

Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia

*Tesis en opción de título de Máster en Salud Animal Avanzada
(MSAA).*



Titulo: Efecto de la suplementación parenteral de Cu, Zn y Mn sobre el comportamiento bio-reproductivo en hembras bovinas lecheras en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.

Autor: Dr. MVZ. Harun Munyori Nderitu.

Tutor: Dr. C. Juan Ramón García Díaz.

Consultantes: Ing. MSc. Ernesto Noval Artiles.

MSc. Reinaldo Quiñones Ramos.

SANTA CLARA -2012

Dedicatoria.

A mi familia, a mis padres que han sido un ejemplo a imitar y me han guiado por el camino correcto. A mis hermanos y hermanas por todo el apoyo moral que me han brindado en estos tiempos difíciles de mi vida.

A todos aquellos que de forma desinteresada hicieron posible este trabajo

Agradecimientos.

A Dios por haber brindándome la salud y mente sana durante toda mi estancia en este país extranjero.

A mi tutor, maestro, amigo y hermano Dr. C Juan Ramón García Díaz por aceptarme como alumno, diseñar y criticar de manera constructiva este trabajo, dedicado parte de su valioso tiempo, haberme brindado todo su apoyo y compartir conmigo sus ideas de manera desinteresada.

A mi familia, y en especial mi hermana Alice Mukami Nderitu, a mis Padres por toda la paciencia.

A mis consultantes de la tesis Ing. MSc. Ernesto Noval Artilles, MSc. Reinaldo Quiñones Ramos, por toda la ayuda brindada, sus comentarios constructivos y apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

A los técnicos Ángel Mollineda Trujillo y Pedro Torres Artilles del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), por todo el tiempo que dedicaron en el procesamiento de todas las muestras de suelos, pastos, suero sanguíneo e hígado; labor que realizaron de manera profesional, entusiasta y desinteresada. A todos los profesores de la Facultad de Ciencia Agropecuaria quien me compartieron las clases y tomaron parte en este trabajo en especial a Dr. C. Alcides Pérez Bello, Dr. C. Raciél Lima Orozco, Dr. C. Alfredo Marín, Dr. C. Mario Cuesta Mazorro, Dr. C. Leonel Lazo Pérez. A la coordinadora de maestría Dra. C. Ania Gonzales Rivero. A decano de la Facultad de Ciencias Agropecuaria Dr. C. André Castro Alegría. A la profesora Pérez García Generosa Cachita quien atiende a los estudiantes extranjeros en la facultad con todo su amor y cariño. A la compañera Carmen

Mendoza Veitia

A todos mis compañero/as de aula que pasamos el curso de MSAA juntos.

A La Dirección a Atención a Estudiantes Extranjeros en especial al Ing. MSc. Luis Romero Castillo quien fue más que un profesor pero si no un maestro y me trato como un miembro de su familia y a Amelia Vega Fariñas a quien fue como mi madre aquí en Cuba desde que me ingrese en esta Universidad.

A Iris Menéndez de Instituto Cubano de Amistad con los Pueblos (ICAP) y todos sus trabajadores.

A los dirigentes de la Empresa Pecuaria La Vitrina y la UBPC “Desembarco del Granma” a sus obreros y técnicos.

A todos mis Amigos de otras nacionalidades, Tercy Yasmine Joseph Ravi, Anthony La Montagne Dharmelta Maxwell y Leanna Wallace todos de Santa Lucia. Roland Mibei de Kenya, Neusa Varela Spinola de Cabo Verde, Orville Williams, Donovan Anthony Robert y Nathalia Stephanie Godfrey de Jamaica, Rodrique James de St. Kitts y , Dacia Amania y Echo Anja Ross de Surinam, Joelle Thomas de Antigua, Yusuf Camara, Saloum Conde y Yango Keita de Guinea Conakry, Abdoul Salam Mohamed Osman de Djibouti, Clovis Khathesa Khoeli de Lesotho, Ala Diab Nayi Amer de Cisjordania, Yaser Farouq Yasin de Palestina, Abdoukarim Kathambe y Adamou Bouchrane de Comoros, Dhana Lazarus de Grenada, Bapoh Emiline de Costa de Marfil, Trevor Roy Ian Pool de Seychelles, A todos aquellos que de forma incondicional brindaron su ayuda.

Síntesis.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la suplementación parenteral de Cu, Zn y Mn sobre el comportamiento bio-reproductivo en hembras bovinas lecheras en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara. En el ecosistema de llanura se encontraron deficiencias de Cu, Mn y Zn en el 41.5, 33.9 y 56.6 %, respectivamente, en las muestras de suelo investigadas, mientras que en el ecosistema de premontaña los porcentajes de muestras deficientes fueron 22,5% (Cu), 7,5% (Mn) y 25% (Zn); la época del año influyó sobre los niveles de Cu ($P < 0.05$), Mn ($P < 0.001$) y pH ($P < 0.001$) en la llanura y el Cu ($P < 0.001$), Fe ($P < 0.05$) y Mn ($P < 0.05$) en la premontaña, siendo superiores en periodo lluvioso. En el pasto, la deficiencia más acentuada fue la de Cu, con un porcentaje de muestras deficientes superior en la llanura ($P < 0.05$). El Zn, segundo más deficiente, su carencia fue mayor en la premontaña ($P < 0.05$), al igual que el Mn. Los balances de nutrientes mostraron un déficit de Cu, Zn y Mn de 7,68, 44,3 y 36,8 mg la llanura y de 9,09, 55,81 y 38,01 mg en la premontaña. El perfil mineral sanguíneo mostró deficiencias de Zn, Fe, Cu y Ca en el 96,5, 51,7, 38 y 37,9 % de las muestras en la llanura, donde además de diagnosticaron bajas reservas hepáticas de Cu, Zn y Mn, situación similar se encontró en la premontaña. En ambos ecosistemas se evidenció un marcado deterioro de los principales indicadores reproductivos en novillas y vacas, determinado fundamentalmente por las carencias de Cu, Zn y Mn. La suplementación con 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn en las novillas incrementó los niveles séricos de Cu, Fe y el peso vivo ($P < 0.01$) y la Cinquemia, hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto) y la ganancia media diaria ($P < 0.001$) en comparación con los controles, reduciéndose los intervalos incorporación-inseminación, Incorporación-gestación e Incorporación-parto ($P < 0.01$). En las vacas del ecosistema de llanura el tratamiento incrementó los niveles de Zn ($P < 0.05$) y los de Cu, Fe, Hb y Hto ($P < 0.001$), con una reducción de los intervalos parto-primera inseminación, parto-gestación y parto-parto ($P < 0.05$). En el ecosistema de premontaña la suplementación utilizada aumentó los niveles del Hto y las reservas hepáticas de Zn ($P < 0.05$) y la cupremia, cinquemia, Hb y los niveles hepáticos de Cu y Mn ($P < 0.001$), observándose una reducción del IPPI, IPG, IPP e II ($P < 0.05$) y superior porcentaje de gestaciones al primer servicio ($P < 0.05$).

Siglas y abreviaturas utilizadas.

µmol/L: Micromol por Litro	ISO: International Organization of Standard
a.m: Ante meridiano	K₂O: Potasio disponible del suelo
ATP: Adenosin trifosfato	LC: Límite crítico
CCO: Citocromo oxidasa	LH: Hormona luteinizante
Cp: Ceruloplasmina	LN: Latitud Norte
CuS: Sulfuro de cobre	LW: Longitud Oeste
CuSO₄: Sulfato de cobre	MINAG: Ministerio de la Agricultura
DE: Desviación estándar	mmol/L: milimol por Litro
EDTA: Ácido etilendiaminotetracético	MO: Materia orgánica
EE: Error estándar	MS: Materia seca
EI: Edad a incorporación	msnm: metros sobre el nivel del mar
EM: Energía Metabolizable	MT: Metalotioneína
EP: Edad al parto	NRC: National Research Council
FeS: Sulfuro de hierro	P₂O₅: Fósforo disponible del suelo
FSH: Hormona folículo-estimulante	ppm: Partes por millón
GnRH: Hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas	r: Coeficiente de correlación
IA: Inseminación artificial	SOD: Superóxido dismutasa
IC: Intervalo de confianza	TC: Tasa de concepción.
II: Índice de inseminación	
IIG: Intervalo inseminación gestación	
IPG: Intervalo parto gestación	
IPP: Intervalo parto-parto	
IPPI: Intervalo parto gestación	

Índice

Introducción.....1

Hipótesis.....4

Objetivos.....4

Capítulo 1: Revisión bibliográfica.5

1.1: Importancia y control de la eficiencia reproductiva.....5

1.2: Indicadores más comunes de la eficiencia reproductiva y sus valores óptimos.6

1.3: Principales factores que afectan la eficiencia reproductiva del rebaño.....7

1.3.1 Deficiencias de proteínas y energía.7

1.3.2: Condición corporal8

1.3.4: Deficiencias de la nutrición mineral.10

1.4: Diagnóstico bioquímico de las enfermedades metabólicas y carenciales.12

1.5: Relación de la deficiencia de Cu, Zn y Mn con los trastornos reproductivos.13

1.5: Importancia del Cu, Zn y Mn para el organismo.14

1.6: Metabolismo del Cu Zn y Mn.16

1.6.1: Elementos antagonistas de la absorción del Cu, Zn y Mn.....18

1.6.2: Transferencia del Cu Zn y Mn al feto durante la gestación.19

1.7: Etiología de la deficiencia de Cu Zn y Mn.20

1.8: Requerimientos de Cu, Zn y Mn en la especie bovina.20

1.9: Diagnóstico y caracterización de la de Cu, Zn y Mn en la especie bovina.22

1.9.2: Concentraciones de Cu Zn y Mn en tejido hepático.25

1.9.3: Determinación de sustancias con Cu en su molécula25

1.10: Niveles e interrelaciones de Cu, Zn y Mn en el suelo y el pasto.26

1.11: Suplementación del Cu por vía oral y su repercusión sobre aspectos bioproductivos.....28

1.12: Ventajas de la suplementación con sales inyectables de Cu Zn y Mn.29

1.13: Intoxicación por Cu, Zn y Mn en bovinos.....29

Capítulo 2: Parte experimental.....33

2.1: Materiales y métodos generales.33

2.1.1: Unidades donde se desarrolló la investigación.33

2.1.2: Clima del área experimental.....33

2.1.3: Animales utilizados.33

2.1.4: Sacrificio de los animales.....34

2.1.5: Sistema de manejo y alimentación.....34

2.1.6: Producto empleado y forma de administración.34

2.1.7: Toma de muestras.....34

2.1.8: Técnicas y procedimientos utilizados.	35
2.1.9: Criterios de inclusión y exclusión.....	36
2.2: Experimento 1: Caracterización de la deficiencia de Cu, Zn y Mn, en el suelo y el pasto de dos ecosistemas ganaderos de la provincia Villa Clara.	37
2.2.1: Introducción.	37
2.2.2: Materiales y Métodos.	37
2.2.3: Resultados y discusión.....	41
2.2.3: Experimento 2: Caracterización de algunos indicadores sanguíneos y el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.	48
2.3.1: Introducción.	48
2.3.2: Materiales y Métodos.	49
2.3.3: Resultados y Discusión.....	53
2.4: Experimento 3: Efecto de la suplementación del Cu, Zn y Mn por vía parenteral sobre el comportamiento reproductivo en hembras bovinas con deficiencia de estos microelementos.....	66
2.4.1: Introducción.	66
2.4.2: Materiales y Métodos.	67
4: Conclusiones.....	78
5: Recomendaciones.	78
6: Referencias bibliográficas.....	80
7: Anexos	98
8: Opinión del tutor.....	103

Introducción.

En los sistemas de producción bovina, el bajo desempeño reproductivo de los animales afecta negativamente la productividad y eficiencia económica de los mismos. La nutrición, y en especial, los minerales trazas juegan un papel importante sobre el desempeño reproductivo de los rebaños lecheros (Vanegas *et al.*, 2004). Los microelementos, aunque son necesarios en pequeñas cantidades por el organismo, participan en un conjunto de funciones vitales, muchas de ellas como componentes de importantes sistemas enzimáticos que se vinculan con la inmunidad, metabolismo y las funciones reproductivos (NRC, 2007).

El 66 % de los suelos de Cuba se encuentran ubicados entre muy poco productivos y poco productivos, con las siguientes limitantes: salinidad y sodicidad 14.9 %; erosión 43.3 %; mal drenaje 40.3 %; baja fertilidad 44.8 % y bajo contenido de materia orgánica 69.6 % (ONE, 2007). Según Paretas (1993) pueden ser clasificados en buenos 9 %, regular 24 %, malos 43 % y muy malos 24 %, afectando tanto la producción como la persistencia y la calidad de los pastos. Según McDowell y Arthington (2005), el tipo de suelo juega un papel importante en el contenido de minerales de las plantas, por lo que sus deficiencias e interacciones a este nivel, unido a la no fertilización, utilización de suplementos minerales de baja calidad y los aumentos de los requerimientos minerales en los animales determinan en muchas explotaciones ganaderas las deficiencias de los mismos, que provocan el deterioro de los índices productivos y reproductivos, y la aparición de síntomas de enfermedades y alta mortalidad.

Estudios recientes en suelos pardos con carbonatos en unidades ganaderas de la zona centro sur de la provincia Villa Clara demostraron deficiencia de Cu, en el 100% de las muestras de suelo y pasto, el 75% de las muestras de suero sanguíneo y el 72% de las de tejido hepático, así como un marcado deterioro de los indicadores reproductivos de los rebaños estudiados (García, 2008); en este mismo ecosistema se detectaron deficiencias de Zn y Mn, en el eje suelo planta animal (García *et al.*, 2010). Sin embargo no existen reportes sobre el contenido de estos microelementos en otros ecosistemas representativos de los predominantes en la ganadería bovina, por lo que se hace necesario realizar un estudio integral de esta temática.

Diferentes autores reconocen que el Cu, el Zn y el Mn tienen una acción importante en la vida reproductiva de los rumiantes y la síntesis, activación y regulación de hormonas sexuales (Surgino *et al.*, 1998, 2000). En tal sentido en rebaños con carencia de Cu se observó una disminución del comportamiento reproductivo de los rebaños caracterizado por una elevada edad a la incorporación, gestación y al parto en las novillas, alcanzando los 50 meses en este último indicador y elevados periodos de servicios e interpartales en las vacas con valores promedio de 222 y 523 días respectivamente (García, 2008; García *et al.*, 2010).

En Cuba se demostró la existencia de una correlación negativa entre la cupremia en un rango de 9.8 ± 1.0 a 14.0 ± 0.9 $\mu\text{mo/L}$ con los indicadores reproductivos, tanto en animales con cupremia espontánea como inducida, lo que se evidenció en un aumento del riesgo a presentar anestro, repetición de servicio y de los principales indicadores de eficiencia reproductiva evaluados en novillas y vacas en la medida que descende la concentración de Cu sérico (García, 2008). Sin embargo, atendiendo a las interacciones existentes entre el Cu, Zn y Mn en los diferentes componentes del ecosistema ganadero (Suttle, 2010), es necesario el estudio integral de la carencia de los mismos y el efecto que ésta pudiera tener sobre los indicadores reproductivos de la hembra bovina lechera.

Por otra parte, existen en Cuba condiciones objetivas para que la carencia de Cu, Zn y Mn se agudice con el transcurso de los años y entre los principales problemas que lo motivan están: el deterioro paulatino de la base alimentaria, mal manejo de los pastos, altas cargas, aumento de la presión de pastoreo, entre otros, que han hecho desaparecer géneros de mayor calidad nutritiva tales como *Brachiaria* y *panicum*, los que son sustituidos por especies menos nutritivas y mas lignificadas como por ejemplo *Sporobulus*. También existe erosión, lixiviación y desgaste en las regiones tropicales por las altas temperaturas y la precipitación pluvial.

La suplementación mineral corregida en áreas de producción ha repercutido favorablemente sobre los aspectos biológicos, indicadores reproductivos, productivos y económicos del ganado, utilizándose con este fin diferentes mezclas de Cu por vía oral para las hembras bovinas lecheras (Muehlenbein *et al.*, 2001). Esta vía tiene varios inconvenientes entre los que se encuentran, en primer lugar la gran cantidad de antagonistas que interfieren su absorción y metabolismo,

además con esta forma de administración no se controla el consumo del mineral por los animales y como consecuencia de estos dos factores puede presentarse la carencia en los mismos, aun cuando le ofertemos sales minerales enriquecidas con Cu (Knowles *et al.*, 2000).

En cuanto a la absorción de los minerales en el sistema digestivo, en el caso de los metales (Fe, Cu, Zn y Mn) no supera el 5 % (Ciria *et al.*, 2005), en este mismo sentido se plantea que la absorción digestiva del Zn depende de varios factores, en particular de su concentración en la dieta y de sustancias que interfieran con su absorción.

Se ha planteado que las fuentes de microelementos orgánicas tienen una biodisponibilidad superior, con mayor absorción y retención de los mismos comparadas con la inorgánicas, al ser las primeras más biodisponibles, formar productos muy solubles, químicamente estables que resisten la digestión e interacción con antagonistas en el intestino (Yost *et al.*, 2002; Arthington y Swenson, 2004), aunque la principal limitación de estos compuestos orgánicos es que poseen un costo superior (Arthington y Brown, 2001; Arthington, 2005). Sin embargo los resultados obtenidos hasta el presente son inconsistentes para decidir cuál forma de suplemento resulta más eficaz (Gutiérrez, 2007).

El suministro de un complejo de aminoácidos del Cu, Zn y Mn repercutió favorablemente sobre el funcionamiento de numerosas estructuras proteicas, enzimas y proteínas celulares, mejorando así el comportamiento bio-productivo de la vaca lechera (Nocek *et al.*, 2006). Los beneficios incluyen la prevención de la mastitis, mejora en la fertilidad y reducción de la incidencia de lesiones pódalas (Nocek, Johnson y Socha, 2000; Uchida *et al.*, 2001; Ballantine *et al.*, 2002; Kellogg *et al.*, 2003, 2004, Repetto *et al.*, 2004).

Teniendo en cuenta las limitantes del ecosistema ganadero planteadas por los diferentes autores y la conocida acción del Cu, Zn y el Mn en el mejoramiento de la actividad productiva y reproductiva en el ganado lechero en condiciones del trópico, más los resultados obtenidos con la suplementación del Cu por vía parenteral en bovino en pastoreo, se hace necesario realizar los estudios correspondiente para esclarecer estos aspectos en la condiciones reproducción de la ganadería cubana.

Hipótesis.

Las limitaciones productivas que presentan los ecosistemas predominantes destinados a la ganadería, el limitado conocimiento sobre sus niveles de microelementos y el deficiente comportamiento del ganado vacuno en los mismos, harían que la aplicación de un suplemento inorgánico por vía parenteral de Cu, Zn y Mn, pudiera contribuir al mejoramiento de los principales indicadores bio-reproductivo de la hembra bovina.

Objetivo general.

- Determinar el efecto de la suplementación parenteral de Cu, Zn y Mn sobre el comportamiento bio-reproductivo en hembras bovinas lecheras en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.

Objetivos específicos.

- Caracterizar el contenido de Cu, Zn y Mn en suelo y el pasto, en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.
- Caracterizar algunos indicadores sanguíneos y el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.
- Determinar el efecto de la suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn por vía parenteral sobre el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas con deficiencia de estos microelementos.

Capítulo 1: Revisión bibliográfica.

1.1: Importancia y control de la eficiencia reproductiva.

La eficiencia reproductiva de una explotación es la capacidad de conseguir más gestaciones en el menor tiempo posible con el menor número de inseminaciones por vacas gestadas. Una alta eficiencia reproductiva se traduce en un menor número de días abiertos y una disminución del intervalo parto parto (IPP). Uno de los indicadores para mejorar la eficiencia es acercarse a la producción ideal de destetar un ternero por vaca por año (Pérez-Clariget *et al.*, 2007)

El mantenimiento de una alta eficiencia reproductiva en el manejo del rebaño lechero es indispensable para alcanzar su rentabilidad en el corto y mediano plazo. Una buena eficiencia reproductiva permite incrementar la producción de leche por día de vida rebaño, aumentar el número de terneros por vaca, disminuir los costos asociados con el mantenimiento de vacas secas, los costos de la inseminación artificial (IA) y el descarte de vacas por fallas reproductivas. Además, incrementa la tasa de ganancia genética al permitir descartar vacas por baja producción en vez de hacerlo por problemas reproductivos (Wattiaux, 1996).

Para evaluar la eficiencia reproductiva, en la producción lechera, se utilizan un grupo de indicadores que reflejan la eficacia del manejo, la alimentación y los programas de IA, el análisis e interpretación de los mismos permite diagnosticar la situación reproductiva y es la base para la toma de decisiones relativas y aplicar las medidas correctivas para solucionar los problemas identificados, además pronostican sobre bases científicas, el futuro desempeño reproductivo y productivo de los rebaños objeto de estudio (Blanco, 2000).

La eficacia reproductiva es un factor muy importante para lograr el éxito económico en los rebaños lecheros. El estrés fisiológico y medio ambiental de las vacas lecheras afecta de forma negativa en la detección del celo y en la fertilidad. Hay muchos factores de manejo, fisiológicos, nutricionales, genéticos y sanitarios que pueden influir en la reproducción de una vaca lechera. Carlos y Louis (2005) plantean que la eficiencia reproductiva del ganado vacuno lechero se suele definir como el intervalo entre partos en la granja. Este intervalo entre partos tiene una gran influencia sobre el tiempo que las vacas muestran su mejor producción lechera, que suelen ser los primeros 120 días en producción. Además, el intervalo entre partos afecta la

cantidad de leche producida por día en la granja y el nivel de eliminación de vacas por fallos reproductivos. Otros autores, como Santos *et al.*, (2007) consideran que son cuatro los principales factores que afectan a la eficacia reproductiva en rebaños lecheros: el intervalo parto-primer inseminación (IPPI); la tasa de detección de celos; la tasa de concepción (TC) y la pérdida de preñez.

1.2: Indicadores más comunes de la eficiencia reproductiva y sus valores óptimos.

En las novillas la edad a la incorporación (EI), edad a la gestación (EG), intervalo inseminación parto (IIP), edad al parto (EP) son los principales indicadores para evaluar la eficiencia reproductiva de esta categoría bovina (Brito, 2001). El comportamiento desfavorable de los indicadores reproductivos obedece a factores de diversa índole, entre los que destacan el manejo y la alimentación deficiente que juega un papel esencial. Unido a ello, también actúa el efecto adverso del clima, fundamentalmente en el período poco lluvioso, en el cual se agudiza la escasez de alimentos y la baja calidad de alimento consumido, en este periodo las novillas presentan baja eficiencia reproductiva (Brown, 2008).

Khan *et al.*, (2004), argumentaron que la edad, peso y condición corporal al momento de la incorporación de las novillas lecheras depende en primera instancia de la ganancia media diaria de peso vivo de la hembra en desarrollo, siendo el crecimiento y desarrollo lo primario hasta su primer parto, garantizando el reemplazo de las vacas viejas o menos productoras. Estos autores señalaron que para lograr alta eficiencia reproductiva y productiva, la hembra bovina debe tener una GMD no menor de 500 g/día, lo que conduce a reducir la etapa pre reproductiva, obtener altas natalidades, prolongar la vida productiva de la hembra y una mayor expresión del potencial genético. El peso corporal es un factor importante en la determinación del intervalo incorporación, primera ovulación y la subsecuente fertilidad en novillas lecheras.

Los indicadores más usados en las vacas son (tabla 1) el intervalo parto-parto (IPP), el intervalo parto-primer servicio (IPPS), el intervalo parto gestación (IPG) o período de servicio (PS), los servicios por gestación o índice de inseminación artificial y el porcentaje de gestación al primer servicio (Blanco, 2000).

Tabla 1: Indicadores más comunes de la eficiencia reproductiva y sus valores óptimos (Brito, 2001 citado por García, 2008)

Índice reproductivo.	Valor optimo.	Valor Crítico
Primer celo observado (días).	< 40	>60
Intervalo parto primer servicio (días).	45 - 60	>60
Intervalo parto-concepción ((días).	85-110	>140
Intervalo entre partos (meses).	12.5 - 13	> 14
Servicios por concepción (U).	< 1.7	>2.5
Gestación al primer servicio en novillas (%).	65 - 70	<60
Gestación al primer servicio en vacas (%).	50 - 60	<40
Vacas que conciben con menos de 3 servicios (%).	>90	<90
Vacas vacía por más de 120 días (%).	<10	>15
Duración del período seco (días).	50 - 60	<45 o >70
Promedio de edad al primer parto (meses).	24	<24 o >30
Porcentaje de abortos (%).	<5	>10
Porcentaje de eliminación por infertilidad (%).	<10	>10

1.3: Principales factores que afectan la eficiencia reproductiva del rebaño.

