ± 0,05	0,34 ± 0,10	0,32 ± 0,06	0,32 ± 0,06
Mar	0,40 ± 0,05	0,42 ± 0,13	0,33 ± 0,05	0,34 ± 0,05
Abr	0,44 ± 0,08	0,41 ± 0,10	0,42 ± 0,19	0,34 ± 0,05
May	0,54 ± 0,06	0,49 ± 0,09	0,34 ± 0,07	0,41 ± 0,08
Jun	0,62 ± 0,06	0,59 ± 0,12	0,48 ± 0,06	0,57 ± 0,10
Jul	0,35 ± 0,04	0,36 ± 0,06	0,44 ± 0,07	0,41 ± 0,07
Ago	0,33 ± 0,07	0,36 ± 0,06	0,39 ± 0,06	0,43 ± 0,12
Sep	0,35 ± 0,05	0,40 ± 0,08	0,43 ± 0,06	0,39 ± 0,08
Oct'	-	-	0,42 ± 0,08	0,37 ± 0,05
Nov'	-	-	0,42 ± 0,08	0,37 ± 0,06

Tabla nº 72. Ceruloplasmina plasmática (g/l) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	0,47 ± 0,07	0,38 ± 0,10	-	-
Nov	0,23 ± 0,05	0,46 ± 0,24	-	-
Dic	0,36 ± 0,13	0,44 ± 0,15	0,37 ± 0,10	0,31 ± 0,13
Ene	0,34 ± 0,06	0,49 ± 0,18	0,33 ± 0,10	0,40 ± 0,21
Feb	0,32 ± 0,09	0,29 ± 0,07	0,34 ± 0,10	0,28 ± 0,12
Mar	0,43 ± 0,13	0,32 ± 0,11	0,30 ± 0,04	0,37 ± 0,14
Abr	0,44 ± 0,14	0,34 ± 0,07	0,41 ± 0,08	0,48 ± 0,12
May	0,50 ± 0,23	0,27 ± 0,08	0,44 ± 0,14	0,48 ± 0,10
Jun	0,40 ± 0,11	0,34 ± 0,15	0,34 ± 0,04	0,56 ± 0,21
Jul	0,44 ± 0,13	0,30 ± 0,04	0,58 ± 0,09	0,57 ± 0,17
Ago	0,44 ± 0,19	0,35 ± 0,12	0,40 ± 0,07	0,46 ± 0,10
Sep	0,28 ± 0,07	0,31 ± 0,08	0,48 ± 0,19	0,39 ± 0,12
Oct'	-	-	0,46 ± 0,21	0,30 ± 0,06
Nov'	-	-	0,44 ± 0,22	0,38 ± 0,11

Tabla n° 73. Bilirrubina total en plasma (mg/dl) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct				
Nov	0,15 ± 0,05	0,24 ± 0,09	-	-
Dic	0,21 ± 0,04	0,26 ± 0,04	0,24 ± 0,06	0,20 ± 0,10
Ene	0,23 ± 0,03	0,29 ± 0,05	0,18 ± 0,04	0,24 ± 0,09
Feb	0,18 ± 0,03	0,24 ± 0,06	0,22 ± 0,07	0,16 ± 0,05
Mar	0,21 ± 0,08	0,23 ± 0,07	0,21 ± 0,06	0,23 ± 0,06
Abr	0,26 ± 0,03	0,25 ± 0,05	0,29 ± 0,07	0,32 ± 0,07
May	0,28 ± 0,13	0,22 ± 0,05	0,26 ± 0,04	0,29 ± 0,06
Jun	0,21 ± 0,06	0,23 ± 0,07	0,25 ± 0,04	0,30 ± 0,08
Jul	0,19 ± 0,06	0,21 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,04
Ago	0,21 ± 0,04	0,20 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,22 ± 0,04
Sep	0,23 ± 0,05	0,21 ± 0,05	0,30 ± 0,07	0,23 ± 0,06
Oct'	-	-	0,23 ± 0,10	0,18 ± 0,05
Nov'	-	-	0,23 ± 0,05	0,20 ± 0,03

Tabla n° 74. Bilirrubina directa en plasma (mg/dl) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	34,83 ± 7,83	33,29 ± 5,31	-	-
Nov	29,67 ± 9,35	28,14 ± 4,01	-	-
Dic	30,83 ± 9,45	36,43 ± 5,19	37,17 ± 5,34	37,50 ± 5,00
Ene	26,83 ± 5,85	26,43 ± 4,86	31,83 ± 6,27	35,80 ± 5,73
Feb	28,67 ± 10,56	33,00 ± 2,16	22,50 ± 4,59	25,80 ± 5,51
Mar	28,00 ± 9,27	30,86 ± 3,72	31,50 ± 3,89	33,40 ± 5,89
Abr	35,17 ± 15,82	37,43 ± 7,59	32,17 ± 7,00	31,22 ± 7,69
May	26,75 ± 4,57	34,57 ± 7,96	31,17 ± 11,37	35,60 ± 7,95
Jun	31,75 ± 4,79	33,57 ± 6,88	36,00 ± 7,65	39,00 ± 7,07
Jul	30,25 ± 3,86	33,67 ± 3,61	39,50 ± 9,33	35,00 ± 5,61
Ago	27,75 ± 8,26	32,50 ± 6,53	39,40 ± 6,66	34,40 ± 4,48
Sep	28,50 ± 5,20	29,33 ± 5,82	31,25 ± 2,22	27,56 ± 4,10
Oct'	-	-	33,25 ± 5,97	33,56 ± 4,82
Nov'	-	-	29,50 ± 11,82	32,20 ± 4,37

Tabla n° 75. AST plasmática (U/l) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	15,17 ± 1,47	17,29 ± 2,43	-	-
Nov	17,67 ± 4,23	13,57 ± 2,51	-	-
Dic	18,33 ± 4,37	17,57 ± 3,69	15,33 ± 2,94	17,33 ± 1,97
Ene	17,83 ± 8,38	14,14 ± 4,41	21,67 ± 4,68	20,20 ± 2,30
Feb	14,50 ± 5,50	15,29 ± 3,35	15,33 ± 2,73	12,80 ± 2,20
Mar	17,00 ± 4,94	15,86 ± 2,27	17,50 ± 3,08	17,20 ± 2,04
Abr	15,50 ± 5,92	15,14 ± 2,48	17,33 ± 3,27	17,33 ± 2,65
May	13,00 ± 2,83	14,57 ± 1,81	18,00 ± 5,51	18,50 ± 4,55
Jun	13,75 ± 3,10	14,14 ± 2,73	17,60 ± 5,13	18,00 ± 4,72
Jul	16,75 ± 2,36	14,33 ± 2,58	17,75 ± 5,12	17,00 ± 3,50
Ago	13,75 ± 3,30	17,17 ± 3,49	22,60 ± 3,50	18,20 ± 4,89
Sep	14,75 ± 2,22	14,00 ± 3,69	16,75 ± 0,96	17,67 ± 2,87
Oct'	-	-	15,00 ± 0,82	19,11 ± 2,52
Nov'	-	-	14,75 ± 1,50	18,20 ± 3,19

Tabla n° 76. ALT plasmática (U/l) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	70,50 ± 27,74	67,43 ± 23,01	-	-
Nov	62,17 ± 35,96	56,71 ± 31,42	-	-
Dic	61,67 ± 31,13	62,86 ± 32,00	52,83 ± 11,84	42,00 ± 5,83
Ene	43,67 ± 7,63	42,14 ± 18,40	50,50 ± 9,16	42,80 ± 31,50
Feb	73,67 ± 42,76	51,29 ± 31,03	25,50 ± 8,73	26,00 ± 13,26
Mar	77,50 ± 43,15	62,86 ± 40,47	49,50 ± 10,56	48,30 ± 20,32
Abr	82,00 ± 28,73	89,26 ± 49,91	54,17 ± 14,47	57,78 ± 38,25
May	61,50 ± 6,45	90,29 ± 37,75	52,33 ± 16,85	54,00 ± 21,85
Jun	54,25 ± 16,64	77,29 ± 39,32	75,40 ± 46,31	56,00 ± 28,96
Jul	66,00 ± 16,55	67,17 ± 21,98	54,75 ± 12,34	74,22 ± 34,63
Ago	68,50 ± 12,40	68,00 ± 27,94	57,00 ± 14,20	68,20 ± 29,50
Sep	48,75 ± 16,64	51,33 ± 26,69	66,25 ± 15,46	61,22 ± 24,01
Oct'	-	-	59,75 ± 13,43	62,22 ± 30,64
Nov'	-	-	57,50 ± 9,88	57,10 ± 27,27

Tabla n° 77. Fosfatasa alcalina plasmática (U/l) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	1,12 ± 0,16	1,18 ± 0,24	-	-
Nov	1,01 ± 0,16	1,13 ± 0,38	-	-
Dic	1,10 ± 0,11	1,18 ± 0,22	1,13 ± 0,17	1,18 ± 0,21
Ene	1,01 ± 0,14	1,09 ± 0,17	1,13 ± 0,09	1,10 ± 0,14
Feb	1,19 ± 0,14	1,08 ± 0,18	1,09 ± 0,11	1,13 ± 0,13
Mar	1,18 ± 0,22	1,24 ± 0,23	1,06 ± 0,12	1,02 ± 0,11
Abr	1,35 ± 0,19	1,26 ± 0,18	1,14 ± 0,14	1,09 ± 0,13
May	1,51 ± 0,16	1,43 ± 0,13	1,06 ± 0,15	1,18 ± 0,14
Jun	1,49 ± 0,09	1,40 ± 0,24	1,19 ± 0,14	1,29 ± 0,34
Jul	1,35 ± 0,06	1,26 ± 0,10	1,30 ± 0,07	1,16 ± 0,16
Ago	1,27 ± 0,12	1,24 ± 0,17	1,26 ± 0,13	1,18 ± 0,19
Sep	1,34 ± 0,20	1,41 ± 0,15	1,19 ± 0,14	1,11 ± 0,11
Oct'	-	-	1,21 ± 0,19	1,06 ± 0,09
Nov'	-	-	1,19 ± 0,20	0,98 ± 0,08

Tabla n° 78. Cobre plasmático (µg/ml) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio ± desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	1,17 ± 0,22	1,64 ± 0,48	-	-
Nov	1,18 ± 0,21	1,73 ± 0,48	-	-
Dic	1,20 ± 0,17	1,60 ± 0,43	1,50 ± 0,39	1,46 ± 0,85
Ene	1,33 ± 0,29	1,77 ± 0,44	1,98 ± 0,32	1,80 ± 0,62
Feb	1,57 ± 0,49	1,81 ± 0,50	1,39 ± 0,32	1,69 ± 0,49
Mar	1,65 ± 0,43	2,14 ± 0,43	1,78 ± 0,38	1,86 ± 0,45
Abr	1,76 ± 0,56	2,00 ± 0,36	2,32 ± 0,47	1,81 ± 0,46
May	1,79 ± 0,66	2,22 ± 0,57	2,34 ± 0,46	1,76 ± 0,32
Jun	2,02 ± 0,40	2,19 ± 0,27	2,32 ± 0,26	1,72 ± 0,38
Jul	1,93 ± 0,20	2,47 ± 0,35	2,38 ± 0,40	1,70 ± 0,30
Ago	2,01 ± 0,34	2,36 ± 0,29	1,83 ± 0,41	1,70 ± 0,28
Sep	2,10 ± 0,27	2,40 ± 0,28	2,26 ± 0,65	1,93 ± 0,31
Oct'	-	-	2,03 ± 0,51	2,00 ± 0,28
Nov'	-	-	2,14 ± 0,46	1,88 ± 0,22

Tabla nº 79. Cinc plasmático ($\mu\text{g/ml}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,02	-	-
Nov	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,02	-	-
Dic	0,15 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,03
Ene	0,16 ± 0,00	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,02
Feb	0,23 ± 0,05	0,20 ± 0,04	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,02
Mar	0,22 ± 0,05	0,22 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,18 ± 0,02
Abr	0,19 ± 0,09	0,15 ± 0,04	0,15 ± 0,03	0,19 ± 0,03
May	0,19 ± 0,08	0,16 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,04
Jun	0,16 ± 0,03	0,15 ± 0,04	0,12 ± 0,07	0,14 ± 0,06
Jul	0,15 ± 0,03	0,10 ± 0,03	0,14 ± 0,05	0,18 ± 0,04
Ago	0,14 ± 0,04	0,12 ± 0,03	0,13 ± 0,06	0,13 ± 0,04
Sep	0,12 ± 0,05	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,12 ± 0,02
Oct'	-	-	0,08 ± 0,02	0,10 ± 0,02
Nov'	-	-	0,11 ± 0,08	0,09 ± 0,02

Tabla nº 80. Cobre en leche ($\mu\text{g/ml}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	5,94 ± 0,58	5,89 ± 1,55	-	-
Nov	6,56 ± 1,41	6,17 ± 1,05	-	-
Dic	6,12 ± 2,09	7,21 ± 1,77	6,34 ± 0,89	7,33 ± 2,79
Ene	5,77 ± 0,46	8,56 ± 2,60	6,87 ± 0,80	7,63 ± 2,24
Feb	6,17 ± 0,68	4,43 ± 0,54	5,22 ± 1,09	5,64 ± 1,07
Mar	6,43 ± 1,55	5,90 ± 0,65	5,26 ± 1,16	6,27 ± 1,26
Abr	7,41 ± 2,41	4,99 ± 0,74	6,50 ± 1,56	6,64 ± 1,42
May	10,24 ± 3,06	10,31 ± 1,48	5,05 ± 0,78	8,14 ± 4,71
Jun	11,06 ± 1,91	9,49 ± 1,69	8,72 ± 2,36	7,72 ± 2,33
Jul	12,13 ± 0,96	10,20 ± 1,39	8,85 ± 2,71	8,67 ± 2,17
Ago	10,45 ± 4,00	7,85 ± 1,39	7,44 ± 2,74	7,33 ± 1,42
Sep	10,17 ± 2,08	8,74 ± 1,84	7,21 ± 2,89	7,78 ± 1,34
Oct'	-	-	8,19 ± 2,37	11,35 ± 1,77
Nov'	-	-	11,43 ± 2,85	7,29 ± 3,09

Tabla n° 81. Cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	22,62 ± 7,06	16,37 ± 1,60	-	-
Nov	12,40 ± 1,78	12,55 ± 2,22	-	-
Dic	10,67 ± 1,46	9,93 ± 2,45	10,70 ± 1,19	15,09 ± 6,43
Ene	11,70 ± 0,66	10,50 ± 1,00	13,86 ± 2,00	25,08 ± 7,98
Feb	17,84 ± 4,63	16,29 ± 3,02	11,40 ± 2,76	23,23 ± 5,59
Mar	14,32 ± 1,62	12,88 ± 3,13	10,27 ± 2,50	22,52 ± 4,17
Abr	23,35 ± 2,13	16,35 ± 4,87	19,28 ± 2,64	32,75 ± 4,16
May	21,06 ± 5,61	22,63 ± 6,77	8,67 ± 1,48	21,41 ± 4,93
Jun	15,24 ± 2,43	12,27 ± 4,30	11,06 ± 2,01	22,97 ± 4,23
Jul	25,24 ± 8,77	17,92 ± 4,00	14,31 ± 1,32	23,68 ± 6,29
Ago	20,14 ± 2,02	13,65 ± 3,73	13,03 ± 2,39	21,93 ± 5,14
Sep	15,17 ± 1,81	19,78 ± 3,60	11,99 ± 1,79	19,39 ± 5,12
Oct'	-	-	12,97 ± 3,54	21,13 ± 5,86
Nov'	-	-	12,03 ± 2,52	27,17 ± 4,62

Tabla n° 82. Cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	100,48 ± 21,92	71,94 ± 6,53	-	-
Nov	93,87 ± 18,33	96,80 ± 20,06	-	-
Dic	54,18 ± 23,33	72,23 ± 18,81	89,47 ± 18,22	96,40 ± 32,60
Ene	56,27 ± 4,84	48,91 ± 4,76	64,94 ± 7,93	99,87 ± 24,22
Feb	71,80 ± 22,08	65,81 ± 16,77	68,73 ± 41,21	112,80 ± 31,18
Mar	71,33 ± 13,78	70,17 ± 16,28	71,73 ± 54,31	136,08 ± 37,84
Abr	148,13 ± 17,83	88,00 ± 32,06	74,59 ± 9,30	180,46 ± 46,49
May	112,60 ± 46,24	134,86 ± 42,78	84,13 ± 35,38	173,76 ± 59,89
Jun	155,50 ± 23,20	87,77 ± 14,06	103,52 ± 18,43	184,56 ± 74,55
Jul	125,35 ± 61,21	70,61 ± 9,45	92,00 ± 12,68	208,89 ± 51,91
Ago	166,66 ± 26,50	129,87 ± 36,57	48,60 ± 8,91	96,63 ± 63,43
Sep	144,68 ± 30,75	148,30 ± 29,03	110,57 ± 8,81	184,06 ± 51,01
Oct'	-	-	124,48 ± 29,95	217,03 ± 58,32
Nov'	-	-	110,60 ± 18,67	227,35 ± 51,72

Tabla nº 83. Cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	8,39 ± 1,63	8,28 ± 2,08	-	-
Nov	9,04 ± 2,09	10,41 ± 1,92	-	-
Dic	9,35 ± 1,84	7,53 ± 1,13	8,60 ± 1,32	10,49 ± 2,85
Ene	8,38 ± 0,80	7,79 ± 0,48	9,40 ± 1,68	11,14 ± 1,42
Feb	10,07 ± 1,57	8,30 ± 1,16	8,85 ± 2,00	11,56 ± 1,01
Mar	9,01 ± 0,84	8,78 ± 1,50	8,86 ± 0,93	8,99 ± 0,67
Abr	9,90 ± 1,25	10,36 ± 1,97	8,33 ± 0,56	9,78 ± 0,61
May	9,48 ± 2,03	9,59 ± 1,97	10,08 ± 1,31	10,77 ± 1,71
Jun	8,91 ± 1,43	9,09 ± 0,67	8,11 ± 1,28	9,35 ± 0,45
Jul	11,93 ± 1,01	10,71 ± 1,91	8,13 ± 0,65	8,76 ± 1,21
Ago	10,33 ± 0,59	9,49 ± 2,25	8,95 ± 2,78	10,02 ± 1,28
Sep	11,02 ± 0,60	9,06 ± 1,28	10,86 ± 1,85	11,80 ± 1,72
Oct'	-	-	9,71 ± 1,04	10,42 ± 1,49
Nov'	-	-	7,92 ± 1,12	9,90 ± 0,93

Tabla nº 84. Cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Ganadería A	Ganadería B	Ganadería C	Ganadería D
Oct	321,64 ± 42,69	199,54 ± 37,05	-	-
Nov	296,12 ± 118,84	218,80 ± 40,91	-	-
Dic	250,13 ± 47,63	183,42 ± 40,69	221,93 ± 26,46	246,05 ± 42,86
Ene	356,25 ± 66,56	271,43 ± 16,66	300,88 ± 70,77	438,64 ± 47,19
Feb	208,66 ± 49,27	178,74 ± 35,68	283,20 ± 54,31	358,16 ± 92,98
Mar	185,42 ± 19,46	164,11 ± 30,28	261,07 ± 31,54	316,53 ± 40,94
Abr	182,96 ± 48,38	158,06 ± 43,45	142,88 ± 17,02	212,56 ± 17,50
May	349,82 ± 142,34	287,16 ± 57,97	191,63 ± 76,96	210,55 ± 85,90
Jun	188,40 ± 43,43	134,64 ± 20,25	194,72 ± 66,77	235,22 ± 96,56
Jul	321,43 ± 53,08	253,68 ± 69,20	168,00 ± 7,81	207,09 ± 28,13
Ago	296,57 ± 72,74	191,73 ± 65,00	222,09 ± 65,51	280,13 ± 54,04
Sep	330,52 ± 88,43	187,69 ± 41,22	267,15 ± 48,44	349,32 ± 53,63
Oct'	-	-	198,21 ± 15,68	355,52 ± 66,95
Nov'	-	-	181,04 ± 10,86	293,10 ± 83,91

Tabla n° 85. Cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) de las cuatro ganaderías. Se expresa como valor medio \pm desviación estandar.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Oct	12,24	no	14,10	12,69	0,15
Nov	9,33	no	12,82	11,58	0,14
Dic	8,72	no	14,36	12,02	0,11
Ene	no	5,76	15,35	8,43	0,12
Feb	no	7,72	11,48	12,10	0,13
Mar	no	7,02	10,81	15,50	0,13
Abr	10,71	no	13,23	13,07	0,15
May	12,11	no	16,67	12,30	0,14
Jun	11,92	no	11,86	14,16	0,13
Jul	12,20	no	21,89	13,21	0,13
Ago	13,10	no	18,06	9,57	0,13
Sep	12,35	no	23,10	9,98	0,14

Tabla n° 86. Valores de cobre en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería A.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Oct	8,14	no	13,33	no	< 0,03
Nov	8,12	no	10,60	no	< 0,03
Dic	5,95	no	12,64	no	< 0,03
Ene	no	7,41	17,34	no	< 0,03
Feb	no	6,27	14,21	no	< 0,03
Mar	no	6,57	11,29	no	< 0,03
Abr	7,88	no	17,40	no	< 0,03
May	8,72	no	15,31	no	< 0,03
Jun	6,30	no	12,78	no	< 0,03
Jul	7,23	no	12,21	no	< 0,03
Ago	5,51	no	11,32	no	< 0,03
Sep	7,61	no	15,99	no	< 0,03

Tabla n° 87. Valores de cobre en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería B.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Dic	no	6,14	9,61	9,45	< 0,03
Ene	no	5,98	9,77	10,13	< 0,03
Feb	no	4,45	11,62	11,25	< 0,03
Mar	no	4,91	10,01	10,29	< 0,03
Abr	no	5,05	8,93	10,35	< 0,03
May	7,99	no	12,36	11,28	< 0,03
Jun	8,17	no	21,96	10,64	< 0,03
Jul	9,61	no	18,67	10,11	< 0,03
Ago	10,01	no	8,20	11,23	< 0,03
Sep	8,12	no	9,75	11,59	< 0,03
Oct	10,65	no	9,18	10,79	< 0,03
Nov	11,23	no	9,82	10,40	< 0,03

Tabla n° 88. Valores de cobre en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería C.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Dic	7,65	no	13,17	no	< 0,03
Ene	no	4,52	12,53	no	< 0,03
Feb	no	4,06	13,81	no	< 0,03
Mar	no	5,97	12,85	no	< 0,03
Abr	no	4,87	12,43	no	< 0,03
May	8,06	no	19,39	no	< 0,03
Jun	9,53	no	16,60	no	< 0,03
Jul	9,37	no	15,12	no	< 0,03
Ago	10,18	no	13,50	no	< 0,03
Sep	11,22	no	13,07	no	< 0,03
Oct	13,42	no	14,21	no	< 0,03
Nov	8,04	no	17,64	no	< 0,03

Tabla n° 89. Valores de cobre en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería D.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Oct	47,06	no	84,84	33,12	6,96
Nov	39,48	no	70,98	32,56	5,38
Dic	46,00	no	66,50	46,98	5,67
Ene	no	31,20	99,54	59,01	6,77
Feb	no	29,09	78,38	36,40	5,38
Mar	no	52,52	82,41	44,72	5,98
Abr	42,31	no	95,48	40,32	5,63
May	39,78	no	90,61	39,75	6,01
Jun	50,12	no	189,72	40,34	5,87
Jul	48,69	no	123,21	35,80	7,52
Ago	34,65	no	114,80	39,76	5,45
Sep	51,48	no	184,50	33,25	6,23

Tabla n° 90. Valores de cinc en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería A.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Oct	37,38	no	80,01	no	0,03
Nov	38,74	no	62,79	no	0,03
Dic	25,41	no	86,40	no	0,05
Ene	no	29,40	116,14	no	0,04
Feb	no	36,66	96,74	no	0,03
Mar	no	42,64	84,67	no	0,02
Abr	28,98	no	112,34	no	0,01
May	40,53	no	110,08	no	0,07
Jun	49,98	no	99,63	no	0,05
Jul	26,80	no	89,54	no	0,05
Ago	48,72	no	91,45	no	0,05
Sep	41,85	no	152,52	no	0,04

Tabla n° 91. Valores de cinc en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería B.

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Alfalfa gran	Agua
Dic	no	34,32	99,76	30,45	0,35
Ene	no	51,50	115,64	37,21	0,30
Feb	no	36,50	120,19	58,78	0,34
Mar	no	27,04	75,46	42,42	0,26
Abr	no	36,14	56,56	43,43	0,22
May	58,76	no	86,95	33,20	0,23
Jun	37,18	no	117,46	39,65	0,21
Jul	60,22	no	109,56	40,12	0,23
Ago	48,71	no	60,60	38,56	0,20
Sep	53,05	no	51,52	33,02	0,18
Oct	95,01	no	63,54	27,27	0,16
Nov	66,66	no	55,90	30,67	0,20

Tabla n° 92. Valores de cinc en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería C

Mes	Pasto	Heno	Pienso	Agua
Dic	60,58	no	69,93	0,23
Ene	no	56,91	98,07	0,34
Feb	no	36,14	106,68	0,25
Mar	no	30,16	100,53	0,31
Abr	no	21,00	112,34	0,33
May	49,65	no	139,03	0,28
Jun	53,29	no	110,34	0,26
Jul	59,45	no	106,45	0,22
Ago	52,26	no	109,98	0,24
Sep	53,36	no	169,42	0,20
Oct	61,88	no	168,92	0,19
Nov	49,91	no	117,15	0,15

Tabla n° 93. Valores de cinc en alimento ($\mu\text{g/g MS}$) y agua de bebida ($\mu\text{g/ml}$) de la ganadería D.

	Mes		Granja		Mes y Granja	
	g. l. = 9		g. l. = 3		g. l. = 27	
	F	p	F	p	F	p
Glucosa	15,14	0,00	8,38	0,00	7,11	0,00
Lípidos	6,60	0,00	21,14	0,00	2,19	0,00
Proteínas	2,01	0,04	1,64	0,00	1,42	0,09
Ceruloplasmina	15,03	0,00	0,91	0,44	1,99	0,00
Bilirrubina total	3,16	0,00	5,66	0,00	2,23	0,00
Bilirrubina directa	4,44	0,00	3,20	0,02	2,31	0,00
AST	3,98	0,00	4,15	0,00	1,46	0,07
ALT	2,37	0,01	8,02	0,00	1,30	0,15
Fosf. Alcalina	2,77	0,00	3,86	0,01	1,13	0,30
Cu plasma	6,50	0,00	11,09	0,00	1,65	0,03
Zn plasma	7,30	0,00	12,07	0,00	1,24	0,20
Cu leche	8,49	0,00	3,89	0,01	1,68	0,03
Zn leche	10,30	0,00	5,67	0,00	1,32	0,15
Cu heces	13,51	0,00	76,22	0,00	3,72	0,00
Zn heces	13,48	0,00	46,86	0,00	3,64	0,00
Cu pelo	3,58	0,00	12,59	0,00	2,92	0,00
Zn pelo	18,12	0,00	32,55	0,00	5,31	0,00

Tabla nº 94. Resultados del análisis de doble vía.

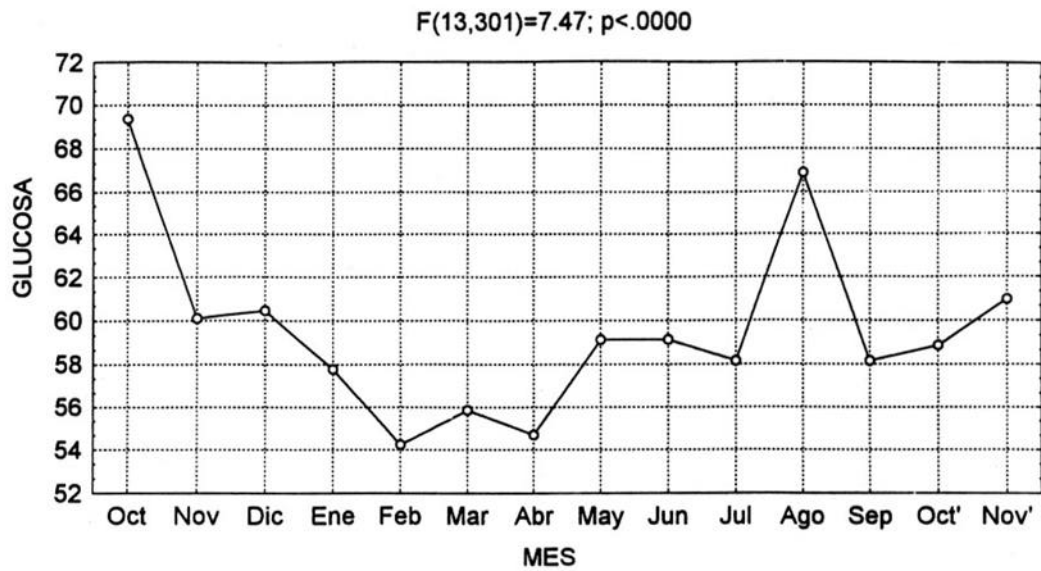


Figura 1. Evolución mensual de los valores medios de glucosa plasmática (mg/dl) en ganado bovino a lo largo del año.

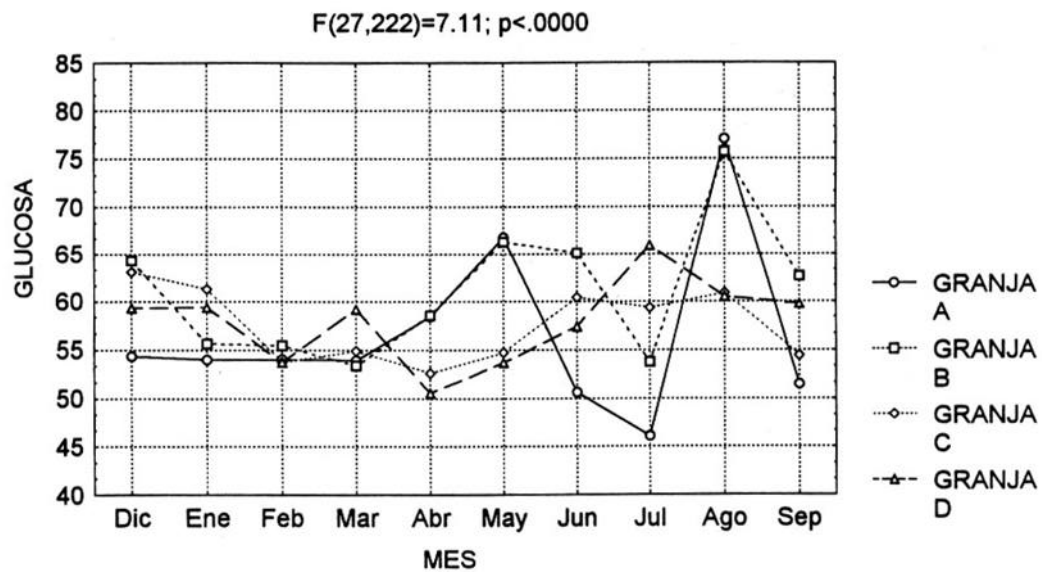


Figura 2. Evolución de los valores medios de glucosa plasmática (mg/dl) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

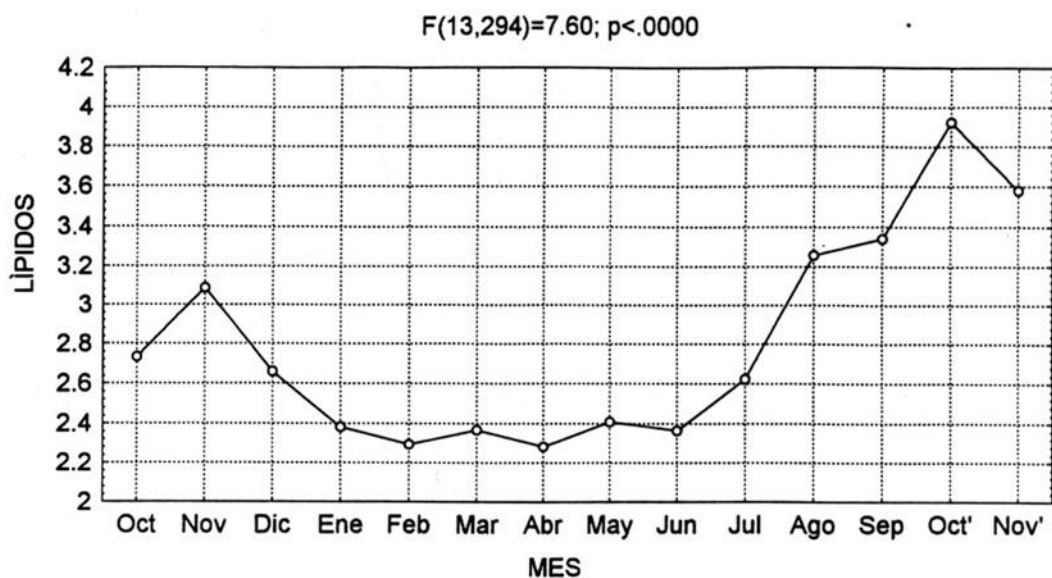


Figura 3. Evolución mensual de los valores medios de lípidos totales plasmáticos (g/l) en ganado bovino a lo largo del año.