1.3.1 Deficiencias de proteínas y energía.

Dentro de los factores que pueden limitar la conducta reproductiva de cualquier especie se señala que los de carácter nutricional ocupan un lugar preponderante (Beever, 2006). Una de las causas más común de baja fertilidad y retardo de la madurez sexual en las vacas lecheras es la deficiencia de energía en relación con las necesidades del animal o un balance de energía negativo; además este retardo del inicio tardío de la madurez sexual disminuye el tiempo de vida durante el cual los animales tienen una reproducción activa (Campos, 2006).

Si hay un desequilibrio energético prolongado, el nivel de glucosa en sangre disminuye. Actualmente se conoce que la hipoglucemia causada por un déficit energético prolongado actúa

negativamente sobre la síntesis de hormonas gonadotrofas, (Dinskin *et al.*, 2003 Nousiainen *et al.*, 2004).

Puntualmente, bajos niveles de energía se generan parcialmente ondas de LH atípicas que no ocasionan ovulación, de esta forma se explican los trastornos de la fertilidad en la deficiencia de energía, que se manifiesta principalmente como: aciclia, estro silencioso, ovulación retardada hasta la degeneración quística del folículo. Con frecuencia en la deficiencia de la energía, no se detecta la presencia del cuerpo lúteo y el nivel de progesterona en la sangre es reducido. Un déficit energético anterior al parto provoca un retraso en involución uterina y en la aparición del primer estro en el siguiente ciclo reproductivo (Avila, 2005).

Un suministro correcto y suficiente de energía inmediatamente después del parto (“flushing”) no puede corregir totalmente efectos negativos acumulados. Dinskin *et al.*, (2003) plantean que cuando un animal pierde 22 a 24% del peso corporal entra en anestro. Cuando la ración carece de suficiente carga energética, el suplemento proteico no se utiliza como proteína hasta tanto no cubra requerimientos energéticos (Nousiainen *et al.*, 2004).

El metabolismo de las proteínas es un proceso esencial para todo el organismo. Está estrechamente vinculado al de los demás compuestos o principios inmediatos, ya que las enzimas que catalizan todas las reacciones metabólicas, son proteínas. Además, se efectúan constantemente las transformaciones químicas de los productos intermedios del metabolismo proteico en otros compuestos. Las proteínas son además el material principal de formación de diferentes estructuras biológicas (Fajardo, 2009).

Se admite que la baja ingestión de proteínas disminuye el apetito y la ganancia de peso, lo que contribuye a la pérdida de condición corporal y con ello se reducen las tasas de concepción. El efecto más adverso se presenta en novillas (Hau, 2004), en las cuales las raciones proteína-deficientes pueden provocar ausencia total de los ciclos estrales (Obispo *et al.*, 2002).

1.3.2: Condición corporal

La condición corporal (CC) consiste en el grado de reservas grasas que tiene un animal en su cuerpo y es una medida del estado energético del mismo. Las vacas con depósitos de grasa adecuados los pueden movilizar para cubrir sus necesidades energéticas cuando la

alimentación no es suficiente para cubrirlas. Por eso, la condición corporal al parto y al momento del servicio tienen una relación directa con la fertilidad (Birnie *et al.*, 2000).

La determinación de la condición corporal se hace mediante la observación y palpación de los depósitos grasos de determinadas zonas. De acuerdo a lo que se observa y palpa en estas zonas surge una escala de condición corporal que va del 1 al 5 en la cual el 1 corresponde a vacas extremadamente flacas y el 5 a vacas obesas (Peñafort y Bavera, 2003). La variación de la CC de un animal en forma individual, o de la totalidad del rebaño, tiene varias implicaciones que pueden ser utilizadas para la toma de decisiones de manejo. La CC además sirve, para determinar la cantidad y tipo de suplemento que requiere la vaca durante la lactancia.

La utilización de los registros de condición corporal permite que los productores puedan observar la eficiencia nutricional y reproductiva de un rebaño. La reanudación de los ciclos estrales después del parto guarda relación con los cambios de peso al final de la gestación y el estado de carnes al momento del parto. Las vacas que presentan condición corporal > 3.5 presentan el celo en un tiempo mínimo; por el contrario, las que tienen peores índices o han perdido peso al final de la gestación tardan progresivamente más tiempo. Las tasas de concepción son generalmente bajas (42 -63%) al primer servicio en los extremos de la condición corporal menor a 1.0 y mayor a 4.0 respectivamente. López (2006) reportó que vacas con condición corporal extrema (<1 ó >4) al momento del primer servicio, tienen bajas tasas de concepción ($<38\%$), pero no encontró diferencias estadísticas en el intervalo del parto al primer servicio.

Los cambios en la condición corporal repercuten negativamente en la actividad folicular, desencadenando alteraciones ya sea a nivel celular o a nivel de liberación de factores hipotalámicos (GnRH), (Birnie *et al.*, 2000; Nakamura *et al.*, 2005) que impiden la foliculogénesis normal, que tiene como objetivo primordial la producción de un óvulo suficientemente maduro y fértil.

Algunas hipótesis relativas a la secuencia de procesos subsiguientes a la hipoglucemia, la reducción del pool de glucosa o el ritmo de entrada a las células son: impedir la síntesis hipotalámica o la liberación de GnRH debido a insuficiente cantidad de ATP para las neuronas

secretoras del GnRH y sus sinapsis u estimulación de neuronas secretoras de opio de endógeno. Impedir la síntesis o la liberación de hormonas FSH y LH por la adenohipófisis, debido a insuficiente cantidad de energía (glucosa+insulina) para el metabolismo celular alteraciones en la estimulación de la GnRH debido al insuficiente número de receptores de GnRH, o insuficiente cantidad episódica o pulsátil de GnRH. Impedir el desarrollo del folículo y el óvulo fecundado, así, como la secreción de estradiol, progesterona e inhibina debido a: Insuficiente cantidad de energía (glucosa+insulina), menor sensibilidad a las gonadotropinas y insuficiente cantidad de gonadotropinas. Muerte del óvulo fecundado, embrión o feto, debido a: insuficiente cantidad de glucosa (o productos glicolíticos) y probablemente insulina, u Insuficiente cantidad de hormonas esteroides ováricas (Michaluk *et al.*, 2006, Nakamura *et al.*, 2005).

1.3.4: Deficiencias de la nutrición mineral.

La mayoría de los minerales se encuentran distribuidos de una manera uniforme por todo el organismo, donde aparecen en diversas combinaciones funcionales y según concentraciones características que deben mantenerse dentro de límites bastante estrechos para se conserve la integridad funcional y estructural de los tejidos. Son requeridos por el cuerpo para el óptimo desarrollo muscular y una función nerviosa adecuada. Son componentes esenciales de enzimas, hormonas y células (Schroeder, 2004).

Los minerales se consideran como el tercer grupo de nutrientes limitante en la producción animal y su importancia radica en que son necesarios para la transformación de los alimentos en componentes del organismo o en productos animales como leche, carne, crías, piel y lana (Flórez y Cristóbal, 2004). La mayoría de los pastos de las regiones tropicales no satisfacen completamente las necesidades de minerales en los animales que los pastan, como consecuencia de las limitaciones climáticas y del suelo que impone restricciones nutricionales a los pastos. La escasa disponibilidad de minerales en el suelo afecta a los forrajes restando la concentración del elemento deficiente en sus tejidos y contribuyendo con el bajo crecimiento de la planta.

Las deficiencias de minerales en el ganado, han sido reportadas en casi todas las regiones del mundo y se consideran como minerales esenciales para los rumiantes en pastoreo el Ca, P, Na, Co, Cu, I, Se, Fe, Se, Zn y Mb (Flórez, 2004). Por otra parte, los requerimientos de minerales

para los rumiantes dependen del tipo y nivel de producción, edad de los animales, nivel y forma química del elemento, interrelación con otros minerales, raza y adaptación del animal al suplemento (Klassen, 2010).

En general, los bovinos requieren de unos 15 elementos minerales, con la finalidad de garantizar una adecuada nutrición y asegurar una eficiente productividad (Montero, 2006). Se ha encontrado que la carencia o desequilibrio de minerales en el suelo se refleja en el valor nutritivo de los pastos y esto es una de las causas de la baja productividad y de los problemas de reproducción del ganado vacuno; esto se manifiesta en una tasa de concepción no mayor a 45%, un porcentaje de abortos que puede alcanzar al 10% y una edad y peso al primer servicio y al primer parto que están fuera de los valores eficientes para una ganadería productiva (Garmendia, 2006). Además, puede causar aberraciones en el apetito como la pica o malasia e incrementar el riesgo de ciertas enfermedades infecciosas como el botulismo (Reinoso y Silva, 2010).

El curso de una deficiencia puede dividirse en cuatro fases: depleción, deficiencia, subclínica o disfunción y enfermedad clínica. La depleción es el déficit en la dieta para mantener la concentración corporal del elemento, que cuando existen reservas corporales puede sostenerse durante mucho tiempo sin aparecer síntomas clínicos. Se produce cuando los requerimientos netos de un determinado elemento esencial son superiores a la absorción neta de dicho elemento a nivel intestinal. El organismo en este estado puede responder mejorando la absorción intestinal o disminuyendo las pérdidas endógenas. Hay un descenso del elemento en cuestión en los lugares de depósito, por lo que las concentraciones plasmáticas pueden permanecer constantes.

La deficiencia ocurre si la carencia en la dieta persiste, lo que está marcado por indicadores bioquímicos que señalan que el organismo no pueden mantener niveles constantes de los minerales necesarios para las funciones fisiológicas (Descalzo, 2003)

La fase subclínica o disfunción llega después de períodos variables de tiempo, donde las concentraciones o actividades de los minerales disminuyen, pero sin llegar a que los cambios en las funciones se manifiesten como enfermedad clínica. Necesita el diagnóstico de laboratorio para su detección segura. Esta fase de la enfermedad carencial es la más importante en producción animal, ya que ocasiona pérdidas económicas sin mostrar signos clínicos evidentes y

específicos, produciendo disminución en los aumentos de peso, retraso en el crecimiento, disminución en el consumo, menor fertilidad, pica, etc.(Bavera 2006^b ; Descalzo, 2003)

La fase terminal, la de enfermedad clínica, que puede llevar a la muerte al animal, entra directamente en el campo de la medicina veterinaria. Los signos clínicos son manifiestos, aunque muchas veces inespecíficos, comunes a distintas deficiencias y enfermedades, lo que dificulta el diagnóstico. Los síntomas son específicos cuando la deficiencia es muy marcada o de larga duración. Generalmente se debe recurrir al laboratorio para el diagnóstico certero, pero aunque se diagnostique correctamente, se medique y el animal no muera, el daño económico ya se produjo (Bavera 2006^b)

1.4: Diagnóstico bioquímico de las enfermedades metabólicas y carenciales.

Se ha extendido el uso de los perfiles metabólicos como método de diagnóstico de las enfermedades metabólicas y carenciales que afectan la reproducción en varios países del mundo (González, 2002; Fajardo *et al.*, 2000, 2004). Estos son métodos complementarios cuyo objetivo es renovar y reforzar la semiología clínica, permiten esclarecer la naturaleza de enfermedades específicas, la presencia de carencias nutricionales y los estados subclínicos de ciertas entidades nosológicas que afectan la reproducción y la producción del ganado bovino (Álvarez, 2007; Campos *et al.*, 2007).

La gran variabilidad de pruebas cualitativas y cuantitativas que se realizan son orientadas hacia el perfil mineral del suero sanguíneo y de las reservas en los tejidos; estado del balance ácido-básico; función del hígado; estado del metabolismo proteico y de la energía de la dieta (Bouda *et al.*, 2005).

Las principales fuentes de variación de los índices bioquímicos empleados en los perfiles metabólicos son la raza, la edad, el estado fisiológico, el nivel de producción, la estación y la base de la alimentación (Kaneko *et al.*, 2002; Schefer, 2003).

El diagnóstico de los desequilibrios en la alimentación mineral incluye los cambios patológicos, los análisis químicos de tejidos, los fluidos biológicos, la base de la alimentación y en muchos casos es necesario la evaluación del efecto de la suplementación mineral (Radostits *et al.*, 2000). En nuestras condiciones de producción es recomendable hacer un diagnóstico del estado mineral

del ganado porque los animales tienen como base de la alimentación el pasto y los forrajes (Pedroso, 2005).

1.5: Relación de la deficiencia de Cu, Zn y Mn con los trastornos reproductivos.

El Cu es esencial para el funcionamiento normal de todos los organismos vivos como cofactor de varias enzimas involucradas en el desarrollo sistema nervioso, respiración y metabolismo del Fe. También juega un papel importante en la reproducción de hembras actuando a nivel de hipotálamo a través la modulación de las actividades neurológicas, modificando la estabilidad de los gránulos de GnRH y modulación la liberación de neurohormonas. Estudios recientes muestran que los complejos de Cu suplementados en combinación con GnRH son más eficientes en la liberación de LH y FSH de la glándula pituitaria e influyen sobre el desarrollo fetal; en cambio, la hipocuprosis provoca diferencias estructurales y anormalidades bioquímica incluyendo defectos del esqueleto y cambios en el estructura cardiaca (Michaluk y Kochman, 2007)

El Mn es importante en los procesos reproductivos debido a que aportes insuficientes de este elemento en la dieta se han relacionado directamente con anestro, retorno irregular al estro, pobre desarrollo folicular, quistes ováricos, retraso en la ovulación, celos silentes y de corta duración, reducción del porcentaje de concepción, incremento del índice de aborto, atrofia ovárica, retraso en la pubertad, nacimiento de terneros débiles o con alteraciones del aparato locomotor o parálisis (Smith y Chase, 2007).

El Zn ha demostrado ser un microelemento fundamental para la unión de la mayoría de las hormonas esteroidales con sus receptores en órganos y tejidos donde ejercen su acción (NRC, 2005). Las deficiencias de este mineral provocan alteración en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos y especialmente la síntesis de prostaglandinas lo que afecta directamente la función lútea (Mattioli, 2008).

En Cuba la suplementación parenteral de Cu en dosis de 50 y 100 mg de Cu por vía parenteral resultaron eficaces para restaurar las concentraciones de Cu en suero sanguíneo durante 60 días y en tejido hepático en los animales tratados hasta los valores de referencia para la especie bovina, sin presentar efectos tóxicos ni residuales, además la administración de 50 mg de Cu por vía

parenteral en las hembras bovinas con niveles de Cu en suero sanguíneo hasta 14 $\mu\text{mol/L}$ (hipo y normocuprémicas) incrementó la cupremia, los porcentajes de presentaciones de celo y de gestaciones, disminuyó el riesgo relativo de presentar trastornos reproductivos y potenció los tratamientos de inducción del celo (García, 2008). Sin embargo este autor centró su estudio sólo en la suplementación de un oligoelemento en unidades de producción con un mismo tipo de suelo, mientras que las empresas productoras de leche mantienen sus unidades pecuarias sobre diferentes tipos de suelos con su variedad de limitantes, además no da respuesta sobre el comportamiento productivo, y salud de la ubre.

Teniendo en cuenta las limitantes del ecosistema ganadero planteadas por los diferentes autores y conocido la acción del Zn, el Cu y el Mn, en el mejoramiento de la actividad reproductiva en el ganado lechero en condiciones del trópico y en pastoreo, más los resultados obtenidos con la suplementación del Cu por vía parenteral, se hace necesario realizar estudios en condiciones de producción, sobre la suplementación por esta vía de un compuesto inorgánico de elementos trazas constituido por el Zn, Cu y Mn, sobre el comportamiento reproductivo, de las novillas lecheras.

1.5: Importancia del Cu, Zn y Mn para el organismo.

El Cu es un elemento esencial para plantas, animales y humanos. Alrededor del 1% de las enzimas corporales requieren Cu para su actividad, está directamente ligado a la formación de la hemoglobina, maduración de los hematíes y funcionamiento de los sistemas enzimáticos. Participa en la formación del tejido óseo y conjuntivo y del sistema inmunológico. Es importante para la integridad del sistema nervioso central y de la musculatura cardíaca. Se encuentra distribuido en todos los tejidos del organismo, principalmente bajo la forma de metaloproteínas, funcionando como enzima (Waldron *et al.*, 2009).

El Cu forma parte integral del sistema citocromo, es parte estructural de las enzimas Cu Superoxido dismutasa (Cu-SOD), Cu-Zn Superoxido dismutasa (Cu-Zn-SOD), Ceruloplasmina (Cp), citocromo oxidasa CCO), tirosinasa (polifelin oxidasa), ácido ascórbico oxidasa, monoamina oxidasa plasmática, lisil oxidasa y uricasa dependiente de Cu (Swenson y Reece, 1993, Sekler *et al.*, 2007)

El Cu juega un papel importante en la reproducción de hembras actuando a nivel de hipotálamo a través la modulación de las actividades neurológicas, modificando la estabilidad de los gránulos de GnRH y modulación la liberación de neurohormonas. (Michaluk y Kochman, 2007).

El Zinc es un elemento mineral esencial para la vida ya que forma parte de numerosos sistemas enzimáticos. Tiene su acción principal en los tejidos de alta velocidad de formación de células y es por eso que su deficiencia perjudica el crecimiento de los terneros; disminuye la producción de espermatozoides en los toros y favorece las enfermedades de la piel y de las pezuñas. El Zn resulta esencial como mineral traza por su rol estructural, catalítico y regulatorio de la actividad celular. Por un lado el Zn actúa estabilizando proteínas, de modo de mantener su conformación espacial y actividad normal. En este sentido entre el 3 y el 10 % de las proteínas asociadas al genoma y más de 300 enzimas son metaloproteínas dependientes de Zn (Nunnery *et al.*, 2007). Asumiendo que estas funciones enzimáticas y la expresión génica pueden alterarse ante la carencia, resulta entendible la posible variedad de consecuencias en la salud animal (Sekler *et al.*, 2007).

Las enzimas dependientes de Zn cumplen múltiples funciones y actúa en vías metabólicas vitales. La Cu-ZnSOD es una de las principales enzimas del sistema antioxidante del organismo (Miller, 2004). La fosfatasa alcalina se encarga de liberar grupos fosfatos de moléculas más complejas. La anhidrasa carbónica se encarga de interconvertir ácido carbónico en dióxido de carbono, manteniendo la respiración celular y el equilibrio ácido-base del organismo (Lichten, 2006). Enzimas presentes en la secreción pancreática, como las carboxipeptidasas A y B son dependientes de Zn en su funcionamiento, y están encargadas de degradar las proteínas del alimento desde su extremo carboxilo terminal. Las colagenasas son metaloproteinasas asociadas con la remodelación tisular. La piruvatocinasa es una enzima Zn dependiente que participa en la glucólisis y su actividad es un paso limitante modulado por la insulina (Tubek, 2007)

El Zn también es necesario para la síntesis del colesterol, que es a su vez necesario para la síntesis de los esteroides, estrógenos, progesterona y testosterona. Una producción insuficiente de esteroides da como resultado una menor concentración circulante de estas hormonas

reproductivas provocando así la producción de esperma anormal en los machos y de ciclos estrales irregulares en las hembras (Small *et al.*, 2008)

El Mn es cofactor para arginasa responsable para producción de urea en el hígado, SOD y piruvato carboxilasa una enzima esencial en la gluconeogenesis. En el cerebro, 80% de Mn es asociada con con glutamina sintetasa una enzima específico de astrocito, el Mn es imprescindible para el metabolismo del colesterol necesaria para la síntesis de las hormonas esteroideas, incluyendo los estrógenos, FSH, LH, y las hormonas andrógenos (Grifith *et al.*, 2007).

Su carencia en bovinos produce una disminución de la fertilidad, y en las vacas gestantes, afecta el desarrollo del feto, el peso al nacer y provoca un incremento en los casos de abortos y también incrementan las apariciones de celos silenciosas y quistes ováricas (Kumar *et al.*, 2011).

1.6: Metabolismo del Cu Zn y Mn.

El Mn aparece distribuido por todo el cuerpo en cantidades mínimas, aunque tiende a concentrarse en las mitocondrias. También se halla en el hueso, hígado, páncreas, riñón, cerebro y corazón. El hueso es la fuente principal de manganeso y puede servir como depósito de este elemento. También se halla en el hígado, músculos y riñones. La concentración de Mn en el pelo se puede correlacionar con el nivel en la dieta y se ha recomendado que el contenido en los pelos del cuerpo de los cerdos se tome como criterio de un suministro adecuado de la dieta. El Mn se absorbe principalmente en el intestino delgado, específicamente, en el duodeno en animales poligástricos y monogástricos, y su absorción disminuye cuando existen cantidades excesivas de calcio, fósforo o hierro. El Mn absorbido se elimina rápidamente de la sangre al hígado, huesos y pelos. El manganeso se elimina a través de la bilis y hacia el tubo intestinal y es excretado en las heces. Se absorbe como Mn ligado a la bilis. Cada átomo tritura varias veces antes de su excreción final. La excreción de Mn en la orina es despreciable.

En la mayoría de las especies el zinc se absorbe principalmente en el segmento superior del intestino delgado (menos del 10% de la cantidad ingerida). La absorción varía de acuerdo con la forma en se ingiere el elemento. El carbonato, sulfato y óxido de zinc así como el zinc metálico se absorben igual. En el rumen de los rumiantes que reciben dietas de pasto solo hay 5-10% de zinc en la forma soluble (pasto tiene 50%). Parece ser que el zinc se fija en la microflora de los

preestomagos (Tapiero y Tew, 2003). En el abomaso y duodeno la solubilidad aumenta y puede ser de más del 80%. El exceso de ácido fólico reduce la absorción de zinc. Los tejidos blancos disponen de un amplio depósito de zinc intercambiable que mantienen un equilibrio con el Zn del plasma.

El Zn no es depositado en un órgano en particular. Los huesos y los músculos poseen las mayores concentraciones, seguidos por el hígado y la piel. Cuando el aporte por la dieta sobrepasa los requerimientos el Zn se acumula en estos tejidos, mientras que durante un balance negativo sus concentraciones van descendiendo, (Wright y Spears 2004). Los órganos como el hígado y la corteza renal son ricos en mitocondrias y poseen una cantidad máxima de zinc.

Existen tres vías de excreción del Zn endógeno, la digestiva, la renal y por leche. Las pérdidas digestivas están determinadas por la descamación celular y las altas concentraciones de Zn en las secreciones digestivas, especialmente la pancreática y la intestinal. Sus concentraciones dependen del estatus de Zn del animal, y posee un reaseguro de reabsorción, debido a que son secretadas desde el páncreas junto a Metalotioneína (MT), proteína que estimula su reabsorción en el yeyuno (Tapiero y Tew, 2003). La eficacia de la reabsorción es mayor en terneros con deficiencia de Zn, lo cual demuestra que este es otro mecanismo de regulación de pérdidas endógenas (Spears *et al.*, 2004). La vía renal tiene una importancia secundaria. La concentración de Zn en calostro es de alrededor de 30 µg/ml mientras que en la leche oscila entre 3 y 5 µg/ml y pueden variar con el aporte de Zn en la dieta.

Aunque no se conoce con precisión el mecanismo de absorción de cobre en el animal adulto, se sabe que se lleva a cabo en varios tramos del tracto digestivo, desde el estómago al intestino grueso. En los rumiantes la absorción se limita principalmente a duodeno y yeyuno, con una capacidad de absorción entre el 30 y 60%. No obstante, una gran parte de este cobre absorbido se excreta, haciendo que al final las cifras que se manejen sean del 5-10% (Waldron, 2009).

La absorción intestinal cuenta con dos componentes: por un lado el transporte activo que es saturable y mediado por metalotioneínas (se relaciona con concentraciones bajas de cobre) y la difusión simple, que es un mecanismo pasivo e insaturable (relacionado con concentraciones altas de mineral), (Higdon y Droke, 2007). Además, la absorción de los compuestos de cobre

podría agruparse en dos categorías: aquellos que son absorbidos fácilmente como es el caso de hidróxidos, yoduros, glutamatos, citratos y pirofosfatos frente a los que tienen dificultada la absorción cual son los sulfatos, óxidos, el cobre metálico y los compuestos de cobre no hidrosolubles. En rumiantes se presenta predominantemente como cobre monovalente Cu^+ cuya absorción es más difícil que en su forma divalente Cu^{2+} , pues la valencia del ion de cobre influye en la disponibilidad del metal en el intestino. Los animales monogástricos y los terneros absorben del 45-55 % del cobre dietético, lo que puede ser debido a los bajos niveles de hierro en su comida y a la formación de sulfato de cobre por la reducción de sulfato a sulfito.

El sistema microbiótico en el rumen es un factor importante que determina la disponibilidad del cobre, lo que se denota claramente por la influencia de la producción de sulfito en el rumen; se piensa que está unido el cobre a S^{-2} formando sulfuro cuproso (Cu_2S) una forma más insoluble incluso que el sulfuro cúprico (CuS). En el ambiente ruminal con un pH reducido, el cobre se puede presentar de forma monovalente, y de hecho se puede demostrar que muestras de rumen reducen fácilmente grandes cantidades de cobre iónico (Maintz *et al.*, 2008). La razón de la vulnerabilidad del rumiante al déficit del cobre tiene su explicación en los procesos digestivos que tienen lugar en el rumen, donde se degradan las fuentes orgánicas e inorgánicas de azufre a sulfuro. Los protozoos del rumen juegan un papel muy importante en la generación de sulfuro; así se ha visto que en animales libres de patógenos que son extraídos mediante cesárea o mediante la administración de ionóforos antiprotozoarios, la absorción de cobre está aumentada. Durante la digestión ruminal la mayor parte del cobre liberado va a precipitar en forma de sulfuro de cobre y permanece sin absorberse, mientras que el liberado durante la digestión postruminal se une parcialmente a componentes no digeridos, (Maintz *et al.*, 2008).

1.6.1: Elementos antagonistas de la absorción del Cu, Zn y Mn.

El balance entre los micro minerales también es una consideración importante y representa un gran reto debido a las interacciones antagónicas que ocurren entre los minerales. Las interacciones primarias son el impacto negativo de altos niveles de Mo y S en la absorción del Cu, (Siciliano *et al.*, 2008) la interferencia causada por los altos niveles de Fe para la absorción del Zn, Cu y Mn; y la reducida absorción de Zn en la presencia de dietas altas en Ca. Algunos

autores recalcan sobre una interacción que es muchas veces ignorada entre el Zn y el Cu. Para mantener un estatus adecuado de estos elementos, los niveles en la dieta deben conservar una relación entre 1:3 hasta 1:5 de Cu con respecto al Zn (Cu:Zn).

Además, cantidades elevadas de Fe (250 a 1200 ppm de carbonato ferroso) también disminuyen la absorción del Cu. Sin embargo, en terneros lactantes (Bremner et al., 1987) observaron que el Fe no ejerce un efecto antagonista sobre el Cu, posiblemente debido a que sea necesario la presencia de un rumen funcional para que el Fe interaccione con el Cu. Complicando aún más la situación, cuando el Fe y el Mo se añaden a una ración pobre en Cu no se produce un antagonismo adicional porque el Fe y el Mo compiten para unirse a los sulfitos. Otra interacción a destacar, es la acción negativa que ejercen concentraciones elevadas de P y Ca sobre la absorción de Mn (Spears, 2003).

El principal factor de interferencia en la absorción del Zn dietario en todas las especies es el ácido fítico, y este es inactivado por la flora ruminal, el coeficiente de absorción del Zn en rumiantes es alto, con informes del 30 al 45 % en dietas con 40 y 17 ppm (MS) respectivamente, de alrededor del 50 % en terneros y vacas con dietas deficientes (17 ppm - MS) (Tubek, 2007), y del 60 al 70 % tanto desde forrajes como de granos. Cuando el ternero es lactante y no posee un rumen funcional sufre las interferencias propias de los monogástricos, como ocurre con el uso de proteínas de soja en los sustitutos lácteos, los cuales aportan fitatos que reducen la absorción del Zn (Xu *et al.*, 1997, Glauber, 2008). Las Fuentes de Zn podrían condicionar su absorción, (Wright y Spears, 2004). Las altas ingestas de Ca y P disminuyen la absorción del Zn a nivel intestinal.

1.6.2: Transferencia del Cu Zn y Mn al feto durante la gestación.

El feto en desarrollo depende totalmente en la disponibilidad de los elementos traza desde la transferencia materna, entonces el nivel de estos elementos en el feto refleja el estado mineral materna. Los microelementos disponibles al feto desde la madre incluyen aquellos consumidos en la dieta y también los movilizados desde las reservas cuando sea necesario (Van Saun, 2007).

Algunos autores han demostrado que hay un descenso en la concentración de Cu durante gestación tardía por lo cual puede ser consistente con la transferencia de minerales materna al feto. (Patterson *et al.*, 1999)

Numerosos estudios han demostrado una habilidad de concentración mineral hepática del feto excede los valores de la madre casi doble in la mayoría de los casos (Hidiroglou y Knipfel, 1981; Gonneratne y Christensen, 1989, Van Saun *et al.*, 1989^a; Abdelrahman y Kincaid, 1993; House y Bell, 1994; Graham *et al.*, 1994).

1.7: Etiología de la deficiencia de Cu Zn y Mn.

La presentación de deficiencias de un mineral en el organismo se agrupa en dos situaciones generales. Las deficiencias primarias se presentan cuando existe un aporte insuficiente del elemento en los alimentos o agua de bebida (Rayburn, 2009).

Por su parte, las deficiencias secundarias se presentan cuando los elementos están en cantidades adecuadas en el alimento, pero no tienen una absorción y un metabolismo óptimos en el organismo por alguna de las siguientes causas: a) Procesamiento de los alimentos, existe una pérdida de elementos como consecuencia de la refinación; b) interacciones dietarias, se debe a la presencia de sustancias o elementos “antagonista” que compiten por las mismas vías metabólicas o forman complejos no biodisponibles; c) enfermedad adquirida y desórdenes genéticos, suceden cuando se afectan los mecanismos de absorción, excreción o redistribución en el organismo; d) efecto de fármacos, disminuyen la absorción o incrementan la excreción (Bruerton, 2009).

En los rumiantes empleados en producción, la causa más común de deficiencias secundarias es la presencia de elementos o compuestos que causan interacciones en la dieta (Enjalbert *et al.*, 2006)

1.8: Requerimientos de Cu, Zn y Mn en la especie bovina.

Los requerimientos netos de un mineral incluyen aquellos de mantenimiento, que sirven para compensar las pérdidas endógenas, sumados a los de producción (crecimiento, gestación o lactancia). Estos requerimientos indican la cantidad del mineral que debe ser absorbido, por lo cual la dieta debe aportar una cantidad mayor (requerimiento bruto), el cual debe ser cubierto por la dieta. El total de microminerales aportado por la dieta que alcanza los tejidos, es lo que se define como cantidad bio-disponible o coeficiente de absorción (Bavera, 2006^b)

Los requerimientos minerales trazas en los animales son relativamente bajos para el mantenimiento (que sirven para compensar pérdidas endógenas), mientras que los de la reproducción y producción varían con la edad y funciones que deben desarrollar, incluyendo la naturaleza y el nivel de producción. De esta manera queda claro que la incidencia de carencias minerales será más alta conforme sean más intensificados los sistemas de producción y el nivel genético del ganado (Depablos *et al.*, 2009).

Los requerimientos de Mn varían dependiendo del estado fisiológico y de producción. Por ejemplo, en crecimiento y ceba los bovinos requieren 20 ppm en la dieta, mientras que las vacas gestantes y lactantes requieren 40 ppm. El Mn tiene un límite amplio para su suministro. El máximo límite tolerable es de 1000 ppm; sin embargo el Mn interactúa con otros minerales que pueden afectar su límite tolerable o afectar a otros minerales. La deficiencia de Mn se relaciona con bajas tasas de concepción y crecimiento, bajo peso al nacimiento y el incremento en los abortos (Corpoica, 2010).

La multiplicidad de funciones de Zn, las dudas sobre su metabolismo y la incapacidad de evaluar consecuencias subclínicas de la deficiencia hace que los requerimientos de Zn no sean claros. En este sentido pareciera que concentraciones de Zn en la dieta inferiores a 20 ppm de Zn (MS) se asocian con la carencia (Kessler *et al.*, 2003). El empleo del método factorial para ajustar los requerimientos lleva a establecer un requerimiento de 30 ppm (MS) en el alimento para animales de carne (NRC, 2000), y del mismo valor para bovinos de leche, a excepción de la vaca en lactancia que posee requerimientos mayores, añadiendo 24 mg por kg de leche, llevando los requerimientos de un animal de 650 Kg y 40 Kg de leche por día a 63 ppm de Zn (MS) (Spears, 2003). Nocek *et al.*, (2006) lograron mejorar la eficiencia productiva y reproductiva en rodeos lecheros suplementando por encima de los requerimientos del NRC (2007). No resulta extraño encontrar sugerencias distintas, como de 19 ppm (MS) para terneros en crecimiento (Kirchgessner y Heindl, 1993), 40 ppm (MS) para cualquier categoría (McDowell, 2002) o de 50 a 75 ppm (MS) para animales de engorde a corral (Boyles *et al* 1995).

En terneros requerimientos de Cu oscilan entre 6,2 y 7,5 ppm (MS), según la edad y el ritmo de crecimiento (Suttle, 2002), sin embargo, se debió elevar de 8 a 15 ppm (MS) la concentración de

Cu en la dieta para evitar signos clínicos de hipocuprosis en animales en crecimiento (Mills, 1983).

En la vaca lechera adulta se recomienda una concentración de Cu en la dieta de 10 ppm (MS) y de 4 a 10 para el vacuno de carne; estos requerimientos indican la cantidad de Cu que debe ser absorbido, por lo cual las mismas deben aportar una cantidad mayor, que se conoce como requerimiento bruto, siendo los niveles máximos tolerables en la dieta 100 ppm (MS) de Cu (NRC, 2005).

1.9: Diagnóstico y caracterización de la deficiencia de Cu, Zn y Mn en la especie bovina.

La determinación de la existencia de deficiencias minerales requiere realizar análisis químicos de los pastos, aguas y fluidos y tejidos animales de las áreas problema, seguidos de pruebas de alimentación y/o dosificación de los minerales para confirmar la existencia de la deficiencia sospechada. En tal sentido, se ha argumentado que la vía más eficiente para demostrar la existencia de una carencia mineral es la respuesta bioproductiva a su suplementación (McDowell, 2005)

Los niveles de cupremia a partir de los cuales se han observado síntomas clínicos son variables, en regiones templadas y cálidas se han reportado con tenores de Cu sérico inferiores a 7,85 $\mu\text{mol/L}$ (Gartner *et al.*, 1980), otros no han observado síntomas clínicos de deficiencia en ningún momento en animales con cupremias inferiores a este umbral (Rabotnikof *et al.*, 1983).

Las concentraciones del dicho microelemento en sangre reflejan el contenido de la dieta del mismo, siendo influenciadas por la edad, la gestación y las enfermedades; durante la gestación aumenta la cupremia levemente hasta la mitad de la gestación, disminuyendo marcadamente a partir del séptimo mes de la misma (Aiello, 1998), existiendo reportes donde los niveles de Cu no varían durante la lactancia, (Ceballos *et al.*, 2002 y Hernández, 2006).

A excepción de los casos en los que la enfermedad se manifiesta clínicamente, la cupremia como único método diagnóstico es poco confiable y dudoso, sobre todo en situaciones marginales, debido a que en muchas ocasiones animales con bajas reservas hepáticas de Cu pueden tener tenores séricos dentro de rango normal, ya que este órgano sigue enviando sus reservas a la circulación (Quiroz *et al.*, 2003).

El desarrollo de la carencia de Zn en bovinos sigue una serie de fases comunes a otras carencias minerales. Un animal expuesto a un balance negativo de Zn comienza a movilizarlo desde diferentes tejidos, caracterizando la primera fase de carencia llamada depleción. Posteriormente descenden los niveles en plasma, caracterizando la etapa de deficiencia. Cuando el aporte de Zn a los tejidos es crítico comienzan a fallar las metaloenzimas específicas y las funciones dependientes de Zn, caracterizando la etapa de disfunción. Producto de esta última aparecen las consecuencias subclínicas y luego clínicas de la enfermedad. La evaluación de concentraciones de Zn en tejidos sería de utilidad, pero resulta poco práctica por su muestreo invasivo (Puschner *et. al.*, 2004), salvo emplear muestras de pelo, pero que sin embargo no han ofrecido resultados contundentes (Wright y Spears, 2004).

La evaluación de enzimas específicas puede resultar poco precisa o demasiado tardía. Esperar por evidencias clínicas sólo asegura que ya existieron daños subclínicos de la carencia. Ante esta situación la evaluación de la concentración plasmática de Zn (Cinquemia) sigue siendo la elección más común para evaluar el estatus de un rebaño, especialmente en condiciones prácticas ya que su muestreo es sencillo y no invasivo, aunque posee limitaciones. Por un lado la Cinquemia es inestable, descendiendo en respuesta a infecciones o estrés (Cousins *et al.*, 2006, Goff y Stabel, 1990, Norii, 2008).

Por otro lado, es un marcador indirecto de la carencia, ya que su descenso no implica una disfunción sino simplemente una caída en los valores circulantes a los cuales hay que tratar de asociar con el riesgo de disfunciones. Existe un cierto acuerdo en considerar normal a valores de cinquemia superiores a 13,97 $\mu\text{mol/L}$, mientras que concentraciones inferiores a 12,24 $\mu\text{mol/L}$ indicarían carencia, dejando un rango de estado marginal entre ambas (Enjalbert, 2006). Otros autores reportan como límite de deficiencia 12,62 $\mu\text{mol/L}$ (McDowell y Arthington, 2005). El diagnóstico del Mn en suero sanguíneo presenta dificultades, su carencia puede establecerse por la deficiencia del mismo en el pasto y el tejido hepático, acompañado de la baja productividad de los animales y la respuesta a la suplementación de este mineral (McDowell y Arthington, 2005), pero en la actualidad, no existe una prueba diagnóstico simple para evaluar la deficiencia del Mn en los animales. Las funciones reproductivas son mucho más sensibles y

entonces son afectadas antes de cualquier modificación bioquímica, por ejemplo el nivel de la enzima Mn dependiente, Arginasa hepática, o la evaluación de hueso o sangre, sin embargo la manera de diagnostico más directa es de observar la reacción ante la aplicación de una dosis adecuada (Radostitis *et al.*, 2000)

1.9.1: Concentraciones sanguíneas de Cu y Zn.

La evaluación del estado de Cu en el organismo puede hacerse mediante la determinación del Cu en plasma o suero sanguíneo de los animales. Los valores de referencia para el Cu plasmático en bovinos son de 11 a 18 mmol/L (NRC, 2007). Animales con deficiencias de Cu pueden tener cupremias dentro de rango, ya que los tejidos en donde normalmente se acumula siguen enviando sus reservas de Cu a la circulación. Asimismo, animales con intoxicación crónica por Cu pueden tener acumulación excesiva principalmente en el hígado y los niveles séricos encontrarse dentro de rangos de referencia (Quiroz, 2001)

El rango normal de Zn en plasma ó suero de los vacunos es de 12,2 – 18,2 $\mu\text{mol/L}$, los síntomas en el ganado joven comienzan a aparecer por debajo de 3 $\mu\text{mol/L}$. El nivel de Zn en sangre no sería un criterio único para diagnosticar una deficiencia ya que estaría afectado por el lugar donde permanece el ganado, lo que indicaría diferencias en la ingestión del elemento cuando los niveles entre lugares son diferentes. En sangre viaja principalmente unido a albúmina (85%) y el resto unido una α 2-macroglobulina (14 %) y a aminoácidos (1%). Su captación por los tejidos ocurriría por distintos transportadores cuya expresión sería también regulada por el balance celular de Zn (Cousins *et al.*, 2006).

Llama la atención que el mecanismo de incorporación a los tejidos involucre una numerosa y compleja variedad de sistemas, que van desde cotransportes con proteínas y aminoácidos como cisteína e histidina, transportadores asociados a la transferencia de hierro y una amplia variedad transportadores específicos (Tapiero y Tew 2003).

Los análisis de Zn en sangre tienen el inconveniente de la fácil contaminación durante el procesamiento, por lo que debe utilizarse una técnica analítica que emplea todo el material de laboratorio de plástico descartable. Si la muestra no se toma en estas condiciones no vale la pena continuar con el análisis de Zn en sangre. Los elementos de goma, tapones, tubos y

ébolos de jeringas, tienen OZn y no se deben usar cuando se analiza este mineral (Mufarrege y Domingos, 2001).

1.9.2: Concentraciones de Cu Zn y Mn en tejido hepático.

El hígado es el principal órgano de reserva de Cu, Zn y Mn en el organismo, (Suttle, 2002); resultando inevitable la determinación de las concentraciones de dicho elementos trazas en tejido hepático si se quiere conocer este valor con exactitud (Quiroz *et al.*, 2003; Soler *et al.*, 2006).

Diferentes autores tiene varios criterios sobre los parámetros de referencia para estos oligoelemento en el tejido hepático Radostits *et al.*, (2000) sugieren que para Cu son de 100 – 400 ppm y guardan relación lineal con la absorción intestinal cuando la dieta cubre los requerimientos mínimo. En otro lado Bavera (2000^a), señaló valores hepáticos de 200 a 400 ppm. Otros señalan como valores de referencia 100 a 200 ppm (Álvarez, 2001; McDowell, 2005).

El Zn no es depositado en un órgano en particular. Los huesos y los músculos poseen las mayores concentraciones, seguidos por el hígado y la piel. Cuando el aporte por la dieta sobrepasa los requerimientos el Zn se acumula en estos tejidos, mientras que durante un balance negativo sus concentraciones van descendiendo se sugiere que mas de 160 ppm son los valores normal de este elemento en tejido hepático, (Wright y Spears, 2004).

El NRC (2005) refiere que 6 ppm de Mn como valores de este microelemento en el hígado bovino.

1.9.3: Determinación de sustancias con Cu en su molécula

Otras formas que se han establecido para conocer el comportamiento del Cu en el organismo son la medición de actividad o concentración de enzimas que contienen Cu en su molécula. Entre ellas se encuentran la Cp, la citocromo-oxidasa y la SOD de los eritrocitos. El Cp es el principal transportador de Cu en el organismo, aproximadamente 80%-95% del Cu circulante se encuentra unido a la Cp. (Quiroz 2001).

Las células que requieren de Cu para sus procesos vitales lo obtienen a partir de esta molécula. De igual manera, es una enzima con actividad oxidasa sobre sustratos como poliaminas y polifenoles. La Cp cataliza la conversión del hierro, al oxidarlo del estado ferroso al estado férrico a nivel de superficie celular, por éste recibe el sinónimo de ferroxidasa. Este mecanismo

es el que justifica la aparición de anemia en los animales deficientes en Cu. La Cp no puede ganar o perder átomos de Cu en circulación. Se considera que el elemento está en proporción no dializable cuando se une a la Cp y en proporción dializable cuando está ligeramente unido a albúmina. En estados de hipocuprosis se forma una apo-Cp con secuencia de aminoácidos idéntica, pero sin actividad oxidasa. Es necesario que la Cp entre a las células para transferir sus átomos de Cu. Las células requieren un átomo del elemento para formar enzimas como monoamino oxidasa, diamino oxidasa o ascorbato oxidasa (Loeb y Quimby, 2004).

Aunque menos frecuente que la Cp, la SOD se ha empleado como indicador del estado de cobre en los animales y el hombre (Quiroz, 2001), Esta enzima se encuentra principalmente dentro de los eritrocitos, pero también se observa en otros tejidos; su función más importante es la conversión de radicales superóxido en peróxido de hidrógeno. Cuando se presenta una disminución en el estado de Cu en los animales, se ha identificado una disminución en la actividad de la SOD. Aunque hasta ahora no tiene una aplicación rutinaria como método de diagnóstico para el estado de Cu en los animales. En el mundo existen diferentes investigaciones sobre la presentación de hipocupremia en rumiantes (Avila *et al.*, 1997). Sin embargo, no se han podido establecer métodos de diagnóstico sencillos y precisos para este problema.

1.10: Niveles e interrelaciones de Cu, Zn y Mn en el suelo y el pasto.

Debido a que el proceso productivo bovino se basa en la máxima utilización del recurso forraje es necesario estudiar todos los factores que afectan el contenido de nutrientes de los mismos. El suelo, conjuntamente con la especie vegetal y la fertilización, son los factores más comunes que afectan el contenido mineral de las pasturas. Los desequilibrios de minerales (deficiencias o excesos) en suelos y en los forrajes han sido considerados como responsables de la baja producción y problemas reproductivos de los rumiantes en pastoreo en los trópicos (Klassen, 2010), pero generalmente no se ha armonizado el momento en el cual se presentan los máximos requerimientos del animal con la máxima oferta nutricional de los forrajes. Por otra parte, el ganadero debe abortar la práctica de suministro de sal común por un suplemento mineral completo. El buen suministro de sales minerales en diferentes regiones tropicales ha

incrementado el porcentaje de partos de 10 al 50% y han disminuido los abortos de 10% a valores menores de 1%.

Las plantas cubren sus necesidades de microelementos minerales a partir de la solución del suelo, siendo determinante el estudio de la relación suelo-planta. Depablos *et al*, (2009) plantean que los microelementos se encuentran en el suelo bajo cinco estados: Solubilizados en agua en la solución del suelo, intercambiables: iones enlazados por cargas eléctricas de las partículas del suelo, absorbidos, quelatados o formando complejos: la mayoría de los microelementos son metales pesados, capaces de formar complejos con agentes complejantes o quelatantes de la materia orgánica del suelo, minerales primarios: componentes de la roca madre, minerales secundarios: en arcillas y óxidos metálicos insolubles. En el caso del Mn, para que pueda ser absorbido por las raíces de las plantas, debe encontrarse como Mn^{2+} o como quelato de manganeso. Al pH normal de la mayoría de los suelos (5,5-6,5), la mayor parte del manganeso se encuentra como MnO_2 insoluble, por lo que este debe ser reducido y convertido a formas solubles para su asimilación. La quelatación del Mn^{2+} previene su reoxidación e incrementa la movilidad de manganeso reducido en la zona de la rizosfera, siendo la asimilación para las plantas mucho más fácil que la asimilación de hierro.

El Cu^{2+} se liga fuertemente con los ácidos húmicos y fúlvicos, formando complejos con la materia orgánica. En la solución del suelo, hasta el 98 % del cobre se encuentra quelatado por compuestos orgánicos de bajo peso molecular (aminoácidos, ácidos fenólicos, ácidos polihidroxicarboxílicos, etc.). El complejo más simple del ión cobre es el formado con el ión amonio, $Cu(NH_3)^{++}$, el cual es un complejo de color azul oscuro extremadamente soluble. También con el ácido tartárico, el cobre forma un excelente quelato que puede mantenerse en solución en medios fuertemente alcalinos. En solución acuosa, el ion Cu^{2+} es absorbido más rápidamente que el cobre quelatado.

La concentración de Zn depende de la composición del material parental y de la mineralogía del suelo, especialmente de la concentración de cuarzo, de manera que solamente una pequeña fracción del zinc está en forma intercambiable o soluble. Aproximadamente, la mitad del Zn

disuelto está presente como catión zinc hidratado, siendo, por lo general, la absorción de este elemento un proceso relativamente fácil para las plantas.

El estado de madurez del forraje es de importancia sobre el contenido de proteína y de minerales en las plantas, ya que durante la etapa inicial de crecimiento se presenta un alto contenido de minerales, contrario a la disminución gradual que se presenta a medida que la planta madura. Minerales como el P, Zn, Fe, Co y Mo son los que presentan mayor disminución durante el proceso fisiológico de crecimiento y maduración de la planta. Se ha encontrado disminución del cobre de 10 ppm a menos de 4 ppm en pastos que maduran, mientras que en el P la diferencia va de 0,25% a valores inferiores a 0,10% ((Depablos *et al.*, 2009). En la tabla se demuestra los límites críticos en el suelo y en el pasto de los oligoelementos Cu, Zn y Mn.

Tabla 2. Concentraciones minerales de pastos y suelos

Elemento	LC en Pasto	LC en suelo
Cu (ppm)	10	0.6
Mn (ppm)	40	19
Zn (ppm)	30	2

Los niveles críticos de minerales en el suelo y pasto que son sugestivos de deficiencias son establecidos según McDowell y Arthington, (2005).

1.11: Suplementación del Cu por vía oral y su repercusión sobre aspectos bio-productivos.

Existen varios métodos de suplementación de minerales, dentro de los cuales habría que analizar cuál se adapta mejor a nuestras condiciones de manejo o sistema de producción. En términos generales frente a cuadros de deficiencia de minerales, debe considerarse la suplementación con productos orales, dado que es imposible suministrar por vía parenteral las dosis diarias requeridas. La suplementación oral es la forma más natural de aportar los minerales. Básicamente se considera que lo que entra por boca es más eficiente, porque los minerales no sólo son fundamentales en el metabolismo animal, sino que también juegan un papel importante en el ambiente ruminal al mejorar la digestibilidad y aprovechamiento del forraje (NRC, 2007). Estas mezclas de sales minerales orales, pueden ser de presentación sólida o líquida. Tradicionalmente para el tratamiento y profilaxis de carencias minerales se ha recomendado la suplementación de los animales con sales inorgánicas a voluntad, en tal sentido, recientemente se

obtuvieron efectos satisfactorios sobre el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras en la región oriental de Cuba al introducirse una sal mineral a voluntad, adaptada a las condiciones de explotación de esos rebaños (Fajardo, 2009).

Sin embargo, la vía oral tiene varios inconvenientes, en primer lugar la gran cantidad de antagonistas que interfieren su absorción y metabolismo, además por ella no se controla el consumo del mineral por los animales y como consecuencia de estos dos factores puede presentarse la carencia en los mismos (Lipps *et al.*, 2009).

1.12: Ventajas de la suplementación con sales inyectables de Cu Zn y Mn.