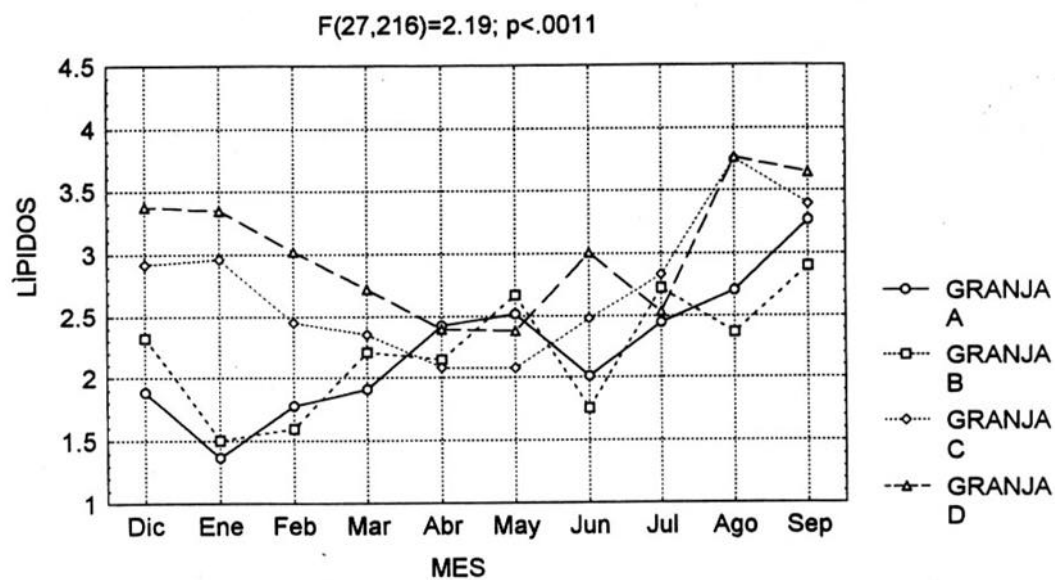


Figura 4. Evolución de los valores medios de lípidos totales plasmáticos (g/l) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

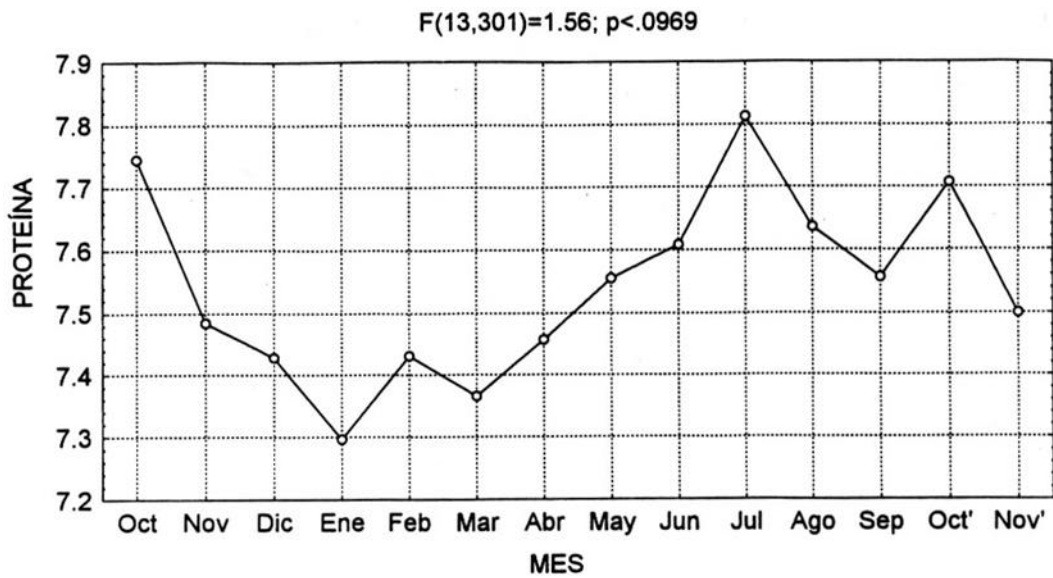


Figura 5. Evolución mensual de los valores medios de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en ganado bovino a lo largo del año.

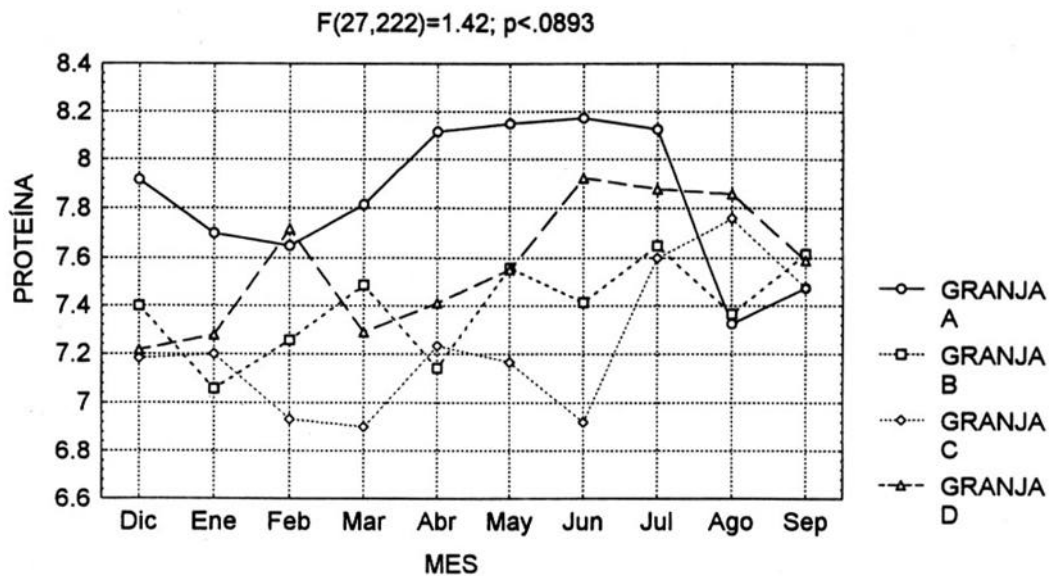


Figura 6. Evolución de los valores medios de proteínas plasmáticas totales (g/dl) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

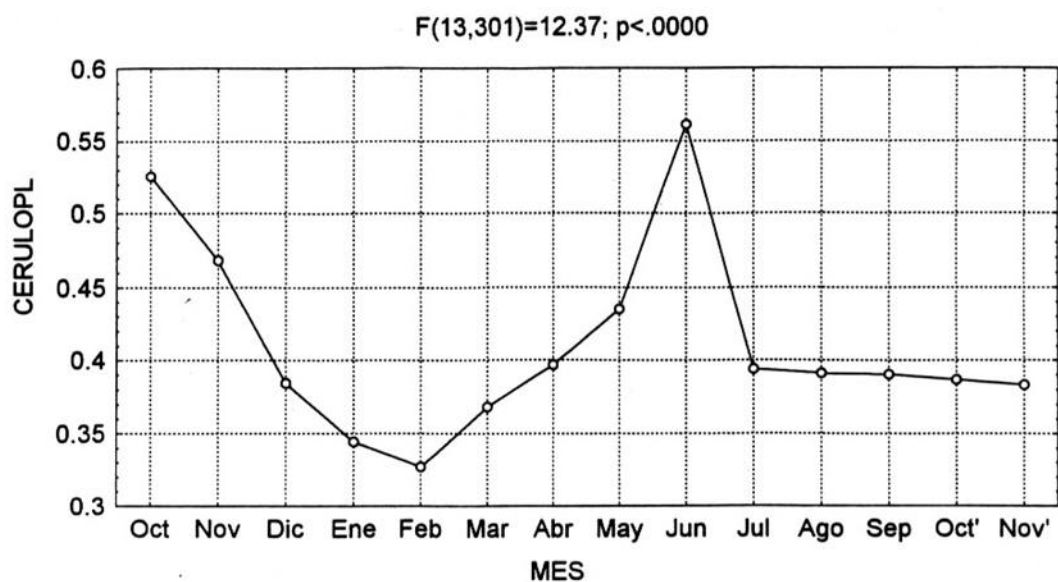


Figura 7. Evolución mensual de los valores medios de ceruloplasmina plasmática (g/l) en ganado bovino a lo largo del año.

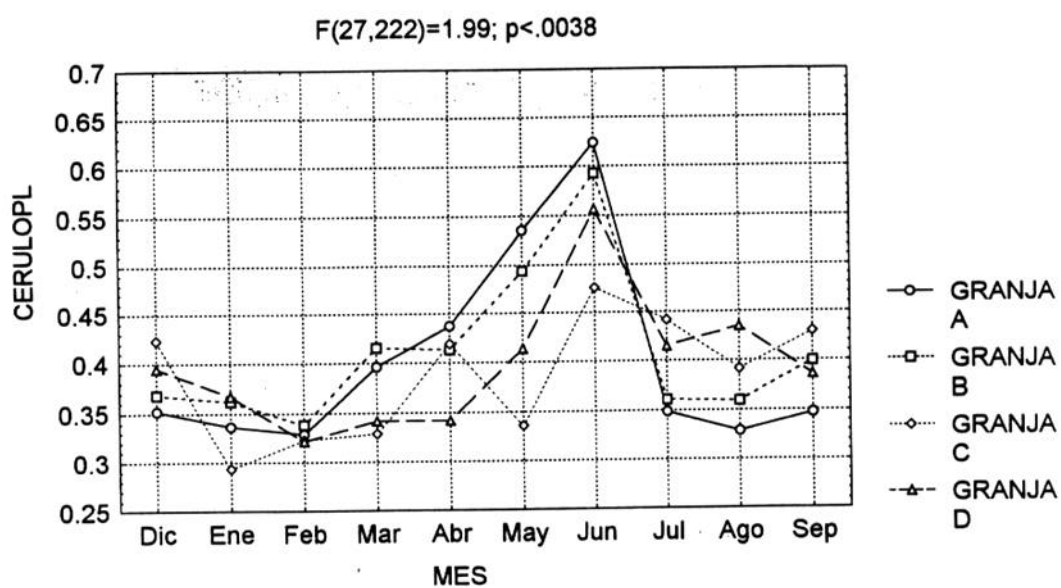


Figura 8. Evolución de los valores medios de ceruloplasmina plasmática (g/dl) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

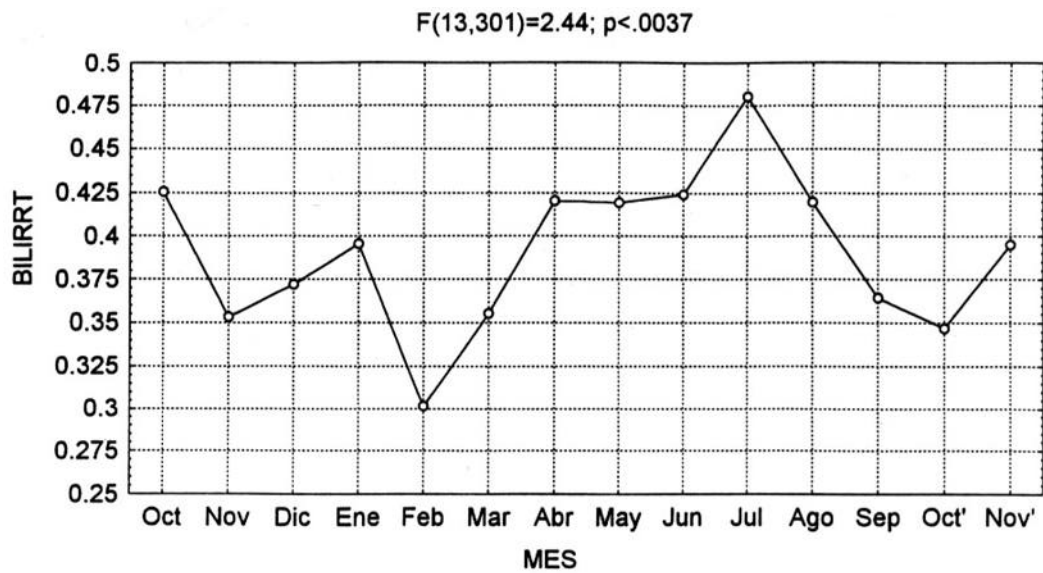


Figura 9. Evolución mensual de los valores medios de bilirrubina total en plasma (mg/dl) en ganado bovino a lo largo del año.

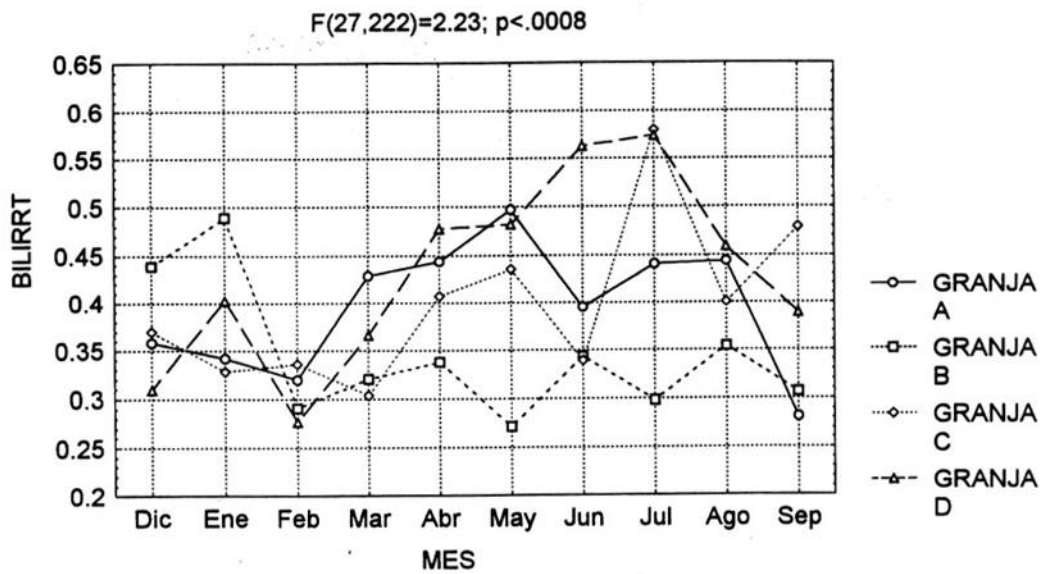


Figura 10. Evolución de los valores medios de bilirrubina total en plasma (mg/dl) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

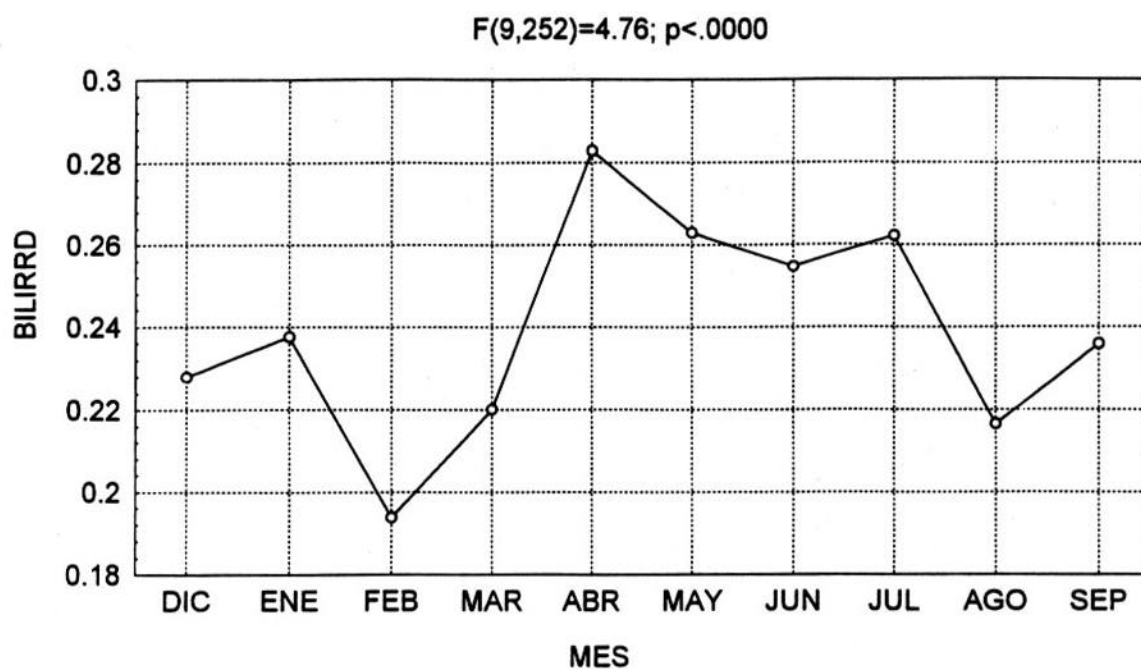


Figura 11. Evolución mensual de los valores medios de bilirrubina directa en plasma (mg/dl) en ganado bovino a lo largo del año.

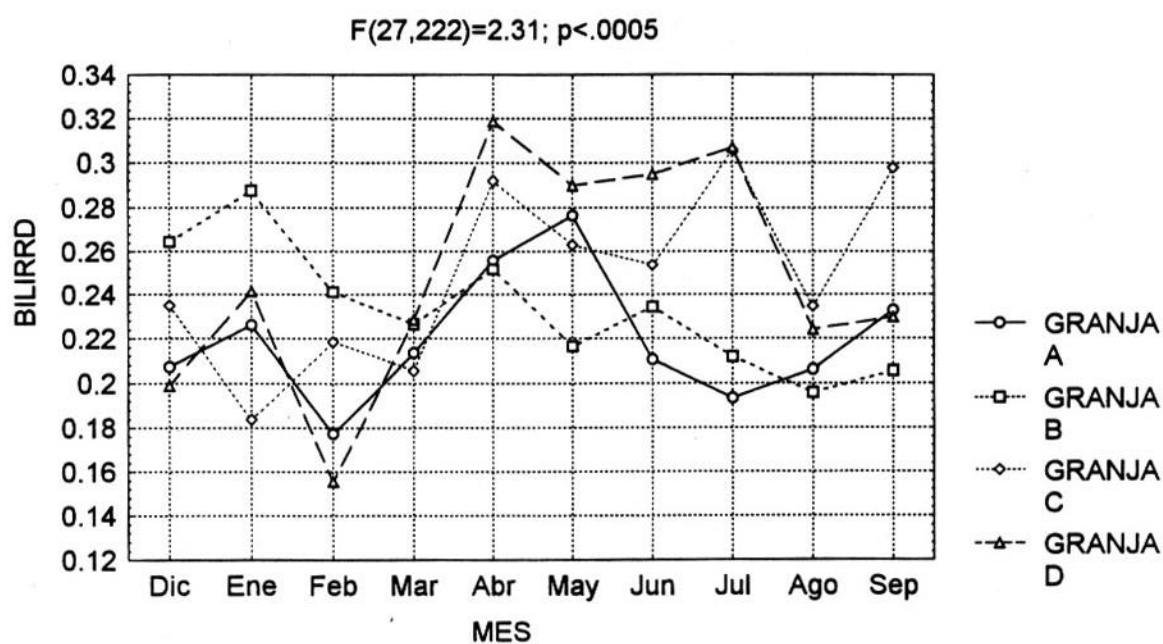


Figura 12. Evolución de los valores medios de bilirrubina directa en plasma (mg/dl) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

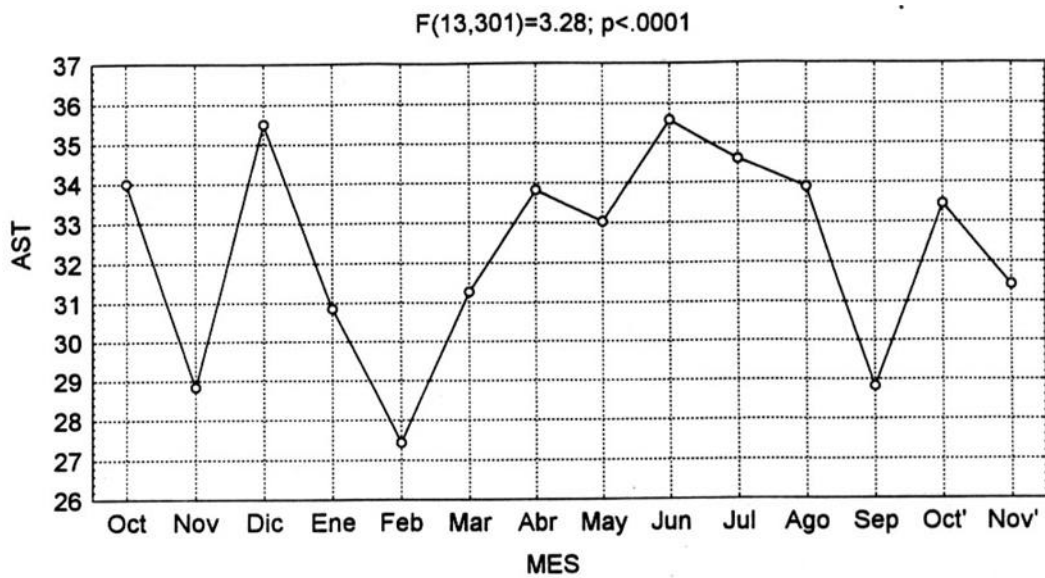


Figura 13. Evolución mensual de los valores medios de AST plasmática (U/l) en ganado bovino a lo largo del año.

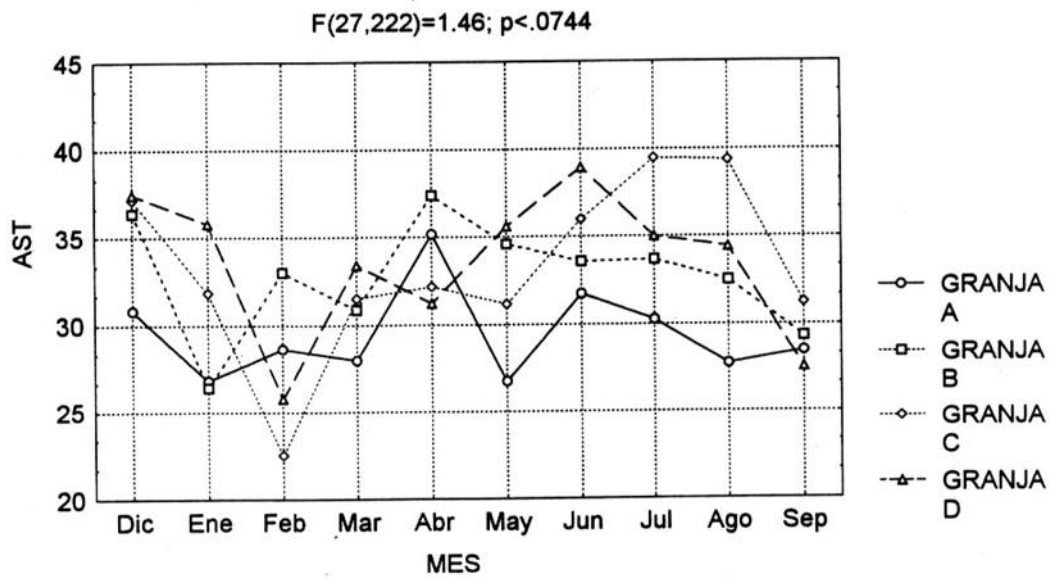


Figura 14. Evolución de los valores medios de AST plasmática (U/l) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

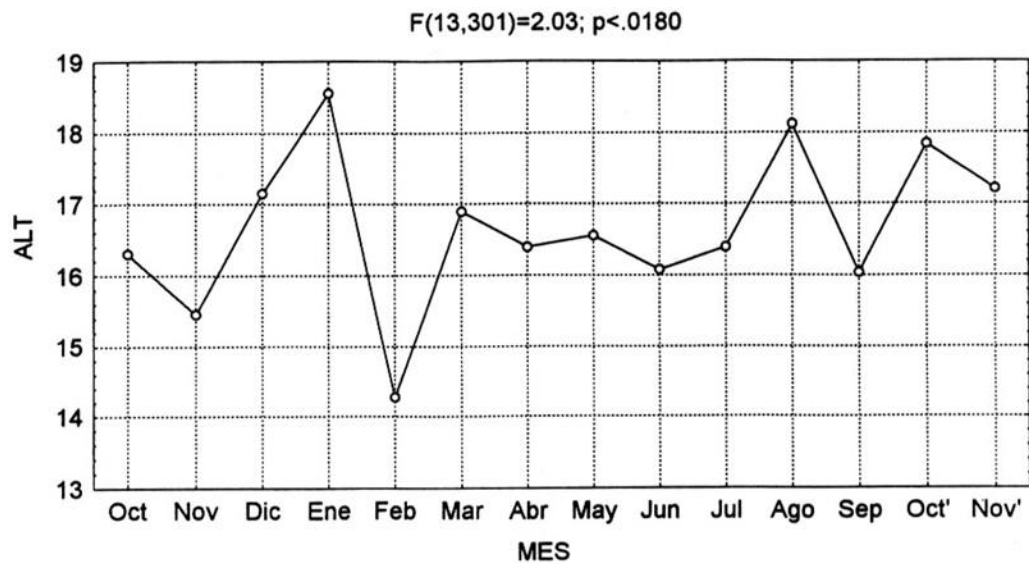


Figura 15. Evolución mensual de los valores medios de ALT plasmática (U/l) en ganado bovino a lo largo del año.

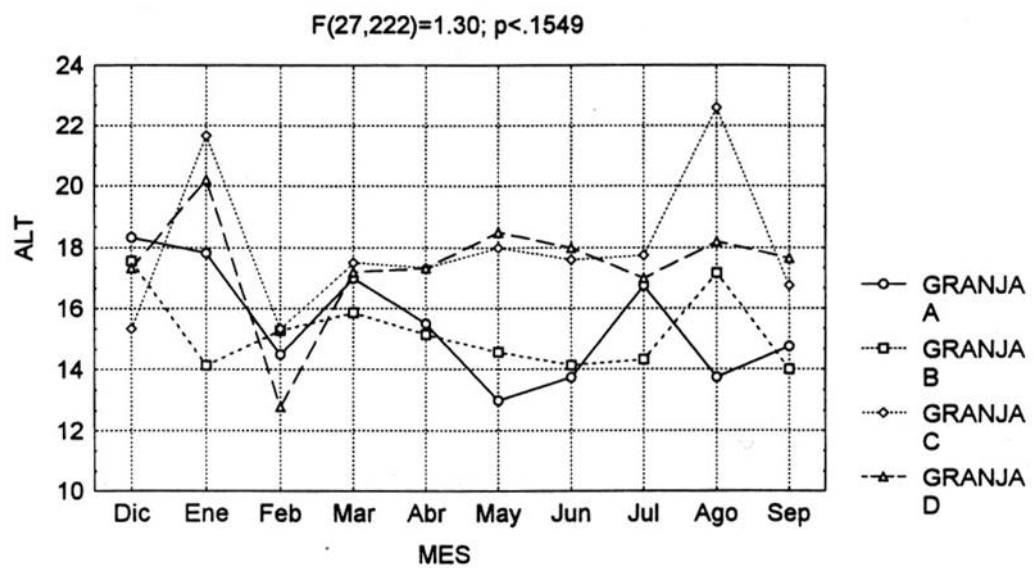


Figura 16. Evolución de los valores medios de ALT plasmática (U/l) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

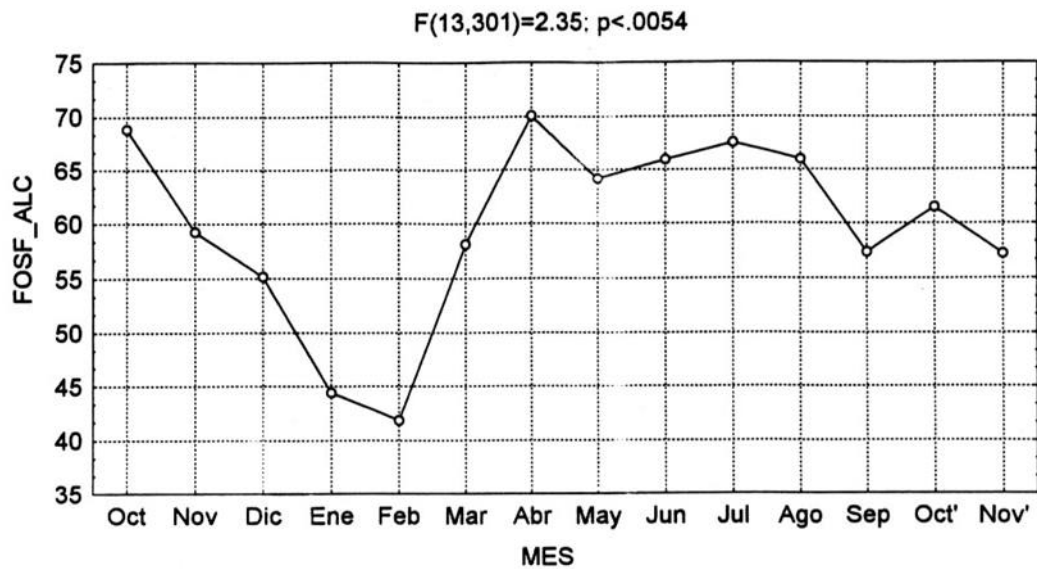


Figura 17. Evolución mensual de los valores medios de fosfatasa alcalina plasmática (U/l) en ganado bovino a lo largo del año.

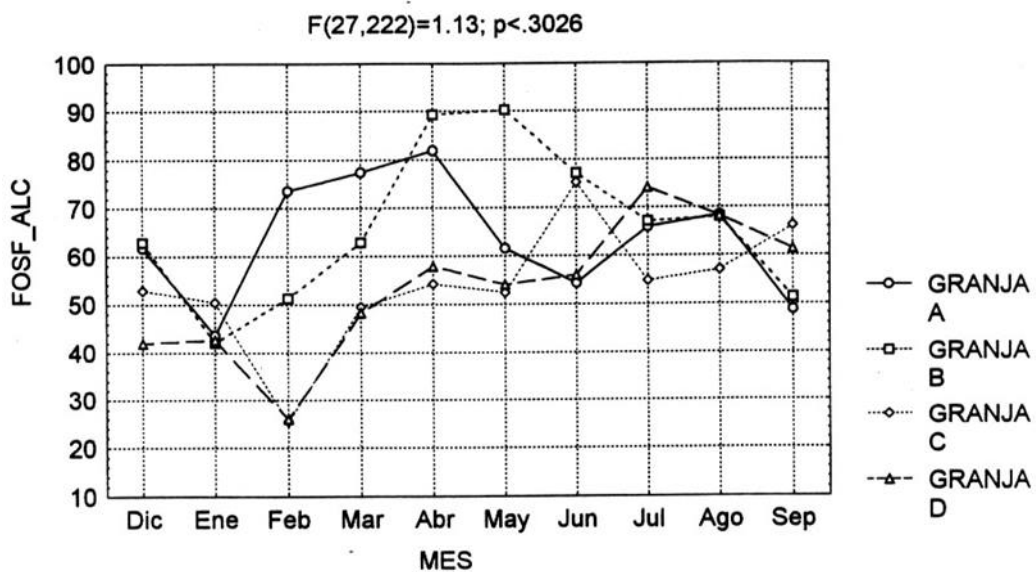


Figura 18. Evolución de los valores medios de fosfatasa alcalina plasmática (U/l) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

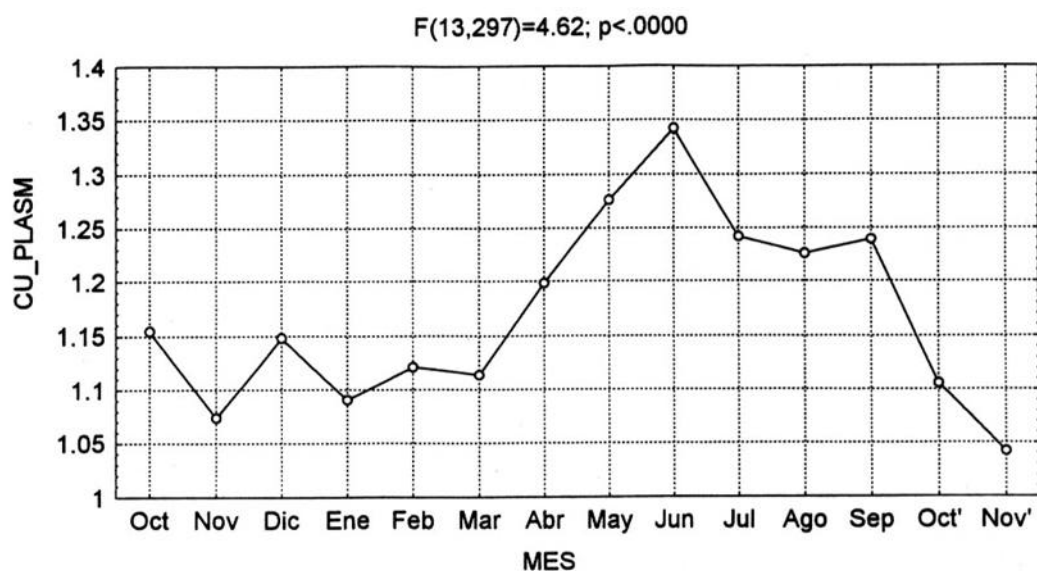


Figura 19. Evolución mensual de los valores medios de cobre plasmático ($\mu\text{g/ml}$) en ganado bovino a lo largo del año.

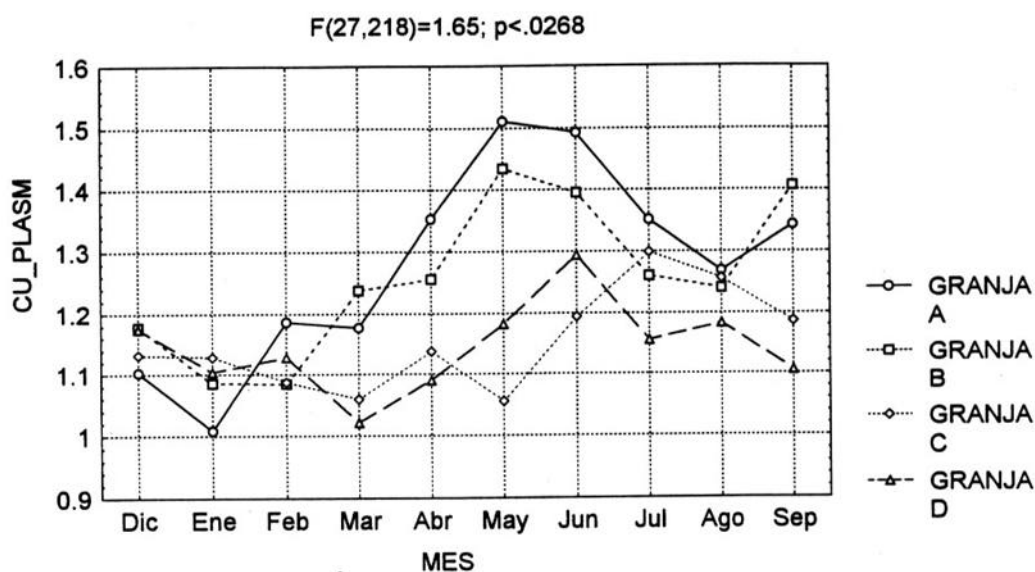


Figura 20. Evolución de los valores medios de cobre plasmático ($\mu\text{g/ml}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

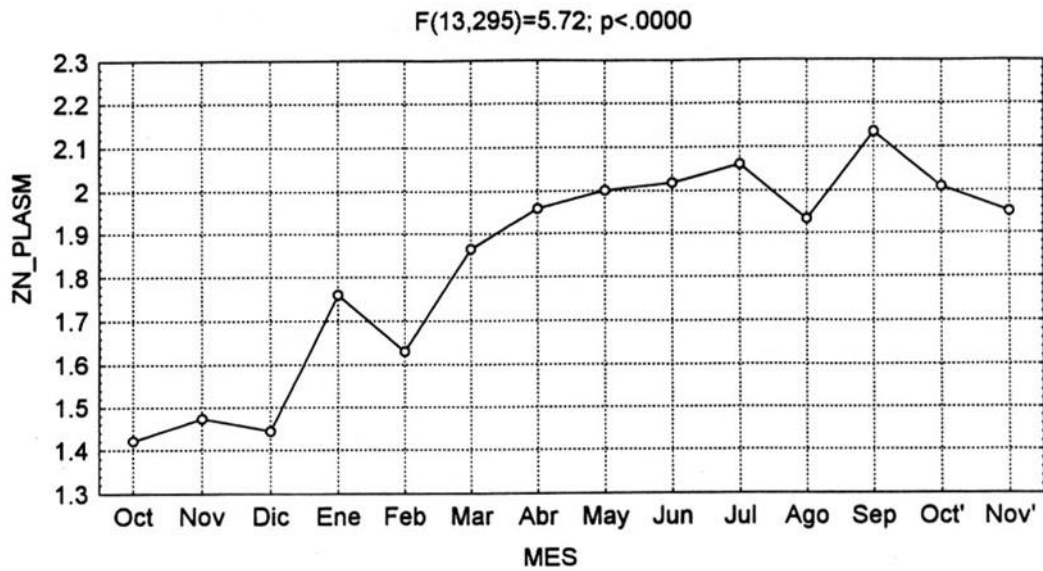


Figura 21. Evolución mensual de los valores medios de cinc plasmático (µg/ml) en ganado bovino a lo largo del año.

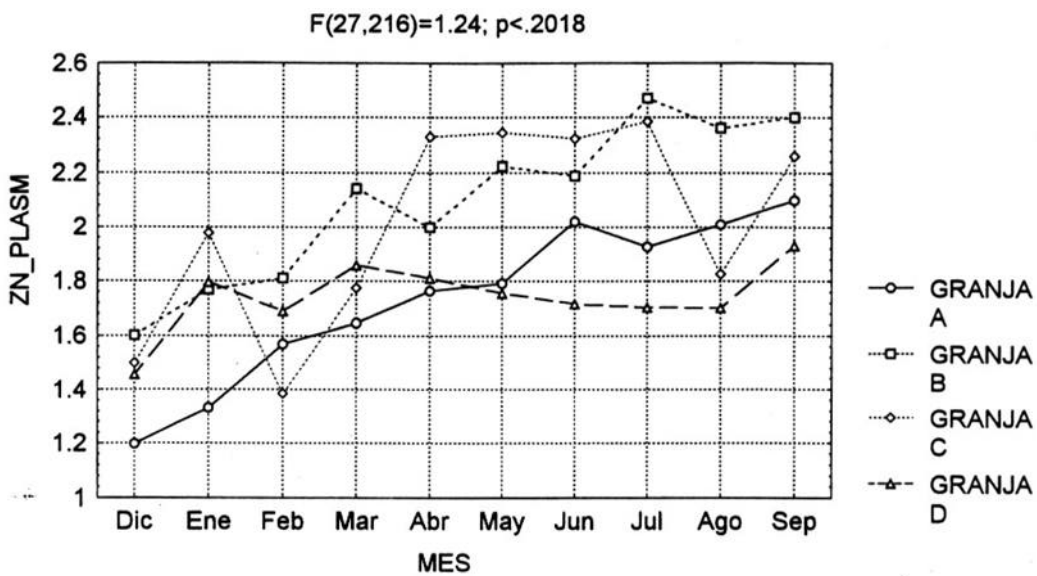


Figura 22. Evolución de los valores medios de cinc plasmático (µg/ml) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

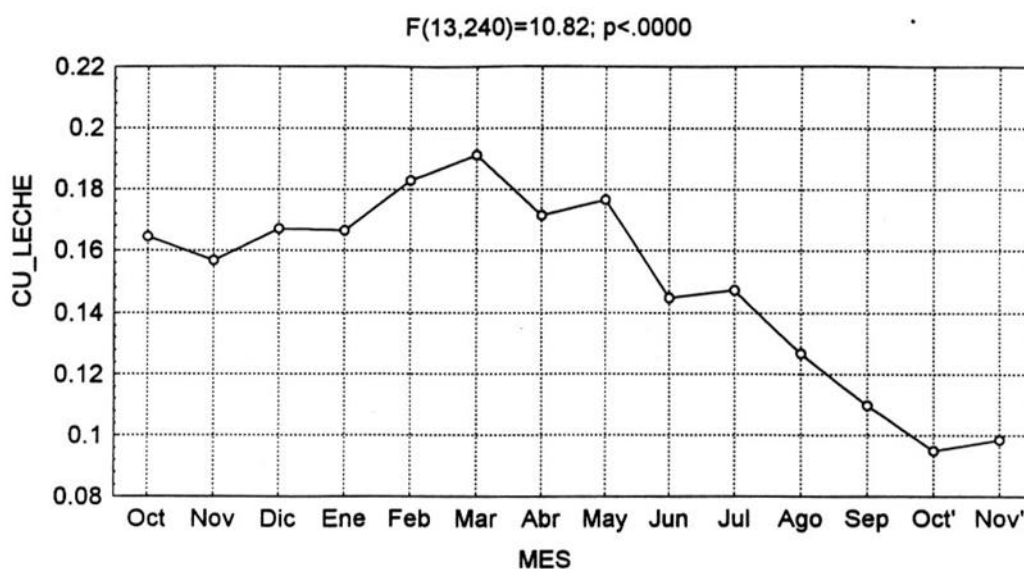


Figura 23. Evolución mensual de los valores medios de cobre en leche ($\mu\text{g/ml}$) en ganado bovino a lo largo del año.

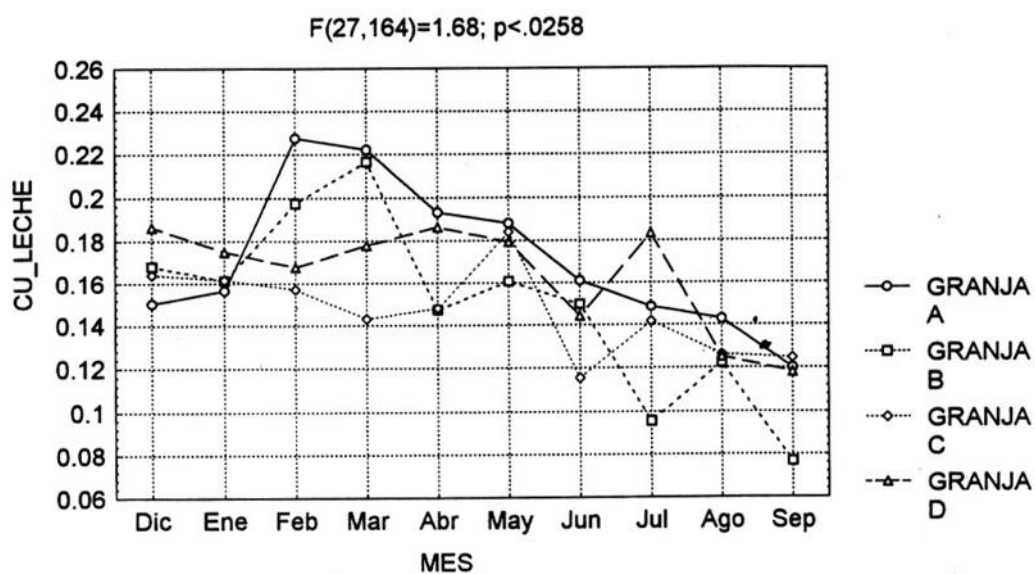


Figura 24. Evolución de los valores medios de cobre en leche ($\mu\text{g/ml}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

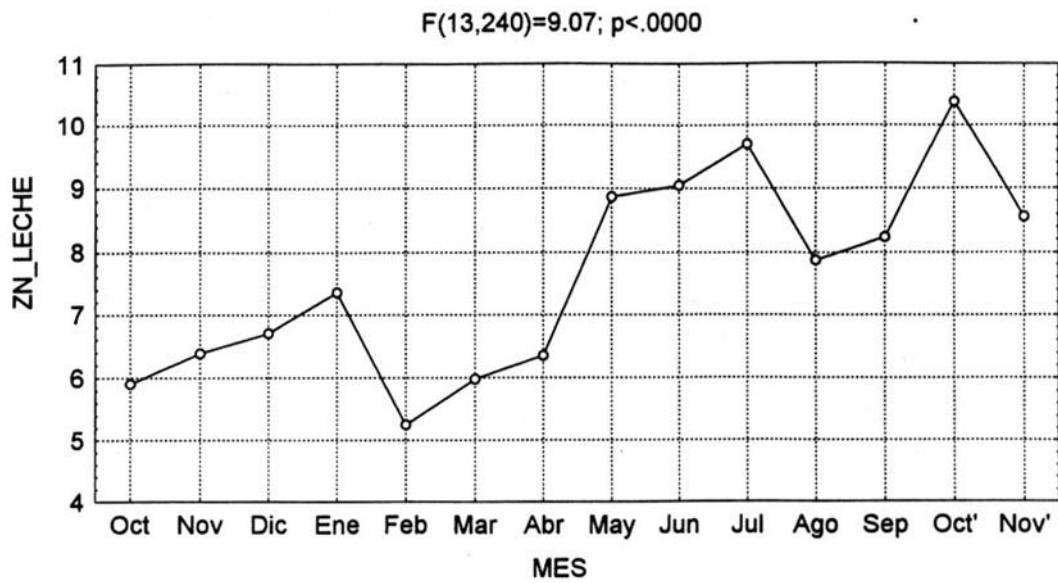


Figura 25. Evolución mensual de los valores medios de cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) en ganado bovino a lo largo del año.

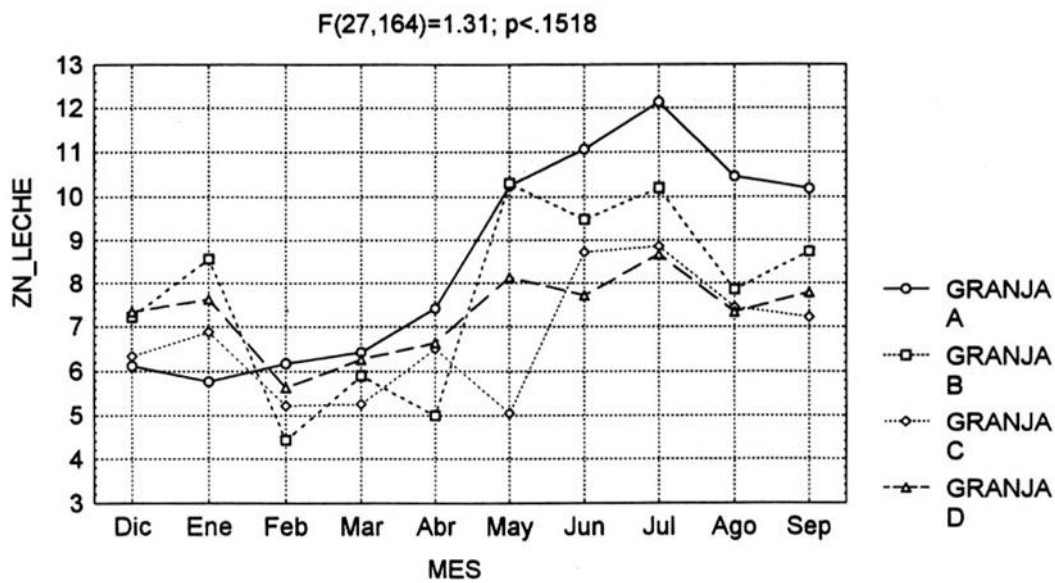


Figura 26. Evolución de los valores medios de cinc en leche ($\mu\text{g/ml}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

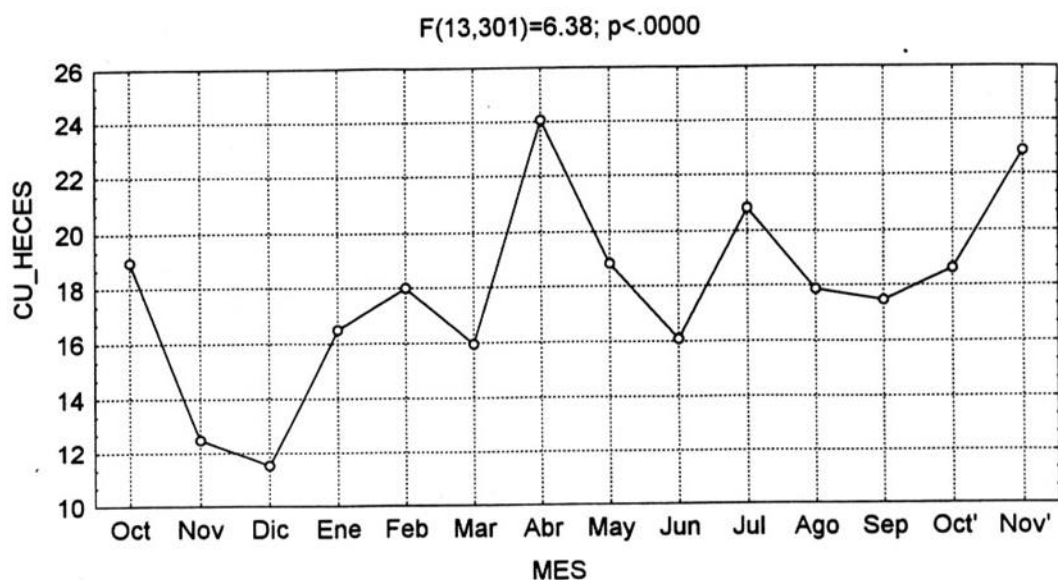


Figura 27. Evolución mensual de los valores medios de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino a lo largo del año.

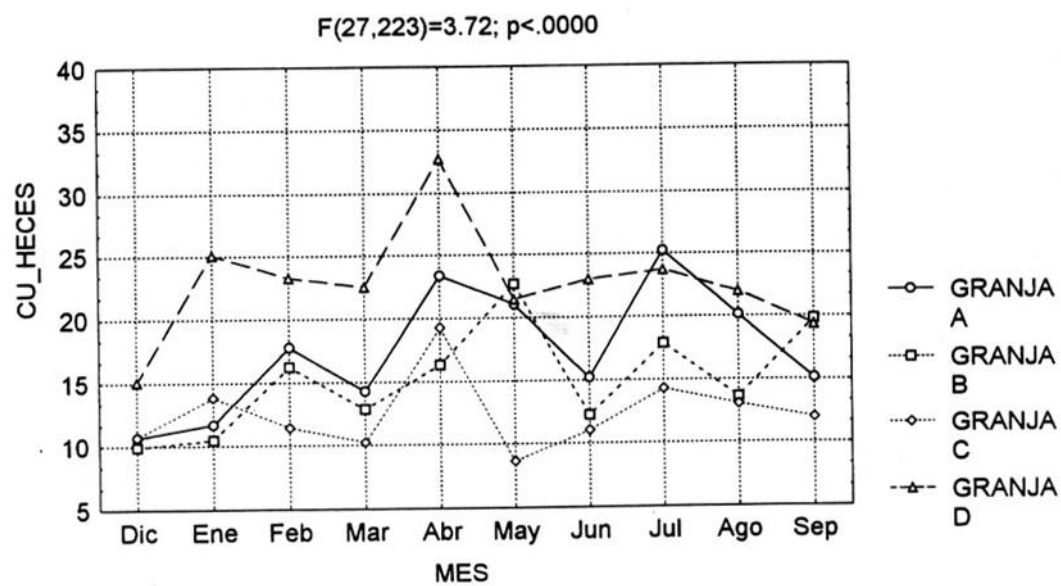


Figura 28. Evolución de los valores medios de cobre en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

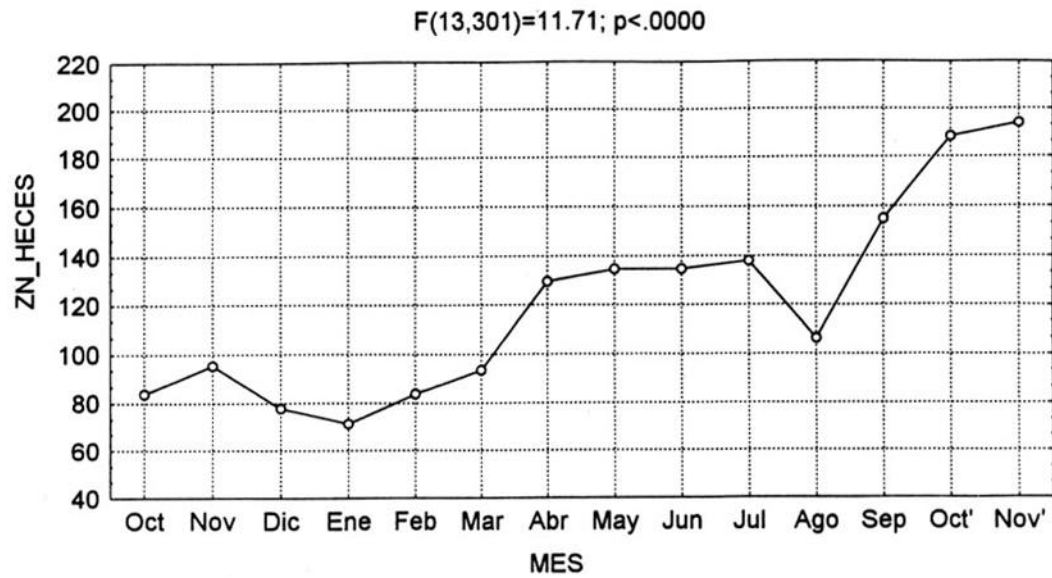


Figura 29. Evolución mensual de los valores medios de cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino a lo largo del año.

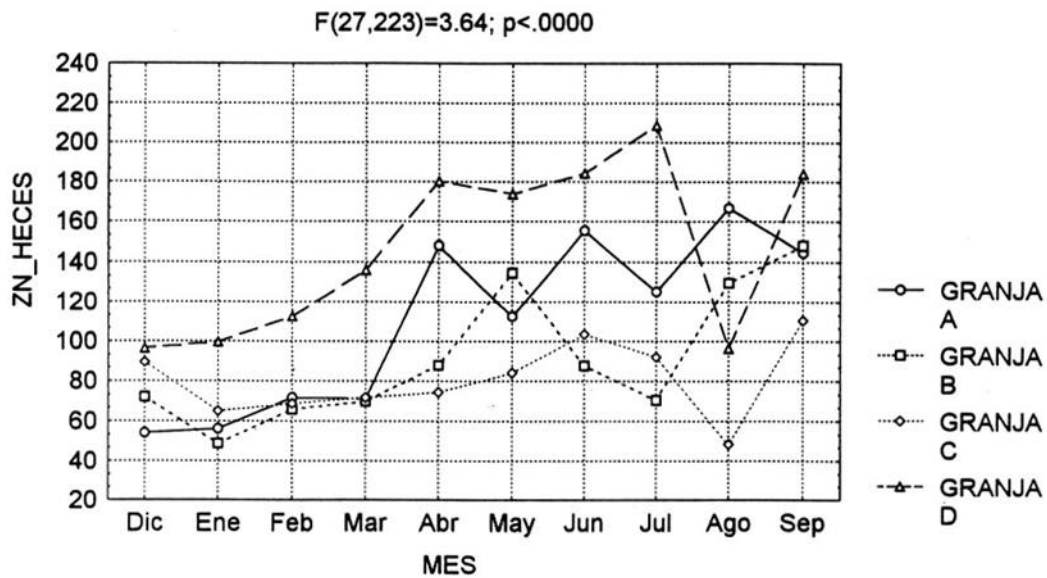


Figura 30. Evolución de los valores medios de cinc en heces ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

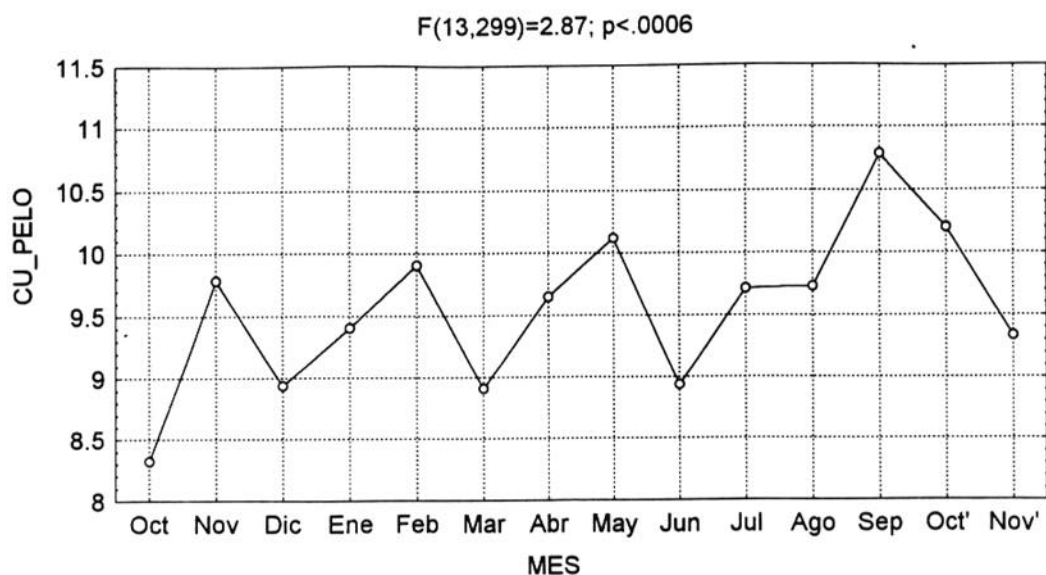


Figura 31. Evolución mensual de los valores medios de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino a lo largo del año.

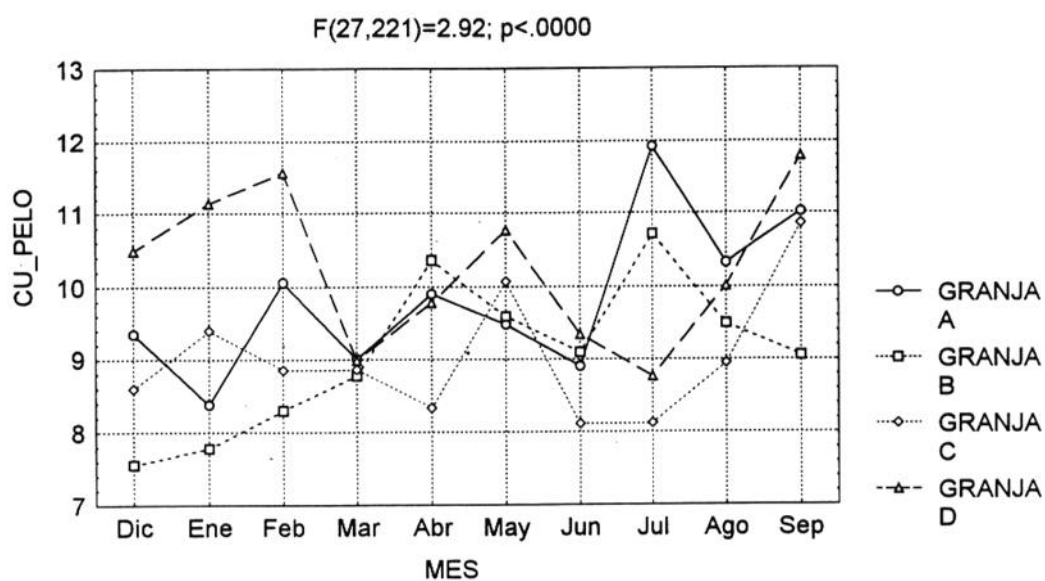


Figura 32. Evolución de los valores medios de cobre en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

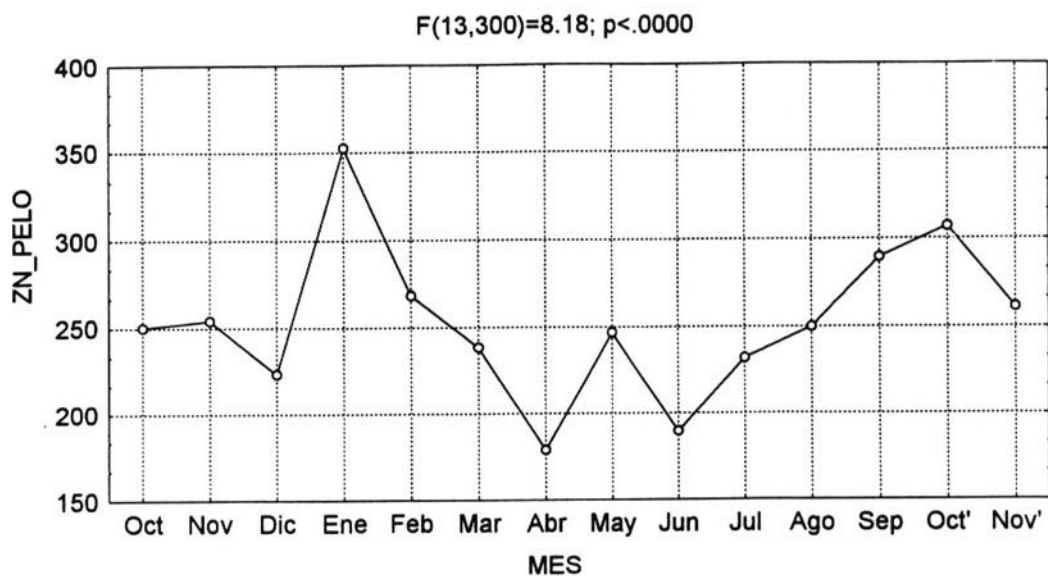


Figura 33. Evolución mensual de los valores medios de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino a lo largo del año.

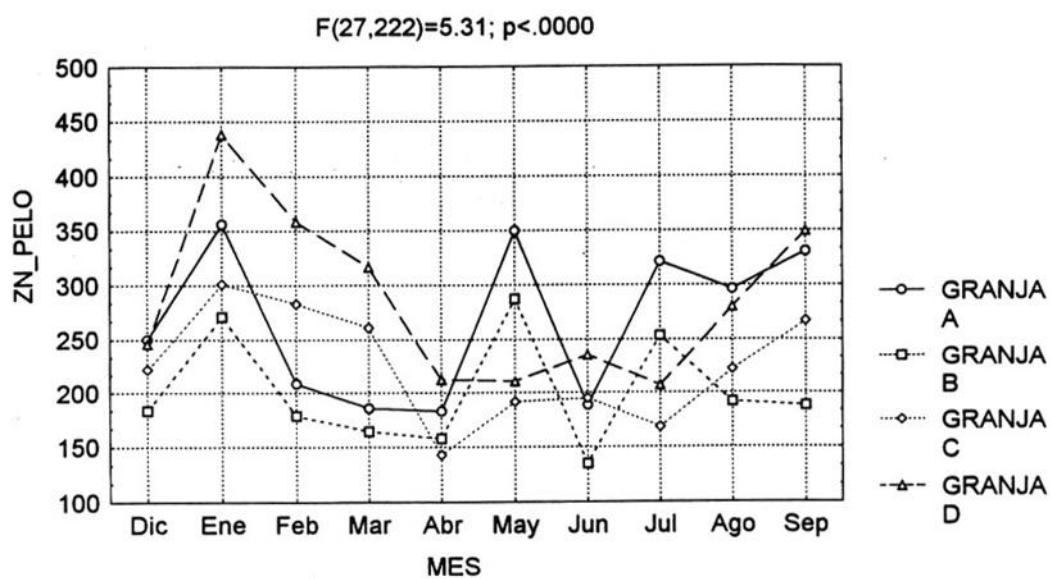


Figura 34. Evolución de los valores medios de cinc en pelo ($\mu\text{g/g MS}$) en ganado bovino de las cuatro granjas estudiadas.

DISCUSIÓN

A la hora de interpretar los resultados obtenidos respecto a cada uno de los parámetros analizados, parece conveniente precisar primero los principales datos geográficos y climáticos del área donde se encuentran las explotaciones estudiadas (Tabla siguiente), toda vez que se trata de un protocolo de campo que se ha desarrollado a lo largo de un período de tiempo suficientemente largo.

Ubicación geográfica	Latitud 43° Norte
	Longitud 6° Oeste
	Altitud 1100-1200 m
Relieve	Montañoso con pendientes fuertes
Suelos	Era primaria (Siluriano, Carbonífero y Devónico)
	Valles aluviales (origen cuaternario)
	Suelos arcilloso-silíceos
Clima	Europeo continental submarítimo
	Inviernos muy fríos (T media en enero entre 0 y 2°C)
	Veranos frescos (T media en julio entre 16 y 18°C)
	Insolación muy fuerte de día, noches frías
	Precipitaciones entre 1000 y 1500 mm
Cultivos y aprovechamientos	Bovino de aptitud mixta
	Abundancia de pasto en valles y "puertos" de montaña
	Matorral y rebollo (<i>Quercus pyrenaica</i>)

Características geográficas y ambientales de la comarca agraria "Montaña de Luna" (Rodríguez Rodríguez, 1987; Enríquez de Salamanca, 1992).