La suplementación con productos inyectables se utilizarse para suplementar de microelementos y resulta esencial un diagnostico correcto y dosis apropiadas para corregir las carencias que generalmente se interrelacionan. Suelen ser de gran utilidad para el tratamiento y prevención de síndromes de origen carencial, el período de acción está condicionado a la formulación y la capacidad del animal de retener estos microelementos en los tejidos de depósito (Kinal *et al.*, 2007). Estos tratamientos inyectables son sumamente efectivos cuando se los utiliza en forma estratégica previo a períodos fisiológicos de mayor demanda.

En Cuba, se han reportado resultados positivos en relación a la utilización de la vía subcutánea para la aplicación de micro elementos, especialmente en la provincia de Villa Clara donde se reportó un aumento significativo de los niveles del cobre séricos después de un ciclo de tratamiento con este microelemento en vacas lecheras, las que mejoraron los indicadores reproductivos y productivos con notables beneficios económicos (García *et al.*, 2006). En otras partes del mundo, hoy en día se han incrementado las investigaciones sobre la utilización de la vía parenteral para la administración de los microelementos, como una alternativa más efectiva y eficientes económicamente, obteniéndose una respuesta favorable (Black y French, 2004).

1.13: Intoxicación por Cu, Zn y Mn en bovinos.

Cu es elemento esencial siendo parte de muchas metaloenzimas y proteínas, sin embargo es extremadamente tóxico cuando ingerido en exceso (Bailey *et al.*, 2001; Engle *et al.*, 2001; López-Alonso *et al.*, 2005; Blanco-Penedo *et al.*, 2006; López-Alonso *et al.*, 2005;

Christodouloupoulos y Roubies, 2007). Intoxicación por este elemento es responsable de muchas pérdidas económicas por la mortalidad de los animales (Headley *et al.*, 2008).

Los bovinos son relativamente resistentes al intoxicación por Cu ya que pueden ingerir hasta 100 mg de Cu/Kg en la dieta (Engle *et al.*, 2001; Radostits *et al.*, 2002; López-Alonso *et al.*, 2005; Blanco-Penedo *et al.*, 2006; López-Alonso *et al.*, 2006) y en los terneros la torelancia en la dosificación en la leche es desconocida sin embargo 50 ppm no causó intoxicación pero una dosis de 200-500 ppm en la leche redujo la GMD de los mismo (Jenkins Hidroglou, 2001).

Cu es acumulada en el hígado de los animales resultado en severo cambios funcionales y puede causar la muerte (Bailey *et al.*, 2001; López-Alonso *et al.*, 2005; López-Alonso *et al.*, 2005^a; Blanco-Penedo *et al.*, 2006; Christodouloupoulos y Roubies, 2007; Power, 2006; Headley *et al.*, 2008). La distribución de Cu en el hígado es mayor en citosol y en el núcleo (López-Alonso *et al.*, 2005)

Animales intoxicado por acumulación de Cu en el hígado presenta muerte de hepatocitos por daño oxidativo, es decir perioxidación de lípidos de la membrana celular y el Cu es liberado en el flujo sanguíneo aumentado su concentración en el suero por lo cual causa la hemolisis de los glóbulos rojos (Costa *et al.*, 2003; Fazzio *et al.*, 2008; Nwude *et al.*, 2011) desnaturalización y conversión a la metahemoglobina. Este hemolisis masivo en asociación con la depleción de la Hb causa anemia, ictericia y menos oxígeno es transportado causando hipoxia al animal. Además puede ocurrir la hemoglobinuria. Con la muerte de los hepatocitos la excreción biliar es reducida por lo cual favorece la acumulación del Cu en el hígado en la tabla 3 se puede apreciar la consecuencia de alta ingestión de Cu, Zn y Mn.

Tabla.3 Dosis tóxica de Cu, Zn y Mn en bovinos (López-Alonso *et al.*, 2006; Radostits *et al.*, 2007)

El.	Dosis toxico	Efecto observado
Cu	20-110 mg de Cu/Kg PV	Intoxicación aguda en terneros
	20- 400 mg CuS/Kg PV (dosis única)	Intoxicación aguda en vaca adulta
	220-880 mg Cu/Kg PV (dosis única)	Muerte del animal
	3-4 mg Cu/Kg PV (diario)	Intoxicación crónica en adulto
	1-2 mg Cu/Kg PV (diario)	Intoxicación crónica en ternero
Mn		Reducción de 22% de GMD y 12% de la conversión alimentaria
	1 000 ppm de Mn	Aumento la concentración plasmática ester de colesterol (porción HDL) y triglicéridos
		Aumento de triglicéridos en el hígado
	≥ 2 000 ppm	Intoxicación
	700 mg de Zn/Kg en dieta	Terneros presenta reducción en GMD, ingestión de alimentos, digestibilidad de nitrógeno y hematocrito.
Zn		Alta % de ternero con neumonía y trastornos urinarias y muerte
	706 mg de Zn en la leche	
	900 a 1 000 de Zn/Kg en la dieta	Retardo en crecimiento, reducción en digestibilidad de nitrógeno y hematocrito
	2 000 mg/Kg en la dieta	Disminución de la producción láctea.
	150 mg del Oxido de Zinc	Muerte de animal

Mn es considerado como elemento mineral con baja toxicidad en los animales (Carvalho *et al.*, 2003), pero con exceso puede causa intoxicación (Crossgrove y Yokel, 2005). Los niveles máximo tolerables en bovinos son de 1 000 ppm, las dosis de Mn que pueden causa la intoxicación son descrita en la tabla 3. Alta concentración de dicho elemento en la sangre también aumenta los triglicéridos en la sangre y reduce esfingomielina en el corazón con la formación de tóxicos con consecuencia de trastornos neurológicos (Takeda, 2003). El diagnóstico de la intoxicación puede ser relevado determinado la concentración del dicho elemento en el hígado, un nivel por encima de 70 ppm es considerado tóxico.

Según Stöber (1989), un consumo diario de dieta que contenga 2 000 ppm de Zn por seis semanas solamente aumentó la concentración del dicho elemento en la sangre y vacas consumiendo ocho gramos del Zn, el único cambio que se notó es el aumento de dicho oligoelemento en la leche, también ternero que consumieron 1 000 ppm de Zn no presentaron manifestaciones de intoxicación. La dosis que causa intoxicación no es bien definida pero algunos autores tienen diferentes criterios, tabla 3, (López-Alonso *et al.*, 2006 Radostits *et al.*, 2002).

Los animales intoxicados por el Zn pueden presentar las siguientes síntomas, inapetencia, somnolencia, constipación crónica, (Stöber, 1989; Radostits *et al.*, 2002) diarrea verdosa y veces sanguinolenta, deshidratación y edema subcutáneo, anemia, una marcada disminución de la producción láctea y disminución de las bacteria celulolíticas. El tratamiento incluye aplicación de hidróxido de hierro como antídoto

Capítulo 2: Parte experimental.

2.1: Materiales y métodos generales.

2.1.1: Unidades donde se desarrolló la investigación.

La investigación se desarrolló en 5 unidades de producción, de dos ecosistemas ganaderos, típicos de la ganadería bovina en la provincia de Villa Clara. Un ecosistema de llanura con dos vaquerías y un centro de novillas y un ecosistema de premontaña con dos vaquerías, todos pertenecientes a la empresa pecuaria "La Vitrina".

2.1.2: Clima del área experimental.

La temperatura promedio anual de la zona es de 24.32°C, siendo el mes más caliente junio, con 25.9°C y los meses más fríos diciembre y enero, con 20.9°C y 20.2°C, respectivamente. Las temperaturas máximas alcanzan 33.6°C en agosto y las mínimas bajan hasta 11.9 °C en enero; según datos del Centro Meteorológico Provincial.

La suma promedio de precipitación anuales es de 1530 mm, con un promedio mensual de 127.5 mm; los mayores valores se encuentran en octubre y junio con 292.4 mm y 267.4 mm respectivamente y los menores en Enero, con solo 25.4 mm. La lluvia caída durante la estación lluviosa (mayo – octubre) representa como promedio el 73.3 % del volumen total anual.

La insolación promedio anual es de 7.02 horas, con mayor valor en abril (7.53 horas), junio presenta el menor valor de este indicador con 6.23 horas. Los días más largos ocurren entre mayo y julio y los más cortos entre noviembre y enero.

La evaporación en la zona aumenta a partir de enero, con valores máximos en abril (101 mm) y noviembre (94 mm). Por su parte, la humedad relativa promedio anual es de 82.7%, con mayor valor en Mayo (87.5%) y menor valor en abril (76.0%).

2.1.3: Animales utilizados.

Para los estudios se utilizaron vacas entre 6 y 8 años de edad y entre segunda y tercera lactancia y novillas incorporadas a la reproducción, todas del genotipo Holstein x Cebú (H x C), libres de brucelosis, tuberculosis y clínicamente sanas.

2.1.4: Sacrificio de los animales.

Las muestras de hígado se obtuvieron de animales desechados por baja producción láctea, sacrificados en un matadero bovino de la provincia de Villa Clara mediante insensibilización eléctrica y posterior desangrado por sección de la vena yugular.

2.1.5: Sistema de manejo y alimentación.

En el periodo lluvioso el sistema de pastoreo es rotacional en línea y en el periodo poco lluvioso el sistema de pastoreo es restringido en el tiempo, con una intensidad de pastoreo de 54.0 UGM $\text{há}^{-1} \text{ día}^{-1}$, una carga global de 1.5 animales ha^{-1} , pastoreando 16 h diarias, donde el alimento fundamental fue el pasto, el cual mantuvo una disponibilidad media por animal de 17.3 kg /vaca/día de materia seca en el periodo lluvioso, y de 7.5 kg MS/vaca/día en el periodo poco lluvioso, con suplementación mineral a base de fosfato dicálcico.

Las vacas se ordeñaban de forma manual, dos veces al día, entre las 2 a.m. y las 5 a.m., y entre las 2 p.m y 5 p.m, empleándose el sistema de amamantamiento restringido para la crianza de los terneros, en el caso del ecosistema de premontaña y crianza artificial en el ecosistema de llanura.

2.1.6: Producto empleado y forma de administración.

En la terapéutica de las carencias de Cu, Zn y Mn se empleó formulación que contiene CuSO_4 al 1 %, ZnSO_4 al 2 % u MnSO_4 al 1 %; pre establecida y utilizada por los laboratorios Pharmavet y KÖnig, que fue reformulada y producida, con un peso molecular de 351.80 g/mol, una pureza entre 98.5 % y 102 % calculado en base anhidra, punto de fusión $173\text{ }^{\circ}\text{C} - 179\text{ }^{\circ}\text{C}$ contenido de humedad inferior al 3,5 %.

El producto fue administrado siempre por vía subcutánea, alejado del sitio de inyección en la región lateral posterior del cuello.

2.1.7: Toma de muestras.

2.1.7.1: Calculo de la población a estudiar.

El tamaño de la muestra se calculó de acuerdo a lo recomendado por OPS (1991), para estudios de dos proporciones teniendo en cuenta la diferencia entre grupos obtenida por observación previa del investigador.

2.1.7.2: Sangre.

Las muestras de sangre para los análisis hematológicos se tomaron por venopuntura de la yugular (5 ml), se utilizaron tubos de ensayo con anticoagulantes (EDTA) a una concentración de 1 mg/mL de sangre, previamente tapados y esterilizados. Las muestras para los análisis de minerales se tomaron por el mismo método en tubos de ensayos sin anticoagulante, esterilizados y desmineralizados; depositándose en ellos una cantidad de 10 mL de sangre; las mismas se centrifugaron a 900 g durante 10 minutos, obteniéndose el suero sanguíneo, el que se almacenó a -10 °C hasta su análisis.

2.1.7.3: Hígado.

Dentro de los 15 minutos posteriores al sacrificio de los animales se obtuvieron muestras del borde ventral del lóbulo derecho (15 cm³), previa inspección general de la víscera para descartar alguna alteración. Las muestras se conservaron a -10 °C hasta el análisis.

2.1.8: Técnicas y procedimientos utilizados.

2.1.8.1: Sangre.

La hemoglobina se determinó por el método de cianometahemoglobina (Drabkin, 1970), dosificada fotolorimétricamente con un Spekol-11 de fabricación Alemana y el hematocrito, por microhematocrito con tubo capilar.

Las determinaciones de minerales en suero sanguíneo (Ca, Mg, Na, K, Zn, Fe y Cu) se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (Miles *et al.*, 2001), en un equipo SP-9 de la firma PYE UNICAM según los procedimientos del fabricante. El fósforo (P) se determinó por el método colorimétrico descrito por los autores citados anteriormente.

2.1.8.2: Hígado.

Las determinaciones de Cu en tejido hepático se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (Miles *et al.*, 2001) en un equipo SP-9 de la firma PYE UNICAM, según los procedimientos del fabricante.

2.1.8.3: Condición Corporal.

La condición corporal (CC) se diagnosticó por inspección clínica y clasificándola en la escala de 5 puntos (Parker, 1989).

2.1.8.4: Análisis de los indicadores reproductivos.

Se analizó la situación reproductiva por los procedimientos recomendados por Brito (2001), evaluándose en las novillas la edad a la incorporación (EI), Intervalo incorporación-primera inseminación (IIP), incorporación gestación (IIG), Edad al Parto (EP) e Intervalo incorporación-Parto (IIP). En las vacas se estudiaron el Intervalo Parto-Primera Inseminación (IPPI), Periodo de Servicio (PS), Intervalo Parto-Parto (IPP) y el Índice de Inseminación (II).

2.1.8.5: Exámenes ginecológicos.

A todos los animales se les realizó el examen ginecológico para determinar posibles patologías del aparato reproductor y confirmar las gestaciones según la metodología descrita por Holy, (1987).

2.1.8.6: Metodología para la detección del celo e inseminación artificial.

Durante todo el periodo de observación, en los experimentos que fue necesario, la detección del celo se realizó de 6-10 a.m. y de 2-6 p.m. por un hombre entrenado auxiliado por toros receladores (desviación de pene) en una relación toro\vaca de 1:25 (Pedroso y Roller, 2004). La inseminación se efectuó aplicando el método cervical profundo por un técnico experimentado, con una eficiencia técnica entre 50 y 55% en los últimos 4 años, usando semen congelado en pastillas de toros de fertilidad probada.

2.1.9: Criterios de inclusión y exclusión.

En todos los experimentos se utilizaron novillas y vacas, en etapa reproductiva, sin patologías en su aparato genital y clínicamente sanas, según examen clínico (Cuesta *et al.*, 2007); excluyéndose aquellos animales que no cumplieron los requisitos de inclusión, además como criterio de salida se establecieron el sacrificio o muerte del animal, enfermedad crónica del aparato reproductor e incumplimiento de las indicaciones médicas preestablecidas.

2.2: Experimento 1: Caracterización de la deficiencia de Cu, Zn y Mn, en el suelo y el pasto de dos ecosistemas ganaderos de la provincia Villa Clara.

2.2.1: Introducción.

Se conoce que las deficiencias minerales en bovinos en pastoreo, en el mundo, es uno de los factores limitantes de los sistemas de producción; en empresas pecuarias de la región central de nuestro país se diagnosticaron altas proporciones de vacas, novillas y sementales vacunos con carencias de los mismos, que estaba afectando la reproducción y la producción láctea (García *et al.*, 2005). Esta situación coincide con estudios recientes que demuestran que la insuficiencia de minerales en esta especie es un problema generalizado en todo el país, asociadas con severos trastornos reproductivos (Pedroso *et al.*, 2009).

En nuestras condiciones los niveles de macroelementos se estudiaron en el eje suelo-planta-animal (Rodríguez *et al.*, 2006); sin embargo, en el caso de los microelementos resultan escasos los estudios de los niveles de los mismos en el eje suelo-planta-animal y los reportes recientes, aunque demuestran su deficiencia han sido realizados en un solo tipo de suelo (García *et al.*, 2010).

En la actualidad se requiere realizar una investigación de los niveles de microelementos en diferentes tipos de suelos destinados a la ganadería y el pasto que sobre los mismos crece con el fin de conocer el estatus mineral en diferentes ecosistemas ganaderos típicos de la ganadería cubana actual

Por tal razón este experimento tiene como objetivo evaluar el contenido de Cu, Zn y Mn en suelo y el pasto, de dos ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.

2.2.2: Materiales y Métodos.

Ubicación y características del área experimental.

El presente estudio se desarrolló en cinco unidades de producción de dos ecosistemas ganaderos, típicos de la ganadería bovina en la provincia de Villa Clara. Uno ubicado en la llanura y el otro de premontaña pertenecientes a la empresa pecuaria "La Vitrina".

Suelo del área experimental

En el área experimental predominan los suelos pardos con carbonatos, de rápida desecación, arcillosos y profundos sobre rocas calizas (Hernández y Pérez, 1975).

Estos suelos son equivalentes al grupo de los Cambisoles en el sistema de clasificación de suelos FAO-UNESCO (Hernández *et al.*, 2001).

Procedimiento experimental.

Se utilizaron cinco unidades pecuarias representativas, dos vaquerías en el ecosistema de llanura y un centro de novillas, mientras que en el ecosistema de premontaña se investigaron dos rebaños lecheros, determinándose la composición mineral del suelo y el pasto.

Toma de muestras y procedimientos analíticos.

Suelo.

Para la obtención de las muestras de suelo se siguieron los procedimientos descritos por Rodríguez (2000). Estas después de secadas al aire se pasaron por un tamiz con malla de 0.5 mm y se les determinó la materia orgánica mediante el método colorimétrico de Walkley y Black (citado por Jackson, 1970) y el pH por el método potenciométrico, según la NRAG 878/1987; el P₂O₅ y K₂O mediante fotolorimetría, por el método de Oniani (1964). Los minerales trazas (Cu, Zn, Fe y Mn), se evaluaron por espectrofotometría de absorción atómica, según la NRAG 894/1988.

Pasto.

Las muestras de pasto fueron colectadas entre las 9 a.m. y las 12 m, según la NRAG 559/1982. Las mismas se enviaron al laboratorio, donde primeramente fueron colocadas en una estufa a 60 °C durante 72 horas y molidas. Para la determinación de los minerales trazas (Cu, Zn, Fe, Mn), la ceniza se diluyó con 10 mL de ClH al 10 % y se llevó a volumétrico de 100 ml enrasándose después con agua desionizada; evaluándose los mismos por espectrofotometría de absorción atómica (Miles *et al.*, 2001), en un equipo SP-9 de la firma PYE UNICAM según los procedimientos del fabricante.

Composición botánica.

Se determinó al inicio del experimento en cada época por el método propuesto por t'Mannetje y Haydock, (1963), realizándose 90 observaciones por hectárea; las observaciones de esta evaluación fueron calculados mediante programa de computación ANALIT ver 3.0 y sus resultados pueden apreciarse en la tabla 2.2.1.

Tabla 2.2.1. Valores medios de la composición botánica (%) en 5 unidades de la zona centro sur de la provincia Villa Clara en el periodo lluvioso y poco lluvioso.

Especie	Periodo lluvioso	Periodo poco lluvioso
<i>Paspalum notatum</i>	35	30
<i>Dichantium annulatum</i>	45	37
<i>Cynodon dactilum</i> cv común	2	0
<i>Panicum maximun</i> cv común	8	7
<i>Cynodon nlemfuensis</i>	10	4
Área despoblada	0	22

Rendimiento de biomasa verde.

Se realizó por el método de Haydock y Shaw (1975), antes de la entrada de los animales al cuartón y posteriormente a su salida para determinar el consumo, de acuerdo al tiempo de ocupación de los cuartones, para lo cual se utilizó el paquete de programas computarizado CALRAC ver 1.0 (1996), además se usó en la determinación del balance alimentario efectuado en cada zona CALRAC ver 1.0 (1996). Para el balance de los minerales (Cu, Zn y Mn), se consideraron los requerimientos establecidos para los mismos por la NRC (2001), calculándose las necesidades y el aporte de estos a partir del consumo de materia seca estimado en el balance alimentario, sobre la base de estos se estableció la diferencia y el por ciento de los requerimientos.

Procesamiento estadístico.

Para los procesamiento estadísticos se empleó fundamentalmente el paquete estadístico Statgraphics Ver Centurión XV.II. Se calcularon los estadísticos descriptivos para todas las variables; en el suelo se compararon las variables determinadas entre los periodos lluvioso y poco lluvioso de cada ecosistema mediante una prueba de t-Student para muestras

independientes; en el pasto se comparó el porcentaje de muestras deficientes en los microelementos mediante una comparación de proporciones.

2.2.3: Resultados y discusión.

El resultado del análisis químico del suelo en el ecosistema de llanura (tabla 2.2.1) ofreció valores de la materia orgánica (MO) de 4.94 ± 0.98 ; aunque el 24.5 % de las muestras presentaron valores superiores al 5 %, considerado el límite crítico para este tipo de suelo (Cairo y Fundora, 2005) son superiores a los reportados en otros trabajos (Vargas *et al.*, 2002 y Rodríguez *et al.*, 2006).

El pH de este ecosistema se clasifica como neutro y están en correspondencia con otros estudios desarrollados sobre suelos pardos con carbonatos (Vargas *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2006).

El P se encuentra deficiente en el 75.4 % de las muestras examinadas, con valores promedios muy bajos en relación con el límite de deficiencia de este mineral en el suelo, que están en correspondencia con otros trabajos realizados en condiciones similares (Vargas, 2008; García, 2008), corroborando de este ecosistema la afirmación de que el P es uno de los elementos más deficitarios en los suelos ganaderos de Cuba (Crespo y Duran, 1990). En cambio las concentraciones promedios de K_2O son consideradas altas (Fundora y Yepis, 2000) y coinciden con otros estudios (Vargas, 2008; García, 2008), aunque el 20.7 % de las muestras presenta valores deficientes.

Tabla 2.2.1: Estadística descriptiva de algunas variables químicas del suelo en las unidades investigadas en el ecosistema de llanura (n=35)

Variable	$\bar{x} \pm DE$	IC 95%	LC*	Muestras deficientes	
				n	%
MO (%)	4.94 $\pm$ 0.98	4.03 – 5.34	< 5	13	24.50
pH	6.25 $\pm$ 0.67	6.08 – 6.42	–		
P ₂ O ₅ (mg/100g)	10.72 $\pm$ 4.04	7.70 – 11.74	15	40	75.40
K ₂ O (mg/100g)	14.81 $\pm$ 5.64	13.31–16.31	10	11	20.70
Cu (ppm)	1.37 $\pm$ 1.25	1.02 – 1.71	0.60	22	41.50
Fe (ppm)	19.23 $\pm$ 8.16	16.43 – 22.03	2.50	0	0
Mn (ppm)	37.21 $\pm$ 17.86	32.20 – 42.13	19	18	33.90
Zn (ppm)	2.05 $\pm$ 0.91	1.19 – 2.30	2	30	56.60

Los niveles críticos de minerales en el suelo que son sugestivos de deficiencias son establecidos según McDowell y Arthington, (2005).

Se encontraron deficiencias de Cu, Mn y Zn en el 41.5, 33.9 y 56.6 % de las muestras investigadas, respectivamente, con valores inferiores a los niveles críticos establecidos para los mismos por McDowell y Arthington, (2005). Los resultados obtenidos en el Mn y el Zn coinciden con los reportados para ecosistemas localizados en la misma región (García, 2008); este autor reportó un porcentaje de muestras deficientes en Cu superior a lo encontrado en la presente investigación, aunque en la misma se corrobora que la carencia de este microelemento en el suelo está ampliamente distribuida en las regiones tropicales (Tiffany *et al.*, 2000; McDowell y Arthington, 2005; Kalmbacher *et al.*, 2005)

Estos valores de Cu disminuidos en el suelo en este ecosistema, unido a los altos niveles de materia orgánica en el mismo, que lo antagonizan al formarse uniones muy fuertes entre ambos lo hacen no asimilable por la planta y por tanto no llega al animal, situación ésta observada con anterioridad (Arthington, 2003).

En el ecosistema de montaña (tabla 2.2.2) la situación es similar en cuanto al P, con marcadas deficiencias de este mineral; Si embargo, en estas condiciones se detectó un porcentaje de muestras deficientes en K₂O (42.5 %), significativamente superior al ecosistema de

llanuras ($P<0.05$) e inferior en el caso del Cu ($P< 0.05$) de Mn y Zn ($P<0.01$). Lo anterior demuestra las variaciones de estos minerales en los diferentes ecosistemas estudiados.

Tabla 2.2.2: Estadística descriptiva de algunas variables químicas del suelo en las unidades investigadas en el ecosistema de premontaña (n=40)

Variable	$\bar{x} \pm DE$	IC 95%	LC*	Muestras deficientes	
				n	%
MO (%)	4.51 ± 1.12	3.94 – 5.21	< 5	10	25
pH	5.24 ± 0.7	5.03 – 5.46	-		
P ₂ O ₅ (mg/100g)	8.40 ± 3.86	7.17 – 9.64	15	32	80
K ₂ O (mg/100g)	15.54 ± 8.93	13.05 – 18.02	10	18	42.50
Cu (ppm)	2.88 ±1.34	2.45 – 3.31	0.6	9	22.50
Fe (ppm)	21.48 ± 7.84	18.97 – 23.99	2.5	1	2.50
Mn (ppm)	51.09 ± 11.54	47.40 – 54.78	19	3	7.50
Zn (ppm)	3.08 ± 1.00	2.44 – 3.725	2	10	25

*Los niveles críticos de minerales en el suelo que son sugestivos de deficiencias son establecidos según McDowell y Arthington, (2005).