En cuanto a los animales estudiados, diremos que en la Comunidad de Castilla y León se encuentra el 30% del censo nacional de la raza Pardo Alpina, no siendo equitativa la distribución de estos animales en todas las provincias de la Comunidad, ya que en la provincia de León se ubica el 80% del efectivo de esta región. Estos animales pertenecen casi en su totalidad a la línea europea y se mantienen en zonas de montaña donde se pone de manifiesto su rusticidad y doble aptitud (carne-leche), aunque la alimentación ha de complementarse con concentrados para asegurar un nivel óptimo de producción (Boixo, 1991).

Previamente a la discusión concreta de los distintos parámetros analizados en este estudio, deseáramos hacer una consideración general, válida para casi todos los parámetros bioquímicos convencionalmente utilizados en patología bovina y que nosotros hemos valorado también.

Cuando se comprueba lo citado por los más clásicos, y mas utilizados, revisores de valores de bioquímica sanguínea, como Coles (1989) o Kaneko (1989), se pueden observar algunas diferencias (a veces incluso importantes) entre los valores que cada uno de ellos cita como normales en la especie bovina. Dicha discrepancia parece derivada de la recopilación de datos de diferentes razas, a diversas edades y con métodos analíticos diferentes. Este hecho, que no es característico de estos autores sino que se presenta también en los artículos publicados en las revistas periódicas, obliga a realizar con cuidado las comparaciones entre valores procedentes de muestras de animales de razas diferentes o incluso de la misma raza pero explotados en distintos países. En nuestro caso, y dado que la raza de los animales estudiados es la Pardo Alpina y se trata de una raza de la cual nuestro Departamento tiene amplia experiencia desde hace muchos años hemos podido contar con valores normales bastante ajustados incluso en función de la edad.

Los valores de glucosa de todos los animales estudiados en las cuatro ganaderías se situaron en niveles considerados como normales para esta especie y raza (Benedito Castellote et al, 1986; García Partida et al, 1988). Respecto a este parámetro, debemos destacar que los valores más bajos aparecen al final del período de estabulación y que comienzan a elevarse cuando los animales "mejoran" su alimentación con la salida al pasto, tal como era de esperar en un parámetro tan netamente influenciado por la alimentación. Por ello, si estudiamos los valores medios de los meses, nos encontramos los niveles más bajos en los meses de febrero y marzo en todas las ganaderías. Los valores medios del mes de abril todavía permanecen bajos pues dos de las ganaderías (C y D) aún no sacan los animales al pasto, de modo que, aun cuando la glucemia media aumenta casi 5 mg/dl con respecto a la del mes anterior en las dos granjas con animales en pastoreo, la consideración global de todos los animales para ese mes mantiene cifras todavía discretas.

Los niveles de los lípidos totales presentes en el plasma de las vacas objeto de estudio se mantuvieron entre los valores considerados como fisiológicos por Rosenberger (1981). Al tratarse también de un parámetro muy relacionado con la alimentación, hemos observado valores más elevados cuando los animales se mantienen en el pasto que cuando permanecen en el establo. Por otra parte, el comportamiento de las ganaderías de ambas zonas es diferente, con valores más estables en las granjas de la zona de Babia.

La proteinemia de los animales se mantiene entre cifras consideradas como normales para esta especie y raza (entre 6,8 y 8,2 g/dl) en todas las explotaciones (Prieto Montaña, 1975; García Partida et al, 1976; Coles, 1989). Es bien conocido que este parámetro se ve escasamente influido por la alimentación y el manejo (Rosenberger, 1981; Kaneko, 1989) si no son claramente deficitarios, ya que en la mayoría de los casos los cambios que se pueden producir son discretos y difíciles de detectar e interpretar. Sin embargo, la tendencia evolutiva es similar a la que aparece en el caso de la glucemia, con los valores más bajos en los momentos finales del período durante el cual las vacas se mantienen estabuladas para aumentar con la salida al pasto y llegar al máximo en el mes de julio, momento a partir del cual van descendiendo. Esta tendencia pues debe ser explicada no en función de la alimentación sino por la influencia de la temperatura ambiente. A pesar de que las pérdidas hídricas por sudoración son relativamente bajas (Jain, 1986) es evidente que al disminuir la hidremia, aunque sea ligeramente, se produce un ligero incremento de la proteinemia que podría explicar los valores algo más bajos cuando la temperatura es más fría y algo más altos cuando la temperatura es más elevada.

La evolución de la ceruloplasmina a lo largo del año ha sido muy homogénea en todas las explotaciones, observándose una decidida tendencia de incremento desde el mes de febrero, en el que aparecen los valores más bajos, hasta el mes de junio, en el que se dan los valores más altos, para iniciar a partir de ese momento un decidido y continuado declive.

Nuestros valores medios son algo más elevados que los encontrados por Lavín González (1986) en la misma raza (media de 0,26 g/l), pero, en su caso, poco más de la mitad de los animales estudiados recibían un aporte de cobre suficiente para cubrir sus necesidades, lo que se ha traducido, entre otros hechos en valores plasmáticos de este elemento también más bajos que los hallados por nosotros, por lo que eran de esperar niveles de ceruloplasmina menores.

También son algo más bajos los valores hallados por Blakley y Hamilton (1985), que citan un rango entre 0,08 y 0,35 g/l en bovinos canadienses sanos de raza desconocida. A este respecto, conviene mencionar que la metodología bioquímica seguida para la

determinación es algo diferente de la nuestra; además, estos mismos autores señalan que el plasma tiene una actividad de ceruloplasmina más elevada que el suero, probablemente por el hecho de que durante el proceso de formación del coágulo se produce un secuestro relativamente importante de esta proteína. Una sugerencia similar ha sido defendida previamente por McMurray (1980) y por Paynter (1982) y cuadraría con el hallazgo de Mann (1984) quien señala que el factor V de la coagulación es una cuproproteína con una secuencia de aminoácidos similar a la ceruloplasmina (humana).

Como cabe esperar de una proteína que contiene una cantidad importante de cobre, las oscilaciones de la misma deben estar, al menos parcialmente correlacionadas, con las oscilaciones de la cupremia. A ello volveremos a hacer referencia al comentar este último parámetro. En todo caso, desde un punto de vista práctico, la utilidad de este parámetro como marcador de la homeostasis del cobre (y del hierro) descansa no sólo en el hecho de que entre el 90 y 95% del cobre circulante esté unido a la ceruloplasmina (Todd, 1970; Bingley y Anderson, 1972; Underwood, 19977a; Smart et al, 1981) sino también a que se trata de un parámetro bastante estable, que mantiene su actividad en muestras congeladas durante varias semanas (Henry et al 1960, Lorentz y Gibb, 1975) y que experimenta pérdidas escasas en función de las manipulaciones necesarias para la remisión de las muestras al laboratorio (Blakley y Hamilton, 1985).

La bilirrubina total se mantuvo durante todo el año en valores considerados como normales para ésta y otras razas lecheras (Benedito Castellote et al, 1986; Hernández Bermúdez, 1992). La evolución anual observada en este caso es similar a la de la glucemia, con valores más bajos en febrero, que se elevan paulatinamente hasta un máximo en julio, para descender a continuación.

Aunque en vacuno no ha podido ser comprobado hasta la fecha, en ovino se ha descrito que en los procesos carenciales de cinc, ya desde el inicio, aparece un incremento de la bilirrubina sérica, posiblemente asociado al incremento de los lípidos y en detrimento de la glucosa (Alonso de Vega, 1984). Bien es cierto que es comúnmente admitido que los niveles plasmáticos de bilirrubina en la vaca son bastante poco indicativos pues, si exceptuamos la crisis hemolítica es raro observar elevaciones importantes de este parámetro, ni siquiera en enfermedades hepáticas graves (Coles, 1989; Cornelius, 1989).

Respecto a la bilirrubina directa debemos señalar que no se aprecia una evolución demasiado parecida a la de la bilirrubina total pues, aun cuando los niveles más bajos se sitúan en las mismas fechas, tras el incremento subsiguiente los valores permanecen en niveles bastante constantes a lo largo del año hasta la disminución propia de las fases invernales.

El incremento de este parámetro, similar al ya señalado para la bilirrubina total, que aparentemente se asocia en ovino a la carencia de cinc tampoco se da en este caso.

Aun cuando estas enzimas en el ganado bovino no tienen idéntico grado de significación que en los carnívoros en relación con el funcionalismo del hígado (Kramer, 1989), la presencia de valores normales de transaminasas (AST y ALT) nos permite afirmar que el funcionamiento hepático de todos los animales estudiados es normal.

La actividad de la fosfatasa alcalina se mantuvo en todo momento en valores considerados como usuales en esta especie y raza. A pesar de que la valoración efectuada no incluía el estudio de la isoenzima hepática, la asociación de estos valores normales con los de las transaminasas refuerza la idea de buen funcionamiento del hígado. Recordemos que, en todo caso, no se trata de una enzima que resulte buena indicadora de daño hepático en esta especie pues el margen de variación de las cifras normales es demasiado grande para poder establecer resultados conclusivos (Kramer, 1989).

Los niveles medios de cobre en plasma (aproximadamente entre 1 y 1,5 $\mu\text{g/ml}$) se mantuvieron dentro de los márgenes considerados como de normalidad para esta especie y alejados de los implicados en situaciones de deficiencia de este elemento, que se sitúan por debajo de 0,6 ó 0,7 $\mu\text{g/ml}$ (Faye y Grillet, 1984; Gay et al, 1988; Tanner et al, 1988). De todos modos, esto no excluye la posible presencia en la explotación de algún animal con valores situados en la denominada zona límite o marginal (zona de riesgo). Así, por ejemplo, Todd (1970), estudiando 6 granjas diferentes en las que no había señales de deficiencia encontró en cuatro de ellas al menos un animal con valores de cupremia inferiores a 0,5 $\mu\text{g/ml}$.

El contenido plasmático de cobre sufrió importantes fluctuaciones a lo largo del año en todas las ganaderías estudiadas, observando los valores más bajos en los momentos finales de la estabulación y los más elevados un mes después de la salida al pasto. Esto determinó que el momento con el valor más alto no fuese el mismo mes para las cuatro granjas, así en las dos explotaciones de la zona de Omaña, que salían al pasto en el mes de abril el máximo se obtuvo en el mes de mayo, mientras que en las dos explotaciones de la zona de Babia, que retrasaron su salida un mes, el nivel más elevado apareció en junio. Esta situación era esperada por nosotros, dado que el contenido de cobre del pasto era más elevado que el del heno y los animales estabulados tenían este último alimento como base nutritiva primordial. Recordemos que la suplementación de los animales con pienso, que se efectuaba en la cuadra durante el período de estabulación no varió en el momento de la salida al pasto pues al finalizar el día y cuando eran recogidos de los prados, los animales recibían también el

suplemento. En esta situación debemos entender que el elemento determinante de la concentración plasmática debe ser el cobre ingerido.

Resultados similares a los nuestros encuentran Ho et al (1980) en vacas Shorthorn gestantes que fueron estabuladas en noviembre y alimentadas con un heno pobre en cobre; la disminución de los valores de cupremia alcanzó el mínimo en abril para incrementarse al mes siguiente como consecuencia de la salida al pasto y continuar elevándose hasta el final del período experimental en octubre.

Sin embargo, la interpretación de la evolución mensual de la cupremia debe ser cuidadosa, pues no basta que el animal salga al pasto para que mejore su ingesta total de cobre, en ocasiones sucede lo contrario.

Davies y Baker (1974) estudiando más de 1000 rebaños de vacas de carne entre julio de 1971 y junio de 1972 encuentran que la máxima incidencia de la hipocupremia se sitúa entre los meses de septiembre y noviembre mientras que la mínima afectación aparece entre marzo y abril. La posible justificación, según estos autores radica en el hecho de que estos animales durante el período de pasto no reciben ningún tipo de pienso y el 80% de la hierba consumida en el período contenía menos de 10 $\mu\text{g/g}$ MS y era incapaz de proporcionar suficiente aporte dietético de cobre. Por el contrario, las vacas lecheras padecen en menor proporción la hipocupremia pues en razón de su actividad productora reciben regularmente suplementación mediante pienso que, generalmente, es rico en cobre.

Bellanger y Roth (1968) encontraron valores máximos en el otoño y mínimos (aunque similares a los del invierno) en la primavera. Estos resultados, sin embargo, deben ser interpretados con cuidado pues no precisa el momento (mes) considerado para el muestreo y así, si nosotros considerásemos sólo los valores de diciembre, marzo, junio y septiembre y los extrapolásemos a las estaciones nuestros resultados también indicarían el mínimo en primavera. Estos mismos autores además, al intentar explicar sus resultados recuerdan que el pasto no es igual de rico a lo largo de todo el período pues en el momento en el que la hierba es joven el valor es máximo, para disminuir con posterioridad.

Dupeux y Michel (1978) indican que la deficiencia es más frecuente en verano que en invierno, debido al bajo contenido de cobre en el pasto y la inexistencia de suplementación. En esta misma línea, Ghosal y Mathur (1992) observan más problemas en primavera y verano, por ser la época en la que los animales reciben menos atención y existe menor preocupación por su alimento.

No todos los autores que han estudiado la evolución mensual de la cupremia señalan variaciones, algunos, como Wiercinski y Ciolek (1988), a pesar de haber comprobado

diferencias importantes en cuanto al contenido de cobre en el alimento, no encuentran alteración plasmática alguna.

El estudio del efecto estacional también ha permitido comprobar la correlación entre la cupremia y la cantidad de lluvia (en animales de carne y lecheros explotados en condiciones de pasto) (Bain et al, 1986). En este caso no se apreciaron diferencias en cuanto al comportamiento de los rebaños de orientación cárnica frente a los de orientación láctea pero sí se pudo concluir la existencia de una correlación inversa entre cupremia y lluvia, de modo que los valores más altos de cobre en plasma aparecieron siempre en relación con los períodos de mínima pluviometría y a la inversa. El estudio, desarrollado durante dos años seguidos permitió concluir la presencia, en las curvas de evolución mensual, de valores máximos en marzo, abril y junio y mínimos en mayo y octubre.

La correlación existente entre la cantidad de ceruloplasmina y la concentración de cobre presente en la sangre ha sido uno de los elementos determinantes de que aquella haya sido considerada como un indicador bastante adecuado del "status" de cobre nutricional en el ganado vacuno (y ovino). Sin embargo, los niveles de correlación difieren según el autor y el tipo de muestra. La correlación más alta (0,93) ha sido descrita en el ganado vacuno de raza Hereford y con muestras de plasma (Bingley y Anderson, 1972). Valores inferiores señalan Blakley y Hamilton (1984) en vacas de raza no citada, tanto con muestras de suero (coeficiente de correlación entre ceruloplasmina y cobre séricos de 0,83) como de plasma (coeficiente de correlación entre ceruloplasmina y cobre plasmáticos de 0,60).

La existencia de esta importante correlación ha justificado que algunos autores lleguen incluso a proponer el cálculo de las concentraciones plasmáticas de cobre a partir de la actividad oxidasa de la ceruloplasmina (medida por un método muy similar al empleado por nosotros, en el que la única diferencia reside en el tiempo de incubación de la muestra).

Así, Bingley y Anderson (1972) sugieren utilizar una de las dos siguientes ecuaciones de regresión (donde X es la concentración plasmática de cobre en $\mu\text{g/ml}$ e Y la actividad de la ceruloplasmina en unidades de absorbancia):

$$Y = 0,0234 + 0,633X + 0,354X^2, \text{ o}$$

$$Y = -0,064 + 1,04X$$

dependiendo de si la absorbancia es inferior a 0,23 (en que se debe usar la primera ecuación) o si es superior (en cuyo caso recomiendan la segunda).

Otras ecuaciones de regresión lineal han sido defendidas por otros autores y no sólo correlacionan los valores de ceruloplasmina y cobre en plasma sino que también lo hacen respecto al suero (Kincaid et al, 1986b).

Los valores medios de cinc presentes en el plasma de los animales estudiados se mantuvieron en un margen entre 1,2 y 2,2 $\mu\text{g/ml}$, ligeramente más elevados que los considerados como normales por la mayor parte de los autores y que sitúan estos márgenes entre 0,8 y 1,3 $\mu\text{g/ml}$, pero lejanos de los encontrados en vacuno Hereford alimentado con pastos normales en cinc en una de las islas de Hawai y que se situó en 3,72 $\mu\text{g/ml}$ (Irwin et al, 1979).

Uno de los argumentos que podrían justificar la presencia de valores más elevados que los de la mayoría de los autores consultados radica en el hecho de que nosotros hemos utilizado como agente anticoagulante para la sangre la heparina, la cual ha sido en ocasiones implicada como posible contaminante con cinc de las muestras pues se trata de una sustancia con un alto contenido en este oligoelemento, por ella misma o por el contacto con los tapones de goma que se emplean en el cierre de los frascos.

La presencia en productos comerciales de heparina (que se utilizan para la obtención de muestras plasmáticas) de cantidades bastante importantes de cinc es conocida desde principios de la década de los ochenta (Lamand et al, 1981; Gervin et al, 1983).

En el primer estudio se ha valorado la cantidad de cinc en ocho productos comerciales de heparina, algunos presentados en ampolla de vidrio y otros en frasco con tapón de goma, comprobándose la presencia de más de 300 $\mu\text{g/ml}$ en una de ellas, precisamente en una de las muestras envasadas con tapón (Lamand et al, 1981). En este mismo experimento se valoraba también la concentración de cobre comprobándose que la presencia máxima se situaba por debajo de 0,25 $\mu\text{g/ml}$, lo que convierte a la heparina en un elemento despreciable desde el punto de vista de la posible contaminación de la muestra en este oligoelemento, por lo que no lo hemos citado siquiera al referirnos a la cupremia.

En el segundo ensayo (Gervin et al, 1983) se efectuaron determinaciones de cinc en quince muestras comerciales diferentes (en algunos casos se trataba del mismo producto pero presentado con concentración diferente y correspondiendo a otro lote de fabricación), algunas de ellas presentadas en viales con tapón. En tres de las quince muestras se observaron valores por encima de 3 $\mu\text{g/ml}$ (dos de ellas eran presentaciones con tapón mientras que la tercera, precisamente la alcanza los valores más elevados, 3,49 $\mu\text{g/ml}$, no lo era).

Todo ello ha motivado la preocupación existente en algunos investigadores en oligoelementos por la posible contaminación inducida por la utilización de este tipo de

anticoagulantes. En nuestro caso, aun siendo sabedores de la posibilidad de contaminación, pero teniendo en cuenta que el fin primordial del estudio se orientaba hacia una posible carencia de cobre, no de cinc, hemos preferido uniformar el tratamiento de las muestras. Por otra parte, el propio Lamand, en el trabajo arriba citado señala que la utilización de dos gotas de heparina (0,1 ml) por cada 10 ml de sangre no debe modificar apenas los resultados. Además, el mismo autor admite como válido un error del 2%, que sería el obtenido con heparinas con un contenido de cinc entre 1,6 y 2,4 $\mu\text{g/ml}$.

En nuestro caso, además de seguir la pauta preconizada por este equipo de investigadores, los niveles de cinc presentes han oscilado entre 2,5 y 2,9 $\mu\text{g/ml}$, cifra ligeramente superior a la considerada como admisible para un error inferior al 2%.

En relación con los valores de cinc conviene precisar que durante el período invernal encontramos los valores más bajos y que con la salida al pasto los niveles medios se estabilizan en torno a los 2 $\mu\text{g/ml}$.

La presencia de cantidades plasmáticas de cinc más elevadas que las comúnmente admitidas por los revisores ha sido señalada por Salih et al (1987) en vacas con orientación cárnica (valores medios en los alrededores de 1,5 $\mu\text{g/ml}$ tanto en el momento del parto como 3 meses después del mismo) y por Hernández et al (1992) y Benedito et al (1993) en vacas de la agrupación racial Morenas del Noroeste (valores medios por encima de 2 $\mu\text{g/ml}$ tanto en animales gestantes como en lactación, en las cinco razas consideradas). En esta misma línea, y en referencia a una raza de orientación productiva cárnica como es la Avileña-Negra-Ibérica se han señalado valores superiores a 1,8 $\mu\text{g/ml}$ (Alonso de la Varga et al, 1994).

No disponemos de valores normales en la raza Pardo Alpina, si exceptuamos los proporcionados por Lavín (1987) quien refiere niveles considerablemente más bajos, en los alrededores de 0,7 $\mu\text{g/ml}$, cifra considerada como límite de carencia (Stöber, 1983, Lamand 1987). Debe tenerse en cuenta, a este respecto, que la concentración media del oligoelemento en el alimento de estos animales (heno de hierba y ensilado) era considerablemente inferior a la que nosotros hemos encontrado, situándose incluso dentro del margen considerado como de riesgo de padecer deficiencia de este oligoelemento.

Cuando estudiamos individualmente las cuatro ganaderías observamos que el comportamiento en cada una de ellas es similar, lo que acredita la singular importancia de la salida al pasto en relación con el aporte nutritivo de este oligoelemento.

El contenido de cobre en la leche de los animales se mantuvo entre cifras de 0,1 a 0,2 $\mu\text{g/ml}$, mostrando un período bastante estable (a lo largo del invierno y la primavera) y

una cierta tendencia a disminuir durante el verano. Estas cifras están consideradas como normales (Stöber, 1983; Radostits et al, 1994) y siguen una tendencia mensual similar a la comentada por Murthy et al (1972), los cuales encuentran los valores más elevados en el mes de febrero. Algunos autores como Salih et al (1987) citan valores más altos que los nuestros (entre 0,3 y 0,5 $\mu\text{g/ml}$), pero conviene no olvidar que se trata de ganado de orientación cárnica.

Los resultados de cinc en la leche han sido muy variables a lo largo del año (entre 4,05 y 15,35 $\mu\text{g/ml}$), observando los niveles medios más altos en verano y los más bajos en invierno. Dado que los animales reciben pienso durante todo el año, tanto durante la época de estabulación como durante la de pastoreo, el incremento que experimentan los niveles de cinc en la leche durante el verano podría justificarse debido al mayor contenido de este elemento en el pasto que en el heno que se les administra durante el invierno, pues se ha demostrado que el incremento de cinc en la dieta determina un aumento del mismo en la leche de vacas (Miller et al, 1965a).

Nuestros valores son similares a los encontrados por Salih et al (1987), que oscilan entre 4,23 y 15,42 $\mu\text{g/ml}$, pero superiores, en general, a los de Parkash y Jenness (1967) que están comprendidos entre 3-6 $\mu\text{g/ml}$ y al nivel medio obtenido por Neathery et al (1973a) que encuentra un valor medio de 4,22 $\mu\text{g/ml}$, cuando estudia vacas frisonas alimentadas con una dieta que contiene 39,5 $\mu\text{g/g MS}$ de cinc, cantidad inferior a la que reciben nuestros animales.

La concentración de cobre en heces osciló entre 6,34 y 38,20 $\mu\text{g/g MS}$, observándose importantes diferencias tanto entre granjas como entre meses. La excreción más elevada aparece en las vacas de las granjas A y D, lo que podría explicarse por un mayor contenido de este elemento tanto en el pasto como en el pienso compuesto que consumían respecto a las otras dos ganaderías, pues ya se ha puesto de manifiesto en estudios realizados en nuestro Departamento, en vacas de la misma raza, la influencia que el cobre de la dieta tiene sobre el contenido del mismo en las heces (Lavín González, 1986). Este autor menciona que sus valores de cobre oscilaron entre 8,2 y 23,6 $\mu\text{g/g MS}$, cifras similares a las nuestras, pero con un menor rango de oscilación, explicable por el hecho de que él recogía muestras sólo durante dos meses (marzo y abril) mientras que nuestro estudio se realizó durante un año.

La discusión de estos valores es difícil de realizar pues apenas hemos encontrado referencias en la bibliografía. Sólo Farmer et al (1982) señalan valores fecales en ganado bovino joven, del que no citan la raza, valores situados en cifras considerablemente más elevadas que las nuestras (56 $\mu\text{g/g MS}$). Este hecho debe ser interpretado cuidadosamente toda vez que se trata de animales que pastan en un área muy rica en molibdeno y es bien sabido que el molibdeno es capaz de formar

complejos con el cobre (Ward, 1978; Gooneratne et al, 1989; Miller et al, 1993), complejos que reducen la absorción de este elemento y, por lo tanto, incrementan su excreción por vía fecal.

La concentración de cinc en heces, que oscila entre 32 y 299,97 $\mu\text{g/g MS}$, presenta una evolución mensual bastante homogénea, apareciendo los valores más bajos en el período invernal. El estudio del comportamiento de las ganaderías nos permitió comprobar que los niveles más elevados se daban en la ganadería D.

Miller et al (1968a) comprobando el efecto de la concentración de cinc en la dieta sobre el contenido del mismo en las heces, encontraron que cuando administraban a terneros frisonos una ración que contenía 2 $\mu\text{g/g MS}$ de cinc la cantidad que aparecía en las heces era de 12 $\mu\text{g/g MS}$, mientras que en los animales control, que recibían una dieta con 38 $\mu\text{g/g MS}$, la cantidad de cinc fecal era de 166 $\mu\text{g/g MS}$. White et al (1985) en animales de esta misma especie y edad encontraron un contenido de cinc en heces de $213 \pm 11,3 \mu\text{g/g MS}$ cuando administraban una dieta con 36 $\mu\text{g/g MS}$ de cinc. De acuerdo con estos datos, una mayor cantidad de cinc en la dieta se asocia con una mayor excreción fecal de dicho oligoelemento; esto permitiría explicar el contenido más elevado que nosotros encontramos en las heces de la explotación D ya que se trata de la explotación que recibe el pienso más rico en cinc de todas las ganaderías.

En ganado pardo, Lavín (1986) encontró unos valores de cinc en heces que oscilaron entre 14,2 y 60,1 $\mu\text{g/g MS}$, cifras mucho más bajas que las encontradas por nosotros. Aunque se trata de animales de la misma raza, la diferencia se puede explicar en base a la menor cantidad de elemento que contenía el alimento de sus animales cuando se compara con la que reciben los nuestros.

Los valores medios de cobre en el pelo de estos animales han sido muy estables durante todo el período de estudio oscilando entre 7,53 y 11,93 $\mu\text{g/g MS}$, aun cuando no se ha observado una tendencia definida en cuanto a la evolución mensual; cuando se tienen en cuenta las cuatro granjas se puede observar el pico más elevado en el mes de septiembre, tras unos meses de comenzar a salir al pasto. Estos resultados se encuentran dentro de los márgenes señalados como normales por Stöber (1983) y Blood et al (1992), que establecen el límite inferior en 6,6 $\mu\text{g/g MS}$, Lamand (1970) que lo sitúa en 7 $\mu\text{g/g MS}$ y Wiesner (1968) que considera como valor normal de cobre en pelo hasta 15 $\mu\text{g/g MS}$. Respecto a los valores normales en razas concretas, nuestras cifras coinciden con las señaladas por Bellanger y Roth (1968) como nivel medio en vacas de raza Normanda ($9,5 \pm 0,3 \mu\text{g/g MS}$) y las referidas por Fidalgo Alvarez et al (1988) en vacas sanas de raza Frisona de distintas edades (8,83 $\mu\text{g/g MS}$). Valores algo más bajos (7,58 $\mu\text{g/g MS}$) son los encontrados por Lavín González et al (1986a) en

hembras de raza Pardo Alpina, pero no debemos olvidar que se trata de animales situados en una zona sospechosa de carencia de este oligoelemento.

En cuanto al efecto que la estación tiene sobre el contenido de cobre en el pelo se han llevado a cabo diversos estudios. Hidiroglou y Spurr (1975) encontraron, en vacas de raza Shorthorn, que la concentración de cobre en 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 el ensilado de cebada que consumían en invierno era mucho más pobre en cobre (4,5-6,5 $\mu\text{g/g MS}$) que el pasto al comienzo de la primavera (10 $\mu\text{g/g MS}$).

Un argumento similar puede ser utilizado en nuestro caso, pues el pasto también contenía mayor concentración de cobre que el heno que se les aportaba en el establo durante el período de estabulación, lo que explicaría el mayor contenido en el pelo durante el mes de septiembre.

O'Mary et al (1969) señalaron la existencia de una variación estacional en el contenido de cobre en el pelo en vacas de raza Hereford, indicando que los valores más elevados aparecían en agosto, frente a marzo. Desafortunadamente, estos autores sólo estudiaban estos dos meses, y además en años diferentes, y no precisaban el contenido en cobre del pasto en cada uno de los períodos. Completando el estudio, los mismos autores el año siguiente valoraron el contenido de cobre del pelo de terneros Hereford y Frisones dependiendo de la cantidad de cobre recibida. Para ello alimentaron a los animales con tres dietas de contenidos diferentes y concluyeron que el aumento en la dieta se acompaña de un significativo incremento del cobre en el pelo (O'Mary et al, 1970).

La existencia de variaciones estacionales también ha sido comprobada por Wiercinski y Ciolek (1988) en vacas frisonas con una edad comprendida entre 6 y 8 años. Estos autores, sin embargo, relatan una disminución de los valores en los meses de junio y agosto, con respecto a los meses de estabulación. La explicación de este hecho parece radicar en el contenido dietético de cobre, mucho más pobre en el pasto (6-7 $\mu\text{g/g MS}$) que en el alimento en establo (heno, ensilado de maíz y alimento concentrado, con valores de cobre entre 9,06 y 31,88 $\mu\text{g/g MS}$).

Estos datos parecen aclarar que las diferencias estacionales derivan más de la estrecha relación entre el contenido de cobre en la dieta y en el pelo, que de la propia influencia de la época del año.

Esta misma razón podría ser esgrimida para justificar la no existencia de variación estacional señalada por Hall et al (1971) quienes encontraron una concentración de

cobre en pelo similar a lo largo de todo el año (valores entre 5,42 y 7,55 $\mu\text{g/g MS}$) en vacas de raza Hereford de 7 a 8 años de edad. Aunque estos autores no precisan el contenido de cobre en la dieta, es de suponer que, en este caso, las concentraciones eran similares tanto en la alimentación que recibían durante el invierno (hierba y ensilado) como durante el verano (pasto).

En cuanto a la concentración de cinc en el pelo (que oscila entre 102,23 y 497,60 $\mu\text{g/g MS}$) también hemos hallado importantes diferencias en las concentraciones medias entre las cuatro ganaderías, no apreciándose una tendencia definida en cuanto a su evolución mensual, aunque, si tenemos en cuenta la media de todas las explotaciones, se observa un pico en el mes de enero, cuando todos los animales están ya estabulados.

Nuestro margen superior se podría comparar con los resultados obtenidos por Nougues y Lamand (1972) los cuales han encontrado cantidades de cinc en pelo de vacas de $391 \pm 151 \mu\text{g/g MS}$, $408 \pm 210 \mu\text{g/g MS}$ y $369 \pm 65 \mu\text{g/g MS}$, en las razas Charolesa, Aubrae y Saler, respectivamente. Estas concentraciones son consideradas por los autores como relativamente altas para lo que debe ser normal, argumentando que son consecuencia de la presencia de cornadizas galvanizadas, en las cuales las vacas frotan la cabeza para comer. En nuestro caso, el tipo de sujeción de los animales podría también, como en el caso anterior, tener alguna relevancia, toda vez que es precisamente en las dos ganaderías en las que las plazas de amarre son galvanizadas (ganaderías A y D) en las que se observaron los niveles de cinc en el pelo más elevados.

Las ganaderías B y C muestran unos niveles medios similares en general a los encontrados por Wiercinski y Ciolek (1990), quienes, en un estudio llevado a cabo durante un año en vacas de raza Frisona, encontraron unos niveles de cinc en pelo que oscilaban entre 186,67 y 245,33 $\mu\text{g/g MS}$; aunque según estos autores el contenido de cinc en el pelo no refleja el contenido del elemento en el alimento conviene precisar que los animales recibían durante el período de estabulación heno, ensilado de maíz y alimento concentrado y durante la época de pastoreo se mantenían únicamente con el pasto. Concentraciones de este mismo orden han sido referidas por Fidalgo Alvarez et al (1988) en vacas sanas de raza Frisona y de diferentes edades (valor medio de 212,91 $\mu\text{g/g MS}$).

Aunque Anke (1967) ha propuesto como límite de carencia en ganado bovino la cifra de 115 $\mu\text{g/g MS}$, son varios los autores que declaran valores situados en los alrededores de ese valor o por debajo del mismo en animales considerados sanos. La interpretación de estos datos debe ser pues cuidadosa.

Hall et al (1971) encontraron una concentración de cinc en el pelo más alta en el mes de enero (117 $\mu\text{g/g MS}$) respecto a la obtenida en el mes de julio (104 $\mu\text{g/g MS}$). La presencia de niveles inferiores a los valores medios encontrados por nosotros,

posiblemente sea debida a que la zona de obtención de las muestras no coincide con la nuestra, ya que estos investigadores obtuvieron el pelo de las extremidades posteriores y se sabe que el pelo localizado a este nivel contiene menor cantidad de cinc que el de otras zonas como el cuello (Miller et al, 1965b). Recordemos que nosotros obtuvimos el pelo de la zona intercornual. Sí coincidimos con estos investigadores en cuanto al mes en el que se encuentran los valores más altos (enero), ya que cuando consideramos la media de todas las explotaciones el valor más elevado lo observamos también en este mes.

Otros autores que refieren cifras de alrededor de 100 $\mu\text{g/g}$ MS son Hidiroglou y Spurr (1975), los cuales estudiaron la variación anual de cinc en pelo de novillos de raza Shorthorn. Los cambios encontrados los relacionaron más con el contenido de cinc en la dieta que con las estaciones del año, ya que aun cuando se hallaron los valores más bajos en invierno, incrementándose los mismos tras la salida de los animales al pasto, las diferencias en cuanto al contenido en el alimento llegaron incluso a ser del doble entre el alimento del período invernal (entre 20 y 30 $\mu\text{g/g}$ MS) y el alimento consumido a pie (40-60 $\mu\text{g/g}$ MS). Por otra parte, además de que se trata de una raza de aptitud cárnica y que los animales son más jóvenes que los muestreados por nosotros, tampoco la zona de obtención de las muestras coincide con la nuestra, pues éstos las recogían de la zona escapular.

Igualmente se obtuvieron valores más bajos que los nuestros (66-174 $\mu\text{g/g}$ MS) en otro estudio realizado en novillos sanos de raza Aberdeen Angus durante el mes de abril. En este caso, además de tratarse también de animales más jóvenes, las muestras eran tomadas en un área corporal diferente, la región lumbar (Carcagno et al, 1993).

Sólo hemos podido encontrar un estudio en el que no aparecieron diferencias estacionales de la concentración de cinc en pelo, se trata de un trabajo de O'Mary et al (1969), quienes estudiaron el contenido en este oligoelemento del pelo de las extremidades posteriores en vacas de raza Hereford en dos períodos concretos, agosto de un año y marzo del siguiente.

El contenido de cobre en el pasto que consumen las vacas de las ganaderías A, C y D se ha mantenido bastante estable durante el período de pastoreo, con los valores más elevados situados en los alrededores de 13 $\mu\text{g/g}$ MS y los niveles mínimos en el entorno de los 8 $\mu\text{g/g}$. Hemos separado a la ganadería B pues aunque la homogeneidad de sus valores es mayor (valores entre 8,7 y 5,5 $\mu\text{g/g}$ MS), en este caso no existe la garantía de que este alimento de por sí sea capaz de satisfacer las necesidades del animal en este oligoelemento.

En este sentido, conviene recordar que si bien algunos autores señalan que para que se manifieste la deficiencia es necesario que el pasto tenga niveles de cobre inferiores a 5

$\mu\text{g/g}$ MS (Gay et al, 1988), otros establecen el límite de carencia en $7 \mu\text{g/g}$ MS (Lamand, 1990). Por otra parte, la cantidad recomendable es cifrada, por este mismo autor en $10 \mu\text{g/g}$ MS, cantidad que no es alcanzada por el pasto al que tiene acceso esta ganadería en ningún momento del año. De acuerdo con estos datos, la ganadería B estaría en riesgo de padecer la carencia en una tercera parte del período anual de estancia en el pasto y sólo el hecho de que los animales reciben un suplemento de pienso, al ser recogidos diariamente al final de la jornada hasta el día siguiente, impediría la aparición del trastorno.

En un estudio llevado a cabo en un área geográfica cercana a la nuestra, como es Galicia, la pobreza de los pastos es también notoria tanto en la vegetación espontánea de monte ($4,4 \mu\text{g/g}$ MS de valor medio anual) como en el pasto artificial ($5,2 \mu\text{g/g}$ MS) (Sineiro et al, 1984), aunque no conocemos descripciones de casos de carencia clínica en los animales de esas zonas, quizá por el hecho de que los animales sean suplementados en el establo con pienso u otros complementos.

La no existencia de suplementación en el establo explicaría los hallazgos de Bingley y Anderson (1972) que observaron hipocuprosis, aunque clínicamente silente, en animales cuya concentración de cobre en el pasto era inferior a $7 \mu\text{g/g}$ MS.

En este mismo trabajo, estos autores estudiaron además la evolución a lo largo del año de la concentración de cobre del pasto en dos áreas cuyo pasto era pobre en cobre. En la primera de ellas los valores más elevados (que apenas alcanzaban los $5 \mu\text{g/g}$ MS) aparecieron en octubre y noviembre mientras que los más bajos (alrededor de $2,5 \mu\text{g/g}$ MS) se daban en enero y febrero. En la segunda zona estudiada los valores inferiores (que superaron los $3 \mu\text{g/g}$ MS) aparecieron también en el período invernal pero no se observó el pico detectado en el otro área (en nueve de los doce meses se dieron valores superiores a $4,5 \mu\text{g/g}$ MS).

Nosotros no hemos podido comprobar un comportamiento definido en cuanto al contenido de cobre en el pasto en función de la época del año aunque en general (pero con excepciones) podemos señalar que los valores más bajos se dieron en noviembre y diciembre.

Cerca de nosotros, pero haciendo referencia a un tipo de pastizal diferente del nuestro (se trata de pastizal de dehesa) García Ciudad et al (1983) han resaltado el diferente comportamiento del pasto dependiendo del año (con diferencias de hasta $2 \mu\text{g/g}$ MS, probablemente como consecuencia de los cambios de la flora específica bajo la influencia climatológica) y de la zona (incluso en casos de relativa cercanía como sucede en el estudiado por ellos en que la misma finca, de 340 hect. es subdividida en 8 subzonas).

Farmer et al (1972) han señalado que los valores más elevados de cobre en el pasto aparecen en el mes de septiembre, pero debemos precisar que no se trata de un estudio evolutivo sino de una comparación entre dos épocas concretas, junio y septiembre, por lo que la comparación no es sino parcial. En todo caso, sus datos no coinciden con los de García Ciudad et al (1983) que sitúan los valores más altos, dependiendo de la zona y año estudiados, entre los meses de mayo y julio.

Los valores de cobre en el heno oscilaron entre 4,06 y 7,72 $\mu\text{g/g MS}$, observándose las concentraciones más bajas en las ganaderías D (en la que no llegaron a superarse los 6 $\mu\text{g/g MS}$) y C (en la que se superó esta cifra sólo en una ocasión). En todo caso sólo en tres ocasiones, dos meses en la ganadería A y un mes en la ganadería B, se superaron los niveles de 7 $\mu\text{g/g MS}$ que constituyen el valor estimado como límite de carencia por debajo del cual se podría considerar un alimento deficiente (Lamand, 1990).

La presencia de valores bajos de cobre en el heno que sirve como alimento para el ganado vacuno ha sido referida por el citado Lamand y su equipo en diversas ocasiones, hasta el extremo de señalar que el 44% de los henos franceses se sitúan por debajo de 5 $\mu\text{g/g MS}$ (Lamand, 1991) y que el 94% de ellos contienen menos de 7 $\mu\text{g/g MS}$ (Bellanger y Lamand, 1973).

En una zona muy cercana, Lavín González (1986) ha referido también cifras muy bajas (entre 3,5 y 7,3 $\mu\text{g/g MS}$), con un límite inferior por debajo del encontrado por nosotros, que no estudiamos ninguna muestra con menos de 4 $\mu\text{g/g MS}$. Cifras algo superiores encuentra este mismo autor cuando estudia el heno de alfalfa disponible por los animales durante los meses de marzo y abril (entre 6,5 y 9,6 $\mu\text{g/g MS}$). En todo caso, conviene recordar, que los valores plasmáticos medios de cobre encontrados por él se sitúan también por debajo de los nuestros.

El contenido de cobre en el pienso se ha mantenido bastante estable a lo largo del año con valores superiores a 10 $\mu\text{g/g MS}$ en la mayoría de los casos, oscilando entre 8,20 y 21,96 $\mu\text{g/g MS}$; niveles similares a los referidos por Wiercinski y Ciolek (1988) que varían entre 9,06 y 31,88 $\mu\text{g/g MS}$ y los de Wittwer et al (1988) que oscilan entre 8,6 y 27,00 $\mu\text{g/g MS}$. Un margen de variación más estrecho es el encontrado por Lavín González et al (1986b) que refiere valores medios de 12,84 \pm 0,44 $\mu\text{g/g MS}$. Considerado globalmente, el pienso suele ser un alimento capaz de cubrir sobradamente las necesidades de cobre del ganado vacuno, de manera que en zonas en las que el contenido de este oligoelemento en el pasto no es suficiente para satisfacer la demanda del organismo debe ser el pienso que se administra a los animales el responsable de la no aparición de deficiencias de carácter clínico, tal como concluía el último autor.

El nivel de cobre en la alfalfa granulada también ha permanecido estable durante todo el período de estudio, variando entre 8,43 y 14,16 $\mu\text{g/g MS}$. Sólo hemos encontrado dos referencias de la utilización de este tipo de alimento en ganado vacuno y en ambos casos las concentraciones halladas son similares a las nuestras; así, Lamand (1975) refiere unas cifras medias de 8,57 $\mu\text{g/g MS}$ y Haque et al (1993) citan unos valores comprendidos entre 10,1 y 14,1 $\mu\text{g/g MS}$.

En el agua de bebida no hemos encontrado cantidades apreciables de cobre en tres de las cuatro ganaderías estudiadas (B, C, D) y en la otra explotación (A) el nivel más alto fue de 0,15 $\mu\text{g/ml}$. Dado que este contenido ha sido muy bajo y estable a lo largo del año no se ha tenido en cuenta en el momento de valorar la influencia del nivel de cobre ingerido sobre su contenido en las muestras animales analizadas. Apenas podemos comparar nuestros resultados con los de otros estudios pues únicamente disponemos de una referencia bibliográfica en relación con este parámetro, se trata de un trabajo realizado sobre muestras obtenidas mensualmente a lo largo de un año por Wiercinski y Ciolek (1988), no hallando estos autores niveles superiores a 0,01 $\mu\text{g/ml}$.

Los valores de cinc en el pasto de las ganaderías A y B se mantuvieron en general por debajo de 50 $\mu\text{g/g MS}$, mientras que en el pasto consumido por las vacas de las granjas C y D, con algunas excepciones, se mantuvieron por encima de esta cifra. Estos valores se encuentran comprendidos en los márgenes hallados por Wittwer et al (1988) que los establecen entre 38 y 194 $\mu\text{g/g MS}$ y los de Wiercinski y ciolek (1990), con valores que oscilan entre 48,67 y 85,33 $\mu\text{g/g MS}$; aunque son algo superiores a los de Lamand (1990) que encuentra como límite más alto de cinc en pastos 50 $\mu\text{g/g MS}$ y que el valor medio reportado por McDowell et al (1991) en un estudio efectuado durante los meses de abril y mayo (30 $\mu\text{g/g MS}$). Todos estos autores refieren valores de áreas en las que no existe deficiencia clínica valorable aunque en los dos últimos casos se trata de valores procedentes de zonas donde los animales reciben suplementos, generalmente del tipo de concentrado, lo que podría enmascarar la presencia de un cierto grado de deficiencia, tal como nos hacen pensar las cifras que son menores del umbral estimado de carencia y que se halla situado en los 45 $\mu\text{g/g MS}$ (Lamand, 1990).

El cinc contenido en el heno se mantuvo en la mayoría de nuestros casos entre 25 y 40 $\mu\text{g/g MS}$, por lo tanto en valores inferiores al límite de carencia para los rumiantes comentado anteriormente.

En un estudio realizado en Francia se ha comprobado que aproximadamente el 99% de los henos de prados naturales tenían un contenido de cinc inferior al límite de carencia (Bellanger y Lamand, 1973), con un porcentaje del 28,7% que presentaba un nivel inferior a 25 $\mu\text{g/g MS}$ y sólo un 1,4% de los henos con niveles superiores a los 50 $\mu\text{g/g MS}$ (Lamand, 1991). Estos datos avalan el hecho de que se estime que un 28% de los

henos son suficientemente pobres como para desencadenar una deficiencia clínicamente apreciable (Lamand, 1991), lo que justificaría que la carencia de cinc sea una de las más generalizadas en el estado francés (Lamand y Périgaud, 1973).

Una situación similar a la francesa ha sido descrita en otro área geográfica de la provincia de León por Lavín González (1986), que encontró en 46 muestras de heno recogidas en otros tantos establos (durante los meses de marzo y abril) cifras entre 8,2 y 22,5 $\mu\text{g/g MS}$; de acuerdo con estos datos, si los animales fueran alimentados exclusivamente con este alimento, la práctica totalidad de los mismos desarrollarían signos clínicos de la deficiencia.

En nuestro caso, de todas las muestras de heno analizadas únicamente en una ocasión hemos hallado una concentración menor de 25 $\mu\text{g/g MS}$, pero no nos hemos encontrado ante caso alguno de deficiencia, ni ante ningún tipo de sospecha en este sentido, tal como era de esperar de una situación en la cual el heno no es alimento exclusivo en ninguna época del año.

Los niveles de cinc en pienso fueron en todo momento superiores a 50 $\mu\text{g/g MS}$ (51,52-189,72 $\mu\text{g/g MS}$), siendo similares a los encontrados por Wittwer et al (1988) que varían entre 40-176 $\mu\text{g/g MS}$. También Wiercinski y Ciolek (1990) y McDowell et al (1991) observan niveles de cinc en pienso, con márgenes comprendidos entre 140-242 $\mu\text{g/g MS}$ y 93,5-112,7 $\mu\text{g/g MS}$ respectivamente, comparables a los hallados por nosotros. Más raramente se han citado concentraciones menores (valores medios de 18,02 y 41,62 $\mu\text{g/g MS}$ según se trate de pienso simple o compuesto) (Lavín González et al, 1986b), pero asociados a casos en los que existía sospecha de deficiencia y, en los que, según el autor, sólo la suplementación con piedras de sal o correctores, es capaz de compensar la situación originada por el déficit de cinc de los alimentos.

En la alfalfa granulada observamos que la mayoría de los valores se encuentran por debajo de 50 $\mu\text{g/g MS}$, oscilando entre 27,27 y 59,01 $\mu\text{g/g MS}$. Dentro de estos márgenes se encuentran también los niveles medios citados por Lamand (1975) (34,49 $\mu\text{g/g MS}$), en muestras destinadas a la alimentación del ganado vacuno, e Ivan et al (1990a), que lo sitúan en $34 \pm 4,6 \mu\text{g/g MS}$, en alfalfa recogida de granjas con historia de ataxia enzoótica en cabras.

En cuanto al cinc contenido en el agua de bebida nos ocurre algo parecido a lo que sucede en el caso del cobre y la única referencia bibliográfica encontrada nos muestra unos valores que oscilan entre 6,73 y 10,40 $\mu\text{g/ml}$ en muestras de agua recogidas mensualmente durante un año (Wiercinski y Ciolek, 1990). Nuestros niveles (0,01-7,52 $\mu\text{g/ml}$) fueron inferiores a estas cifras, lo cual nos permite obviarlos a la hora de interpretar la relación entre la cantidad de cinc ingerida y el contenido en las muestras animales.

CONCLUSIONES

1ª) El heno que consume el ganado vacuno de las áreas estudiadas de la comarca agraria "Montaña de Luna" no aporta cantidad suficiente de cobre para cubrir las necesidades en este oligoelemento.

2ª) El pasto espontáneo de dichas áreas proporciona, en casi todas las ocasiones, suficiente cantidad de cobre para satisfacer esas necesidades.

3ª) La presencia de deficiencia clínica de cobre en los animales estabulados se encuentra limitada por el hecho de que los animales reciben un complemento de pienso, que sí es suficientemente rico para cubrir la demanda del organismo.

4ª) La cantidad de cinc presente en el heno que se proporciona a los animales de ambas áreas es insuficiente para cubrir las necesidades del ganado vacuno.

5ª) El pasto de la zona de Omaña contiene una cantidad de cinc que se encuentra ligeramente por debajo del nivel considerado como límite de deficiencia en el ganado vacuno. El pasto de la zona de Babia supera dicho límite.

6ª) La presencia de deficiencia clínica de cinc en los animales estabulados y en los animales en pastoreo de la zona de Omaña se encuentra limitada por el hecho de que los animales, en ambos casos, reciben un complemento de pienso, que sí es suficientemente rico para cubrir la demanda del organismo.

7ª) La cantidad de cobre y cinc presente en el plasma de los animales se mantiene dentro de valores normales a lo largo de todo el año, independientemente de que los animales estén estabulados o salgan al pasto, observándose una ligera tendencia evolutiva que muestra los valores más bajos en los últimos momentos del período de estabulación y los más elevados, entre uno y dos meses después de la salida al pasto.

8ª) Dada la multitud de elementos que influyen en la utilización y el aprovechamiento de estos dos oligoelementos, ante un problema concreto, es necesario evaluar de manera individualizada cada ganadería, independientemente de que el manejo y la alimentación sean similares.

RESUMEN

Con este estudio hemos pretendido conocer el contenido en cobre y cinc en el alimento del ganado vacuno de montaña, valorando si tiene cantidades suficientes de estos elementos para cubrir sus necesidades, establecer las variaciones estacionales del contenido de estos oligoelementos en la dieta de los animales y valorar la evolución del contenido de los dos oligoelementos en diversas muestras animales a lo largo del año, determinando la necesidad o no de suplementar con cobre o cinc.

Para la realización del trabajo se han utilizado 29 vacas de raza Pardo Alpina, con edades comprendidas entre 3 y 14 años, distribuidas en cuatro explotaciones y ubicadas en dos zonas de la provincia de León, [Omaña (explotaciones A y B) y Babia (explotaciones C y D)], ambas localizadas en la comarca agraria "Montaña de Luna".

Los animales han permanecido estabulados durante el período invernal (durante el cual se alimentaron con heno, pienso compuesto y, en algunos casos, alfalfa granulada) y con la llegada de la primavera salían al pasto (período en el que se alimentaban del propio pasto y además en la cuadra se les aportaba pienso).

Hemos recogido muestras mensualmente durante un año. De cada animal tomamos sangre, para la obtención de plasma, leche, heces y pelo y además en cada establo recogimos una muestra representativa del alimento que estaban consumiendo los animales en ese momento y del agua de bebida.

En todas las muestras mencionadas determinamos el contenido de cobre y de cinc; así como los siguientes parámetros en el plasma: glucosa, lípidos totales, proteínas plasmáticas totales, ceruloplasmina, bilirrubina total y directa, AST, ALT y fosfatasa alcalina.

El contenido de cobre en el pasto en tres de las explotaciones se ha mantenido en todo momento por encima de 7,5 $\mu\text{g/g}$ MS, cifra superior al límite de carencia; en la cuarta ganadería no se alcanzaron los 7 $\mu\text{g/g}$ MS en tres de los nueve meses durante los

cuales los animales estaban pastando y en ningún caso se superaron los 9 $\mu\text{g/g MS}$. El heno fue carente en cobre en la mayoría de los casos, alcanzándose únicamente en dos ocasiones niveles superiores a 7 $\mu\text{g/g MS}$. La cantidad de este elemento presente en el pienso se ha mantenido estable a lo largo de todo el año, con valores superiores a 8,20 $\mu\text{g/g MS}$, de forma similar a lo que ocurre con la alfalfa granulada, cuyo nivel no ha descendido de 8,43 $\mu\text{g/g MS}$.

El pasto que consumían las vacas de las explotaciones de Omaña (A y B), así como el heno de las cuatro ganaderías y la alfalfa granulada (de las ganaderías A y C) presentaron, prácticamente en todos los casos, valores de cinc inferiores a 50 $\mu\text{g/g MS}$; mientras que el pasto de las dos granjas de Babia (C y D) superó esta cifra. El pienso que recibían los animales contuvo una cantidad adecuada de este elemento manteniéndose siempre por encima de 51 $\mu\text{g/g MS}$.

Los valores más bajos de cobre en plasma se han encontrado en los momentos finales de la estabulación (con cifras medias que han oscilado entre 1,0 y 1,1 $\mu\text{g/ml}$) y los más elevados un mes después de la salida al pasto (llegando incluso a valores medios en el entorno de 1,5 $\mu\text{g/ml}$), ya que éste tiene mayor contenido en cobre que el heno que reciben durante el período de estabulación. Igualmente, los niveles de cinc en plasma fueron más bajos durante la época invernal (medias situadas en los alrededores de 1,5 $\mu\text{g/ml}$) y se elevaron tras la salida al pasto (valores medios ligeramente superiores a los 2 $\mu\text{g/ml}$).

A pesar de que el manejo de las cuatro granjas estudiadas es similar, ante un problema concreto resulta necesario evaluar de manera individualizada cada ganadería, pues, además de las diferencias atribuibles al comportamiento alimentario de cada uno de los animales, otros elementos como el tipo de prado en el que pasten, el lote del pienso compuesto, etc, influyen de manera decisiva en la situación general y estado de los animales de la explotación.

RÉSUMÉ

Dans cet travail nous avons étudié la quantité de zinc et cuivre présente chez l'aliment des vaches d'une zone de montagne, l'évolution de ces oligoéléments dans les fourrages selon l'époque de l'année et les variations observés dans certaines paramètres relatés avec le métabolisme de ces deux éléments.

Nous avons utilisé 29 vaches de la race "Pardo Alpina", âgées entre 3 et 14 ans, et logés en quatre exploitations, deux de la zone appelée "Omaña" et les deux autres de la zone de "Babia", toutes inclus dans une aire géographique nommée "Montaña de Luna".

Pendant l'hiver les animaux étaient logés dans l'exploitation (donc l'aliment été composé de foin, concentré et, dans certain cas de luzerne granulée). Au printemps les animaux sortaient au pâturage (l'alimentation était complété avec un concentré à l'élevage).

Pendant une année, des prélèvements mensuels du sang, pour l'obtention de plasma, du lait, des fèces, du poil aussi qu'un échantillon representative de l'aliment des vaches à ce moment et de l'eau ont été obtenus.

Nous avons évalué la concentration du zinc et du cuivre chez tous ces échantillons. Dans le plasma nous avons quantifié aussi la glucose, les lipides, les protéines totales, la céruloplasmine, les bilirrubines total et directe, et les enzymes AST, ALT et phosphatase alcaline.

La teneur de cuivre du pâturage de trois des élevages a été suffisant pour couvrir les besoins des vaches (plus de 7,5 µg/g MS). L'autre présentait moins de 7,0 µg/g MS pendant trois mois et jamais a atteignait les 9,0 µg/g MS. Les foins ont été significativement moins riches en cuivre (seulement deux des échantillons avaient des taux supérieurs au seuil de carence). Les concentrés apparaissent comme bien pourvus en cuivre (minimum de 8,2 µg/g MS) ainsi que la luzerne granulée.

Le paturage des élevages de "Omaña" et les foins de tous les élevages avaient des taux de zinc inférieurs au seuil de carence (autour de 50 µg/g MS). Les concentrés étaient, au contraire, assez riches pour couvrir les besoins du bétail.

La cupremie des animaux a montré une variation saisonnière, à la fin de l'hiver a été la plus faible teneur (1,0-1,1 µg/ml), montant vers le premier ou le second mois de la sortie au paturage jusqu'à 1,5 µg/ml. De même est arrivé pour le zinc plasmatique (1,5 µg/ml versus 2,0 µg/ml).

Malgré un management similaire, chaque élevage doit être étudié en particulier s'il y a de problèmes, donc la complexité des interactions sol/vegetation/alimentation rendent difficile l'établissement de critères uniformes d'interprétation du status des animaux de l'élevage.

SUMMARY

With this study we try to know the copper and zinc contain in the food of the mountain livestock (cattle), valuating if the meal has enough adequate amounts of these elements to cover the needs of the animals, to establish the seasonal variations and to value the evolution of these two oligoelements content in the meal and to value the evolution of this two oligoelements in differents animal samples during a year, in order to determine the necessity or not the supplementation the food with copper and zinc.

We have used 29 Pardo Alpina breed cows with ages between 3 and 14 years old, distributed in four farms located in two areas of the Province of León (Omaña and Babia) both located in "Montaña de Luna" region.

The animals were stabulated during the winter (hay, concentrates and sometimes granulated luzerne as food); in the spring they move to the grass (graze and concentrates in the stable as food).

We took samples by month during a year. From each animal we took blood (to obtain plasma), milk, faeces and hair and in each stable we took a food and water samples.

In all the samples we determined the copper and zinc content and the following parameters in plasma: glucose, total lipids, total plasmatic proteins, ceruloplasmine, total and conjugated bilirrubin, AST, ALT and alcaline phosphatase.

The copper content in the grass in three farms was always higher than 7,5 µg/g MS and in the other, was lower than this value in three months. Sometimes the hay was deficient in copper and only two times it were higher than 7 µg/g MS. The copper concentration in the hay was stable during all the year as occurs with the granulated luzerne which level never was lower than 8,43 µg/g MS.

The grass of the A and B farms, the hay of the four farms and the granulated luzerne of the A and C farms presented in most cases zinc values lower than 50 µg/g MS while

the grass of the C and D farms was higher. The concentrate in all the farms always was higher than 51 $\mu\text{g/g}$ MS.

The lower values of copper in plasma was at the end of the stabulation period and the higher were a month after the animals move to grazing because at this moment the copper concentration in the grass was higher than the concentration in the hay.

At the same, the plasma zinc levels were lower in winter and they rose after the move to the grass.

Although it is necessary to evaluate each farm when a determined problem appears because there are a lot of individual factors as the type of grass, the lot of concentrate etc. of each farm which influence in the status of animal exploitation.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams KF, Jonhson G Jr, Hornowski KE. The effect of copper on erythrocyte deformability. A posible mechanism of hemolysis in acute copper intoxication. *Biochem Biophys Act* 1979; 550: 279-287.
- Adams RS. Variability in mineral and trace element content of dairy cattle feeds. *J Dairy Sci* 1974; 58(10): 1538-1548.
- Adeniyi FA, Heaton FW. The effect of zinc deficiency on alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1.) and its isoenzymes. *Br J Nutr* 1980; 43: 561-568.
- Akinsoyinu AO, Tewe OO, Mba AU. Concentration of trace elements in milk of west african goats affected by state of lactation. *J Dairy Sci* 1979; 62(6): 921-924.
- 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(5): 814-821.
- Allen JG, Morcombe PW, Masters HG, Petterson DS, 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, Sansom BF. Methods of copper supplementation. *Vet Rec* 1985; 116(17): 479-480.
- Alonso de la Varga M, Ríos Granja MA, Sánchez García J, Riol Alvarez JA, Somboro G, Sánchez Sánchez JM. Niveles plasmáticos de cobre y cinc en bovinos de raza Avileña-Negra Ibérica explotados en dos áreas geográficas distintas. Primeros resultados. *Proc XVIII World Buiatrics Congress*. Bolonia, Italia, 1994; 1297-1300.
- Alonso de Vega F. Carencia crónica experimental de cinc en ovejas (Tesis). León: Universidad de León, 1984; 377 p.
- Alonso de Vega F, García Partida P, Gutiérrez Panizo C. Niveles de Zn, Cu y Fe, en hígado, páncreas, pulmón, corazón, riñón, piel, lana y pezuñas, en ovejas con una carencia crónica experimental de cinc. *An Vet (Murcia)* 1987; 2: 67-72.

- Amboulou D, Lamand M, Rayssignier Y. Chopping versus grinding and pelleting of hay: effect on availability of trace elements (Cu, Zn and Mn) and major elements (Ca, P and Mg). *Ann Rech Vét* 1977; 8(1): 1-6.
- Amer MA, St-Laurent GJ, Brisson GJ. Supplemental copper and selenium for calves: effects upon ceruloplasmin and liver copper concentration. *Can J Physiol Pharmacol* 1973; 51: 649-653.
- Ammerman CB. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: a review. *J Dairy Sci* 1970; 53(8): 1097-1107.
- Andresen E, Basse A, Brummerstedt E, Flagstad T. Lethal trait A 46 in cattle. Additional genetic investigations. *Nord Vet Med* 1974; 26: 275-278.
- Andrewartha KA, Caple IW. Effects of changes in nutritional copper on erythrocyte superoxide dismutase activity in sheep. *Res Vet Sci* 1980; 28: 101-104.
- Anke M. Mineral and trace element content of cattle hair as indicator of Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, and Co nutrition. V. The mineral supply of dairy cows on soils of various geographical origin measured by the mineral content of black cattle cover hair and of red clover. *Arch Tierernähr* 1967; 17: 1. Cit. en: Ammerman CB. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: a review. *J Dairy Sci* 1970; 53(8): 1097-1107.
- Anke M. Der mungen und spurenelementgehalt 5. Mitt. Die mineralstoffversorgung der milchkühe auf verwitterungsböden verschiedener geologischer herkunft gemessen am mineralstoffgehalt des schwarzen rinderdeckhaares und des ackerrotklee. *Arch Tierernähr* 1967; 17: 1-12.
- Annenkov BN. Mineral feeding of cattle. En: Georgievskii VI, Annenkov BN, Samokhin VI, eds. *Mineral nutrition of animals*. London: Mansells bookbinders LTD, 1982; 285-316.
- Ansari MS, Miller WJ, Lassiter JW, Neathery MW, Gentry RP. Effects of high but nontoxic dietary zinc on zinc metabolism on adaptations in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975; 150: 534-536.
- Apgar J, Fitzgerald JA. Effect on the ewe and lamb of low zinc intake throughout pregnancy. *J Anim Sci* 1985; 60(6): 1530-1538.
- Apgar J, Travis HF. Effect of a low zinc diet on the ewe during pregnancy and lactation. *J Anim Sci* 1979; 48: 1234-1238.
- Auer DE, Ng JC, Steele DP, Seawright AA. Monthly variation in the plasma copper of pregnant and non pregnant mares. *Aust Vet J* 1988; 65(2): 61-62.
- Auer DE, Thompson HL, Inglis S, Seawright AA. Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury. *Vet Rec* 1989; 124(10): 235-239.
- Auza N. Le cuivre chez les ruminants. Une revue. *Ann Rech Vét* 1983; 14(1): 21-37.
- Bain MS, Spence JB, Jones PC. An investigation of bovine serum copper levels in Lincolnshire and South Humberside. *Vet Rec* 1986; 119: 593-595.

- Bala S, Lunney JK, Failla ML. Effects of copper deficiency on T-cell mitogenic responsiveness and phenotypic profile of blood mononuclear cells from swine. *Am J Vet Res* 1992; 53(7): 1231-1235.
- 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.
- Banton MI, Nicholson SS, Jowett PLH, Brantley MB, Boudreaux CL. Copper toxicosis in cattle fed chicken litter. *JAVMA* 1987; 191(7): 827-828.
- 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 ^{65}Zn absorption, distribution and turnover in rats. *J Nutr* 1966; 90(1): 301-308.
- Beeson WM, Perry TW, Zurcher TD. Effect of supplemental zinc on growth and on hair and blood serum levels of beef cattle. *J Anim Sci* 1977; 45: 160-165.
- Begliomini A, Battistacci M, Calandra ML, Morcellini M, Moriconi F. Zincoemia totale e frazionata nel cane sano ed affetto da fratture. *Archivio Veterinario Italiano* 1980; 31(3/4): 81-85.
- Bellanger J. Dosage des oligo-éléments dans les fourrages. *Ann Nutr Alim* 1971; 25: B59-B96.
- Bellanger J, Lamand M. Méthode de dosage du cuivre et du zinc plasmatique. *Bull Tech CRZV* 1975; 20: 53-54.
- Bellanger J, Périgaud S, Lamand M. Carences en oligo-éléments 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 pileaire chez 250 bovins D'Abattoir. *Rech Vét* 1968; 1: 127-139.
- Benedito JL, Castillo C, Hernández J, Diez Prieto I, Gutierrez Panizo C, García Partida P. Niveles séricos de cobre y cinc en la Agrupación Racial Morenas del Noroeste en gestación y lactación. *Atti del Terzo Convegno della Federazione Mediterranea Sanità e Produzione Ruminanti, Teramo (Italia), 22-23 de ottobre* 1993; 52-55.
- Benedito Castellote JL, Prieto Montaña F, García Partida P, García Presa J, Fernández del Palacio J, Martín E. Aportaciones al estudio del metabolismo energético en el parto de bovidos de producción cárnica y mixta. *III Congreso Nacional de Buiatría. Lugo* 1986a; 225-251.
- Bingley JB, Anderson N. Clinically silent hypocuprosis and the effect of molybdenum loading on beef calves in Gippsland, Victoria. *Aust J Agric Res* 1972; 23: 885-904.
- Bingley JB, Dick AT. The pH optimum for ceruloplasmin oxidase activity in the plasma of several species of animal. *Clin Chim Acta* 1969; 25: 480-482.