Los coeficientes de variación (CV) para el Zn (CV = 43.06 y 54.84 %), Cu (CV = 57.70 y 46.53 %), Fe (CV = 42.43 y 36.25 %) y el Mn (CV = 48 y 22.58%) en los ecosistemas de llanura y premontaña respectivamente, indican que existe una marcada variabilidad en los niveles de estos microelementos en las muestras investigadas, lo que pudo deberse a las características del suelo de donde fueron tomadas, tales como pH, drenaje, relieve, arrastre de las partículas de suelo debido a la acción de las lluvias (McDowell y Arthington, 2005). No obstante, se requieren investigaciones futuras para profundizar en las causas de las variaciones del contenido de microelementos en la zona de estudio.

Las concentraciones de Fe y Mn en ambos ecosistemas son como promedio, excesivamente altos (McDowell y Arthington, 2005). En el caso del Fe, los resultados son similares a los obtenidos en la Florida (Kalmbacher *et al.*, 2005) y pueden condicionar una deficiencia de Cu secundaria en los animales (McDowell y Arthington, 2005).

Al analizar el efecto de la época del año sobre la composición química del suelo en el ecosistema de llanura (tabla 2.2.3), se apreció que la mismo influyó significativamente sobre los niveles de Cu ($P< 0.05$) y Mn ($P< 0.001$) a favor del periodo lluvioso y el pH ($P< 0.001$), que fue superior en el periodo poco lluvioso.

Tabla 2.2.3: Comparación de los valores de las variables químicas en el componente suelo según el periodo del año en el ecosistema de llanura.

Variable	Periodos	
	Lluvioso $\bar{x} \pm DE$	Poco lluvioso $\bar{x} \pm DE$
MO (%)	3.98 ± 1.35^a	4.21 ± 1.3^a
pH	$5.76 \pm 0.73^{b***}$	6.62 ± 0.28^a
P ₂ O ₅ (mg/100g)	12.67 ± 12.67^a	10.90 ± 6.95^a
K ₂ O (mg/100g)	13.48 ± 6.54^a	15.77 ± 4.76^a
Cu (ppm)	$1.92 \pm 1.22^{a*}$	0.94 ± 0.71^b
Fe (ppm)	26.41 ± 8.26^a	20.70 ± 7.88^a
Mn (ppm)	$29.64 \pm 19.08^{b***}$	47.08 ± 9.70^a
Zn (ppm)	2.06 ± 0.98^a	2.03 ± 0.86^a

ab medias con letras diferentes en los superíndices indican diferencias estadísticas significativas (t-Student para muestras independientes). * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

En el ecosistema de premontaña (tabla 2.2.4), la época del año influyó de manera significativa sobre los niveles de Cu ($P < 0.001$), Fe ($P < 0.05$) y Mn ($P < 0.05$), a favor del periodo lluvioso. Sin embargo, los niveles de P₂O₅ fueron superiores en ($P < 0.05$) el periodo poco lluvioso

Tabla 2.2.4: Comparación de los valores de las variables químicas en el componente suelo según el periodo del año en el ecosistema de premontaña.

Variable	$\bar{x} \pm DS$ Periodos	
	Lluvioso	Poco Lluvioso
MO (%)	4.43 ± 1.65^a	4.87 ± 0.63^a
pH	5.14 ± 0.66^a	5.36 ± 0.89^a
P ₂ O ₅ (mg/100g)	$7.26 \pm 3.16^{b*}$	10.51 ± 5.12^a
K ₂ O (mg/100g)	14.14 ± 8.84^a	16.74 ± 8.99^a
Cu (ppm)	$3.44 \pm 0.97^{a***}$	1.83 ± 1.33^b
Fe (ppm)	$23.40 \pm 5.79^*$	17.93 ± 9.96^b
Mn (ppm)	$54.00 \pm 6.76^{a*}$	45.69 ± 16.21^b
Zn (ppm)	3.10 ± 2.13^a	3.05 ± 1.79^a

ab medias con letras diferentes en los superíndices indican diferencias estadísticas significativas (t-Student para muestras independientes). * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

La diferencia de pH en el suelo encontrada en el ecosistema de llanura puede estar dada porque durante las lluvias son demovidas por el agua las bases del suelo, entre ellas el K₂O, lo provoca una disminución del pH en el periodo lluvioso (Rodríguez *et al.*, 2006).

Al analizar los resultados de los microelementos en el pasto (tabla 2.2.5), se aprecia que la deficiencia más acentuada fue la de Cu, siendo la proporción de muestras deficientes en este microelemento significativamente superior ($P < 0.05$) en el ecosistema de llanura. En el caso del Zn, el segundo más deficiente, se aprecia que la carencia fue superior en el ecosistema de premontaña ($P < 0.05$), situación similar a la del Mn. No se apreciaron deficiencias significativas de Fe, la carencia de este microelemento en los pastos es rara (McDowell y Arthington, 2005).

Tabla 2.2.5: Estadística descriptiva de los microelementos del pasto en los dos ecosistemas estudiados.

Variable	X ± DE	IC 95%	LC*	Muestras deficientes	
				N	%
Ecosistema de llanura (n= 43)					
Mn (ppm)	37.37± 6.67	35.31 - 39.42	< 40	25	58.10 ^a
Cu (ppm)	5.57±1.90	4.90 - 6.16	< 10	42	97.60 ^a
Zn (ppm)	32.40 ± 8.021	29.93 - 34.87	< 30	12	28 ^b
Fe (ppm)	54.30 ± 3.63 ^a	51.50 – 57.09	< 50	3	6.60 ^a
Ecosistema de premontaña (n = 36)					
Mn (ppm)	24.55 ±11.11	18.63 - 30.48	< 40	13	81.20 ^b
Cu (ppm)	7.03 ± 3.44	5.20 - 8.87	< 10	14	87.50 ^b
Zn (ppm)	17.68 ± 8.22	13.30 - 22.06	< 30	15	93.70 ^a
Fe (ppm)	54.31 ± 3.96	51.30 – 57.40	< 50	3	5.50 ^a

Letras diferentes en los porcentajes de muestras deficientes de los microelementos en el pasto entre los diferentes ecosistemas indican diferencias estadísticas significativas $P < 0.05$ (comparación de proporciones)

Las gramíneas tropicales presentan grandes variaciones en su contenido de microelementos (MacPherson, 2000); los niveles de Cu obtenidos en este trabajo están en correspondencia con los reportados en otros estudios donde el contenido de este mineral en gramíneas tropicales ha sido deficiente, fluctuando entre 3.5 y 6.2 ppm (McDowell y Valle, 2000; McBride y Cherney, 2004; Ndebele *et al.*, 2005).

Los bajos tenores de Mn en el pasto de ambos ecosistemas, aún cuando el suelo de los mismos contiene elevadas concentraciones de este microelemento, puede estar dado por los niveles del pH (6.25 y 5.24 en la llanura y la premontaña, respectivamente); existiendo menores niveles de

Mn en el ecosistema de menor pH. Está demostrado que a pH normal entre 5.5 - 6.5 la mayor parte del Mn se encuentra como MnO₂, que es insoluble, por lo que este debe ser reducido y convertido a formas solubles para su asimilación (Depablos *et al.*, 2009)

Además, similares a los obtenidos en Cuba donde se han reportado el 100 % de las muestras deficientes (González *et al.*, 1984; Vázquez, 1992; García, 2008; pero contrastan con los alcanzados en varias empresas de la zona occidental, donde los pastos presentaban adecuado contenido de Cu (Gutiérrez *et al.*, 2006). En el caso de los demás microelementos (Mn y Zn) se corresponden con los reportes de García *et al.* (2010).

El estudio del efecto de la época del año sobre las concentraciones microelementos en el pasto de ambos ecosistemas (tabla 2.2.6), evidenció que la misma solo influyó de manera significativa sobre los niveles de Cu en la llanura ($P < 0.05$), a favor del periodo poco lluvioso, lo que puede estar motivado por el estado de madurez y el contenido de agua de las plantas en este periodo.

Tabla 2.2. 6: Comparación de los niveles de microelementos en pastos entre los periodos climáticos en los ecosistemas estudiados ($\bar{x} \pm DE$)

Microelementos	Ecosistema Premontaña		Ecosistema Llanuras	
	<i>P LL</i>	<i>P PLL</i>	<i>P LL</i>	<i>P PLL</i>
Cu (ppm)	8.08 ± 4.30 ^a	5.68 ± 1.04 ^a	4.99 ± 1.87 ^b	6.12 ± 1.80 ^a
Mn (ppm)	20.82 ± 8.97 ^a	29.36 ± 12.38 ^a	37.78 ± 5.75 ^a	36.97 ± 7.56 ^a
Zn (ppm)	19.74 ± 8.09 ^a	15.02 ± 8.18 ^a	33.17 ± 6.28 ^a	31.66 ± 9.48 ^a
Fe (ppm)	53.31 ± 3.65 ^a	54.85 ± 4.12 ^a	52.14 ± 3.34 ^a	55.24 ± 3.45 ^a

ab medias con letras diferentes en los superíndices, en la misma fila dentro del mismo ecosistema indican diferencias estadísticas significativas $P < 0.05$ (t-Student para muestras independientes)

Balance alimentaria de los microelementos

Se encontró un déficit de 9.09, 55.81 y 38.01 mg de Cu, Zn y Mn, respectivamente, en los alimentos que consumen los animales en el ecosistema premontaña (anexo 6), esto coincide con algunos estudios realizados en Cuba (Fajardo 2009; Viamonte, 2010) que demostraron deficiencia en el aporte de estos microelementos en la dieta en rebaños manejados en suelos y pastos carentes de los mismos y que en tales circunstancias fue necesaria, y a la vez beneficiosa su suplementación.

En el ecosistema de llanura se encontraron deficiencias en los aportes de 7.68, 44.3 y 36.8 de Cu Zn y Mn respectivamente (anexo7) algo parecido en los dos ecosistema estudiados llegado a la conclusión que en ninguno de los ecosistema se satisface los aportes de los elementos trazas estudiados siendo la más grave la déficit de Zn, Mn, y Cu en esto orden.

Por su parte, Espinoza *et al.*, (2002), recomiendan la suplementación mineral siempre que los alimentos no cubran los requerimientos animales. Estas circunstancias son comunes en el ganado bovino criado en pastoreo, especialmente en los países tropicales donde el suelo y el pasto resultan carentes en minerales, por lo que deben ser suplementados mediante diferentes fuentes y vías para garantizar un adecuado desempeño bio-productivo de los animales (Bavera, 2000).

Por las funciones de los minerales, ya apuntadas en tópicos anteriores, los resultados que se persiguen con la suplementación mineral en todas y cualquiera de sus variantes, suman, entre otros propósitos, mejoramiento de la fertilidad (Wu *et al.*, 2000 y López *et al* 2006), mejoras en la salud animal (López *et al* 2006) y de la producción y de la composición de la leche (2000; Apaza y Huanca, López *et al.*, 2006).

2.2.3: Experimento 2: Caracterización de algunos indicadores sanguíneos y el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.

2.3.1: Introducción.

Los trastornos o desequilibrios metabólicos se presentan con mucha frecuencia en las vacas lecheras en forma subclínica, como consecuencia de ello los animales pueden llegar a disminuir en un 10 a 25 % su producción y afectar su fertilidad, caracterizándose primeramente por alteraciones bioquímicas en líquidos corporales, como la sangre, orina, leche, etc. (Bouda, 2005). En tal sentido el estudio de los perfiles metabólicos de la vaca lechera pueden servirnos para pesquisar problemas metabólicas dentro un rebaño o bien para establecer el riesgo de peligro existente para prevenir problemas futuros (Álvarez, 2001). La gran variabilidad de pruebas cualitativas y cuantitativas que se realizan son orientadas hacia el perfil mineral del suero sanguíneo y de las reservas en los tejidos; estado del balance ácido-básico; función del hígado; estado del metabolismo proteico y de la energía de la dieta (Bouda *et al.*, 2005).

En Cuba, en los últimos años, resultan de interés los trabajos realizados sobre el diagnóstico de las deficiencias minerales para establecer los diferentes métodos de suplementación (García, 2008). Sin embargo en las condiciones actuales de producción de la ganadería bovina del país se requiere caracterizar el estado metabólico de los animales de rebaños con desórdenes reproductivos.

Por ello el objetivo de este experimento es caracterizar algunos indicadores sanguíneos y los indicadores reproductivos de las hembras bovinas en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara.

2.3.2: Materiales y Métodos.

En los rebaños seleccionados para el experimento uno, se estudió el comportamiento de algunos indicadores hematoquímicos, seleccionando una muestra representativa de las diferentes categorías y estados reproductivos de los rebaños seleccionados (Álvarez, 2001). Con un régimen de alimentación y manejo descrito en materiales y métodos generales; evaluándose los macroelementos: (Ca, Mg, Na y K) y los microelementos: (Cu, Zn y Fe.). Los criterios de inclusión y exclusión están descritos en materiales y métodos generales.

Se evaluaron las reservas hepáticas de Cu, Zn y Mn, seleccionándose cinco animales de cada unidad. Se evaluó también la condición corporal, el comportamiento de los indicadores reproductivos. En todas las unidades se realizó la determinación de hemoglobina y hematocrito.

En las unidades tres, cuatro y cinco se determinaron los principales indicadores del metabolismo energético y proteico de los bovinos, en la unidad tres se estudio el perfil ácido básico y en las unidades cuatro y cinco las constantes corpusculares o índices hematimétricos. En las unidades tres y cinco se evaluó el perfil hepático de los animales. En la tabla 2.1.1 se resume las variables estudiadas.

Tabla 2.1.1: Indicadores del perfil metabólico general investigado en las hembras bovinas.

Unidades	Perfil	Variables
1, 2,3,4 y 5	Mineral sanguíneo	Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Fe
1, 2,3,4 y 5	Mineral hepático	Cu, Zn, Mn
	Hematológico general	Hematocrito (Hto), Hemoglobina (Hb),
4 y 5	Constantes corpusculares	Volumen Corpuscular Medio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM), Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular (CMHC)
3,4 y 5	Energético	Glucosa, Colesterol y triglicéridos.
3,4 y 5	Proteínico	Proteínas totales (PT), Albúmina (Alb), globulinas (Glob).
3 y 5	Hepático	Alanito amino tranferasa (ALAT), Aspartato amino tranferasa (ASAT), Fosfatasa alcalina (ALP), Glutamato deshidrogenasa (GLDH), Bilirrubina total (BT), Bilirrubina Directa (BD) Bilirrubina Indirecta (BI).
3	Acido básico	pH, presión parcial de O ₂ (PO ₂), presión parcial de CO ₂ (PCO ₂), bicarbonato en exceso (BE) y bicarbonato estándar (BS).

Sangre, hígado e indicadores reproductivos.

Todas las muestras de sangre se tomaron por venopunción de la yugular. Para los análisis hematológicos y del perfil mineral se procesaron según las metodologías descritas en materiales y métodos generales. Para los análisis de los indicadores del metabolismo energético, proteico y hepático se extrajeron 10 ml y se depositaron en tubos vacutainer sin anticoagulante, posteriormente se centrifugó a 900 g durante 10 minutos, obteniéndose el suero sanguíneo, que se congeló a -10 °C hasta su análisis. Para la determinación del estado ácido básico se depositó las muestras en jeringuillas heparinizadas, a los que se colocó un tapón plástico para evitar el contacto de la sangre con el aire y se sumergió en agua helada, efectuándose las determinaciones de los indicadores hemogasométricos dentro de las tres horas posteriores a la extracción de la sangre (Aluja *et al.*, 2001).

El sacrificio de los de los bovinos a los que se les tomaron muestras de hígado, una toma de

muestras hepáticas y las determinaciones de las concentraciones de Cu, Zn y Mn en el tejido hepático están descritas en materiales y métodos generales.

Procedimientos analíticos.

Las proteínas totales del suero fueron determinadas por el método de Biuret (Soderman *et al.*, 1987), la albúmina por electroforesis, las globulinas por la diferencia aritmética proteína total menos albúmina. El conteo total de eritrocitos y las constantes corpusculares se realizó según los procedimientos descritos por (Wintrobe, 1971).

El colesterol, los triglicéridos y la glucosa se determinaron en un equipo AIRONE 200, según los procedimientos del fabricante el método enzimático–Colorimétrico, utilizando los kits comerciales Colestest, Monotriglittest y, respectivamente, todos producidos por los laboratorios “Carlos J Finlay”.

Las determinaciones de los indicadores hemogasométricos se realizaron en un gasómetro Cobas de la firma alemana Roche[®], según los procedimientos del fabricante.

Para las determinaciones enzimáticas y de la Bilirrubina las muestras de sangre fueron trasladadas al laboratorio inmediatamente después de extraídas. Se efectuaron las determinaciones de la Bilirrubina total (BT), Bilirrubina directa (BD), Bilirrubina indirecta (BI) y las enzimas Alanino-Amino-Transaminasa, (ALAT); Aspartato-Amino-Tranferasa, (ASAT), la Fosfatasa Alcalina (ALP) y la Glutamato deshidrogenasa, (GLDH) por el método cinético U V, optimizado IFCC; en todos los casos en un equipo computarizado AIRONE 200, de la firma CRONY INSTRUMENTS, según los procedimientos descritos por el fabricante. Para el control de reproducibilidad se empleó el patrón ELITROL-I, lote R60148 fabricado por la firma ELTECH.

La condición corporal (C.C), y los principales indicadores reproductivos de estos rebaños se evaluaron según las metodologías descritas en materiales y métodos generales.

Procesamiento estadístico de los resultados.

Se calcularon los estadígrafos descriptivos para todas las variables, la comparación de los indicadores reproductivos de las vaquerías dentro de cada ecosistema se utilizó una prueba de t-Student para muestras independientes. Para estudiar la influencia de los principales factores que determinan las alteraciones del perfil metabólico del rebaño se realizó un análisis de

componentes principales a partir de una matriz de correlaciones de 21 filas (n) y de 16 columnas (los valores de cada variable). En los procesamientos anteriores se emplearon los paquetes estadísticos Statgraphics ver Centurion XV.II y SPSS ver. 15.0.

2.3.3: Resultados y Discusión.

Caracterización del estado metabólico e indicadores reproductivos de los animales en el ecosistema de llanura.

El perfil energético y proteico de las hembras bovinas estudiadas en el ecosistema de llanura (tabla 2.3.1), muestra que los valores promedio de la glucosa, principal representante del metabolismo energético, se encuentran por encima del límite crítico de los valores fisiológicos de referencia para la especie (Álvarez, 2001), lo que se corresponde con el satisfactorio estado de la CC de los animales investigados, donde el porcentaje de animales con CC inferiores a 3 no sobrepasa el 18,5 % en el peor de los casos, la unidad 4. Esto puede estar dado por el hecho de que la glicemia está sometida a un fuerte mecanismo homeostático, por lo cual resulta difícil encontrar variaciones significativas en sus concentraciones sanguíneas. En estudios realizados en Cuba, se han encontrado concentraciones promedio de la glucosa en vacas lecheras de 2.53 mmol/L, con fluctuaciones entre 1.50 y 3.54 mmol/L (Álvarez, 2001). La falta de concordancia puede deberse a que los valores mencionados fueron obtenidos en bovinos Holstein y los del presente trabajo en animales H x C; está demostrado que la raza es una fuente de variación de muchos indicadores del perfil metabólico, entre ellos la glucosa (Campos *et al.*, 2005).

Tabla 2.3.1: Estadística descriptiva del perfil energético y proteico general de las hembras bovinas investigadas en el ecosistema de llanura.

Variable	LC*	Unidad 3 (n = 19).		Unidad 4 (n = 30).		Unidad 5 (n = 30).	
		Tres Caminos		Alemán		Centro Novillas	
		$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	% D
CC	3	3.1 $\pm$ 0.52	5.2	3.08 $\pm$ 0.45	18.5	3.20 $\pm$ 0.56	10
Col.	2.75	3.66 $\pm$ 0.44	0	3.79 $\pm$ 0.74	0	3.61 $\pm$ 0.44	0
Glu.	2.54	3.45 $\pm$ 0.50	0	-	-	3.50 $\pm$ 0.47	0
TG. (mmol/L)	0.88	1.34 $\pm$ 0.53	0	-	-	1.37 $\pm$ 0.47	0
PT (g/L)	70	59.18 $\pm$ 4.61	100	64.42 $\pm$ 6.13	64	59.63 $\pm$ 4.84	100
Alb. (g/L)	30	29.30 $\pm$ 2.70	52.6	27.44 $\pm$ 3.83	60	29.51 $\pm$ 2.91	40
Glob. (g/L)	35	29.87 $\pm$ 2.55	100	36.98 $\pm$ 3.24	100	30.11 $\pm$ 2.48	100
Hb (g/L)	90	85.4 $\pm$ 11.41	47.3	86.40 $\pm$ 12.30	56.6	86.74 $\pm$ 12.86	60
Hto (L/L)	0.29	0.29 $\pm$ 0.03	47.3	0.27 $\pm$ 0.03	63.3	0.27 $\pm$ 0.03	53.3
Eri. ($\times 10^{12}$)	5	-	-	5.29 $\pm$ 0.57	23.3	5.07 $\pm$ 0.19	38
VCM (10^{-15} L)	60	-	-	51.26 $\pm$ 3.46	96.3	57.94 $\pm$ 5.39	47.6
HCM (10^{-12} g)	20	-	-	16.35 $\pm$ 1.85	83.3	16.80 $\pm$ 1.86	71.4
CHCM (g/L)	320			319.1 $\pm$ 9.49	46.6	290.31 $\pm$ 22.10	100

*los limites críticos establecidos fueron: Col., Glu., TG., Pt., Alb. Y Glob. (Álvarez, 2001). Hb, Hto, VCM, HCM y CHCM (Wintrobe, 1971).

Tomando en consideración los valores fisiológicos de referencia establecidos en Cuba (Álvarez, 2001) el 100, 64 y 100% de los animales presentaron deficiencias en proteínas totales; 52.6, 60 y 40 % de albúmina y 100 % de globulinas en las unidades tres, cuatro y cinco respectivamente.

Situación similar se observa en la hemoglobina, 47.3, 56.6 y 60 % y hematocrito 47.3, 53.3 y 53.3 % de las muestras con valores patológicos en las unidades tres, cuatro y cinco, respectivamente, que indican la presencia del síndrome anémico en una alta proporción de las hembras investigadas, de tipo microcítica e hipocrómica según los valores de las constantes corpusculares (VCM, HCM y CHCM); atendiendo a los valores fisiológicos de referencia para la especie para cada uno de estos parámetros reportados por Wintrobe (1971).

Sin embargo, los resultados del proteinograma deben ser analizados con cautela porque los valores utilizados como límite crítico, aunque fueron obtenidos en Cuba, se basan en

determinaciones realizadas en rebaños Holstein, con sistemas de manejo y alimentación basados en el uso de concentrados y otros suplementos de minerales y vitaminas; además al hacer los balances alimentarios para la energía y las proteínas (anexos 8 y 9), se hace evidente que no hubo déficit de los mismos en el aporte; del mismo modo se debe ser cuidadoso en la interpretación de los datos de las constantes corpusculares puesto que los valores de los mismos se establecieron a partir de observaciones hechas en distintas latitudes y en animales y sistemas de alimentación diferentes a los del presente trabajo. Como se sabe, la raza, el plano nutricional y hasta las variables geoclimáticas gravitan de manera decisiva sobre los indicadores del metabolismo proteico y el hemograma de los animales (Kaneko *et al.*, 2002; Campos *et al.*, 2007)).

En tal sentido, tanto los valores de las proteínas como de la hemoglobina, hematocrito y de las constantes corpusculares observados en el presente trabajo están en correspondencia con estudios desarrollados recientemente en Cuba en ganado del genotipo racial Siboney de Cuba en condiciones similares de explotación (Figueredo, 2007), lo que sugiere que no existen deficiencias proteicas reales en los rebaños estudiados y que se hace necesario establecer los parámetros de referencia para los genotipos H x C ampliamente difundidos en la ganadería cubana y en las condiciones de manejo alimentación imperante en la actualidad para propiciarle mayor confiabilidad a los resultados.