- Bingley JB, Duffy JM. Distribution of copper in the tissues of the bovine neonates. *Res Vet Sci* 1972; 13: 8-14.
- Black JR, Ammerman CB, Henry PR, Littel RC. Influence of dietary manganese on tissue trace mineral accumulation and depletion in sheep. *Can J Anim Sci* 1985; 65: 653-658.
- Blackmon DM, Miller WJ, Morton JD. Zinc deficiency in ruminants. Occurrence, effects, diagnosis, treatments. *Vet Med* 1967; 62: 265-270.
- Blakley BR, Hamilton DL. Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and sheep. *Can J Comp Med* 1985; 49(4): 405-408.
- Blalock TL, Dunn MA, Cousins RJ. Metallothionein gene expression in rats: tissue specific regulation by dietary copper and zinc. *J Nutr* 1988; 118(2): 222-228.
- Blom E, Wolstrup C. Zinc as a possible causal factor in the sterilizing sperm tail defect, the "dag-defect", in Jersey bulls. *Nord Vet Med* 1976; 28: 515-518.
- Blood DC, Radostits OM, Henderson JA, Arundel JH, Gay CC. Enfermedades causadas por deficiencias nutricionales. En: *Medicina veterinaria. México: Interamericana, 1986; 1121-1143.*
- Blood DC, Radostits OM, Arundel JH, Gay CC. Enfermedades causadas por deficiencias nutricionales. En: *Medicina Veterinaria. 7ª. ed. Madrid: Interamericana, 1992; 1237-1321.*
- Boccaro H. Les besoins en cuivre des ruminants varient suivant les rations. *L'Elevage bovin, ovin-caprin* 1980; 94: 38-42.
- Bogin E, Otto F, Ibañez A. Procedimiento del seminario taller sobre patología clínica veterinaria. En: Bogin E, Otto F, Ibañez A, eds. *Proc XVI Congreso Mundial de Buiatría. Bahía, Brasil: IICA, 1990: 25-37.*
- 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* 1984a; 64(2): 365-378.
- Boila RJ, Devlin TJ, Drysdale RA, Lillie LE. Geographical variation in the copper and molybdenum contents of forages grown in northwestern Manitoba. *Can J Anim Sci* 1984c; 64(4): 899-918.
- Boila RJ, Devlin TJ, Drysdale RA, Lillie LE. The severity of hypocupraemia in selected herds of beef cattle in northwestern Manitoba. *Can J Anim Sci* 1984b; 64(4): 919-936.
- Boixo JC. El ganado bovino lechero. *El Campo* 1991; 120: 27-28.
- Boron B, Hupert J, Barch DH, Fox CC, Friedman H, Layden TH, Mobarhan S. Effect of zinc deficiency on hepatic enzymes regulating vitamin A status. *J Nutr* 1988; 118(8): 995-1001.

- Bosted H. Medidas para elevar el grado de fertilidad en hatos de vacas lecheras. *Noticias Médico-Veterinarias* 1982; 1: 3-17.
- Bostwick JL. Copper toxicosis in sheep. *JAVMA* 1982; 180: 386-387.
- Boyne R. Changes in leucocyte cytochrome oxidase activity associated with deficiency of copper in laboratory and farm animals. *Res Vet Sci* 1978; 24: 134-138.
- Boyne R, Arthur JR. Anaemia and changes in erythrocyte morphology associated with copper and selenium deficiencies and dietary restriction in rats. *Res Vet Sci* 1990; 49(2): 151-156.
- Boyne R, Arthur JR. Effects of molybdenum or iron induced copper deficiency on the viability and function of neutrophils from cattle. *Res Vet Sci* 1986; 41: 417-419.
- Bremner I. Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper. *J Nutr* 1987; 117: 19-29.
- Bremner I. The roles of metallothionein in the metabolism of copper and zinc. Rowett Research Institute, Annual report of studies in animal nutrition and allied sciences 1983; 39: 13-28.
- 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 molybdenum and sulphur. *Anim Prod* 1987; 45: 403-414.
- Bremner I, Marshall RB. Hepatic copper- and zinc-binding proteins in ruminants. 1.- Distribution of Cu and Zn among soluble proteins of livers of varying Cu and Zn content. *Br J Nutr* 1974a; 32(1): 283-291.
- Bremner I, Marshall RB. Hepatic copper- and zinc-binding proteins in ruminants. 2.- Relationship between Cu and Zn concentrations and the occurrence of a metallothionein-like fraction. *Br J Nutr* 1974b; 32(1): 293-301.
- Brewer NR. Comparative metabolism of copper. *JAVMA* 1987; 190(6): 654-658.
- Bridges CH, Ghagan P. Influence of variable content of dietary zinc on copper metabolism of weanling foals. *Am J Vet Res* 1990; 51(2): 275-280.
- Bridges CH, Womack JE, Harris ED, Scrutchfield WL. Considerations of copper metabolism in osteochondrosis of suckling foals. *JAVMA* 1984; 185(2): 173-178.
- Britton WM, Hill CH. The influence of cadmium and copper on zinc deficiency. *Fed Proc* 1967; 26: 523.
- Brochart M. Carence et surcharge alimentaire en cuivre chez le rat: Réponses plasmatiques, hépatique, osseuse, pileaire. *Ann Rech Vét* 1975; 6(2): 231-235.
- Brockman RP. Concentration of copper in livers of saskatchewan cattle at slaughter. *Can Vet J* 1977; 18(6): 168-170.

- Broek AHM van den, Stafford WL. Diagnostic value of zinc concentrations in serum, leucocytes and hair of dogs with zinc-responsive dermatosis. *Res Vet Sci* 1988; 44: 41-44.
- Broek AHM van den, Stafford WL, Keay G. Zinc and copper concentrations in the plasma and hair of normal cats. *Vet Rec* 1992; 131(22): 512-513.
- Broek AHM van den, Thoday KL. Skin disease in dogs associated with zinc deficiency: a report of five cases. *J Small Anim Practice* 1986; 27(5): 313-323.
- Brooks DL, Philip CT, Niemi SM. Ungulates as laboratory animals. En: Fox JG, Cohen BJ, Loew FM, eds. *Laboratory animal medicine*. Orlando: Academic Press, 1984; 274-295.
- Brummerstedt E, Andresen E, Basse A, Flagstad T. Lethal trait A 46 in cattle. Immunological investigations. *Nord Vet Med* 1974; 26; 279-293.
- Buckley RA, Dreosti IE. Radioisotopic studies concerning the efficacy of standard washing procedures for the cleansing of hair before zinc analysis. *Am J Clin Nutr* 1984; 40: 840-846.
- Calleja Suárez A. Contenido mineral y variaciones producidas por la fertilización fosfatada en plantas aisladas y henos de prados permanentes de la comarca del Porma (León). *An Fac Vet León* 1976; 22(2): 597-681.
- Calleja A. Mineralización de muestras vegetales para el análisis de minerales por espectrofotometría y colorimetría. *An Fac Vet León* 1978; 24: 175-177.
- Campbell AG, Coup MR, Bishop WH, Wright 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 zinc⁶⁵ by rats. *J Nutr* 1969; 97: 104-108.
- Campen DR van. Effects of zinc, cadmium, silver and mercury on the absorption and distribution of copper⁶⁴ in rats. *J Nutr* 1966; 88(1): 125-130.
- Campen DR van, Mitchel EA. Absorption of Cu⁶⁴, Zn⁶⁵, Mo⁹⁹, Fe⁵⁹ from ligated segments of the rat gastrointestinal tract. *J Nutr* 1965; 86: 120-124.
- Cappa V. La suplementación mineral de la ración: una práctica indispensable por múltiples aspectos teórico-prácticos. *Vet Praxis* 1986; 2: 6-10.
- Carcagno AR, Gullace F, Soler IJ, Fernández CA, Ricci M, Capaul EG. Carencia de Cu y Zn: un factor más condicionante de la queratoconjuntivitis. *Proc XV Congreso Mundial de Buiatría*. Palma de Mallorca: Gráficas Gama, 1988a: 1406-1409.
- Carcagno AR, Gullace F, Soler IJ, Fernández CA, Ricci M, Capaul EG. Oligoelementos y ganancia de peso en el bovino. *Proc XV Congreso Mundial de Buiatría*. Palma de Mallorca: Gráficas Gama, 1988b: 375-378.

- Carcagno AR, Gullace FA, Soler IJ, Fernández CA, Bernardi AM, Capaul EG. Zn en plasma y pelo. Valores y distribución en 150 novillos Aberdeen Angus. *Rev Med Vet* 1993; 74(1): 42-46.
- Caro CSJ. Contribution a l'etude experimentale de la zincemie chez le chien (Tesis). Toulouse: Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, 1989; 50 p.
- Castillo C. Influencia fisiológico-reproductiva en los niveles séricos de minerales y oligoelementos en las ovejas de raza Gallega (Tesina). Murcia: Universidad de Murcia, 1993; 223 p.
- Chacornac JP, Barnouin J, Raboisson T. Micro-dosage automatisé de la céruloplasmine plasmatique par mesure de l'activité oxydasique chez les bovins et les ovins. *Reprod Nutr Dévelop* 1986; 26(2A): 417-427.
- Chamberlain AG, Clarke SH. Copper deficiency of sheep in eastern Saudia Arabia. *J Agric Sci Camb* 1981; 97: 213-220.
- Chamel A. Quelques aspects de l'absorption des oligo-éléments par voie foliare. *CR Acad Agric Fr* 1990; 76(2): 31-41.
- Cheville NF. Extracellular substances. En: *Introduction to veterinary pathology*. Iowa: Iowa State University Press, 1988; 117-130.
- Church DC, Smith GE, Fontenot JP, Ralston AT. Los microminerales o minerales traza. En: *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes*. Vol.2. Zaragoza: Acribia, 1974: 88-178.
- Chvapil M. New aspects in the biological role of zinc: a stabilizer of macromolecules and biological membranes. *Life Sci* 1973; 13: 1041-1049.
- Clegg FG, Hunt AE, Hebert CN. Incidence of hypocupraemia in cattle in the east Midlands. *Vet Rec* 1983; 112: 34-35.
- Coles EH. Pruebas de funcionamiento hepático. En: Coles EH, ed. *Diagnóstico y patología en veterinaria*. 4ª ed. México: Interamericana, 1989; 132-154.
- Combs DK, Goodrich RD, Meiske JC. Mineral concentrations in hair as indicators of mineral estatus: a review. *J Anim Sci* 1982; 54(2): 391-398.
- Conde Moreira OMS. Study on zinc supplementation in a basal diet for ruminants. *World Review of Animal Production* 1991; 26(1): 77-80.
- Corrigall W, Dalgarno AC, Ewen LA, Williams RB. Modulation of plasma copper and zinc concentrations by disease states in ruminants. *Vet Rec* 1976; 99: 396-397.
- Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of Cu and Zn: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 1985; 65(2): 238-309.
- Corbett WS, Saylor WW, Long TA, Leach RM Jr. Intracellular distribution of hepatic copper in normal and copper-loaded sheep. *J Anim Sci* 1978; 47(5): 1174-1179.
- Cornelius CE. Liver function. En: Kaneko JJ, ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4ª ed. California: Academic press, 1989; 364-397.

- Cox DJ, Harris DL. Effect of excess dietary zinc on iron and copper in the rat. *J Nutr* 1960; 70: 514-520.
- Cross RF, Parker CF. Oral administration of zinc sulfate 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.
- Cymbaluk NF, Bristol FM, Christensen DA. Influence of age and breed of equid on plasma copper and zinc concentrations. *Am J Vet Res* 1986; 47(1): 192-195.
- Dahmer WJ, Grummer RH, Hoekstra WG. Magnesium-zinc interrelationship in the pig. *J Anim Sci* 1969; 29: 132.
- Darmono SB, Ginting N, Stoltz DR, Ronohardjo P. Potential mineral deficiency diseases of Indonesian ruminant livestock: zinc. *Penyakit Hewan* 1988; 20(35): 42-46.
- Davies DG, Baker A, Baker M. Blood copper status of beef herds in mid-Wales. *Vet Rec* 1974; 94(24): 561-563.
- Davies NT. Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *Br J Nutr* 1980; 43: 189-202.
- Deland MPB, Lewis D, Cunningham PR, Dewey DW. Use of orally administered oxidised copper wire particles for copper therapy in cattle. *Aust 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.
- DePasquale-Jardieu P, Fraker PJ. The role of corticosterone in the loss in immune function in the zinc-deficient A/J mouse. *J Nutr* 1979; 109(2): 1847-1855.
- Depelchin BO, Bloden S, Hooremans M, Noirfalise A, Ansay M. Clinical and experimental modifications of plasma iron and zinc concentrations in cattle. *Vet Rec* 1985; 116(19): 519-521.
- Diagayété M, Schenkel H. Composition minérale de ligneux consommés par les ruminants de la zone sahélienne. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* 1986; 39(3/4): 421-424.
- Dick AT. Molybdenum in animal nutrition. *Soil Sci* 1956; 81: 229-235. Cit en: Gooneratne SR, Symonds HW, Bailey JV, Christensen DA. Effects of dietary copper, molybdenum and sulfur on biliary copper and zinc excretion in Simmental and Angus cattle. *Can J Anim Sci* 1994; 74: 315-325.
- Dick AT, Dewey DW, Gawthorne JM. Thiomolybdates and the copper-molybdenum-sulphur interaction in ruminant nutrition. *J Agric Sci Camb* 1975; 85: 567-568.
- Dicostanzo A, Meiske JC, Plegge SD, Haggard DL, Chaloner KM. Influence of manganese, copper and zinc on reproductive performance of beef cows. *Nutrition Reports International* 1986; 34(2): 287-293. (Abstract).

- Diez Prieto I. Comunicación personal, 1995.
- Diez Prieto I, Pérez García CC, García Rodríguez MB, Sombrero G, Ríos Granja MA, García Partida P. Urinary excretion of trace elements in the chronic renal failure in dogs. Proc XX Congress of the World Small Animal Veterinary Association. Yokohama, Japan, 1995: 694.
- DiSilvestro RA. Influence of copper intake and inflammation on rat serum superoxide dismutase activity levels. *J Nutr* 1988; 118(4): 474-479.
- Dreosti IE, Tao S, Hurley LS. Plasma zinc and leukocyte changes in weanling and pregnant rats during zinc deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968; 128: 169-174.
- Dufty HJ, Bingley JB, Cove LY. The plasma zinc concentration of nonpregnant, and parturient Hereford cattle. *Aust Vet J* 1977; 53: 519-522.
- Duncan JR, Hurley LS. An interaction between zinc and vitamin A in pregnant and fetal rats. *J Nutr* 1978; 108: 1431-1438.
- Dupeux D, Michel MC. Les profils métaboliques révèlent des carences. *L'Elevage bovin, ovin-caprin* 1978; 78: 25-31.
- Echeandia A. Diagnóstico de carencias e intoxicación por cobre. *Ovis* 1993; 26: 63-74.
- Ehret WJ, Sandrock KCW, Boyazoglu PA. Causes of variation of copper, iron manganese, zinc and magnesium levels in bovine livers. 3. The effects of locality. *Jl S Afr Vet Ass* 1975; 46(3): 249-255.
- Ellis GL, McDowell LR, Conrad JH. Evaluation of mineral supplements for grazing cattle in Latin America. *Nutr Reports International* 1988; 38(6): 1137-1147.
- Ellis NJS, 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.
- Eltohamy MM, ElDegedy N. Biochemical and physiological changes in the rabbits due to coccidial infection. *Indian Journal of Animal Sciences* 1985; 55(6): 395-397. (Abstract).
- Embury DH, Lepper AWD. Serum biochemical changes in calves with Johne's disease. *Aust Vet J* 1984; 61(9): 284-286.
- Enrique de Salamanca MF. Comunidad Autónoma de Castilla y León. En: *Atlas de España*, tomo II. Madrid: El País Aguilar; 1993, 152-169.
- Evans GW. Copper homeostasis in mammalian 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.
- Evans GW, Johnson EC. Zinc absorption in rats fed a low-protein diet and a low-protein diet supplemented with tryptophan or picolinic acid. *J Nutr* 1980; 110: 1076-1080.

- Evans GW, Johnson EC, Johnson PE. Zinc absorption in the rat determined by radioisotope dilution. *J Nutr* 1979; 109(2): 1258-1264.
- Farmer PE, Adams TE, Humphries WR. Copper supplementation of drinking water for cattle grazing molybdenum rich pastures. *Vet Rec* 1982; 111(10): 193-195.
- 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 Méd Vét Pays Trop* 1984; 37(1): 42-60.
- Faye B, Grillet C, Tessema A. Teneur en oligo-éléments dans les fourrages et le plasma des ruminants domestiques en Ethiopie. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* 1986; 39(2): 227-237.
- Faye B, Grillet C, Tessema A, Kamil M. Copper deficiency in ruminants in the Rift Valley of East Africa. *Trop Anim Health Prod* 1991; 23(3): 172-180. (Abstract).
- Fell BF, Dinsdale D, Mills CF. Changes in enterocyte mitochondria associated with deficiency of copper in cattle. *Res Vet Sci* 1975; 18: 274-281.
- Fernández del Palacio MJ. Hematología clínica, perfil metabólico, minerales y oligoelementos séricos de las razas caprinas autóctonas españolas. *An Vet (Murcia)* 1987; 2: 121-133.
- Fidalgo Alvarez LE, Martín Martín E, García Partida P, González Machado MA, Prieto Montaña F. Niveles de cobre y de zinc en la retención placentaria bovina. *Proc XV Congreso Mundial de Buiatría*. Palma de Mallorca: Gráficas Gama, 1988: 1306-13009.
- Fields M, Ferretti RJ, Smith JC, Reiser S. Effect of copper deficiency on metabolism and mortality in rats fed sucrose or starch diets. *J Nutr* 1983; 113(7): 1335-1345.
- Flagstad T. Intestinal absorption of ⁶⁵zinc (Aedema disease) after treatment with oxychinolines. *Nord Vet Med* 1977; 29(2): 96-100.
- Flagstad T. Lethal trait A 46 in cattle. Intestinal zinc absorption. *Nord Vet Med* 1976; 28: 160-169.
- Flynn A. Minerals and trace elements in milk. *Advances in Food and Nutrition Research* 1992; 36: 209-252.
- Foley B, Johnson SA, Hackley B, Smith JC, Halsted J. Zinc content of human platelets. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968; 128: 265-269.
- Forbes RM, Parker HM, Erdman JW Jr. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. *J Nutr* 1984; 114(8): 1421-1425.
- Fosmire GJ, Fosmire MA, Sandstead HH. Zinc deficiency in the weanling rat: effects on liver composition and polysomal profiles. *J Nutr* 1976; 106(2): 1158-1176.

- Friot D, Calvet H. Biochemie et élevage au Sénégal. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* 1973; 26(4): 75a-98a.
- Froslic A, Norheim G. The concentrations of copper, zinc and molybdenum swine liver and the relationship to the distribution of soluble copper and zinc-binding proteins. *Acta Vet Scand* 1977; 18: 471-479.
- Froslic A, Norheim G, Waasjo E. Copper, Zinc and molybdenum in livers of Norwegian cattle at slaughter. *Acta Vet Scand* 1980; 21(1): 62-70.
- Gaby AR, Wright JV. Nutrients and osteoporosis. *J Nutr Med* 1990; 1: 63-72.
- Gadzhiev G, Garaev V. Copper status of sheep infested with *Fasciola gigantica*. *Doklady Vsesoyuznoi Akademii Sel'skokhozyaistvennykh Nauk* 1986; 12: 32-35. (Abstract).
- Gallagher J, Cottrill BR. Methods of copper supplementation to cattle. *Vet Rec* 1985; 117: 468.
- García Ciudad A, Montalvo Hernández I, García Criado B. Contenidos de cobre, molibdeno y sulfato en pastizales de dehesa. *AYMA* 1983; 24(3): 54-61.
- García Olmedo R, Carballido Estévez A, Arnaez Ortiz M. Composición química de la leche de cabra. *Revista Española de lechería* 1980; 117: 153-158.
- García Partida P. Comunicación personal. 1966. Cit en: Lavín González S. Contribución al estudio de la carencia subclínica de cobre y cinc en el ganado vacuno de montaña (Tesis). Murcia: Universidad de Murcia, 1986; 332.
- García Partida P. Comunicación personal. 1995.
- García Partida P, Gonzalo Cordero JM, Prieto Montaña F, Gutiérrez Panizo Rodríguez Cadenas J, Martínez Rodríguez JM, Díaz-Sierra C. Aportaciones al estudio de la hematología en vacas gestantes de la raza Pardo-Alpina. *An Vet León* 1976; 22(1): 197-205.
- García Partida P, Gutiérrez Panizo C, Alonso de Vega FD. Biopatología de la carencia de cinc experimental en oveja. *An Vet Murcia* 1985a; 1: 167-180.
- García Partida P, Gutiérrez Panizo C, Alonso de Vega FD. Carencia crónica experimental de zinc en ovejas: cuadro anatomoclínico. *An Fac Vet Murcia* 1985b; 1: 181-188.
- García Partida P, Prieto Montaña F, Benedito Castellote JL. Contribución a la profilaxis de la cetosis bovina. *Proc XV Congreso Mundial de Buiatría*. Palma de Mallorca: Gráficas Gama, 1988: 233-243.
- García Partida P, Prieto Montaña F, Gutiérrez Panizo C, Díez Prieto I. Relationship between the biopathological manifestations lesional description and the ultrastructure of the "white muscle" in lambs. *Proc XXII World Veterinary Congress*. Perth, Australia, 1983; 146.
- García-Partida P, Rejas J, Rejas F, Díez-Prieto I. Immune system inhibition by zinc deficiency in poultry. *AALAS/Bulletin* 1991a; 30(4): 44.

- García Partida P, Rejas López J, Sánchez Pedreira A, García Herradón P. Immune system inhibition of nutritional origin in poultry. Abstracts del XXIV Congreso Mundial de Veterinaria, Rio de Janeiro, Brasil, 1991b; 129.
- Garmo TH, Frosli A, Hoie R. Levels of copper, molybdenum, sulphur, zinc, selenium, iron and manganese in native pasture plants from a mountain area in southern Norway. *Act Agric Scand* 1986; 36(2): 147-161. (Abstract)
- Garvey JS, Chang CC. Detection of circulating metallothionein in rats injected with zinc or cadmium. *Science* 1981; 214: 805-806.
- Gay CC, Pritchett LC, Madson W. Copper deficiency in ruminants. *The Bovine Proceedings* 1988; 20: 134-138.
- Gerald L, Fischer PHD. Effects of disease on serum copper and zinc values in the Beagle. *Am J Vet Res* 1977; 38: 935-940.
- Gervin CA, Gervin AS, Waltraud BS, Corrigan JJ. Problems in the measurement of zinc using heparin as an anticoagulant. *Life Sciences* 1983; 33: 2643-2649.
- Ghergariu S, Rowlands GS, Pop A, Danielescu N, Moldovan A. Comparative study of metabolic profiles obtained in dairy herds in Romania. *Br Vet J* 1984; 140 (6): 600-608.
- Ghosal AK, Mathur GN. Zinc, copper and iron contents of blood serum of cattle sheep in semi-arid tract of Rajasthan. *Indian J Anim Sci* 1992; 65(5): 441-442.
- Givens DI, Hopkins JR. The availability of copper to grazing ruminants in parts of North Yorkshire. *J Agric Sci Camb* 1978; 91: 13-16.
- Gleed PT, Allen WM, Mallinson CB, Rowlands GJ, Sanson BF, Vagg MJ, Caswell RD. Effects of selenium and copper supplementation on the growth of beef steers. *Vet Rec* 1983; 113: 388-392.
- Goff J, Stabel J. Decreased plasma retinol Ó-tocopherol and zinc concentration during the periparturient period. Effect of milk fever. *J Dairy Sci* 1990; 73: 3195-3199.
- Göksoy K, Gücüs AI, Morçöl T. Evaluation of dose response effects related to nutritional diseases (mineral deficiencies) in ruminants. *IAEA-SR* 1986; 115(11): 171-183.
- Göksoy K, Ozsar S. Some aspects of mineral imbalances in farm animals in Turkey. *Technical Journal* 1977; 4(3): 115-120.
- Göksoy K, Tükenmez I, Morçöl T, Gücüs AI. Wool shedding in sheep and its relation with some essential element deficiencies. *Turkish Journal of Nuclear Sciences* 1983; 10: 105-111.
- Golub MS, Gershwin ME, Hurley LS, Baly DL, Hendrickx AG. Studies of marginal zinc deprivation in rhesus monkeys. I. Influence on pregnant dams. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 265-280.
- González L. Intoxicación por cobre. *Ovis* 1993; 26: 51-61.

- González N, Geerken C, Pedroso R, Lavandeira LE. Composición mineral en tejidos de novillas (3/4 Brown Swiss-1/4 Zebu). *Revista Cubana de Reproducción Animal* 1984; 10(2): 35-48.
- Gooneratne SR, Buckley WT, Christensen DA. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Can J Anim Sci* 1989; 69(4): 819-845.
- Gooneratne SR, Christensen 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, Christensen DA. Effects of dietary copper, molybdenum and sulfur on biliary copper and zinc excretion in Simmental 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, Hill FJ, Death AF, Wyeth TK. A preliminary study of copper supplementation in alpacas (*Lama pacos*). *NZ Vet J* 1994; 42: 114-116.
- Graham TW, Thurmond MC, Clegg MS, Keen CL, Holmberg CA, Slanker MR, Goodger WJ. An epidemiologic study of mortality in veal calves subsequent to an episode of zinc toxicosis on a California veal calf operation using zinc sulfate-supplemented milk replacer. *JAVMA* 1987; 190(10): 1296-1301.
- Groothuis DG, Van Miert ASJ, Schotman AJH. Zinc concentration in plasma during experimental *Salmonella dublin* infection and endotoxin induced fever in calves. *Vet Rec* 1981; 109(9): 176-177.
- Guaguere E, Kenesi C. Utilisation du zinc méthionine dans le traitement des dermatoses améliorées par le zinc. *Pratique Médicale et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie* 1989; 24(1): 63-71.
- Haaranen S. The effect of zinc on itching tail 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.
- Hager LJ, Palmier RD. Transcriptional regulation of mouse liver metallothionein-I gene by glucocorticoids. *Nature* 1981; 291: 340-342.
- 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.
- Hampton DL, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP, Neathery MW, Lassiter JW, Kincaid RL, Stake PE. Zinc absorption from the small intestine in young calves. *J Dairy Sci* 1975; 59(4): 712-715.
- Hampton DL, Miller WJ, Neathery MW, Kincaid RL, Blackmon DM, Gentry RP. Absorption of zinc from small and large intestine of calves. *J Dairy Sci* 1976; 59(11): 1963-1966.

- Haque I, Aduayi 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.
- Hays VW, Swenson MJ. Minerales. En: Dukes HH, Swenson MJ, eds. *Fisiología de los animales domésticos*. 4ª ed. Madrid: Aguilar, 1977; 847-882.
- Hayter S, Wiener G, Field AC. Variation in the concentration of copper in the blood plasma of Finnish Landrace and Merino sheep and their crosses with reference to reproductive performance and age. *Anim Prod* 1973; 16: 261-269.
- Hedin L, Duval E. Note sur la composition alimentaire et minérale du maïs fourrage. *Fourrages* 1970; 43: 75-80.
- Hedin L, Thelu B. Composition minérale des diverses espèces botaniques d'une prairie permanent. *Fourrages* 1969; 37: 79-85.
- Heller R. Rôle des oligo-éléments chez le végétal. *CR Acad Agric Fr* 1990; 76(2): 7-16.
- Hellesnes I, Underdal B, Lunde G, Havre GN. Selenium and zinc concentrations in kidney, liver and muscle of cattle from different parts of Norway. *Acta Vet Scand* 1975; 16: 481-491.
- Henry RJ, Jacobs SL, Segalove M. Determination of ceruloplasmin oxidase in serum. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960; 104: 620-624.
- Hernández Bermúdez J. Estudio de distintos parámetros hematológicos y séricos en razas bovinas (*Bos Taurus Linnaeus 1758*) rústicas de Galicia (Tesis). Lugo: Universidad de Santiago de Compostela, 1992; 362 p.
- Hernández J, Santamarina G, Castillo C, Fidalgo LE, Gutiérrez C, Benedito JL. Razas bovinas rústicas del noroeste español: niveles de cobre y zinc. Congreso Internacional sobre Explotación Extensiva de rumiantes (Fe.Me.S.P. Rum.). Salamanca 1992; 399-405.
- Hickory W, Nauda R, Catalanotto FA. Fetal skeletal malformations associated with moderate zinc deficiency during pregnancy. *J Nutr* 1979; 109: 883-891.
- Hidiroglou M. Effects of selenium and copper administration on blood selenium and copper profile of cattle. *Ann Rech Vet* 1989; 20(2): 129-134.
- 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, Ivan M, McDowell RL. Copper metabolism and status in cattle. En: Bogin E, Otto F, Ibañez A, eds. *Proc XVI Congreso Mundial de Buiatría*. Bahía, Brasil: IICA, 1990: 1247-1251.

- Hidiroglou M, Jenkins KJ, Lessard JR, Carson RB. Copper and molybdenum status of growing beef cattle in a selenium deficient area of northern Ontario. *Can J Anim Sci* 1970; 50: 279-284.
- Hidiroglou M, Knipfel JE. Zinc in mammalian sperm: a review. *J Dairy Sci* 1984; 67(6): 1147-1156.
- Hidiroglou M, Spurr DT. Influence of cold exposure and diet change on the trace element composition of hair from shorthorn cattle. *Can J Anim Sci* 1975; 55: 31-38.
- Hiers JM, Miller WJ, Blackmon DM. Effect of dietary cadmium and ethylenediaminetetraacetate on dry matter digestibility and organ weights in zinc deficient and normal ruminants. *J Dairy Sci* 1968a; 51(2):205-209.
- Hiers JM, Miller WJ, Blackmon DM. Endogenous secretion and reabsorption of ^{65}Zn in ruminants as affected by zinc deficiency and feeding of ethylenediaminetetraacetate or cadmium. *J Dairy Sci* 1968b; 51(5): 730-736.
- Hill DA, Peo ER Jr, Lewis AJ, Crenshaw JD. Zinc-aminoacid complexes for swine. *J Anim Sci* 1986; 63(1): 121-130.
- Hill GM, Ku PK, Miller ER, Ullrey DE, Losty TA, O'Dell BL. A copper deficiency in neonatal pigs induced by a high zinc maternal diet. *J Nutr* 1983a; 113(4): 867-872.
- 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* 1983b; 57: 123-129.
- Ho SK, Hidiroglou M, Proulx JG. A silent hypocupremic condition in beef cows fed grass silage and the efficacy of sequestered copper to prevent its occurrence. *Ann Rech Vét* 1980; 11(3): 233-239.
- Ho SK, Hidiroglou M, Wauthy JM, Jenkins KJ, Proulx J. Effects of a chelated trace mineral supplement on the copper and iron status of wintering pregnant beef cows fed hay or grass silage. *Can J Anim Sci* 1977; 57(4): 727-734.
- Hoefer JW, Miller ER, Ullrey DE, Ritche HD, Luecke EW. Interrelationships between calcium, zinc, iron and copper in swine feeding. *J Anim Sci* 1960; 19: 249-259.
- Hogan KG, Money DF, Walker RS. The distribution of copper in the liver of pigs and sheep and its effects on value of chemical analyses by biopsy. *NZ J Agric Res* 1971; 14:132-141.
- Holmberg CG, Laurell CB. Investigations in serum copper. II. Isolation of the copper-containing protein and the description of some of its properties. *Acta Chem Scand* 1948; 2: 550-556.

- Hornshaw TH, Aulerich RJ, Ringer RK, Martin MB. Mineral concentrations in the hair of natural dark and pastel mink (*Mustela vison*). *Scientifur* 1985; 9(3): 216-219.
- Horvath DJ, Reid RL. Soil chemistry and mineral problems in farm livestock. A review. *Anim feed sci Technol* 1980; 5: 95-167. (cit en 144).
- Hse FS, Krook L, Pond WG, Duncan JR. Interactions of dietary calcium and toxic levels of lead and zinc in pigs. *J Nutr* 1975; 105: 112-118.
- Humphries WR. Control of hypocupraemia in cattle by addition of copper to water supplies. *Vet Rec* 1980; 106: 359-352.
- Humphries WR, Mills CF, Greig A, Roberts L, Inglis D, Halliday GJ. Use of amonium tetrathiomolybdate in the treatment of copper poisoning in sheep. *Vet Rec* 1986; 119(24): 596-598.
- Humphries WR, Morrice PC, Bremner I. A convenient method for the treatment of chronic copper poisoning in sheep using subcutaneous ammonium tetrathiomolibdate. *Vet Rec* 1988; 123: 51-53.
- Humphries WR, Morrice PC, Mitchell AN. Copper poisoning in Angora goats. *Vet Rec* 1987; 121(10): 231.
- Humphries WR, Phillippo M, Young BW, Bremner I. The influence of dietary molybdenun and iron on copper metabolism in calves. *Br J Nutr* 1983; 49(1): 77-86.
- Hungerford TG. Deficiency diseases. En: Hungerford TG, ed. *Diseases of livestock*. 8^a ed. Sydney: McGraw-Hill Book Company, 1989; 1033-1070.
- 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(1): 167-170.
- Irwin MR, Bergin WC, Sawa TR, McKinney LB, Kimura H. Poor growth performance associated with hypocupremia in hawaiian feedlot cattle. *JAVMA* 1979; 174(6): 590-593.
- Ivan M, Grieve CM. Effects of zinc, copper, and manganese supplementation of high-concentrate ration on gastrointestinal aborption of copper and manganese in Holstein calves. *J Dairy Sci* 1976; 59(10): 1764-1768.
- Ivan M, Ihnat M, Hidiroglou M. Effects of nitrilotriacetic acid on apparent absorption and duodenal flow of manganese, iron, zinc and copper in sheep. *Can J Anim Sci* 1979; 59: 273-271.
- Ivan M, Hidiroglou M, Al-Ismaily SI, Al-Sumry HS, Harper RB. Copper deficiency and posterior paralysis (Shalal) in small ruminants in the Sultanate of Oman. *Tropical Animal Health and Production* 1990a; 22(4): 217-225.

- Ivan M, Lamand M. The influence of intraruminal and intraduodenal infusion of picolinic acid on metabolism of zinc⁶⁵ in sheep. *Ann Rech Vét* 1981; 12(4): 337-344.
- Ivan M, Proulx JG, Morales R, Cadagnone HCV, Dayrell MS. Copper accumulation in the liver of sheep and cattle fed diets supplemented with copper sulfate or copper chloride. *Can J Anim Sci* 1990b; 70(2): 727-730.
- Ivan M, Veira DM. Effects of copper sulfate supplement on growth, tissue concentration, and ruminal solubilities of molybdenum and copper in sheep fed low and high molybdenum diets. *J Dairy Sci* 1985; 68(4): 891-896.
- Jackson MJ, Jones DA, Edwards RHT. Zinc absorption in the rat. *Br J Nutr* 1981; 46: 15-27.
- Jacob M, Chan JCM, Smith JC, Jr. Effect of prednisone on growth and zinc metabolism in rats. *Nutr Res* 1984; 4(5): 877-889.
- Jain NC. Cattle. Normal hematology with comments on response to disease. En: Jain NC, ed. *Veterinary hematology*. 4^a ed. Filadelfia: Lea & Febiger, 1986; 178-207.
- Jain PC, Atreja PP. In vitro and in vivo studies on gastrointestinal transport of some trace minerals in ruminants. *Indian J Dairy Sci* 1990; 43(4): 497-502. (Abstract).
- James BE, MacMahon RA. An effect of trichloroacetic acid on the determination of zinc by atomic absorption spectroscopy. *Clin Chim Acta* 1971; 32: 307-309.
- Jaw S, Jeffery EH. The effect of dietary zinc status on biliary metal excretion of rats. *J Nutr* 1988; 118(11): 1385-1390.
- 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. Tolerance of the calf for excess copper in milk replacer. *J Dairy Sci* 1989; 72(1): 150-156.
- Jenkins KJ, Hidioglou M. Tolerance of the preruminant calf for excess manganese or zinc in milk replacer. *J Dairy Sci* 1991; 74(3): 1047-1053.
- Jenkins KJ, Kramer JKG. Influence of excess dietary copper on lipid composition of calf tissues. *J Dairy Sci* 1989; 72(10): 2582-2591.
- Johnson PE, Hunt JR, Ralston NVC. The effect of past and current dietary Zn intake on Zn absorption and endogenous excretion in the rat. *J Nutr* 1988; 118(10): 1205-1209.
- Jones DG. Effects of dietary copper depletion on acute and delayed inflammatory responses in mice. *Res Vet Sci* 1984; 37: 205-210.
- Jones DG, Suttle NF. Some effects of copper deficiency on leucocyte function in sheep and cattle. *Res Vet Sci* 1981; 31: 151-156.

- 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* 1984a; 61(9): 294-295.
- Judson GJ, Caple IW, Langlands JP, Peter DW. Mineral nutrition of grazing ruminants in southern Australia. En: Wheeler JL, Pearson CJ, Robards GE, eds. *Temperate pastures: their production, use and management*. Melbourne, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, 1987; 377-385.
- Judson GJ, Trengove CL, Langman MW, Vandergraaff R. Copper supplementation of sheep. *Aust Vet J* 1984b; 61(2): 40-43.
- Jungermann K, Möhler H. *Bioquímica*. Madrid: Ediciones Pirámide, 1984; 413-415.
- Kalinowski J, Chavez ER. Effect of low dietary zinc during late gestation and early lactation on the sow and neonatal piglets. *Can J Anim Sci* 1984; 64(3): 749-758.
- Kalinowski J, Chavez ER. Low dietary zinc intake during pregnancy and lactation of gilts. 1. Effects on the dam. *Can J Anim Sci* 1986; 66(1): 201-216.
- Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. En: Kaneko JJ, ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4^a ed. California: Academic press, 1989; 142-165.
- Kappel LC, Ingraham RH, Morgan EB, Babcock DK, Stap MA. Plasma copper concentration and packed cell volume and their relationships to fertility and milk production in Holstein cows. *Am J Vet Res* 1984; 45(2): 346-350.
- Kappel LC, Morgan EB, Kilgore L, Ingraham RH, Babcock DK. Seasonal changes of mineral content of southern forages. *J Dairy Sci* 1985; 68(7): 1822-1827.
- Katitch RV, Katrinka M, Jovanovitch M, Yatchimovitch S. Recherches sur le rôle du sulfate de zinc (Zn So₄) et de la vitamine A dans la prophylaxie du piéтин du mouton. *Bull Acad Vét de France* 1986; 59(2): 139-148.
- Kawamura Y, Hamada T. Effects of excessive, normal, and subnormal dietary copper levels with or without vitamin E supplementation on growth and tissue copper storage of rats. *Bulletin of National Institute of Animal Industry Japan* 1985; 43: 43-50.
- Ke Y, Symonds HW. Enhancement of tetrathiomolybdate-induced biliary copper excretion in sheep by general anaesthesia and the effect on copper excretion in urine and bile. *Res vet Sci* 1989; 46(3): 344-348.
- Keen CL, Lönnerdal B, Fisher GL. Seasonal variations and the effects of age on serum copper and zinc values in the dog. *Am J Vet Res* 1981a; 42(2): 347-350.
- Keen CL, Lönnerdal B, Clegg M, Hurley LS. Developmental changes in composition of rat milk: trace elements, minerals, protein, carbohydrate and fat. *J Nutr* 1981b; 111: 226-230.
- Keen JJ, Graham TW: Trace elements. En: Kaneko JJ, ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4^a ed. California: Academic press, 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.
- Kelleher CA, Mason J. The effect of tetrathiomolybdate upon sheep caeruloplasmin amine oxidase activity in vitro: the influence of substrate on apparent sensitivity to inhibition. *Res Vet Sci* 1979; 26: 124-125.
- Kennedy DW, Bunting LD. Alterations in ruminal utilization of magnesium and zinc in lambs fed different ratios of concentrate:forage. *Int J Vit Nutr Res* 1991; 61(1): 67-71. (Abstract).
- Kfoury GA, Reinhold JG, Simonian SJ. Enzyme activities in tissues of zinc-deficient rats. *J Nutr* 1968; 95(1): 102-110.
- Kincaid RL. Biological availability of zinc from inorganic sources with excess dietary calcium. *J Dairy Sci* 1979; 62: 1081-1085.
- Kincaid RL, Blauwiel RM, Cronrath JD. Supplementation of copper as copper sulfate or copper proteinate for growing calves fed forages containing molybdenum. *J Dairy Sci* 1986a; 69(1): 160-163.
- Kincaid RL, Cronrath JD. Zinc concentration and distribution in mammary secretions of peripartum cows. *J Dairy Sci* 1992; 75(2): 481-484.
- Kincaid RL, Gay CC, Krieger RI. Relationship of serum and plasma copper and ceruloplasmin concentrations of cattle and the effects of whole blood sample storage. *Am J Vet Res* 1986b; 47(5): 1157-1159.
- Kincaid RL, Miller WJ, Fowler PR, Gentry RP, Hampton DL, Neathery MW. Effect of high dietary zinc upon zinc metabolism and intracellular distribution in cows and calves. *J Dairy Sci* 1976; 59(9): 1580-1584.
- King RL, Luick JR, Litman LL, Jennings WG, Dunkley WL. Distribution of natural and added copper and iron in milk. *J Dairy Sci* 1959; 42: 780-790.
- Kirchgessner M. Advances in trace elements research in nutrition. En: Somogyi JC, ed. *Malnutrition*. Karger: *Bibl Nutr Dieta*, 1988; 70-87.
- Kirchgessner M. Homeostasis and homeorhesis in trace element metabolism. En: Anke M, Meissner D, Mills CF, eds. *Trace elements in man and animals*. Aberdeen: Verlag Media Touristik, 1993; 4-21.
- Kirchgessner M, Paulicks BR, Roth HP. Zinc in animal nutrition: function, deficiency, diagnosis, requirement, supply and absorption. *Ciencia e Investigación Agraria* 1993; 20(2): 182-201.
- Kirchgessner M, Reichlmayr A, Roth P. Possibilities for the diagnosis of trace element deficiency. En: Brätter P, Schramel P, eds. *Trace element analytical chemistry in medicine and biology vol 2*. Berlin: Walter de Gruyter, 1983; 417-451.
- Kirchgessner M, Roth HP. Beziehungen zwischen klinischen mongelsymptomen und enzymaktivitäten bei zinkmangel. *Zbl Vet Med A* 1975; 22: 14-26.

- Kirchgessner M, Roth FX, Roth HP. Auswirkungen einer fehlenden spurenelement- und vitaminergänzung zu einer getreidereichen futtermischung auf verschiedene leistungparameter bei mastschweinen. *J Vet Med* 1987; 34(3): 188-203.
- Kirchgessner M, Schwarz FJ. The use of isotopes to detect moderate mineral imbalances in farm animals. Vienna: IEA, 1982; 69-90.
- Kirchgessner M, Schwarz FJ, Schnegg A. Interactions of essential metals in human physiology. En: Prasad AS, ed. *Clinical, biochemical, and nutritional aspects of trace elements*. New York: Alan R Liss, Inc, 1982; 477-412.
- Kirk DJ, Greene LW, Schelling GT, Byers FM. Effects of monensin on Mg, Ca, P and Zn metabolism and tissue concentrations in lambs. *J Anim Sci* 1985; 60(6): 1485-1490.
- Kleczkowski M. Evaluation of selected metabolic indices for cattle in copper deficient regions. *Polskie Archiwum Weterynaryjne* 1987; 27(4): 35-45.
- Kleczkowski 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 World Buiatrics Congress*. Bolonia, Italia, 1994; 653-655.
- Kojima y, Kägi JHR. Metallothionein. *Trends in Biol Sci* 1978; 4: 90-93.
- Kramer JW. Clinical enzymology. En: Kaneko JJ, ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4^a ed. California: Academic press, 1989; 338-363.
- Kumaratilake JS, Howell JM. Effects of intravenously administered tetra-thiomolybdate on the distribution of copper in the liver and kidney of copper loaded sheep: a histochemical study. *Res Vet Sci* 1987a; 42(2): 154-161.
- Kumaratilake JS, Howell JM. Histochemical study of the accumulation of copper in the liver of sheep. *Res Vet Sci* 1987b; 42: 73-81.
- Lacroix AG. Les oligo-éléments bilan d'une enquete epidemiologique dans une clientele bovine (Tesis). Toulouse: Ecole Nationale veterinaire de Toulouse, 1984; 79 p.
- Laflamme DP, Miller WJ, Neathery MW, Gentry RP, Blackmon DM, Logner KR, Fielding AS. The effect of low to normal dietary phosphorus levels on zinc metabolism and tissue distribution in calves. *J Anim Sci* 1985; 61(2): 525-531.
- Lamand M. Carences en oligoéléments chez les ruminants. *Cah Méd Vét* 1970; 39: 60-75.
- Lamand M. Complementation en oligoéléments des ruminants a partir des fourrages enrichis sur pied. II. Digestibilité des éléments apportés. *Bull Tech CRZV* 1976; 25: 45-49.
- Lamand M. Copper and zinc deficiencies treatment by intramuscular injections in sheep. *Ann Rech Vét* 1978a; 9(3): 495-500.

- Lamand M. Copper deficiency prophylaxis in grazing sheep by copper oxide injection. *Ann Rech Vét* 1978b; 9(3): 501-504.
- Lamand M. Diagnostic des carences en oligo-éléments chez l'animal. *Ann Nutr Alim* 1971; B379-B410.
- Lamand M. Etiopathogénie des carences en oligoéléments dans les ensilages de maïs enrichis en urée et en soufre. *Ann Rech Vét* 1974a; 5(3): 281-289.
- Lamand M. Facteurs interférant avec la digestibilité des oligo-éléments dans les ensilages de maïs. *Bull Tech CRVZ, Theix, INRA* 1974b; 18: 21-25.
- Lamand M. Influence of molybdenum and sulfur on copper metabolism in sheep: Comparison of elemental sulfur and sulfate. *Ann Rech Vét* 1989; 20(1): 103-106.
- Lamand M. Influence of protein intake on per os zinc deficiency treatment in sheep. *Ann Rech Vét* 1985; 16(3): 285-287.
- Lamand M. Les besoins de la vache laitière en oligo-éléments. *Bull GTV* 1978c; 12: 1-6.
- Lamand M. Les carences en oligoéléments chez les ruminants. *Bull GTV* 1979; 2: 5-11.
- Lamand M. Les oligo-éléments dans la chaîne alimentaire et leur absorption par l'animal. *CR Acad Agric Fr* 1990; 76(2): 79-93.
- Lamand M. Les oligoéléments en médecine et biologie. Paris: Tec & Doc, 1991; 77-110.
- Lamand M. Place du laboratoire dans le diagnostic des carences en oligoéléments chez les ruminants. *Rec Med Vét* 1987; 163(11): 1071-1082.
- Lamand M. Utilisation digestive et métabolique des oligoéléments, les besoins de l'adulte et du jeune. *Point Vet* 1975; 1: 123-134.
- Lamand M, Amboulou D, Rayssignier Y. Effect of quality of forage on availability of trace elements and some major elements. *Ann Rech Vét* 1977; 8(3): 303-306.
- Lamand M, Barlet JP, Rayssiguier Y. Particularités de la biologie clinique des minéraux chez les ruminants. *Rec Méd Vét* 1986; 162(10) 1127-1132.
- Lamand M, Bellanger J, Geay Y. Carence en cuivre chez des taurillons à l'engrais; influence sur la croissance et traitement. *Ann Zootech* 1969; 18(2): 227-229.
- Lamand M, Bellanger J, Tressol JC. Risques de contamination par l'héparine des prélèvements de plasma pour dosage de cuivre et de zinc. *Sem Vet* 1981; 9.
- Lamand M, Bellanger J, Tressol JC, Lab C. Teneurs en oligoéléments de quelques aliments complémentaires pour ruminants. *Bull Tech CRZV* 1976; 26: 15-19.
- Lamand M, Lab C, Lafarge C, Montel G. Influence of silage contamination by soil upon trace elements availability in sheep. *Ann Rech Vét* 1979; 10(4): 571-573.

- Lamand M, Lab C, Mignon M, Tressol JC. A zinc deficient diet for ruminants: diagnosis and treatment of deficiency. *Ann Rech Vét* 1983; 14(3): 211-215.
- Lamand M, Lab C, Tressol JC. Comparison of the efficiency of zinc injected as metal or oxide for zinc deficiency treatment in sheep. *Ann Rech Vét* 1980; 11(2): 147-149.
- Lamand M, Levieux D. Effects of infection on plasma levels of copper and zinc in ewes. *Ann Rech Vét* 1981; 12(2): 133-136.
- Lamand M, Perigaud S. Les oligo-éléments. *Fourrages* 1973; 2: 37-39.
- Lamand M, Perigaud S, Bellanger J. Carence en cuivre chez les ruminants domestiques. *Ann Nutr* 1970; 4: 1-62.
- Lamand M, Perigaud S, Bellanger J. Enquête sur la fréquence et la répartition géographique des carences en oligoéléments en France. *Cah Méd Vét* 1973; 42: 155-175.
- Langlands JP. Recent advances in copper and selenium supplementation of grazing ruminants. En: Farrell DJ, ed. *Recent advances in animal nutrition in Australia*. Armidale, Australia: University of New England Printery, 1987; 144-151.
- Langlands JP, Donald GE, Bowles JE, Smith AJ. Trace element nutrition of grazing ruminants. 3. Copper oxide powder as a copper supplement. *Aust J Agric Res* 1989; 40(1): 187-193.
- Laredo C, Cuesta P. Niveles de hierro, molibdeno, cadmio en forrajes y la disponibilidad del cobre por los rumiantes en Colombia. *Revista Instituto Colombiano Agropecuario* 1984; 19(1): 141-151.
- Laurant J. Test biochimiques utilisant le spectrophotometre d'absorption moleculaire pour le mise en evidencie des carences en oligoelements et macroelements chez les bovins (Tesis). Alfort: Ecole National Veterinaire D'Alfort, 1985; 102 p.
- Lavín González S. Contribución al estudio de la carencia subclínica de cobre y cinc en el ganado vacuno de montaña (Tesis). Murcia: Universidad de Murcia, 1986; 332 p.
- Lavín S. Contribución al estudio de la carencia subclínica de cobre y zinc en ganado vacuno de montaña. *An Vet Murcia* 1987; 2: 73-86.
- Lavín González S, Ribelles Villar A, Alonso de Vega FD García Partida P. Incidencia de la deficiencia de cobre en el ganado vacuno alimentado en zonas de montaña. III Congreso Nacional de Buiatría. Lugo 1986a; 259-263.
- Lavín González S, Ribelles Villar A, Gutiérrez Panizo C, García Partida P. Influencia de la alimentación sobre la concentración de cobre y cinc en el pelo del ganado vacuno. III Congreso Nacional de Buiatría. Lugo 1986b; 252-258.
- Lavín González S, Monreal Bosch L. Influencia del estado reproductivo sobre los niveles de zinc en la sangre del ganado vacuno. *Med Vet* 1988; 5(11): 601-605.

- Lavín González S, Monreal Bosch L, Abad Gavín, Fernández Celadilla L. Niveles de cobre en plasma y pelo de ganado vacuno en diferentes estados reproductivos. *Med Vet* 1987; 4(9): 415-420.
- Leach RM, Roseblum CI, Amman MJ, Burdette J. Broiler chicks fed low-calcium diets. 2. Increased sensitivity to copper toxicity. *Poultry Science* 1990; 69(11): 1905-1910.
- Lee HJ, Jones GB. Interactions of selenium, cadmium and copper in sheep. *Aust J Agric Res* 1976; 27(3): 447-452.
- 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.
- Leighton HJ, Peters TJ, Hill R, Smith GD, Holt W, Jones DM. Subcellular distribution of copper in the liver of fetal deer in the last month of gestation. *Res Vet Sci* 1990; 49(3): 298-305.
- Lengronne D, Legardinier JC. Observation de plusieurs séries d'intoxications par le cuivre chez le veau d'élevage. *Point Vét* 1983; 15(71): 59-61.
- Lilley CW, Hamar DW, Gerlach M, Johnson JL. Linking copper and bacteria with abomasal ulcers in calves. *Vet Med* 1985; 80(10): 85-88.
- López-Guisa JM, Satter LD. Effect of copper and cobalt addition on digestion and growth in heifers fed diets containing alfalfa silage or corn crop residues. *J Dairy Sci* 1992; 75(1): 247-256.
- Lorentz PP, Gib FM. Caeruloplasmin activity as an indication of plasma copper levels in sheep. *NZ Vet J* 1975; 23: 1-3.
- Lowe NM, Bremner I, Jackson MJ. Plasma Zn⁶⁵ kinetics in the rat. *Br J Nutr* 1991; 65: 445-455.
- Luecke RW, Olman ME, Baltzer BV. Intestinal alkaline phosphatase activity in the zinc deficient rat. *Fed Proc* 1967; 26: 523.
- Lyford SJ, Huber JT. Digestión, metabolismo y necesidades nutritivas en pre-rumiantes. En: Church DC. *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993; 459-481.
- MacPherson A. Field investigation of trace element disorders. *J Sci Food Agric* 1990; 50: 271-285.
- MacPherson EA, Beattis IS, Yong GB. An inherited defect in Friesian calves. *Nord Vet Med* 1964; 16: 533-540.
- MacPherson A, Voss RC, Moon FE. Effects of foliar application of copper sulphate on the copper content and yield of hay. *J Br Grassld Soc* 1975; 30: 107-110.
- Mahmoud OH, Ford EJH. Injection of sheep with organic compounds of copper. *Vet Rec* 1981; 108: 114-117.

- Mandiki SNM, Kiatoko M, Olenga L. Composition minérale des fourrages de la sous-région de L'Ituri (Zaïre) et proposition de complémentation pour bovins. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* 1986; 39(3-4): 425-434.
- Mann KG. Coagulation factor V contains copper ion. *J Biol Chem* 1984; 259: 12949-12951.
- 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.
- María CG, de. Trace element content in colostrum of different ruminant species at various post-partum intervals. *Ann Rech Vét* 1978; 9(2): 277-280.
- Martin YG, Miller WJ, Blackmon DM. Wound healing, hair growth, and biochemical measures as affected by subnormal protein and energy intake in young cattle. *Am J Vet Res* 1969; 30(3): 355-364.
- Martinsson K, Ekman L. The effect of prolonged supplementation of dietary zinc on weight gain, tissue storage of zinc and some serum variables in fattening pigs. *Acta Vet Scand* 1976; 17: 279-285.
- Marumo F, Tsukamoto Y, Iwanami S, Kishimoto T, Yamagami S. Trace element concentrations in hair, fingernail and plasma of patients with chronic renal failure on hemodialysis and hemofiltration. *Nephron* 1984; 38: 267-272.
- Masi I, Tozzi F, Cammarata MP. Comportamento del rame e della ceruloplasmina ematici in corso di flogosi sperimentale nel coniglio. *Clinica Veterinaria* 1987; 110(2): 117-122.
- Mason J, Lamand M, Tressol JC, Mulryan G. Studies of the changes in systemic copper metabolism and excretion produced by the intravenous administration of trithiomolybdate in sheep. *Br J Nutr* 1988; 59(2): 289-300. (Abstract).
- Mason J, Woods M, Poole DBR. Accumulation of copper on albumin in bovine plasma in vivo after intravenous trithiomolybdate administration. *Res Vet Sci* 1986; 41(1): 108-113.
- Masters DG, Chapman RE, Vanghan 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.
- Masters DG, Moir RJ. Effect of zinc deficiency on the pregnant ewe and developing foetus. *Brit J Nutr* 1983; 49(3): 365-372.
- Matrat M. N'Oubliez pas le sel, ni les oligo-éléments. *L'Elevage* 1976; 57: 35-39.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244(22): 6049-6055.
- McCosker PJ. Observations on blood copper in the sheep. *Res Vet Sci* 1968; 9: 91-101.
- McCosker PJ. Paraphenylenediamine oxidase activity and copper levels in mammalian plasmas. *Nature* 1961; 190(4779): 887-889.

- McDowell LR, Conrad JH. Trace mineral nutrition in Latin America. *World Anim Rev* 1977; 24: 24-33.
- McDowell LR, Conrad JH, Ellis GL. Mineral deficiencies, imbalances and diagnosis: part II. *Feedstuffs* 1983; 55(39): 21-25.
- McDowell LR, Conrad JH, Hembry FG, Rojas LX, Valle G, Velásquez J. *Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales 2ª ed.*, 1993; 1-76.
- McDowell LR, Gordon BJ, Merkel RC, Fadok V, Wilkinson NS, Kunkle GA. Mineral status comparisons in goats of Florida, with emphasis on zinc deficiency. *Small Ruminant Research* 1991; 5: 327-335.
- McFarlane JD, Judson GJ, Gouzos J. Copper deficiency in ruminants in the South East of South Australia. *Aust J Exp Agric* 1990; 30: 187-193.
- McMurray CH. Copper deficiency in ruminants. En: *Ciba Foundation Symposium 79, Biological roles of copper*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980; 183-207.
- McSporran KD, Lorentz PP. Plasma zinc levels in sheep in the peri-parturient period. *Res Vet Sci* 1977; 22: 393-394.
- Mee JF. Coat colour and copper deficiency in cattle. *Vet Rec* 1991; 24: 536.
- Mehta SN, Gangwar PC. Seasonal variation in plasma trace minerals of lactating buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences* 1984; 54(11): 1035-1036. (Abstract)
- Menino AR Jr, Damron WS, Henry TE, O'Clary JL. The influence of dietary copper on reproduction, growth and the cardiovascular system in Swiss-webster female mice. *Lab Anim Sci* 1986; 36(2): 164-167. (Abstract).
- 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, Miller WJ. Development of zinc deficiency in Holstein calves fed a purified diet. *J Dairy Sci* 1960; 43(2): 1854-1856.
- Miller JK, Miller WJ, Clifton CM. Calf response to starters of varying zinc contents. *J Dairy Sci* 1962; 45(12): 1536-1538.
- Miller JK, Ramsey N, Madsen FC. Elementos vestigiales. En: *Churc DC. El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993; 391-457.
- Miller WJ. Mineral and trace element nutrition of dairy cattle: zinc, copper and molybdenum. En: *Miller WJ, ed. Dairy cattle feeding and nutrition*. Orlando Academic Press, 1979; 74-186 (Cunha T. ed. *Animal feeding and nutrition*).
- Miller WJ. Zinc nutrition of cattle: a review. *J Dairy Sci* 1970; 53(8): 1123-1135.
- Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP, Pitts WJ, Powell GW. Absorption, excretion, and retention of orally administered Zn^{65} in various tissues of zinc-deficient and normal goats and calves. *J Nutr* 1967a; 92: 71-78.

- 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* 1966a; 49(11): 1446-1453.
- Miller WJ, Blackmon DM, Hiers JM, Fowler PR, Clifton CM, Gentry RP. Effects of adding Two forms of supplemental zinc to a practical diet on skin regeneration in Holstein heifers and evaluation of a procedure for determining rate of wound healing. *J Dairy Sci* 1967b; 50(5): 715-721.
- Miller WJ, Blackmon DM, Pate FM. Zinc metabolism in ruminants. En: Mills CF, ed. Trace element metabolism in animals. Edimburg: E & S. Livingstone, 1970; 231-237.
- 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 zinc⁶⁵ from a single intravenous dose by ruminants. *J Nutr* 1966b; 90: 335-341.
- Miller WJ, Clifton CM, Cameron NW. Zinc requirement of Holstein bull calves to nine months of age. *J Dairy Sci* 1963a; 46(2): 715-719.
- Miller WJ, Clifton CM, Fowler PR. Influence of high levels of dietary zinc on zinc in milk, performance and biochemistry of lactating cows. *J Dairy Sci* 1965a; 48(4): 451-453.
- Miller WJ, Martin YG, Gentry RP, Blackmon DM. Zn⁶⁵ and stable zinc absorption, excretion and tissue concentrations as affected by type of diet and level of zinc in normal calves. *J Nutr* 1968a; 94(1): 391-401.
- Miller WJ, Miller JK. Photomicrographs of skin from zinc-deficient calves. *J Dairy Sci* 1963b; 46(2): 1285-1287.
- Miller WJ, Pitts WJ, Clifton CM. Experimentally produced zinc deficiency in the goat. *J Dairy Sci* 1964; 47(1): 556-558.
- Miller WJ, Powell GW, Blackmon DM, Gentry RP. Zinc and dry matter of tissues and feces of zinc-deficient and normal ruminants fed ethylenediaminetetraacetate and cadmium. *J Dairy Sci* 1968b; 51: 82-89.
- Miller WJ, Powell GW, Blackmon DM, Hiers JM, Jr. Effects of feeding EDTA and cadmium on Zn-65 absorption and tissue distribution in ruminants from an oral dose. *Fed Proc* 1967c; 26: 523.
- Miller WJ, Powell GW, Hiers JM. Influence of zinc deficiency on dry matter digestibility in ruminants. *J Dairy Sci* 1966c; 49(2): 1012-1013.
- Miller WJ, Powell GW, Hiers JM. Influence of zinc deficiency on dry matter digestibility in ruminants. *J Dairy Sci* 1966d; 49: 1012-1013.
- Miller WJ, Powell GW, Pitts WJ, Perkins HF. Factors affecting zinc content of bovine hair. *J Dairy Sci* 1965b; 48(2): 1091-1095.
- Miller WJ, Wells ES, Gentry RP, Neathery MW. Endogenous zinc excretion and Zn⁶⁵ metabolism in Holstein calves fed intermediate to high but nontoxic zinc levels in practical diets. *J Nutr* 1971; 101(2): 1673-1682.

- Mills CF, Dalgarno AC, Wenham G. Biochemical and pathological changes in tissues of Friesian cattle during experimental induction of copper deficiency. *Br J Nutr* 1976; 35(1): 309-331.
- 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.
- Milne DB, Ralston NVC, Wallwork JC. Zinc content of cellular components of blood: Methods for cell separation and analysis evaluated. *Clin Chem* 1985; 31(1): 65-69.
- Miltimore JE, Mason JL. Copper to molybdenum ratio and molybdenum and copper concentrations in ruminant feeds. *Can J Anim Sci* 1971; 51: 193-200.
- Miltimore JE, Mason JL, Ashby DL. Copper, zinc, manganese and iron variation in five feeds for ruminants. *Can J Anim Sci* 1970; 50: 293-300.
- Mocsenyi AR, Anke M, El-Gandy H. Vizsgalatok a kerdzok asvanyianyag ellatottsaganak alakulasahoz. 2. A takarmanyok es az allati szervek rez-, cink-es mangantartalma. *Allattenyesztes-es-Takarmanyozas* 1988; 37(3): 259-269. (Abstract).
- Murthy GK, Rhea US, 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 dairy cattle. Washington DC: National Academy of Sciences 1978; 14-19.
- National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. Washington DC: National Academy Press 1984; 14-25.
- Naveh Y, Bentur L, Diamond E. Site of zinc absorption in dog small intestine. *J Nutr* 1988; 118(1): 61-64.
- Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP. Performance and milk zinc from low-zinc intake in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1973a; 56(2): 212-217.
- Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP. Zinc-65 metabolism, secretion into milk, and biological half-life in lactating cows. *J Dairy Sci* 1973b; 56(12): 1526-1530.
- Neathery MW, Miller WP, Blackmon DM, Gentry RP, Jones JB. Absorption and tissue zinc content in lactating dairy cows as affected by low dietary zinc. *J Anim Sci* 1973c; 37(3): 848-852.
- Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Pate FM, Gentry RP. Effects of long term zinc deficiency on beef utilization, reproductive characteristics and hair growth in the sexually mature male goat. *J Dairy Sci* 1972; 56(1): 98-105.
- Nederbragt H. The influence of molybdenum on the copper metabolism of the rat at different Cu levels of the diet. *Br J Nutr* 1980; 43: 329-338.
- 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 oligo-éléments chez l'animal: de l'atomistique a la physiologie. CR Acad Agric Fr 1990; 76(2): 61-78.
- Nicolás JA, Dupre C, Bournenf C, Carassus P. Etude des carences en cuivre in Limousin chez les bovins. Leur relation avec la teneur des soils en molybdene. Bulletin Mensuel de la Societe Veterinaire Pratique de France 1986; 70(5): 293-307.
- Nockels CF, DeBonis 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.
- Nougues C, Lamand M. Possibilités et limites de l'utilisation du poil dans le diagnostic de la carence en zinc chez le bovin. Ann Rech Vét 1972; 3(3): 505-509.
- Oberleas D, Muhrer ME, O'Dell BL, Kintner LD. Effects of phytic acid on zinc availability in rats and swine. J Anim Sci 1961; 20: 945.
- O'Dell BL, Conley-Harrison J, Browning JD, Savage JE. Zinc deficiency and peripheral neuropathy in chicks. Proc Soc Exp Biol Med 1990; 194(1): 1-4.
- O'Dell BL, Savage JE. Effect of phytic acid on zinc availability. Proc Soc Exp Biol Med 1960; 103: 304-305.
- Oestreicher P, Cousins RJ. Copper and zinc absorption in the rat: mechanism of mutual antagonism. J Nutr 1985; 115: 159-166.
- Okonkuo AC, Ku PK, Miller ER, Keahey KK, Ullrey DE. Copper requirements of baby pigs fed purified diets. J Nutr 1979; 109(1): 939-948.
- Okumura M, Fujinaga T, Yamashita K, Tsunoda N, Mizumo S. Isolation, characterization, and quantitative analysis of ceruloplasmin from horses. Am J Vet Res 1991; 52(12): 1979- 1985.
- Olkowski AA, Gooneratne SR, Christensen DA. Effects of diets of high sulphur content and varied concentrations of copper, molibdenum and thiamine on in vitro phagocytic and candidacidal activity of neutrophils in sheep. Res Vet Sci 1990; 48: 82-86.
- O'Mary CC, Bell MC, Sneed NN, Butts WT, Jr. Influence of ration copper on minerals in the hair of Hereford and Holstein calves. J Anim Sci 1970; 31: 626-630.
- O'Mary CC, Butts WT, Jr, Reynolds RA, Bell MC. Effects of irradiation, age, season and color on mineral composition of Hereford cattle hair. J Anim Sci 1969; 28: 268-271.
- 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 1993a; 26: 9-21.