Los valores obtenidos para las enzimas ASAT, GLDH y ALP (tabla 2.3.2) se encuentran dentro de los parámetros fisiológicos para la especie (Kaneko *et al.*, 2002), y son similares a los reportados para algunas razas bovinas mestizas en condiciones tropicales (Villa *et al.*, 1999; Lago *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2007) y en Cuba para hembras bovinas Siboney de Cuba (García, 2008). En Cambio los niveles séricos de la ALAT, en el 63,1 y 84% de las muestras en las unidades tres y cinco se encuentran por encima de los parámetros fisiológicos de referencia para la especie lo que pudo estar motivado por la infestación con *Fasciola hepática* de dichos animales, diagnosticada con anterioridad debido a las inconsistencias en la aplicación de antiparasitarios en la unidad y la existencia de biotopos de este trematodo (Cruz,

2010). Esta situación también pudo influir en el aumento de la Bilirrubina indirecta por encima de los valores normales en el 42,1 y 52,6 % de las muestras en ambas unidades.

Tabla 2.3.2: Estadística descriptiva del perfil hepático general de las novillas investigadas en el ecosistema de llanura (n = 19).

Variable	LC*	Unidad 3 (n = 19).		Unidad 5 (n = 30).	
		Tres caminos		Centro Novillas	
		$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	% D
ASAT (UI)	< 80	56.66 ± 7.18	15.8	75.26 ± 5.74	15
ALAT (UI)	< 50	76.58 ± 5.18	63,1	56.73 ± 6.42	84
ALP (UI)	<200	154.9 ± 20.88	0	144.43 ± 24.11	0
GLDH (UI)	< 10	4.12 ± 0.23	0	4.12 ± 0.25	0
BT (µmol/L)	<11.9	4.67 ± 0.73	5.2	10.48 ± 0.73	5
BD (µmol/L)	< 5.8	5.94 ± 1.36	0	4.77 ± 0.55	0
BI (µmol/L)	< 5.1	10.68 ± 1.10	42.1	5.87 ± 1.20	52,6

* Los límites críticos fueron establecidos según Kaneko *et al.*, (2002).

Los valores obtenidos en la bilirrubina total y directa, otro importante indicador de funcionamiento hepático se encuentran dentro de los parámetros fisiológicos para la especie bovina (Kaneko *et al.*, 2002) y son similares a los reportados diferentes razas del bovino lechero en el trópico (Campos *et al.*, 2007) y en Cuba para hembras bovinas Siboney de Cuba (García, 2008).

Los niveles en suero sanguíneo para las enzimas ALAT, ASAT, GLDH y ALAP obtenidos en este trabajo, son muy superiores a los reportados por varios autores en nuestro país en la década del 80, las diferencias pueden estar dadas por la raza y los sistemas de alimentación; algunos de ellos desarrollaron sus investigaciones en vacas Holstein (Margolles *et al.*, 1987 ; Zaldívar *et al.*, 1989) y otros en ganado cebú (Colomé *et al.*, 1989), que en todos los casos eran alimentadas con altas cantidades de concentrados en sus raciones. En un estudio para evaluar el funcionamiento hepático, en siete razas especializadas en la producción de leche en condiciones tropicales se demostró que las vacas Holstein mostraron los menores valores (P < 0.05) para estas enzimas (Campos *et al.*, 2007)

Por otra parte los autores mencionados realizaron las determinaciones utilizando un método colorimétrico y todo el procedimiento manual, en este estudio se empleó una metodología diferente, más moderna (método cinético UV optimizado por la Federación Internacional de Química Clínica, IFCC) y los procedimientos son completamente automatizados, lo que sin dudas debe haber influido en los resultados.

El estudio del equilibrio ácido-básico de las vacas de la vaquería tres (tabla 2.33), única unidad en las que se realizaron las gasometrías, mostró que aunque los valores promedio se encontraban dentro de los parámetros fisiológicos de referencia para la especie bovina, el 20 % (3 de 15 animales investigados) presentaron valores disminuidos del BE, BS y PCO₂, compatibles con una acidosis metabólica parcialmente compensada; el 46.6 % de los animales mostró alteraciones en el pH sanguíneo. Resultados semejantes se han reportado en Cuba en similares condiciones de alimentación, donde se ha diagnosticado la acidosis metabólica asociada con los trastornos de la reproducción (Pedroso *et al.*, 2003) y la presentación del síndrome de la leche anormal (SILA) en las condiciones de Cuba. (Hernández y Ponce, 2003).

Tabla 2.3.3: Estadística descriptiva del perfil ácido básico de las hembras bovinas investigadas en el ecosistema de llanura.

Variable	$\bar{x} \pm DE$	IC 95%	LC*	% de alteraciones.
BE (mmol/L)	0.53 $\pm$ 3.46	-0.45 -1.38	0.5	20
BS (mmol/L)	21.66 $\pm$ 6.73	17.93 - 25.39	23.5	20
PCO2 (mm Hg)	40.11 $\pm$ 4.70	37.50 - 42.71	39	20
pH (U)	7.32 $\pm$ 0.06	7.28 - 7.36	7.38	46
PO2 (mm Hg)	62.30 $\pm$ 9.32	57.13 - 67.46	75	40

* Limites críticos establecidos según Álvarez (2001).

El perfil mineral de las hembras bovinas investigadas se aprecia en la tabla 2.3.4, nótese que las deficiencias más acentuadas son las de Zn, Fe, Cu y Ca con el 96.5, 51.7, 38 y 37.9 % respectivamente, de las muestras con deficiencias de estos minerales.

Tabla 2.3.4: Estadística descriptiva del perfil mineral en suero sanguíneo y tejido hepático de las de las hembras bovinas investigadas en el ecosistema de llanura.

Variable	LC*	Unidad 3 (n = 19).		Unidad 4 (n = 30).		Unidad 5 (n = 30).	
		Tres Caminos		Aleman		Centro Novillas	
		$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	% D
Ca ($\mu\text{mol/L}$)	2.23	2.30 $\pm$ 0.08	5.30	2.27 $\pm$ 0.07	18.50	2.24 $\pm$ 0.04	37.9
Mg ($\mu\text{mol/L}$)	0.78	0.89 $\pm$ 0.08	5.30	0.92 $\pm$ 0.07	0	0.91 $\pm$ 0.08	0
Na ($\mu\text{mol/L}$)	131	137.73 $\pm$ 2.49	0	137.2 $\pm$ 3.57	7	134.8 $\pm$ 4.81	24.1
K ($\mu\text{mol/L}$)	4.12	3.68 $\pm$ 0.48	63.20	4.37 $\pm$ 0.32	1	4.44 $\pm$ 0.53	34.4
Cu ($\mu\text{mol/L}$)	11.77	10.53 $\pm$ 1.00	73.70	11.28 $\pm$ 0.44	70.30	11.11 $\pm$ 0.84	38
Zn ($\mu\text{mol/L}$)	14.73	12.24 $\pm$ 1.62	73.70	12.35 $\pm$ 1.17	96	11.15 $\pm$ 1.03	96.65
Fe ($\mu\text{mol/L}$)	18.31	17.99 $\pm$ 2.69	52.60	18.36 $\pm$ 1.12	44	17.98 $\pm$ 0.91	51.7
Niveles de microelementos en tejido hepático (n = 5 en cada unidad)							
Variable	LC	$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	%	$\bar{x} \pm DE$	% D
Cu (ppm)	75	64.9 $\pm$ 21.30	40	80.31 $\pm$ 17.15	60	77.74 $\pm$ 20.11	40
Mn (ppm)	6	6.32 $\pm$ 0.59	40	6.25 $\pm$ 1.41	40	5.73 $\pm$ 0.36	60
Zn (ppm)	160	160.30 $\pm$ 24.0	60	158.04 $\pm$ 6.95	60	161.13 $\pm$ 8.16	40

*Los limites críticos fueron establecidos para los minerales en suero sanguíneo por García (2008) y en el hígado según Radostits *et al.*, (2000) y McDowell y Arthington (2005).

Perfil hematoquímico en el ecosistema de premontaña.

El perfil hematoquímico en el ecosistema de premontaña (tabla 2.3.5) muestra elevados porcentajes de muestras deficientes en Cu en suero sanguíneo, 72.7 y 86.6 % en las unidades uno y dos, respectivamente; mientras que en ambas se diagnosticaron el 100 de las muestras de tejido hepático con deficiencias de este microelemento. Por su parte el 78.7 y 90 % de los animales investigados mostraron hipocinquemia, con el 20 y 60% de las muestras de hígado con bajos tenores de Zn en las unidades uno y dos, respectivamente. El Mn también mostró deficiencias en el 20 y 60% de las tipos con carencias de este microelemento en las unidades uno y dos, por ese orden.

2.3.5: Estadística descriptiva del perfil hepató y hematoquímico de las hembras bovinas investigadas en el ecosistema premontaña.

Variable	LC*	Unidad 1 (n =33).		Unidad 2 (n =30).	
		Típica 4		Típica 67	
		$\bar{x} \pm DE$	% D	$\bar{x} \pm DE$	% D
Ca (μmol/L)	2.23	2.42 ± 0.13	6.06	2.26 ± 0.06	16
Mg (μmol/L)	0.78	0.88 ± 0.06	3.03	0.89 ± 0.08	33
Na (μmol/L)	131	136.78 ± 5.07	3.03	135.64 ± 4.76	20
K (μmol/L)	4.12	4.50 ± 0.35	6.06	4.47 ± 0.36	13
Cu (μmol/L)	11.77	10.63 ± 1.41	72.70	10.75 ± 1.12	86
Zn (μmol/L)	14.73	12.64 ±1.49	78.70	12.74 ± 1.34	90
Fe (μmol/L)	18.31	18.03 ± 3.17	57.50	19.48 ± 1.84	26
Hb (g/L)	90	111.87±10.99	3.03	107.3 ± 10.77	10
Hto (L/L)	0.29	0.34 ± 0.03	3.03	0.33 ± 0.03	16
Niveles de microelementos en tejido hepático (n = 5)					
Cu (ppm)	75	52.85 ± 9.33	100	57.32 ± 18.85	100
Mn (ppm)	6	6.22 ± 0.40	60	6.14 ± 0.91	40
Zn (ppm)	160	180.80 ± 12.61	20	161.04 ± 7.56	60

Los limites críticos fueron establecidos para los minerales en suero sanguíneo García (2008) en el hígado según Radostits *et al.*, (2000) y McDowell y Arthington (2005).

Los porcentajes de muestras deficientes en Cu están en concordancia con trabajos recientes realizados en la zona centro sur de Villa Clara (García 2008; García *et al.*, 2010) y en la oriental de Cuba (Fajardo, 2009; Viamonte, 2010). En el caso del Zn las proporciones de animales con carencia de este microelemento son superiores a las encontradas por los autores mencionados. La mayor incidencia de carencias de Cu, Zn y Mn encontrada en este trabajo confirma que las carencias minerales poseen una incidencia geográfica variable en dependencia de múltiples factores, aunque son un problema generalizado en todo el país.

Las deficiencias de Ca, Zn y Cu en el suero sanguíneo y tejido hepático de los animales investigados pueden estar relacionadas con el bajo contenido de los mismos en el suelo y el pasto en los ecosistemas estudiados, situación reportada también en condiciones similares por García *et al.*, (2010); estos autores reportaron una correlación negativa y altamente significativa entre las concentraciones de Cu y Fe en tejido hepático, es decir en la medida que descendía el Cu

aumentaba el Fe en el hígado al no poder ser transportado hacia los tejidos. Esta situación obedece a que el Cu es indispensable para la síntesis de ceruloplasmina, enzima responsable de oxidar el Fe del estado ferroso al estado férrico para que pueda ser metabolizado (Thomas y Oates, 2003) y por tanto se presente la hipoferropenia y anemia diagnosticada en el presente trabajo, a pesar de diagnosticarse deficiencias de Fe en el suelo y el pasto.

Además, si el nivel de Cu en la dieta es bajo, la transferritina no puede captar el Fe que se absorbe y el resultado puede ser una anemia microcítica hipocrómica, similar a la ferropénica, esto destaca la importancia del Cu en la absorción y transporte del Fe (Reeves y DeMars, 2005). Además de la deficiencia primaria de Cu en el eje suelo planta animal, los excesos de Fe encontrados en el suelo en ambos ecosistemas, puede conducir a una deficiencia de Cu secundaria en los animales; el Fe es otro potente antagonista del Cu y aunque el mecanismo mediante el cual ejerce su acción antagónica no está totalmente esclarecido, se sabe que forma sulfuro de hierro (FeS) en el rumen, que mas tarde se disuelve en el abomaso formándose entonces CuS, que es insoluble (Underwood y Suttle, 2001).

Varios trabajos han demostrado que altas concentraciones de Fe en la dieta reducen las concentraciones de Cu hepático y plasmático, reportándose la hipocuprosis (Perea *et al.*, 2002; Pico *et al.*, 2002). Por otra, está demostrado que los bovinos durante el pastoreo muchas veces desprenden de raíz el pasto e ingieren cantidades considerables de tierra propiciando una elevada ingesta de Fe (McDowell y Arthington, 2005).

Con estos elementos, unido al hecho de que el Cu es el microelemento que más antagonistas posee con respecto a la absorción, sobresaliendo entre ellos, además del Fe, el Mo, S, Ca, Cd, Zn, fitatos y ácido ascórbico (O'Connor *et al.*, 2001; Telfer *et al.*, 2004); se puede plantear que la carencia de este mineral es un problema común en los rebaños estudiados y que resulta necesario en investigaciones futuras estudiar la presencia de sus antagonistas en estos ecosistemas y sus interrelaciones con el Cu.

En el caso del Zn, aunque los métodos para evaluar su estado son relativamente incentivos, sobre todo en las etapas iniciales de deficiencia o en las incidencias leves, la carencia de este microelemento se puede establecer al diagnosticar concentraciones en suero sanguíneo inferiores a

12.60 µmol/L y menos 30 ppm en el pasto; mientras que la deficiencia de Mn se puede diagnosticar al verificar concentraciones hepáticas y en el pasto inferiores a 6 y 40 ppm de este mineral, respectivamente, unido a las alteraciones bioproductivas de los animales y la respuesta a su suplementación, esto último como criterio más exacto de sus deficiencia (McDowell y Arthington 2005).

También pudo haber influido en las deficiencias diagnosticadas la falta de suplementación mineral en los rebaños estudiados, al menos en los últimos 20 años. Son numerosos los trabajos que señalan a las deficiencias de Cu, Zn responsable del pobre desempeño reproductivo de los rebaños bovinos (Brem *et al.*, 2002; Picco *et al.*, 2004; García *et al.*, 2010; Fajardo, 2009 y Viamonte, 2010). También el Mn se ha asociado a desórdenes de la reproducción y la salud de los bovinos (McDowell y Arthington 2005).

Caracterización de los indicadores reproductivos de los rebaños en ambos ecosistemas.

La evaluación de los principales indicadores reproductivos de los rebaños del ecosistema de llanura mostró un deterioro de los mismos en las novillas, con una elevada edad a la incorporación (33 meses), a la gestación (38 meses) y al primer parto (52 meses) de las mismas, con elevados intervalos reproductivos (tabla 2.3.6; anexos 1,2 y 3), contrastando con la reportada para estos indicadores en el Siboney de Cuba (Brito, 2001; Suárez *et al.*, 2001; Iglesias, 2004) y en novillas mestizas en Venezuela (González-Stagnaro *et al.*, 2006).

Tabla 2.3.6: Valores ($\bar{x} \pm SD$) de los principales indicadores reproductivos evaluados en novillas y vacas en el ecosistema de llanura.

Unidad	Indicadores reproductivos de las vacas en días.			
	IPPI	PS	IPP	II
Unidad 3 (tres Caminos)	154.6 ± 28.9 ^a	200.7 ± 89.6 ^a	481.6 ± 89.2 ^a	2.1 ± 1.1 ^a
Unidad 4 (Alemán)	162.3 ± 32.9 ^a	179.8 ± 28.5 ^b	461.8 ± 28.5 ^a	1.6 ± 0.6 ^a
	Indicadores reproductivos de las novillas en días.			
	IIPI	IIG	IIP	II
Unidad 5 (C. Novillas)	133.7 ± 51.2	146.8 ± 50.2	428.8 ± 51.2	1.3 ± 0.5

^{ab} medias con letras diferentes en los superíndices en la misma columna en las vacas indican diferencias estadísticas significativas $P < 0.05$ (t-Student para muestras independientes).

En las vacas del ecosistema de llanura también existe un marcado deterioro de los indicadores reproductivos, muy superiores a los parámetros de referencia para el bovino lechero en condiciones ideales de explotación expuestos por otros autores (Wattiaux, 1996; Álvarez, 1997; Howard, 1997), que plantean como óptimos 60 a 70 días; 85 a 90 días y 365 a 395 días para el IPPI, PS e IPP, respectivamente. Se apreciaron diferencias estadísticas significativas $P < 0.05$ en el PS entre las unidades tres y cuatro. El índice de inseminación pueden ser evaluado adecuado en la unidad cuatro, que representa un porcentaje de gestación al primer servicio de 60.2%; pero en la unidad tres este indicador puede ser catalogado de malo (Fetrow *et al.*, 1997; Blanco, 2000) para un porcentaje de gestaciones al primer servicio inferior al 50%.

Según los resultados de la extracción de componentes principales en el ecosistema de llanura (tabla 2.3.7), de las 16 variables consideradas se extrajeron tres componentes o variables ficticias que representan solo el 18.75 % del total que explican el 74.86 % de la varianza total del estado reproductivo de los rebaños de este ecosistema. El primer componente que influyó en la eficiencia reproductiva estuvo determinado por los niveles séricos y hepáticos de de Cu y de los propios indicadores reproductivos con el 38.32 % de la varianza explicada, siguiéndole en orden de importancia los componentes representados por las carencias de Na, Hb, Hto y Mn en tejido hepático (21.93 %), y las deficiencias en suero sanguíneo de de Zn, Ca, Mg y de Zn hepático (14.60 %).

Tabla 2.3.7: Factores que determinan la eficiencia reproductiva en el ecosistema de llanura

Componentes	Variables	Coeficiente	% Varianza		
			Autovalor	Explicada	Acumulada
1	Cu sérico	- 0.86	6.13	38.32	38.32
	Cu hepático	- 0.83			
	IPPI	0.76			
	PS	0.98			
	IPP	0.98			
	II	0.86			
2	Na	0.78	3.51	21.93	60.25
	Hto	0.82			
	Hb	0.78			
	Mn hepático	0.74			
3	Ca	-0.72	2.33	14.60	74.86
	Mg	-0.77			
	Zn Sérico	0.70			
	Zn Hepático	0.73			

En el ecosistema de premontaña (tabla 2.3.8; anexos 4 y 5), la situación es similar a la encontrada en el de llanura. En este ecosistema también se apreciaron diferencias estadísticas significativas $P < 0.05$ en el PS entre las dos unidades. Los indicadores reproductivos evaluados en este trabajo, en ambos ecosistemas, son menos eficientes que los reportados para el genotipo racial Siboney de Cuba, en sistemas de silvopastoreo (Reinoso, 2000; Reinoso y Pino, 2003; Reinoso *et al.*, 2005), pero en correspondencia con los obtenidos en similares condiciones de producción por García (2008); García *et al.*, (2010); Hernández *et al.*, (2011).

Tabla 2.3.8: Valores ($\bar{x} \pm DE$) de los principales indicadores reproductivos evaluados en las vacas del ecosistema de premontaña.

Indicador	Unidad 1 (Típica 4)	Unidad 2 (Típica 67)
IPPI (días)	172.3 $\pm$ 51.7 ^a	151.5 $\pm$ 48.6 ^a
PS(días)	217.8 $\pm$ 53.2 ^a	173.0 $\pm$ 56.2 ^b
IPP (días)	498.5 $\pm$ 53.5 ^a	455.2 $\pm$ 66.5 ^a
II	1.9 $\pm$ 0.7 ^a	1.6 $\pm$ 1.0 ^a

ab medias con letras diferentes en los superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas $P < 0.05$ (t-Student para muestras independientes).

En el ecosistema de premontaña (tabla 2.3.9), la extracción de componentes principales mostró una mayor correlación entre las variables estudiadas en comparación con el de llanura, de dieciséis variables consideradas se extrajeron tres componentes (18.75 % del total) que explican el 93.48 % de la varianza total del estado reproductivo de los animales de este ecosistema. El primer componente que influyó en la eficiencia reproductiva estuvo determinado por los niveles séricos de Cu y Zn, y de los propios indicadores reproductivos con el 39.77 % de la varianza explicada, siguiéndole en orden de importancia los componentes representados por las bajas reservas de Cu, Zn y Mn en tejido hepático y las carencias de Na, y K (33.27 %), y la condición corporal al parto y a la inseminación (20.43 %).

Tabla 2.3.9. Factores que determinan la eficiencia reproductiva en el ecosistema de premontaña.

Componentes	Variables	Coeficiente	Autovalor	% Varianza	
				Explicada	Acumulada
1	Zn sérico	0.78	6.76	39.77	39.77
	Cu sérico	0.99			
	IPPI	-0.96			
	PS	-0.96			
	IPP	-0.96			
	Hto	0.82			
2	Na	0.88	5.65	33.27	73.05
	K	0.79			
	Cu hepático	-0.99			
	Zn hepático	-0.89			
	Mn hepático	-0.91			
	II	0.71			
3	CC parto	-0.81	3.47	20.43	93.48
	CC Inseminación	-0.81			

El comportamiento reproductivo es similar en ambos ecosistemas, pese a tener diferentes sistemas de manejo y una base alimentaria cuantitativa y cualitativamente inferior en la premontaña, sugieren que las deficiencia de microelementos pueden ser las responsables de el deterioro de los indicadores reproductivos, pues se trata de un problema común para ambos escenarios, en el eje suelo planta animal.

Aunque el comportamiento reproductivo de los animales se afecta por las deficiencias de energía (Butler 2000) y proteínas (López-Gatius *et al.*, 2001), partiendo de los resultados de este trabajo, especialmente de la extracción de los componentes principales y tomando en consideración que el factor más limitante es el que dicta la productividad (McDowell y Arthington 2005), se puede afirmar que el deterioro de los indicadores reproductivos anteriores son el reflejo de los bajos niveles de microelementos en suero sanguíneo y tejido hepático fundamentalmente; que a su vez son una consecuencia de las carencias de estos minerales en el suelo y el pasto de los ecosistemas estudiados.

2.4: Experimento 3: Efecto de la suplementación del Cu, Zn y Mn por vía parenteral sobre el comportamiento reproductivo en hembras bovinas con deficiencia de estos microelementos.

2.4.1: Introducción.

Tradicionalmente para el tratamiento y profilaxis de estas carencias se ha recomendado la suplementación de los animales con sales inorgánicas a voluntad, en tal sentido, recientemente se obtuvieron efectos satisfactorios sobre el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras en la región oriental de Cuba al introducirse una sal mineral a voluntad, adaptada a las condiciones de explotación de esos rebaños (Fajardo *et al.*, 2009; Fajardo, 2009).

En otros países la suplementación con compuestos orgánicos de Cu, Zn y Mn disminuyó la presentación de mastitis y mejoró la fertilidad (Nocek y Socha, 2000; Uchida *et al.*, 2001; Ballantine *et al.*, 2002; Kellogg *et al.*, 2003, 2004, Repetto *et al.* 2004).

Recientemente, en rebaños con problemas reproductivos se han reportado deficiencias de Cu, Zn y Mn en elevadas proporciones de las muestras de sangre e hígado investigadas (García *et al.*, 2010). Lo anterior hace suponer que en nuestras condiciones debe obtenerse una mejora significativa de la eficiencia reproductiva si se establece la suplementación sistemática de estos microelementos.

Por lo que el objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn por vía parenteral sobre el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas con deficiencia de estos microelementos.

2.4.2: Materiales y Métodos.

Diseño experimental.

Ambas etapas fueron desarrolladas en el periodo lluvioso (Junio-Noviembre). En ambos ecosistemas se seleccionaron dos vaquerías y en el de llanura un centro de novillas. Para evaluar la suplementación de Cu, Zn y Mn en las novillas se seleccionaron 48 animales de esta categoría, del genotipo racial H x C, con un rango de edad entre 21 y 24 meses y un peso comprendido entre 300 y 310 kg, divididas en dos grupos de 24 animales cada uno.

Para evaluar el efecto de la suplementación de Cu, Zn y Mn en las vacas, se seleccionaron 120 animales gestantes del genotipo racial H x C con una edad promedio entre 6 y 7 años, CC entre 3 y 4, entre segunda y tercera lactancia, 60 de cada ecosistema las que se dividieron en grupos de 30 animales cada uno (A y B).

En ambas categorías el grupo A fue utilizado como control y el B fue tratado con 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn por vía parenteral, dosis recomendada por García y Noval (2009). En las novillas la suplementación se efectuó al momento de la incorporación y posteriormente cada dos meses hasta completar tres aplicaciones. En las vacas la primera administración se efectuó a los 8 meses de gestación, repitiendo la misma cada dos meses hasta completar tres aplicaciones (30 y 90 días post parto).