- Oregui LM, Bravo MV. El cobre en los alimentos. *Metabolismo del cobre en el ovino*. Ovis 1993b; 26: 23-36.
- Orr CL, Hutcheson DP, Cummins JM, Thompson GB, Byers FM. Effect of bovine respiratory disease on serum copper and zinc concentration. *J Anim Sci* 1984; 59(supl 1): 191.
- Orr CL, Hutcheson DP, Grainger RB, Cummins JM, Mock RE. Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine infections bovine rhinotracheitis. *J Dairy Sci* 1990; 68: 2893-2900.
- Oski FA. Anemia related to nutritional deficiencies other than vitamin B12 and folic acid. En: Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA, eds. *Hematology*. New York: McGraw-Hill Book Company, 1983; 532-537
- Osman AA, Abdel Rahim AG, Gameel AA, Bushara HO. The relationship between serum copper and zinc concentrations and the activities of the serum enzymes copper oxidase (caeruloplasmin) and alkaline phosphatase in sheep infected with schistosoma bovis and fed on different levels of nutrition. *World Review of Animal Production* 1984; 20(2/3): 33-37.
- Panic B, Bezbradica LJ, Nedeljkov N, Istwani AG. Some characteristics of trace-element metabolism in poultry. En: Hoekstra WG, Suttie JW, Ganther HE, Mertz W, eds. *Trace element metabolism in animals-2*. Baltimore: University Park Press, 1974; 635-637.
- Parkash S, Jenness R. Status of zinc in cow's milk. *J Dairy Sci* 1967; 50(2): 127-134.
- Patterson DSP, Brush PJ, Foulkes JA, Sweasey D. Copper metabolism and the composition of wool in border disease. *Vet Rec* 1974; 95(10): 214-215.
- Paulais AM. Carences en oligo-éléments soyez vigilants. *L'élevage bovin ovin-caprin* 1978; 73: 63-66.
- Paynter DI. Differences between serum and plasma ceruloplasmin activities and copper concentrations: investigation of possible contributing factors. *Aust J Biol Sci* 1982; 35(4): 353-361.
- Peducasse CA, Mcdowell LR, Parra LA, Wilkins JV, Martin FG, Loosli JK, Conrad JH. Mineral status of grazing beef cattle in the tropics of Bolivia. *Tropical Animal Production* 1983; 8(2): 118-130.
- Périgaud S, Bellanger J, Lamand M. Les oligoéléments dans les foins, en France. *Fourrages* 1972; 52: 11-37.
- Périgaud S, Lamand M. Carences en oligoéléments chez les ruminants en France. II. Eléments d'enquête obtenus dans les élevages. *Ann Rech Vét* 1973; 4: 535-563.
- Peter AT, Bosu WTK, Macwilliams P, Gallagher S. Periportal changes in serum alkaline phosphatase activity and lactate dehydrogenase activity in dairy cows. *Can J Vet Res* 1987; 51(4): 521-524.
- Phillips DR, Chappel RJ, Hayes J. A possible role of Cu²⁺ ions in bovine antibody-antigen interactions. *Res Vet Sci* 1982; 32: 221-224.

- Pickering JP. Copper deficiency and infertility. *Vet Rec* 1975; 97(15): 295.
- Pimentel JL, Cook ME. Influence of zinc deficiency on the immune responses of the chick. *Poultry Science* 1988; 67(1): 139.
- 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.
- Plasto AW, Kennedy TP, O'Bryan MS, Wright GS. Effects of copper therapy on steers in the brigalow region of central Queensland. *Aust J Ex Agric Anim Husb* 1983; 23(122): 243-247.
- Plonait H. Elementos de análisis clínico veterinario. Zaragoza: Acribia, 1984; 144-164.
- Pocino M, Malave I, Baute L. Zinc administration restores the impaired immune response observed in mice excess copper by oral rute. *Immunopharmacol-Immunotoxicol* 1990; 12(4): 697-713.
- Pond WG. Mineral Interrelationships in nutrition: practical implications. *Corn Vet* 1975; 65(4): 441-456.
- Pond WG, Chapman P, Walker E, Jr. Influence of dietary zinc, corn oil and cadmium on certain blood components, weight gain and parakeratosis in young pigs. *J Anim Sci* 1966; 25: 122-127.
- Poppi DP, Sykes AR, Dynes RA. The effect of endoparasitism on host nutrition the implications for nutrient manipulation. *Proc New Zeland Soc Anim Prod* 1990; 50: 237-243. (Abstract).
- Powell GW, Miller WJ, Blackmon DM. Effects of dietary EDTA and cadmium on absorption, excretion and retention of orally administered Zn^{65} in various tissues of zinc-deficient and normal goats and calves. *J Nutr* 1967; 93: 201-212.
- Price J. The nutritive value of grass in relation to mineral deficiencies and imbalances in the ruminant. *Proceedings of the Fertiliser Society* 1989; 289: 5-26.
- Price J, Humphries WR. Investigation of the effect of supplementary zinc on growth rate of beef cattle on farms in N. Scotland. *J Agric Sci Camb* 1980; 95: 135-139.
- Price J, Wood DA. Zinc responsive parakeratosis and ill-thrift in a Friesian calf. *Vet Rec* 1982; 110: 478.
- Prieto Montaña F. Aportaciones a la biopatología del parto en el ganado bovino: Pardo Alpina en la región leonesa (Tesis). León: Universidad de León, 1975; 159 p.
- 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.
- Prohaska JR, Downing SW, Lukasewycz OA. Chronic dietary copper deficiency alters biochemical and morphological properties of mouse lymphoid tissues. *J Nutr* 1983; 113(8): 1583-1590.
- Prohaska JR, Lukasewycz OA. Copper deficiency supresses the inmune response of mice. *Science* 1981; 213: 559-561.

- Quillian ER, Miller WJ, Gentry RP, Heinmiller SR, Neathery MW. Maximum safe dietary magnesium and effects of high dietary magnesium on zinc metabolism in Holstein calves. *J Dairy Sci* 1980; 63: 457-463.
- Quiroga MA. Deficiencia de cobre en bovinos. Actualización bibliográfica. 1ª parte. *Gac Vet* 1982; 44(371): 513-530.
- Quiroga MA. Hipocupremia experimental en bovinos. I) Suministro de agua de bebida con tres niveles de sulfatos. *Gac Vet Bs Aires* 1983; 45(383): 883-986.
- Radostits OM, Blood DC, Gay CC. *Veterinary Medicine*. 8ª ed. London: Baillière Tindall, 1994; 1379-1406.
- Ramos JJ, Fernández A, Marca MC, Sanz MC, Verde MT, Sáez T, Blanco A. Niveles plasmáticos de zinc en ganado ovino de la provincia de Zaragoza. *Med Vet* 1994; 11(11): 610-614.
- Ramos JJ, Fernández A, Peiro JM, Ferrer LM, Verde MT, Sanz MC. Observaciones sobre los niveles séricos de cobre en ganado ovino del Valle Medio del Ebro. *Med Vet* 1993a; 10(2): 94-101.
- Ramos JJ, Marca MC, Fernández A, Sanz MC, Blanco A. Niveles de microminerales en el ganado ovino de la comarca de Borja. *AYMA* 1995; 35(1): 7-10.
- Ramos JJ, Verde MT, Marca MC, Fernández A, Sáez T. Observaciones sobre los niveles séricos de zinc en ganado ovino del valle medio del Ebro. *AYMA* 1993b; 33(3): 93-97.
- Redshaw ES, Matin PJ, Laverty DH. Iron, manganese, zinc and selenium concentrations in Alberta grains and roughages. *Can J Anim Sci* 1978; 58: 553-558.
- Randhawa SS, Arora CL, Randhawa CS, Joshi BP. Therapeutic evaluation and hair mineral profile of leucodermic buffaloes vis-a-vis soil-plant mineral status. En: Trenti F, ed. *Proc XVIII World Buiatrics Congress*. Bolonia: Editografica, 1994: 1545-1548.
- 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*, vol 5. Berlin: Walter de Gruyter, 1988; 199-219.
- Rejas López J. Estados carenciales de zinc en animales de experimentación (Tesis). León: Universidad de León, 1990; 266 p.
- Rejas López J, García Partida P, Rejas García F, Benedito JL. Zinc deficiency in Broilers. Abstracts del XXIV Congreso Mundial de Veterinaria, Rio de Janeiro, Brasil, 1991; 128.
- Renoult EML. De la carence de cuivre et en zinc chez les mammiferes. Interet du diagnostic analytique (Tesis). Toulouse: Ecole Nationale Veteinaire de Toulouse, 1985; 105 p.

- Reuter R, Bowden M, Besier B, Masters H. Zinc responsive alopecia and hyperkeratosis in Angora goats. *Aust Vet J* 1987; 64(11): 351-352.
- Richard MJ, Arnaud J, Jurkovitzc, Hachache T, Meftahi H, Laporte F, Foret M, Favier A, Cordonnier D. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991; 57: 10-15.
- Richards DH, Hewett GR, Parry JM, Yeoman GH. Bovine copper deficiency: Use of copper oxide needles. *Vet Rec* 1985; 116: 618-619.
- Richards MP, Cousins RJ. Metallothionein and its relationship to the metabolism of dietary zinc in rats. *J Nutr* 1976; 106(2): 1591-1599.
- Richet G. Cuivre et molybdène. En: *Oligo-éléments et ruminants domestiques*. Versailles: SEI, 1972a; 29-43.
- Richet G. Le zinc. En: *Oligo-éléments et ruminants domestiques*. Versailles: SEI, 1972b; 67-70.
- Rico AG, Braun JP, Bénard P. Blood reference values in the lamb (Na, K, Ca, P, Mg, Cu, Zn, Cl, Urea, Total proteins, Creatinine, uric acid, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, cholesterol and hemoglobin). *Ann Rech Vét* 1976; 7(3): 241-252.
- Riffard JJ. Le cuivre et les ruminants 1^{er} partie: métabolisme, rôle, épidémiologie des carences. *Point Vét* 1989a; 20(118): 905-911.
- Riffard J. Carence en cuivre (symptômes, diagnostic, traitement, prophylaxie). *Point Vét* 1989b; 21(119): 63-70.
- Ríos Granja MA, Meléndez Rodríguez S, Cano Rábano M, Somboro G, Rejas López J, Díez Prieto I. Subcarencia de cobre en bovinos de la Montaña de Luna. En: *IV Congr Nac Buiatría*. Coruña: AVEBU, 1994.
- Roberson EL. Fármacos contra protozoos. En: Booth NH, McDonald LE, eds. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. 1^a ed. Zaragoza: Acribia, 1987; 215-235.
- Roberts HE. Bovine hypocuprosis. *Vet Rec* 1976; 99(2): 496-498.
- Rodríguez Rodríguez B. Comarcalización agraria. En: Rodríguez Rodríguez B, ed. *La cabaña leonesa*. León: Universidad, Servicio de Publicaciones, 1987; 15-31.
- Rogers PAM, Poole DBR. Copper oxide needles for cattle: A comparison with parenteral treatment. *Vet Rec* 1988; 123: 147-151.
- Root AW, Dukett G, Sweetland M, Reiter EO. Effects of zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. *J Nutr* 1979; 109; 958-964.
- Rosenberger G, Dirksen G, Gründer HD, Grunert E, Krause D, Stöber M. Examen de la coagulación sanguínea. En: Rosenberger G, Dirksen G, Gründer HD, Grunert E, Krause D, Stöber M, eds. *Exploración clínica de los bovinos*. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1981; 131-137.

- Rosero OR, McDowell LR, Conrad JH, Ellis GL, Martin FG. Nutritional factors affecting mineral status and long term carry over affects in sheep. 2. Trace minerals. *Tropical Animal Production* 1984; 9(4): 285-291. (Abstract)
- Rosiles R, García RM. Informe de un caso de miositis en ovinos asociado con deficiencia de cobre. *Vet Méx* 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, D.F. VI Congreso Latinoamericano de Buiatría México, 1987; 433-436.
- Rucker RB, Riggins RS, Laughlin R, Chan MM, Chen M, Tom K. Effects of nutritional copper deficiency on the biomechanical properties of bone and arterial elastin metabolism in the chick. *J Nutr.* 1975; 105(2): 1062-1070.
- Ryssen JBJ Van, Malsen S Van, Barrowman PR. Effect of dietary molybdenum on sulphur on the copper status of hypercuprotic sheep after withdrawal of dietary copper. *South African Journal of Animal Science* 1986; 16(2): 77-82.
- Sáez 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): 1969-1964.
- 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 LR, 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.
- Sanecki RK, Corbin JE, Forbes RM. Extracutaneous histologic changes accompanying zinc deficiency in pups. *Am J Vet Res* 1985; 46(10): 2120-2123.
- Sanecki RK, Corbin JE, Forbes RM. Tissue changes in dogs fed a zinc-deficient ration. *Am J Vet Res* 1982; 43(9): 1642-1646.
- Santamarina G, Fidalgo LE, Benedito JL, Goicoa A, Suárez JL, Suárez ML. Niveles séricos de ceruloplasmina y cobre relacionados con procesos podales en bovinos. En: Trenti F, ed. *Proc XVIII World Buiatrics Congress*. Bolonia: Editografica, 1994a: 487-489.
- Santamarina Pernas G, Prieto Montaña F, Benedito Castellote JL. Minerales séricos. En: *El Poni Gallego: hematología y bioquímica sanguínea*. Lugo (España): Talleres gráficos Diputación Provincial, 1994b; 246-267.
- Sauvant D, Lautier C. Les carences en oligo-éléments sont de plus en plus probables. Il faut les corriger et les prevenir. *L'Elevage* 1975; 37: 30-35.
- Savey M. Progrès et perspectives. Le zinc ausi peut être toxique. *Point Vét* 1987; 19(108): 564-566.

- Sawadogo G, Saqui-Sannes P, Burgat V. Note sur les effets de l'age et du sexe sur les concentrations plasmatiques de cuivre, zinc et magnésium chez les zébus Gobra. *Rev Méd Vét* 1988; 139(3): 311-313.
- Saylor WW, Leach RM, Jr. Intracellular distribution of copper and zinc in sheep: effect of age and dietary levels of the metals. *J Nutr* 1980; 110: 448-459.
- Saylor WW, Morrow FD, Leach RM Jr. Copper- and zinc-binding proteins in sheep liver and intestine: effects of dietary levels of the metals. *J Nutr* 1980; 110(3): 460-468.
- Seal CJ, Heaton FW. Chemical factors affecting the intestinal absorption of zinc in vitro and in vivo. *Br J Nutr* 1983; 50(2): 317-324.
- Selze JC. Le zinc dans l'alimentation animale (Tesis). Alfort: Ecol Nat Vet D'Alfort, 1971; 79 p.
- Sharma V, Prasad T. Erythrocyte superoxide dismutase activity in goats fed on different levels of dietary available copper. *Indian Journal of Animal Sciences* 1985; 55(11): 967-970. (Abstract).
- Sineiro F, Osoro K, Díaz N. Bases para la producción e intensificación ganadera en el monte gallego: la utilización de la vegetación espontánea y la siembra y mejora del pasto. En AAVV: Pastos y forrajes en alimentación animal. SI: Sociedad Ibérica de Nutrición Animal 1984; 195-219.
- Smart ME. Nutritional factors of lameness and metabolic bone disease in cattle. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 1985; 1(1): 13-23.
- 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.
- Smith BP, Fisher GL, Poulos PW, Irwin MR. Abnormal bone development and lameness associated with secondary copper deficiency in young cattle. *JAVMA* 1975a; 166(7): 682-688.
- Smith BP, Moon GH. Hypocuprosis: the effects of administration of copper sulphate to cattle through the water supply. *NZ Vet J* 1976; 24(7): 132-134.
- Smith BP, Stublely D, Blackmore DJ. Measurement of superoxide dismutase, diamine oxidase and caeruloplasmin oxidase in the blood of throughbreds. *Res Vet Sci* 1983; 35(2): 160-164.
- Smith P, Stublely D, Blackmore DJ. Measurement of superoxide dismutase, diamine oxidase and caeruloplasmin oxidase in the blood of thoroughbreds. *Res Vet Sci* 1983; 35(2): 160-164.

- Smith BP, Woodhouse DA, Fraser AJ. The effects of copper supplementation on stock health and production. 2. The effect of parenteral copper on incidence of disease, haematological changes and blood copper levels in a dairy herd with hypocuprosis. *NZ Vet J* 1975b; 23(6): 109-112.
- Soli NE. Chronic copper poisoning in sheep. *Nord Vet Med* 1980; 32(2): 75-89.
- Soli NE, Frosli A. Copper, zinc and molybdenum in goat liver. *Acta Vet Scand* 1979; 20(1): 45-50.
- Soli NE, Nafstad I. Chronic copper poisoning in sheep. Structural changes in erythrocytes and organs. *Acta Vet Scand* 1976; 17: 316-327.
- Solter PF, Hoffman WE, Hungerford LL, Siegel JP, Denis SH, Dorner JL. Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *Am J Vet Res* 1991; 52(10): 1738-1742.
- Somboro G. Estudio de oligoelementos en la insuficiencia renal crónica (Tesis). León: Universidad de León, 1995; 213 p.
- Spais AG, Papasteriadis AA. Zinc deficiency in cattle under greek conditions. En: Hoekstra WG, Suttie JW, Gander HE, Mertz WJ eds. Trace element metabolism in animals-2. Baltimore: University 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.
- Spears JW, Hatfield EE. Interaction between nickel and copper in the rat. *Biological Trace Element Research* 1985; 7(3): 181-193.
- Spence JB. Copper deficiency in cattle. *Vet Rec* 1980; 17: 406-407.
- Stabel JR, Goff JP. Effect of periparturient stress on plasma retinol, Ó-tocopherol and zinc concentrations in dairy cows. *J Dairy Sci* 1990; 73(supl. 1): 247.
- Stake PE, Miller WJ, Gentry RP, Neathery MW. Zinc metabolic adaptations in calves fed a high but nontoxic zinc level for varying time periods. *J Anim Sci* 1975; 40(1): 132-137.
- Starcher BC, Hill CH, Madaras JG. Effect of zinc deficiency on bone collagenase and collagen turnover. *J Nutr* 1980; 110(10): 2095-2102.
- Stöber M: Enfermedades metabólicas y carenciales. En: Rosenberger G, Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, eds. Enfermedades de los bovinos. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1983; tomo II 245-259.
- Stoszek MJ, Mik PG, Oldfield JE, Weswig 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).
- Strickland K, Smith F, Woods M, Mason J. Dietary molybdenum as a putative copper antagonist in the horse. *Equine Veterinary Journal* 1987; 19(1): 50-54. (abstract)

- Sugawara K, Odashima M, Isawa T, Hayashi K. Studies on the trace elements in soil plant animal system. 1. Trace mineral status in kawatabi farm. *Tohoku Journal of Agricultural research* 1983; 34(1/2): 11-18. (Sugawara).
- Sullivan JF, Blotcky AJ, Jetton MM, Hahn HK, Burch RE. Serum levels of selenium, calcium, copper, magnesium, manganese and zinc in various human diseases. *J Nutr* 1979; 109(2): 1432-1437.
- Sunderman FW, Nomoto S. Measurements of human serum caeruloplasmin by its P-Phenylenediamine oxidase activity. *Clin Chem* 1970; 16: 903-910.
- Suttle NF. Comparison between parenterally administered copper complexes of their ability to alleviate hypocupraemia in sheep and cattle. *Vet Rec* 1981a; 109: 304-307.
- Suttle NF. Copper deficiency in ruminants; recent developments. *Vet Rec* 1986a; 119(21): 519-522.
- Suttle NF. Copper poisoning in ruminants. *News Sheet* 1995; 2(7): 1-6.
- Suttle NF. Effectiveness of orally administered cupric oxide needles in alleviating hypocupraemia in sheep and cattle. *Vet Rec* 1981b; 108: 417-420.
- Suttle NF. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet Rec* 1986b; 119: 148-152.
- Suttle N. overestimation of copper deficiency. *Vet Rec* 1993; 133(5): 123-124.
- Suttle NF. Safety and effectiveness of cupric oxide particles for increasing liver copper stores in cattle. *Res Vet Sci* 1987; 42(2): 224-227.
- Suttle NF. A technique for measuring the biological availability of copper to sheep, using hypocupraemic ewes. *Br J Nutr* 1974; 32: 395-405.
- 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, Jones DG. Recent developments in trace element metabolism and function: trace elements, disease resistance and immune responsiveness in ruminants. *J Nutr* 1989; 119(7): 1055-1061. (Abstract).
- 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.
- Swenerton H, Hurley LS. Zinc deficiency in Rhesus and Bonnet monkeys, including effects on reproduction. *J Nutr* 1980; 110: 575-583.
- Tanner DQ, Stednick JD, Leininger WC. Minimal herd sample size for determination of blood copper status of cattle. *JAVMA* 1988; 192(8): 1074-1076.
- Tarazona JV, Muñoz MJ, Ortiz JA. Intoxicación crónica por zinc en ganado ovino. *Zootechnia* 1984; 33(4/6): 122-128.
- Thevenet G. Diagnostic visuel des carences: quelques éléments de methodologie. *C R Acad Agric Fr* 1990; 76(2): 147-150.

- Thomas B. Cu and Zn in foods of plant and animal origin. *Lebensmittelchemie und Gerichtliche Chemie* 1983; 37(3): 139-142.
- Thompson RPH. Assessment of zinc status. *Proc Nutr Soc* 1991; 50: 19-28.
- Tinker D, Rucker RB. Role of selected nutrients in synthesis, accumulation of connective tissue proteins. *Physiol Rev.* 1985; 65(3): 607-657.
- Todd JR. A survey of the copper status of cattle using copper oxidase (caeruloplasmin) activity of blood serum. En: Mills CF, ed. *Trace element metabolism in animals.* Edinburgh: E & S Livingstone, 1970: 448-451.
- Todd JR, Milne AA, How PF. Hypocuprosis without clinical symptoms in single-suckled calves. *Vet Rec* 1967; 81(25): 653-656.
- Tsukamoto Y, Iwanami S, Marumo F. Disturbances of trace element concentrations in plasma of patients with chronic renal failure. *Nephron* 1980; 26: 174-179.
- Tucker HF, Salmon WD. Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955; 88: 613-616.
- Underwood EJ. Copper. En: *Trace element in human and animal nutrition.* 4^a ed. New York: Academic press, 1977a; 56-108.
- Underwood EJ. Zinc. En: *Trace element in human and animal nutrition.* 4^a ed. New York: Academic press, 1977b; 196-242.
- Underwood EJ. Cinc. En: *Los minerales en la nutrición del ganado.* 2^a ed. Zaragoza: Acribia, 1983a: 157-172.
- Underwood EJ. Cobre, molibdeno y azufre. En: *Los minerales en la nutrición del ganado.* 2^a ed. Zaragoza: Acribia, 1983b: 107-131.
- Underwood EJ, Somers M. Studies of zinc nutrition in sheep. I. The relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams. *Aust J Agric Res* 1969; 20: 889-897.
- Vaillancourt SJ, Allen JC. Elevation of zinc concentration in milk and colostrum by glucocorticoids. *J Dairy Sci* 1990; 73(1): 153.
- Verheijden JHM, Schotman AJH, 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.
- Verma MP, Sharma RP, Street JC. Hepatic and renal metallothionein concentrations in cows, swine, and chickens given cadmium and lead in feed. *Am J Vet Res* 1978; 39(12): 1911-1915.
- Viejo RE. Intoxicación por cobre en ovino. *Arch Med Vet* 1991; 23(2): 109-121.
- Vinokurov VN. Effect of level of mineral feeding on metabolism and retention of copper in heifers. *Byulleten Vsesoyznogo Nauchno issledovatel' Skogo Instituta Fiziologii Biokhimii i Pitaniya Sel' Slokhozyaistvenuykh* 1983; 4(72): 14-18.

- Vruwink KG, Keen CL, Gershwin ME, Hurley LS. Studies of nutrition and autoimmunity. Failure of zinc deprivation to alter autoantibody production when initiated in disease-established mice. *J Nutr* 1987; 117(1): 177-182.
- Wang YM, Zhao X, Tang CZ, Linghn JF, Zhao BL, Zhang XL, Cheng FJ, Fan WB, Zhang YP. The distribution of zinc in tissues of pigs and its effect on the growth and reproduction of pigs. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 1985; 16(2): 83-87. (Abstract).
- Ward G. Molybdenum toxicity and hypocuprosis in ruminants: a review. *J Anim Sci* 1978; 46(4): 1078-1085.
- Ward JD, Spears JW. Comparison of copper lysine and copper sulfate as copper sources for ruminants using in vitro methods. *J Dairy Sci* 1993; 76(10): 2994-2998.
- Weeks BR, Smith JE, DeBones RM, Smith JM. Decreased serum iron and zinc concentrations in cattle receiving intravenous dexamethasone. *Vet Pathol* 1989; 26(4): 345-346.
- West DW. Structure and function of the phosphorylated residues of casein. *J Dairy Res* 1986; 53(2): 333-352.
- Whanger PD, Oh S, Deagen JT. Ovine and bovine metallothioneins: accumulation and depletion of zinc in various tissues. *J Nutr* 1981; 111(2): 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 male Merino lambs. *Br J Nutr* 1994; 71: 425-435.
- White FD, Neathery MW, Gentry RP, Miller WJ, Logner KR, Blackmon DM. The effects of different levels of dietary lead on zinc metabolism in dairy calves. *J Dairy Sci* 1985; 68(5): 1215-1225.
- Whitelaw A, Armstrong RH, Evans CC, Fawcett AR, Russel AJF, Suttle NF. Effects of oral administration of copper oxide needles to hypocupraemic sheep. *Vet Rec* 1980; 107: 87-88.
- Whitelaw A, Armstrong RH, Evans CC, Fawcett AR. A study of the effects of copper deficiency in Scottish blackface lambs on improved hill pasture. *Vet Rec* 1979; 104: 455-460.
- Whitelaw A, Fawcett AR, Macdonald AJ. Cupric oxide needles in the prevention of bovine hypocuprosis. *Vet Rec* 1984; 115(14): 357..
- Wiener G, Field A. Seasonal changes, breed differences and repeatability of plasma copper levels of sheep at pasture. *J Agric Sci Camb* 1974; 83(3): 403-408.
- Wiener G, Field AC, Jolly GM. The concentration of minerals in the blood of genetically diverse groups of sheep. *J Agric Sci Camb* 1970; 75: 489-495.
- Wiener G, Field AC, Wood J. The concentration of minerals in the blood of genetically diverse groups of sheep. *J Agric Sci Camb* 1969; 72: 93-101.

- Wiener G, Hall JG, Hayter S. Relationships between haemoglobin type and copper concentrations in sheep of different breeds. *Anim Prod* 1974; 19: 291-299.
- Wiener G, Herbert JG, Field AC. Variation in liver and plasma copper concentrations of sheep in relation to breed and haemoglobin type. *J Comp Pathol* 1976; 86: 101-109.
- Wiener G, Suttle NF, Field AC, Herbert JG, Woolliams JA. Breed differences in copper metabolism in sheep. *J Agric Sci (Camb)* 1978; 91: 433-441.
- Wierzinski J, Ciolek J. Concentration d'éléments dans le poil comme l'indice de l'approvisionnement des vaches laitières en constituants minéraux. I. Magnésium et cuivre. *Revue Méd Vét* 1988; 139(11): 1015-1021.
- Wiercinski J, Ciolek J. Concentration d'éléments dans le poil comme indice de l'approvisionnement des vaches laitières en constituants minéraux. II. Fer, manganèse et zinc. *Revue Méd Vét* 1990; 141(8-9): 677-684.
- Wiesner E. Oligo-éléments (carences et intoxications par les). En: Wamberg K. *Encyclopédie Vétérinaire*. Vol 3. Paris: Vigot, 1968; 1758-1774.
- Williams RB, Mills CF. The experimental production of zinc deficiency in the rat. *Br J Nutr* 1970; 24(1): 989-1003.
- Wittwer F, Contreras P, Böhmwald H, Anrique R, Fuchslocher R. Concentraciones de zinc y cobre en forrajes y suero sanguíneo de 40 predios lecheros de la X Región - Chile. *Arch Med Vet* 1988; 20(2): 118-125.
- Wittwer F, Contreras PA, Böhmwald H, Kinzel I. Efecto de la administración de zinc en vacas parto y en sus terneras. *Arch Med Vet* 1990; 22(2): 191-196.
- Wolter R. Intoxication par le cuivre. *Rev Méd Vét* 1975; 126(2): 317.
- Wolter R. Valeur alimentaire de l'ensilage de maïs chez le taurillon de boucherie. *Cah Méd Vét* 1973; 42: 272-279.
- Woolliams JA, Suttle NF, Wiener G, Field AC, Woolliams C. The effect of breed of sire on the accumulation copper in lambs with particular reference to copper toxicity. *Anim Prod* 1982; 35: 299-307.
- Woolliams JA, Suttle NF, Wiener G, Field AC, Woolliams C. The long-term accumulation and depletion of copper in the liver of different breeds of sheep fed diets of differing copper content. *J Agric Sci Camb* 1983; 100: 441-449.
- Woolliams JA, Wener G, Woolliams C, Suttle NF. Retention of copper in the liver of sheep genetically selected for high and low concentrations of copper in plasma. *Anim Prod* 1985; 41(2): 219-226.
- Woolliams JA, Woolliams C, Suttle NF, Jones DG, Wiener G. Studies on lambs from lines genetically selected for low and high copper status. 2. Incidence of hypocuprosis on improved hill pasture. *Anim Prod* 1986; 43(2): 303-317. (Abstract).

- Xin Z, Waterman DF, Hemken RW, Harmon RJ. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. *J Dairy Sci* 1993; 76(9): 2711-2716.
- Xin Z, Waterman DF, Hemken RW, Harmon RJ. Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase, and copper distribution in steers. *J Dairy Sci* 1991a; 74: 3078-3085.
- Xin Z, Waterman DF, Hemken RW, Harmon RJ, Jackson JA. Effects of copper sources and dietary cation-anion balance on copper availability and acid-base status in dairy calves. *J Dairy Sci* 1991b; 74(9): 3167-3173.
- Zervas G, Telfer SB. Prevention of trace element deficiencies in grazing ruminants. I. Calves. *Deltion tes Ellenikes Kteniatrikes Etaireias* 1987; 38(4): 251-257. (Abstract)
- Zervas G, Telfer SB, Al-Tekrity A, Jones D. Prevention of trace element deficiencies in grazing ruminants. I. Sheep. *Deltion tes Ellenikes Kteniatrikes Etaireias* 1987; 38(4): 258-263. (Abstract)
- Zervas G, Nikolaou E, Montzious A. Comparative study of chronic copper poisoning in lambs and young goats. *Anim Prod* 1990; 50(3): 497-506.
- Zhang P, Duhamel GE, Mysore JV, Carlson MP, Schneider NR. Prophylactic effect of dietary zinc in a laboratory mouse model of swine dysentery. *Am J Vet Res* 1995; 56(3): 334-339.