Tanto las novillas como las vacas presentaban deficiencia sérica de Cu y Zn (concentraciones inferiores a 11.77 y 12.60 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente), clínicamente sanas, según diagnóstico clínico practicado previamente (Cuesta, 2003) que incluyó además análisis complementarios como la determinación de hemoglobina, hematocrito y estudios coprológicos para diagnosticar la presencia o no de parásitos, especialmente el trematodo *Fasciola hepatica*. En el Caso del Mn el estado carencial se establece por la deficiencia de este microelementos en suelo y pasto (McDowell y Arthington, 2005)

En ambas categorías de animales se evaluó el efecto de la suplementación con minerales trazas sobre los niveles séricos de microelementos, la hematología al inicio y a los 30 días posteriores al último tratamiento, comparándose los indicadores hematoquímicos entre ambos momentos en cada grupo. También se evaluaron y compararon los principales indicadores reproductivos, en las

novillas el IPI, IIG, IIP y EP y en las vacas el IPI, PS, IIP e II.

En el ecosistema de premontaña se utilizaron 10 animales destinados al sacrificio por baja producción láctea, divididos en 2 grupos experimentales de 5 vacas cada uno; el Grupo A, se utilizó como control y el grupo B, tratado con 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn por vía parenteral, evaluándose la influencia del suministro de estos microelementos sobre las reservas hepáticas de los mismos.

Toma de muestras y procedimientos analíticos.

Las muestras de sangre para los análisis hematológicos y la determinación del perfil mineral, así como las muestras de hígado se tomaron según lo descrito en materiales y métodos generales, al igual que las determinaciones de las concentraciones de minerales en suero sanguíneo y tejido hepático.

El sistema de manejo y alimentación fue descrito en materiales y métodos generales; así como las metodologías para la evaluación de la condición corporal (CC), los indicadores reproductivos, los exámenes ginecológicos y la detección del celo e inseminación artificial.

Procesamiento estadístico.

Se calcularon los estadísticos descriptivos para todas las variables. Se realizó la comparación de los niveles de minerales en suero sanguíneo, tejido hepático y los indicadores reproductivos antes y después del tratamiento entre ambos grupos empleándose para ello la prueba de t-Student para muestras independientes, incluyendo casos en que hubo heterogeneidad en las varianzas de las muestras. En estos procesamientos se utilizó el paquete estadístico Stagraphics ver Centurion XV.II.

2.4.3: Resultados y Discusión

Efectos de la suplementación en el ecosistema de llanura.

Los efectos de la suplementación con 50 mg de Cu, 100 g de Zn y 50 mg de Mn sobre los microelementos y el hemograma de las novillas del ecosistema de llanura (tabla 2.4.1) se aprecia que entre ambos grupos no existían diferencias al inicio de la experiencia, en cambio, la terapéutica utilizada incrementó los niveles séricos de Cu y Fe ($P < 0.01$) y la Cinquemia, la hemoglobina y el hematocrito ($P < 0.001$) en el grupo tratado en comparación con los controles al final del experimento, confirmando el efecto beneficioso de esta suplementación.

Tabla 2.4.1: Niveles de microelementos y los indicadores hematoquímicos evaluados al inicio y final del experimento en las novillas del ecosistema de llanura.

Variables	Momento	Grupos	
		Control (n= 24)	Tratados(n= 24).
		$\bar{x} \pm DE$	$\bar{x} \pm DE$
Cu ($\mu\text{mol/L}$)	Inicial	11.20 ± 0.82^a	11.22 ± 0.52^a
	Final	11.53 ± 0.40^b	$13.57 \pm 1.53^{a**}$
Zn ($\mu\text{mol/L}$)	Inicial	11.12 ± 0.78^a	11.12 ± 1.16^a
	Final	11.65 ± 0.71^b	$16.25 \pm 2.81^{a***}$
Fe ($\mu\text{mol/L}$)	Inicial	17.85 ± 0.98^a	17.91 ± 0.89^a
	Final	18.32 ± 0.87^b	$21.42 \pm 2.58^{a**}$
Hb (g/L)	Inicial	88.10 ± 10.80^a	84.70 ± 10.40^b
	Final	96.60 ± 4.83^b	$126.0 \pm 12.90^{a***}$
Hto (L/L)	Inicial	0.28 ± 0.04^a	0.26 ± 0.02^a
	Final	0.31 ± 0.02^b	$0.39 \pm 0.04^{a***}$

^{ab} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas significativas, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (t-Student).

La suplementación parenteral del Cu, Zn y Mn incrementó el peso vivo ($P < 0.01$) y la ganancia media diaria ($P < 0.001$) de los animales tratados en comparación con los controles, incrementándose estos indicadores en 5.8 y 25 % respectivamente; dicho efecto puede ser atribuido al tratamiento aplicado ya que en el análisis estadístico se consideró el peso inicial como covariable, verificándose que el mismo no tuvo influencia sobre la diferencia en el peso final. El tratamiento aplicado redujo ($P < 0.01$) el IIPI, IIG e IIP, pero no repercutió sobre el índice de inseminación de las novillas (tabla 2.4.2).

Tabla 2.4.2: Comportamiento de la ganancia de peso y los principales indicadores reproductivos en las novillas suplementadas con 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn al momento de la incorporación en el ecosistema de llanura.

Variables.	Grupos.	
	Control (n= 24).	Tratado (n= 24).
Peso Inicial (kg)	283.05 ± 9.21 ^a	289.79 ± 16.28 ^a
Peso Final (kg)	337.6 ± 14.10 ^b	358.8 ± 20.17 ^{a**}
GMD (g)	455 ± 60.68 ^b	583 ± 62.03 ^{a***}
IPI (días)	156.5 ± 58.2 ^{a**}	92.8 ± 38.6 ^{b**}
IIG (días)	173 ± 54.30 ^{a**}	106.5 ± 33.2 ^{b**}
IIP (días)	455 ± 54 ^{a**}	388.5 ± 33 ^{b**}
II	1.35 ± 0.36 ^a	1.29 ± 0.58 ^a

^{ab} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas significativas, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. En la ganancia media diaria y los indicadores reproductivos se empleó (t-Student) y en el peso final la prueba LSD.

En el grupo control el comportamiento reproductivo se caracteriza por elevados IPI, IIG e IIP, contrastando con la reportada para estos indicadores en el Siboney de Cuba (Brito, 2001; Suárez *et al.*, 2001; Iglesias, 2004) y en novillas mestizas en Venezuela (González-Stagnaro *et al.*, 2006), pero en correspondencia con estudios desarrollados en la zona centro sur de la provincia de Villa Clara (García, 2008)

Los resultados obtenidos con la suplementación empleada sobre el peso de los animales está en correspondencia con estudios realizados con este mismo suplemento en terneros en amamantamiento restringidos, donde incrementó en un 12 % los pesos de los animales y en toros en un sistema de ceba intensiva donde el aumento de peso vivo en relación con los controles fue del 9 % (García, 2010).

Otros estudios demostraron que la suplementación con Cu inyectable (EDTA, Cu) en dosis de 25 mg Cu cada 60 días, vía subcutánea reflejaron beneficios sobre las ganancias diarias y el peso al destete en un 20 a 24% (Viejo y Casaro, 1993). La administración de este compuesto incrementó en un 18% el peso al destete en terneros (Balbuena *et al.* 1999).

En un estudio desarrollado en Venezuela se demostró que la administración de soluciones inyectables de cobre aumentaron de manera significativa los niveles séricos del microelemento y los pesos al destete y ganancias medias diarias de los terneros (Aparicio *et al.*, 2007).

En el caso de las vacas del ecosistema de llanura, los microelementos y el hemograma (tabla 2.4.3) se aprecia que entre ambos grupos no existían diferencias al inicio de la experiencia, en cambio, la terapéutica utilizada incrementó los niveles de Zn ($P < 0.05$) y los de Cu, Fe, Hb, Hto y el VCM y la HCM ($P < 0.001$), confirmando el efecto beneficioso de esta suplementación.

Tabla 2.4.3: Niveles de microelementos y los indicadores hematoquímicos evaluados al inicio y final del experimento en las vacas del ecosistema de llanura.

Variables	Momento	Grupos	
		Control $\bar{x} \pm DE$	Tratado $\bar{x} \pm DE$
Cu (μmol/L)	Inicial	11.20 ± 0.54 ^a	11.33 ± 0.35 ^a
	Final	11.54 ± 0.63 ^b	14.37 ± 1.14 ^{a***}
Zn (μmol/L)	Inicial	12.20 ± 0.52 ^a	12.51 ± 1.63 ^a
	Final	12.98 ± 1.88 ^b	14.98 ± 1.68 ^{a*}
Fe (μmol/L)	Inicial	18.10 ± 1.19 ^a	18.60 ± 1.61 ^a
	Final	18.31 ± 1.15 ^b	21.11 ± 1.68 ^{a***}
Hb. (g/L)	Inicial	87.5 ± 15.21 ^a	84.15 ± 10.61 ^a
	Final	100.83 ± 7.14 ^b	126.53 ± 13.3 ^{a***}
Hto. (L/L)	Inicial	0.26 ± 0.03 ^a	0.26 ± 0.02 ^a
	Final	0.32 ± 0.01 ^b	0.40 ± 0.04 ^{a***}
Erit. (x10 ¹²)	Inicial	5.32 ± 0.59 ^a	5.14 ± 0.52 ^a
	Final	5.30 ± 0.48 ^a	5.10 ± 0.29 ^a
VCM (10 ⁻¹⁵ L)	Inicial	50.47 ± 3.44 ^a	52.11 ± 3.41 ^a
	Final	60.95 ± 5.81	78.66 ± 6.68 ^{a***}
HCM (10 ⁻¹² g)	Inicial	16.48 ± 2.51 ^a	16.35 ± 1.21 ^a
	Final	19.18 ± 2.34 ^b	24.75 ± 1.82 ^{a***}
CHCM (g/L)	Inicial	323.90 ± 38.75 ^a	313.92 ± 14.18 ^a
	Final	312.5 ± 10.97 ^a	315.08 ± 10.89 ^a
CC	Inicial	2.95 ± 0.45 ^a	3.1 ± 0.52 ^a
	Final	3.04 ± 0.25 ^b	3.5 ± 0.40 ^{a*}

^{ab} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas significativas, * $P < 0.05$,
*** $P < 0.001$ (t-Student).

La suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn tuvo un efecto beneficioso sobre los principales indicadores reproductivos de las vacas tratadas, verificándose en las mismas

una reducción significativa del IPPI, IPG e IPP ($P < 0.05$), aunque no se apreciaron efectos significativos sobre el II y el porcentaje de gestaciones al primer servicio en comparación con los controles (tabla 2.4.4).

Tabla 2.4.4: Comportamiento de los principales indicadores reproductivos en las vacas suplementadas con 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn a partir de los 8 meses de gestación en el ecosistema de llanura.

Variables.	Grupos.	
	Control (n=30). $\bar{x} \pm DE$	Tratado(n=30). $\bar{x} \pm DE$
IPPI (días)	167.4 $\pm$ 42.6 ^{a**}	136.3 $\pm$ 21.3 ^{b**}
IPG (días)	177.4 $\pm$ 35.3 ^{a**}	146.1 $\pm$ 21.8 ^{b**}
IPP (días)	459.5 $\pm$ 35.3 ^{a**}	428.8 $\pm$ 21.8 ^{b**}
II	1.7 $\pm$ 0.7 ^a	1.5 $\pm$ 0.5 ^a
Gestaciones al primer servicio (%)	58.5 ^a	68.4 ^a

^{ab} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas $P < 0.001$ (t-Student).

Efecto de la suplementación el ecosistema de premontaña.

El estudio demostró que la suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn por vía parenteral afecta los niveles de los microelementos y los indicadores hematológicos, evaluados al inicio y final del estudio (tabla 2.4.5) muestran que la suplementación con la combinación de Cu, Zn y Mn incrementó de manera significativa los niveles del Hto ($P < 0.05$) y los de Cu, Zn y Hb ($P < 0.001$).

Tabla 2.4.5: Niveles de microelementos y los indicadores hematológicos evaluados al inicio y final del experimento en el ecosistema de premontaña.

Variables	Momento	Grupos	
		Control (n=30). $\bar{x} \pm DE$	Tratado (n=30). $\bar{x} \pm DE$
Cu (μmol/L)	Inicial	10.58 ± 1.29 ^a	10.52 ± 1.36 ^a
	Final	10.76 ± 0.87 ^b	12.93 ± 1.83 ^{a***}
Zn (μmol/L)	Inicial	13.09 ± 1.26 ^a	12.83 ± 0.75 ^a
	Final	13.58 ± 1.0 ^b	15.15 ± 0.87 ^{a***}
Fe (μmol/L)	Inicial	19.08 ± 2.68 ^a	18.33 ± 2.76 ^a
	Final	19.11 ± 2.01 ^a	19.89 ± 2.89 ^a
Hb (g/L)	Inicial	110.53 ± 10.62	108.6 ± 11.64 ^a
	Final	108.19 ± 8.62 ^b	118.35 ± 10.71 ^{a***}
Hto (L/L)	Inicial	0.33 ± 0.02 ^a	0.33 ± 0.03 ^a
	Final	0.35 ± 0.03 ^b	0.37 ± 0.03 ^{a*}

^{ab} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas significativas, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ (t-Student).

Las concentraciones de microelementos en tejido hepático (tabla 2.4.6) muestran diferencias estadísticas en los niveles de Zn ($p < 0.05$) y en los de Cu y Mn ($p < 0.001$) a favor de los animales tratados con el compuesto inyectable de estos microelementos, en todos los casos, con valores dentro de los límites fisiológicos de la especie bovina (Radostits *et al.*, 2000). Estos resultados son de gran importancia, especialmente el Cu y el Mn por ser el hígado el órgano de reserva y verdadero indicador del estado de estos minerales en el organismo. Estos resultados corroboran lo alcanzado en estudios anteriores donde la aplicación de Cu parenteralmente incrementó las reservas hepáticas del mismo en los animales tratados (Quiroga *et al.*, 1995; García, 2008).

Tabla 2.4.6: Comportamiento de las concentraciones de Cu, Zn y Mn en tejido hepático de los animales del ecosistema montañoso tratados con una formulación inyectable de estos microelementos.

Variables	Grupos	
	Control $\bar{x} \pm DE$	Tratado $\bar{x} \pm DE$
Cu (ppm)	52.85 $\pm$ 9.33 ^b	202.93 $\pm$ 47.19 ^{a***}
Zn (ppm)	180.80 $\pm$ 22.61 ^b	253.72 $\pm$ 64.31 ^{a*}
Mn (ppm)	6.22 $\pm$ 0.40 ^b	10.97 $\pm$ 0.85 ^{a***}

^{ab} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas significativas, **P*< 0.05, *** *P*< 0.001. según (t-Student).

La suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn tuvo un efecto beneficioso sobre los principales indicadores reproductivos de las vacas tratadas, verificándose en las mismas una reducción significativa del IPPI, IPG, IPP e II (*P*< 0.05) y superior porcentaje de gestaciones (*P* < 0.05) al primer servicio en comparación con las controles (tabla 2.4.7).

Tabla 2.4.7: Comportamiento de los principales indicadores reproductivos en las vacas del ecosistema premontaña suplementadas con 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn a partir de los ocho meses de gestación.

Variables.	Grupos.	
	Control (n=30). $\bar{x} \pm DE$	Tratados (n=30). $\bar{x} \pm DE$
IPPI (días)	154.9 $\pm$ 57.2 ^{a**}	115.6 $\pm$ 22.8 ^b
IPG (días)	206.2 $\pm$ 45.2 ^{a**}	126.4 $\pm$ 29.5 ^b
IPP (días)	487.8 $\pm$ 40.9 ^{a**}	405.3 $\pm$ 29.2 ^b
II (días)	1.9 $\pm$ 0.9 ^{a**}	1.29 $\pm$ 0.46 ^b
Gestaciones al primer servicio (%)	51.8 ^{b*}	77.5 ^{a*}

^{a b} letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticas significativas, * (p< 0.05), ** p< 0.01) según (t-Student).

Los resultados alcanzados en ambos ecosistemas en este trabajo están en correspondencia con los obtenidos en estudios anteriores, donde la administración de 125 mg de Cu en las vacas, repitiendo el tratamiento a los tres meses; aumentó (*P*<0.01) las concentraciones de Cu en suero sanguíneo (Balbuena *et al.*, 1999; Castelli *et al.*, 2001). En Cuba, con la administración de Cu por vía parenteral en novillas y vacas se incrementaron las concentraciones de Cu en suero

sanguíneo, la hemoglobina y el hematocrito ($P<0.001$) (García y Cuesta, 2004; García *et al.*, 2007; García, 2008).

Los efectos beneficiosos de la suplementación del Zn por vía parenteral se han reportado previamente, en tal sentido la administración de del Zn en forma de lactobionato (0,667 % de Zn), empleando la vía subcutánea a la dosis de 25 ml por animal incrementó la concentración de este microelemento en plasma, pelo y piel, además de la ganancia de peso diaria (Buffarini *et al.*, 1998).

Los efectos beneficiosos de la suplementación de Cu, Zn y Mn se evidenciaron en estudios realizados con el mismo suplemento en vacas lecheras en similares condiciones de producción (Rivero, 2010; Sánchez, 2010).

El aumento del Fe, la hemoglobina y el hematocrito en los animales tratados puede explicarse por la estrecha relación entre la cupremia y los tenores de Fe en sangre (Radostits *et al.*, 2000; Thomas y Oates, 2003); al incrementarse los niveles de Cu en sangre, aumenta la actividad de la ceruloplasmina, favorece la incorporación del Fe a la Hb al oxidarlo de Fe^{2+} a Fe^{3+} (Thomas y Oates, 2003); Otra vía puede ser porque el aumento de la cupremia incrementa la vida media de los eritrocitos debido a la mayor actividad de la superoxido dismutasa (SOD) eritrocitaria (West y Prohaska, 2004; Reeves *et al.*, 2005).

En el caso del Fe en el ecosistema de premontaña, los resultados contrastan con otros autores que han reportado la estrecha relación entre la cupremia y los tenores de Fe en sangre (Radostits *et al.*, 2000; Thomas y Oates, 2003) y con trabajos desarrollados en Cuba en hembras bovinas adultas, que han evidenciado un incremento de los niveles del hierro sérico en los animales suplementados con Cu por vía subcutánea cada dos meses (García y Cuesta, 2004), la falta de concordancia en estos resultados puede estar dada por la diferencia en los sistemas de alimentación de los animales en cada caso, en este sentido se ha señalado que los niveles de Fe están muy influenciados por el aporte nutricional (Figueredo *et al.*, 2005)

En la esfera reproductiva los resultados obtenidos en las vacas de ambos ecosistemas corroboran las ventajas de suplementar microelementos por vía parenteral en las hembras bovinas; en tal sentido, el tratamiento con Cu inyectable aumentó el índice de gestaciones al primer servicio al

compararlo con respecto a las testigos en novillas (Ricciardino *et al.* 1998); con esta terapéutica se ha logrado una disminución de los servicios por concepción de 2.5 a 1.7 (Mackenzie *et al.* 2001). Posteriormente en vacas suplementadas con Cu por vía parenteral se observaron mayores números de celos, mejores tasas de servicio por concepción y elevación en los porcentajes de preñez (Brem *et al.*, 2002). En Cuba la administración de 50 mg de Cu por vía parenteral en las hembras bovinas con niveles cupremia hasta 14 $\mu\text{mol/L}$ incrementó la eficiencia reproductiva de las mismas (García, 2008). Recientemente la suplementación con Cu, Zn y Mn por vía parenteral en vacas gestantes redujo significativamente los indicadores reproductivos postparto (Sánchez, 2010)

Los resultados obtenidos en el presente trabajo están en correspondencia con estudios desarrollados en Cuba, donde la suplementación parenteral del Cu aumentó los porcentajes de celos y de gestaciones, reduciendo los IPPI, IPG e IPP en los animales tratados en comparación con los controles (García, 2008), y con experimentos desarrollados en otros países donde la suplementación con Cu, Zn y Mn disminuyó la presentación de mastitis y mejoró la fertilidad (Nocek y Socha, 2000; Uchida *et al.* 2001; Ballantine *et al.* 2002; Kellogg *et al.* 2003, 2004, Repetto *et al.* 2004)..

El Zn, Cu y Mn son necesarios para el normal funcionamiento de numerosas estructuras proteicas, enzimas y proteínas celulares, mejorando así el comportamiento de la vaca lechera (Nocek *et al.* 2006). Por ello, diferentes autores reconocen que el Cu, el Zn y el Mn tienen una acción importante en la vida reproductiva de los rumiantes y la síntesis, activación y regulación de hormonas sexuales (Surgino *et al.* 1998, 2000).

Los microelementos, especialmente el Cu, Zn y Mn forman parte primordial de la superóxido dismutasa (SOD), numerosas investigaciones demuestran que esta enzima es un factor antioxidante, de la cual estos elementos actúan como cofactores catalíticos indispensable (Ji-Pan y Loo, 2000), por ello ante la carencia de los mismos se incrementa el estrés oxidativo en los animales.

Los radicales libres como el anión superóxido (O_2^-) se producen en el cuerpo lúteo durante la síntesis de P_4 , siendo transformado en las células luteales en H_2O_2 , que es luteolítico e inhibidor

del transporte de colesterol a la mitocondria para convertirse en pregnenolona, con disminución de la formación de P₄ (Márquez *et al.*, 2001). De tal manera, el incremento del estrés oxidativo a nivel ovárico, afecta los tejidos esteroideogénicos del mismo con disminución de la síntesis de estrógenos y de progesterona, daños en el oocito, afectación del desarrollo y mortalidad embrionaria, precoz con la consiguiente repercusión negativa sobre los indicadores reproductivos (Bach, 2002).

4: Conclusiones.

- Se demostró que en las unidades ganaderas de los diferentes ecosistemas estudiados existen altas proporciones de deficiencias de Cu, Zn y Mn en las muestras de suelo y pastos investigadas.
- Las deficiencias de Cu, Zn y Mn fueron las principales alteraciones metabólicas diagnosticadas en las hembras bovinas de los ecosistemas estudiados, con un marcado deterioro de los indicadores reproductivos de los rebaños.
- La suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn por vía parenteral tuvo un efecto beneficioso sobre el comportamiento bio-reproductivo de las hembras bovinas con deficiencia de estos microelementos en los ecosistemas estudiados.

5. Recomendaciones.

- Realizar un ensayo multi-céntrico (escalado) con una mayor cantidad de animales para confirmar los resultados obtenidos en el presente trabajo.
- Realizar estudios sobre el efecto de la suplementación de 50 mg de Cu, 100 mg de Zn y 50 mg de Mn en sobre los indicadores productivos de la especie bovina.

6: Referencias bibliográficas.

- Abdelrahman, M. M.; Kincaid R. L. 1993. Deposition of copper, manganese, zinc, and selenium in bovine fetal tissue at different stages of gestation. *J. Dairy Sci.* 76:3588.
- Álvarez, J.L. 2001. Bioquímica nutricional y metabólica en el trópico. Ediciones Universidad de Antioquia. Primera Edición, ISBN: 958-655-081-8. Medellín, Colombia: 1-28.
- Andrade, N; Rivera, M.G; Torres, G. 1998. Estudio de un perfil metabólico patrón en ganado de leche de clima cálido, un mes antes del parto y en tres etapas de lactancia. *Conciencia*; 2: 2-12.
- Apaza, N.; T. Huanta. 2004. Suplementación mineral para incrementar la producción lechera en vacas Brown swiss al pastoreo en Puno.
<http://www.inia.gob.pe/webinia/EditaExperimento.asp?wCodigoExp=03&wModo=Pv&wCodigoProyecto=01&wAnho>.
- Aparicio, R.; Torres, R.; Astudillo, L.; Córdova Luis y Carrassquel, J. 2007. suplementación parenteral con cobre sobre el peso de becerros en crecimiento. *Zootecnia tropical* disponible en [www. Jornadas Científicos –Divulgativas y de Innovación](http://www.jornadascientificas-divulgativas-y-de-innovacion.org).
- Arthington, J.D. 2005. Effects of high-level copper supplementation of copper oxide bolus administration on forage utilization and copper status in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83:2894-2900.
- Ávila, G.J.; Bouda, J.; Quiroz, R.G.F.; Yabuta, O.A. 1997. Impacto de deficiencias minerales sobre la reproducción de vacas lecheras. *Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría*; 1997 julio 9-12; Colima (Col). México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C.;:191-193.
- Avila, G.J. 2005. El periodo Preparto y su influencia en la eficiencia reproductiva. Disponible en www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgcli600.pdf. [consultado en 3/4/2011]
- Bach, A. 2002. La reproducción del vacuno lechero: Nutrición y fisiología. XVII Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimentación animal. FEDNA. Purina, España. Disponible en URL: <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2001CAPV.pdf> [accedido 22/01/06].

-
- Bailey, J.D.; Ansotegui RP, Paterson J.A.; Swenson C.K.; Johnson A.B. 2001. Effects of supplementing combinations of inorganic and complexed copper on performance and liver mineral status of beef heifers consuming antagonists. *J. Anim. Sci.* 79: 2926-2934.
- Balbuena, O.; McDowell, L. R.; Stahringer, R. C. 1999. Suplementación con cobre inyectable en terneros y vacas con hipocupremia. *Vet. Arg.* 16 (154): 272-280
- Ballantine, H. T.; Socha, M. T.; Dplacan.; Tomlinson, D. J.; Johnson, A. B.; Fielding, A. S.; Shearer, J. K.; Van Amstel, S. R. 2002. Effects of Feeding Complexed Zinc, Manganese, Copper, and Cobalt to Late Gestation and Lactating Dairy Cows on Claw Integrity, Reproduction, and Lactation Performance. *The Professional Anim. Sci.* 18: 211–218.
- Barbeau A .1984. Manganese and extrapiramidal disorders. *Neurotoxicology* 5: 13-36.
- Bavera, G. A. 2000^a. Suplementación mineral del bovino a pastoreo y referencias al ganado de engorde a corral. 2da ed Edit. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires. ISBN 987 - 43 - 2113- X.
- Bavera, G. A. 2006^b. Suplementación mineral y con nitrógeno no proteico del bovino a pastoreo, 3ª edición, Ed. del autor, Río Cuarto, 384 pág., Capítulo I: 13-19.
- Beever, D.E. 2006. The impact of controlled nutrition during the dry period on dairy cow health, fertility and performance. *Anim Reprod Sci.* 96(3-4):212-26.
- Birnie, J.W.; Agnew, R.E.; and Gordon, F.J. 2000.The Influence of Body Condition on the Fasting Energy Metabolism of Nonpregnant, Nonlactating Dairy Cows. *J Dairy Science.* 83: 1217 – 1223.
- Blakley, B.R.; Berezowski, J.A.; Schiefer, H.B.; Armstrong, K.R. 1982. Chronic copper toxicity in a dairy cow. *Can. Vet. J.* 23: 190-192.
- Blanco, G.S. 2000. Solución de problemas reproductivos en la vaca. Facultad de Medicina Veterinaria UNAH: 1-28.
- Blanco-Penedo, I.; Cruz, J.M.; López-Alonso, M.; Miranda, M.; Castilho, C.; Hernández, J.; Benedito, J.L. 2006. Influence of copper status on the accumulation of toxic and essential metals in cattle. *Environ. Int.* 32:901-906.
- Boyles, S.; Loerch, S.; Fluharty, F.; Shulaw, W.; Stanfield, H. 1995. Feedlot Management Primer. OSU Extension. Disponible en: <http://beef.osu.edu/library/feedlot/index.Html>.

- Bremner, I. W. R.; Humphries, M.; Phillip, M. J.; Walker.; Morrice, P. 1987. *C. Animal Production* 45: 403-414.
- Brito, R. 2001. Patología de Reproducción Animal. Ed. Félix Varela. La Habana. Cuba.
- Brown, M.A. 2008. Manganese and manganese ATP Interaction with bovine sperm adenyate cyclase . *Animal. Bio. Chem. Biophys.* 244:719-728.
- Bruerton, K. 2009. Trace Mineral Function. Protea Park Nutrition Services, 2009.
- Buffarini, M. A.; Homse, A. C. ; Cseh, S. 1998. Efecto de la administración parenteral de cobre y cinc sobre la ganancia de peso y los niveles séricos de cobre y cinc en novillos. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 17 (1): 307- 316.
- Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science.* 60-61: 449-456.
- Cairo. C. P.; Fundora, H. O. 2005. Edafología. Primera Parte. Editorial “Félix Varela”. La Habana. Cuba: 265.
- Campos, R. 2006. Efecto del manejo nutricional sobre la edad al primero parto en hembras bovina. In: I curso taller, La Suplementación como herramienta del manejo alimenticio para mejorar la eficiencia de la producción en los sistemas pastoriles. Palmira, Julio 27-28
- Carlos, A.; Risco.; Louis F.; Archibald. 2005. Eficiencia reproductiva del ganado lechero. College of Veterinary Medicine University of Florida, Gainesville, EE.UU. Disponible en www.produccion-animal.com.ar [consultado en 10/1/2011]
- Castelli.; Mirta.; Grosso, E.; Quaino, O.; Warnke, O. 2001. Evaluación de Diferentes Productos Comerciales de Aplicación Parenteral en el Tratamiento de la Hipocuprosis en Bovinos. Anuario de Producción Animal. Congreso Argentino de Producción Animal. Rafaela, 19 al 21 de septiembre de 2001. (1-2).
- Ceballos, A.; Gómez, P. M.; Veliz, M. L.; Villa, Nayvi.; López, L. F. 2002. Variación de los indicadores bioquímicos del balance de energía según el estado productivo en bovinos lecheros de Manizales. Colombia. *Rev.Cienc. Pec* 15: 13 – 25.
- Christodouloupoulos , G.; Roubies, N. 2007. Diagnosis and treatment of copper poisoning caused by accidental feeding on poultry litter in sheep flock. *Aust. Vet J.* 85: 451-453.

- Ciria, J.; Villanueva, R.; Y Ciria, J. 2005. Avances en la nutrición mineral del ganado bovino. IX seminario de ñastos y forrajes: 50-69.
- Colomé, H.; Lam, F.; González, A.M.; Mayarí, R. 1989. Hallazgos hematoquímicos y morfológicos en bovinos alimentados con residuos de centros de limpieza de caña de azúcar. *Rev. Salud anim.* 11: 223-237.
- Corpoica. 2010. Proyecto. “Estrategias de alimentación y manejo para mejorar la calidad de la canal y composición de la carne en ganado Cebú de la Orinoquia colombiana. Informe Técnico Final. Pp.83.
- Costa, E.F.; Fazzio, L.E.; Traveria, G.E.; Sánchez, R.O.; Alvarado Pinedo, MF.; Mattioli, G.A.; Otero, M.M.; Chialva, M.; Romero, J.R. 2003. Causas de mortalidad y abortos en bovinos – Informe de 1163 casos entre 1986 y 2001 en la Provincia de Buenos Aires. *Revista de Medicina Veterinaria*.
- Cousins, R.J.; Liuzzi, J.P.; Lichten, L.A. 2006. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem.* 281(34):24085-9.
- Crespo, G.; Duran, J. L. 1990. Vías para disminuir el déficit de fertilizantes y la erosión de los suelos. Seminario científico internacional XXV aniversario del Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba: 32.
- Cuesta, M.; Montejo, E.; Duvergel, J. 2007. *Medicina Interna Veterinaria*. Tomos I y II. La Habana: Editorial Félix Varela. Ministerio de Educación Superior. ISBN 978-959-07-0497-0 Tomo I. ISBN 978-959-07-0498-7 Tomo II. 978-959-07-0549-6 Obra completa.
- Cruz, M. 2010. Informe sobre la situación epizootología de la UBPC “Desembarco del Granma” al Instituto de Medicina Veterinaria, MINAG. Villa Clara.
- Depablos, L.; Godoy, S.; Chicco.; C.F.; Ordenez, J. 2009. Nutrición mineral en sistemas ganaderos de las sabanas centrales de Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 27(1): 25-37.
- Dinskin, M.G.; Mackey, D.R.; Roche, J.F.; Sreenan, J.M. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*. 78. Pp 245-370.

-
- Descalzo, J.M. 2003. Diagnóstico y Tratamiento de la Hipocuprosis en Bovinos. Carfagnini. Argentina. Titular del Área de Patología Facultad de .Ciencias.Veterinarias. UBA. Disponible en URL:
http://www.engormix.com/extrusion_semilla_algodon_%E2%80%93_s_articulos_436_BAL.htm [accedido 1/06/06].
- Drabkin, (1970). Manual de Técnicas de Laboratorio Clínico. MINSAP.
- Engle, T.E, Fellner, V.; Spears , J.W . 2001. Copper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in holstein cows fed varying concentrations of copper. *J. Dairy Sci.* 84: 2308-2313.
- Enjalbert, F.; Lebreton, P.; Salat, O. 2006. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds, retrospective study. *J. of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 90. 459–466.
- Espinoza, F.M.; Yris Díaz, E.; Perdomo.; L. León 2002. Utilización del banco de energía como estrategia de manejo en sabanas del estado Cojedes. II. Producción de materia seca y valor nutritivo. *Zootecnia Trop.* 20 (3).
- Fajardo, H. 2009. Suplementación mineral estratégica de las hembras bovinas en el valle del cauto. Tesis presentada en opción al título de doctor en ciencias Veterinarias, Instituto de Ciencia Animal (ICA). La Habana.
- Fajardo, H.; Viamonte, María I.; Rondón, G.; Aliaga, Ania.; Leyva, Marilín.; Sánchez, Magdalena.; Constenla, L. 2004. Procedimientos para el control de la reproducción en rebaños bovinos de leche. Memorias del II Congreso Internacional de Agricultura En Ecosistemas Frágiles y Degradados. Bayamo, Granma, Cuba 1-3 de diciembre del 2004.
- Fazzio, L. E.; Mattioli, G.A.; Picco, S.J.; Traveria, G.E.; Costa, E.F.; Romero, J.R. 2008. Intoxicación aguda con cobre inyectable. *Centro de Diagnostico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE)*. Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de La Plata.
- Fetrow, J.; Stewart, S. ; Eicker, S. 1997. Reproductive health programs for dairy herds: anlysis of record for assessment of reproductive performance In: Current Therapy in Large Animal Theniogenology. Ed. Youngquist R. 1st ed. Saunders Company: 441-450.

- Flórez, P.; Cristóbal. 2004. Suplementación con Minerales. Disponible en: <http://www.vet-uy.com/articulos/bovinos/050/0038/bov038.htm>(Consultado 02-20-2011)
- Fundora, O.; Yepis.; Olga. 2000. Ahorro de fertilizantes en empresas de cultivos varios y limitación de la contaminación ambiental. XIII forum de ciencia y técnica. Santa Clara, Cuba.
- García, J.R.; Cuesta, M.; Quiñones, M.; Figueredo, J.M.; Mollineda.; Faure, R.; Pedroso, R. 2010. Caracterización del contenido de microelementos en el sistema suelo planta animal y su influencia en la reproducción bovina en la zona central de Cuba. *Rev Cubana Cienc Agric.* 2010; 44(3):233-237.
- García, J.R. 2008. Relación entre la cupremia y los indicadores reproductivos de la hembra bovina. Tesis presentada en opción al grado científico de doctor en ciencias veterinarias. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) - Universidad Agraria de la Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez” (UNAH).
- García, J.R.; Cuesta, M.; García López, R.; Quiñones, R.; Figueredo, J.M.,; Faure, R.; Pedroso, R., Mollineda, A. 2009. Caracterización del contenido de microelementos en el sistema suelo planta animal y su influencia en la reproducción bovina en la zona central de Cuba. *Rev. Cub. Cienc. Agric.*
- Garmendia .J. 2007. Minerales en la Reproducción ,Disponible en [www.produccion animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar).
- Gartner, R. J. W.; Mc Lean, R. N.; Little, D. A.; Winks, L. (1980). Mineral deficiencies limiting production of ruminants grazing tropical pastures in Australia. *Tropical Grasslands* 14 (3):266-272.
- Glauber, C.E. 2008. Minerales y oligoelementos en bovinos: su rol en la salud y una aproximación terapéutica. Disponible en < [http:// www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)> Fecha de consulta [22/12/2008].
- Glauber, E. C.2009. Manejo del parto en vacas lecheras. un desafío indispensable, disponible en [www. Engormix .com](http://www.Engormix.com).
- Goff J.P.; Stabel J.R. 1990. Decreased Plasma Retinol, a-Tocopherol, and Zinc Concentration During the Periparturient Period: Effect of Milk Fever. *J. Dairy Sci.* 73: 3195-3199.

-
- González Noelia. 1982. Contribución al estudio del metabolismo mineral de la novilla lechera y su relación con la reproducción. Tesis para la obtención del grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. ICA. La Habana. 1982.
- Gonzalez-Stagnaro, C.; Goicochea, J.; Rodríguez, M. A.; Madrid-Bury, N.; González, D. 2006. Incorporación al servicio en novillas mestizas doble propósito. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 14 (1): 1-9
- Gooneratne, S.R.; Christensen, D.A. 1989^a. A survey of maternal copper status and fetal tissue concentrations in Saskatchewan bovine. *Can. J. Anim. Sci.* 69:141.
- Gooneratne, S.R.; Christensen, D.A. 1989^b. Survey of maternal and fetal tissues zinc, iron, manganese and selenium concentrations in bovine. *Can. J. Anim. Sci.* 69:151.
- Graham, T. W.; Thurmond, M.C.; Mohr, F.C.; Holmberg, C.A.; Anderson, M.L.; Keen, C.L. 1994. Relationships between maternal and fetal liver copper, iron, manganese, and zinc concentrations and fetal development in California Holstein dairy cows, *J. Vet Diagn Invest* 6:77.
- Hau, E.; Santos, J.; Pech, V. 2004. Evaluación económica del comportamiento postdestete hasta la pubertad de novillas cruzadas alimentadas con pasto Taiwan (*Pennisetum purpureum* var. Taiwán) y un alimento concentrado comercial. *Livestock Research for Rural Development* 16 (4).
- Headley, A.S.; Reis, A.C.F.; Nakagawa, T.L.D.R.; Bracarense APFRL. 2008. Chronic copper poisoning in sheep from Northern Paraná, Brazil: case report. *Semina: Ciências Agrárias*, 29: 179-184.
- Hernández, R.; Ponce P. 2003. Caracterización de la composición láctea en Cuba y factores asociados a su variación. *Rev electrón vet. REDVET* ISSN 1695-7504. Noviembre 2003. Vol. 11. N° 4 Málaga. España. [online] Disponible URL en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111103.html> . [citado 5 de febrero 2011).
- Hernández, A. 2006. Respuesta al stress por calor de la vaca criolla lechera tropical, estructura genética de algunas variables polimórficas y sus relaciones con el comportamiento

-
- biorreproductivo en Veracruz, México. Tesis presentada en opción al grado científico de doctor en ciencias veterinarias. CENSA, La Habana, Julio de 2006.
- Hernández, I.; Benavides, J.E.; Simón, L.; Pérez, E. 2000. Efecto de la adición en el suelo de *Leucaena leucocephala* en la producción de biomasa de *Panicum maximun*. Pastos y forrajes. 23: 225-232.
- Hidiroglou, M.; Knipfel, J.E. 1981. Maternal-fetal relationships of copper, manganese and sulfur in ruminants. *J. Dairy Sci.* 64:1637.
- House, W.A.; Bell, A.W. 1994. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*
- Howard, W.T. 1997. Manejo lechero. Clínica Reproductiva. Lecturas seleccionadas de reproducción animal: 77-83.http://www.geocities.com/raydelpino_2000 [accedido 18/01/06].
- Iglesias, J.M. 2004. Crianza de hembras de reemplazo del genotipo 5/8H x 3/8C en un sistema silvopastoril. Memorias del II simposio internacional de ganadería agroecológica, Pag 149-150. Las Tunas, Cuba, Noviembre del 2004.
- Jenkins K.; Hidiroglou, M. 1991. Tolerance of the pre-ruminant calf for excess manganese or zinc in milk replacer. *J. Dairy Sci.* 74: 1047-1053.
- Jenkins, K.J.; Hidiroglou M. 1990. Effects of elevated iodine in milk replacer on calf performance. *J. Dairy Sci.* 73: 804-807.
- Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C.; Palmer, N. 1993. Pathology of Domestic Animals. Vol. 2pp. 398-400. Fourth edition, Academic Press, New York.
- Kalmbacher, R.S.; Ezenwa, E.V.; Arthington, J.D.; Martin, F.G. 2005. Sulphur fertilization of bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. *Agron. J.* 97: 661-667.
- Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. 2002. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press. 5th ed. San Diego: 117- 137, 327- 349, 441- 480, 621- 648, 885- 905.
- Kellogg, D. W.; Socha, M. T.; Tomlinson, D. J.; Jonson, A. B. 2003. Review: Effects of feeding cobalt glucoheptonate and metal specific amino acid complexes of zinc, manganese, and copper on lactation and reproductive performance of dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 19: 1-9.

- Kendrick, K.W. 1999. Effects of Energy on Hormones, Ovarian Activity, and Recovered Oocytes in Lactating Holstein Cows Using Transvaginal Follicular Aspiration. *J. Dairy Sci.* 82:1731 - 1740.
- Kessler, J.; Morel, I.; Dufey, P.A.; Gutzwiller, A. Stern, A.; Geyer, H. 2003. Effect of organic zinc sources on performance, zinc status and carcass, meat and claw quality in fattening bulls. *Livestock Production Science* (81): 161–171.
- Kinal, S.; Korniewicz, D.; Jamroz, D.; Korniewicz.; Slupczynska, M.; Bodarski.; Zieminski, R.; Osinglowski, S.; Dymarski, I. 2007. The effectiveness of zinc, copper and manganese applied in organic forms in diets of high milk yielding cows. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 5, 189–193.
- Kirchgessner, M.; Heindl, U. 1993. Investigation about the determination of zinc requirement of calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 70:38.
- Klassen, N. 2010. Para animales en pastoreo. Suplementación con minerales <http://archivo.abc.com.py/suplementos/rural/articulos.php?pid=461989> (Consultado 06-28-2010).
- Knowles, S.O.; Grace, N.D.; Lee, J.; West, D.M. 2000. Impact of Cu x Mo interaction on the Cu status of grazing cattle and sheep. In: Trace Element Update. Foundation for Continuing Education of New Zealand Veterinary Association, Palmerston North: 66–81.
- Lago, E.P.; Costa, A.P.; Pires, A.V.; Susin, L.; Frias, V.P.; Lago, L.A. 2004. Parámetros metabólicos em vacas leiteiras durante o periodo de trasição post-parto. *Braz J Vet*, 11 (1/2): 98-103.
- Lichten L.A. 2006. Mammalian zinc transport, trafficking and signals. *J. Biol. Chem.* 281(34):24085-9.
- Lipps.F 2009. Importance of micro elements in la reproduction of cattle.
- Loeb FW, Quimby WF 2004. The clinical chemistry of laboratory animals. 2nd ed. Philadelphia: Taylor & Francis.
- López, F.J. 2006. Relación entre condición corporal y eficiencia reproductiva en vacas holstein. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad del Cauca. Vol 4 No.1 Marzo 2006

- López-Alonso, M.; Prieto, F.; Miranda, M.; Castilho, C.; Hernández, J.R, Benedito, J.L. 2005. Intracellular distribution of copper and zinc in the liver of copper-exposed cattle from northwest Spain. *Vet. J.* 170: 332-338.
- López-Alonso M.; Prieto, F.; Miranda, M.; Castilho, C.; Hernández, J.R, Benedito, J.L. 2005. The role of metallothionein and zinc in hepatic copper accumulation in cattle. *Vet. J.*, 169: 262-267.
- López-Gatius, F.; Santolaria, P.; Yániz, J.; Rutlant, J.; López-Béjar, M. 2001. Persistent ovarian follicles in dairy cows: a therapeutic approach. *Theriogenology*; 56 (4): 649-659.
- Mackenzie, A.M.; Moeini, M.M.; Telfer, S.B. 2001. The effect of a copper, cobalt and selenium bolus on fertility and trace element status of dairy cattle. In Fertility in the High-Producing Dairy Cow Occasional Publication Ed. MG Diskin. *British Society of Animal Science, Edinburgh*. 26 (2): 423–427.
- Maintz. L, V.; Schwarzer, T.; Bieber, K.; Van der ven, N.; Novak. 2008. Effects of histamine and diamine oxidase activities on pregnancy: a critical review. *Human Reproduction Update* 14(5): 485-495.
- Margolles, E.; Colomé, H.; Bell, L.; Labrada, I.; Mayarí, R.; Hernández, G. 1987. Indicadores Hematoquímicos del Ganado Lechero. *Rev. Cub. Salud Anim* 9: 110-115.
- Márquez, Y. C.; Ferraro, S.; López-ortega, A. 2001. Concentración de malondialdehído en cuerpo lúteo bovino. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología. Volumen Especial*: 79-85.
- Mattioli J.A. 2008. Metabolismo y deficiencias de zinc en bovinos. Trabajo de revista
- McBride, M.B.; Cherney, J. 2004. Molybdenum, Sulphur, and Other Trace Elements in Farm Soils and Forages after Sewage Sludge Application. *Taylor & Francis*. 35 (3-4): 517 – 535.
- McDowell, L. R. 2005. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Cuarta Edición. Universidad de La Florida. IFAS. E.E.U.U.
- McDowell, L.R, 2002. Recent Advances in Minerals and Vitamins on Nutrition of Lactating Cows. *Pakistan Journal of Nutrition*. 1(1):8-19.
- McDowell, L.R.; Valle, G. 2000. Forage evaluation in ruminant nutrition (Ed Guivens, G.I; Owens, E.; Axford, R.F and Omed, H.M), CAB international, Wallingford, U.K: 373-378.

-
- Michaluk, A.; Blitek, A.; Gajewska, A.; Kaczmarek, M.; Ostrowska-Hliwa, K.; Kochman, H.; Ziecik, A.; Kochman, K. 2006. LH release by Cu and Ni salts and metal GnRH complexes, *in vitro*. *Neuroendocrinology Letters* 27 483-486.
- Michaluk, A.; Kochman, K. 2007. Involvement of copper in female reproduction. *Reproductive biology*. Vol.7, No.3.
- Miles, P. H.; Wilkinson, N. S.; McDowell, L. R. 2001. Analysis of Minerals for Animal Nutrition Research. 3rd ed. Dept. Anim. Sci., Univ. Florida, Gainesville.
- Miller, A.F. 2004. Superoxide dismutases: active sites that save, but a protein that kills. *Curr Opin Chem Biol*. 8(2):162-8.
- Mills, C.F. 1983. Trace elements in animals productions and veterinary practice. Occ. publication N° 7, Ed. Suttle, NF, Gunn RG, Allen WM, Linklater KA, Wiener G. London 1-10.
- Montero, R. 2006. Suplementación mineral en bovinos. Disponible en: http://www.engormix.com/suplementacion_mineral_bovinos_s_articulos_919_GDC.htm [Consultado 06-12-2010].
- Muehlenbein, E. L.; Brink, D, R.; Deutscher, G.H.; Carlson, M.P.; Johnson, A. B. 2001. Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance. *J. Anim. Sci*. 79: 1650–1659.
- Mufarrege, D. J.; Domingo E,A. 2001. Suplementación con zinc en los bovinos para carne en provincia de corrientes. E.E.A. INTA Mercedes, Corrientes, Noticias y Comentarios N° 348.
- Nakamura, K.; Kodaka, M.; El-Mehasseb, I.M.; Gajewska, A.; Okuno, H.; Ochwanowska, E.; Witek, B.; Kozłowski, H.; Kochman, K. 2005. Further structural analysis of GnRH complexes with metal ions. *Neuroendocrinology Letters* 3 247-252.–2693.
- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 10th rev. ed. Natl. Acad. Sci.Washington, DC.
- Nocek, J. E.; Johnson, A. B.; Socha, M. T. 2000. Digital characteristics in commercial dairy herds fed metal-specific amino acid complexes. *J. Dairy Sci*. 83: 1553–1572.

- Nocek, J.E.; Socha, M.T.; Tomlinson, D.J. 2006. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89 (7): 2679-93.
- Norii, T. 2008. Growth of zinc-deficient rats during intragastric tube feeding. *Biol Trace Elem Res.*; 122(3):266-75.
- Nousiainen, J.; Shingfield, K.J.; Huhtanen, P. 2004. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *J. Dairy Sci.* 87:386–398.
- NRC. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC. (USA). Minerals, p: 54-74.
- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC. (USA). Minerals, p: 54-74
- NRC. 2005. Mineral Tolerance of Animals. 2da ed., NAP, Washington, USA.
- Nunnery, G.A.; Vasconcelos, J.T.; Parsons, C.H.; Salyer G.B.; Defoor P.J.; Valdez, F.R, Galyean, M.L. 2007. Effects of source of supplemental zinc on performance and humoral immunity in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:2304-2313.
- Nwude, D.O.; Okoye, P.A.C.; Babayemi, J.O. 2011. Assessment of heavy metal concentrations in the liver of cattle at slaughter during three different seasons. *J. Environ. Sci.*, 5: 288-294.
- Obispo, N.E.; Mireya López, Garmendía, J. 2002. Efecto de la suplementación con harina de pescado sobre la aparición de la pubertad en novillas Holstein. *Zootécnica Tropical*, 20(1):121-133.
- O'Connor, G.A.; Brobst, R.B.; Chaney, R.L.; Kincaid, R.L.; McDowell, L.R.; Pierzynski, G.M.; Rubin, A.; Van Riper, G.G. 2001. A modified risk assessment to establish molybdenum standards for land application of biosolids. *J. Environ. Qual.* 30: 1490–1507.
- ONE. 2007. Clasificación agro productiva de los suelos de Cuba. Disponible en: <http://www.one.cu/anuariopdf/capitulo1/0128.pdf>. [consultado 20-02-1011]
- OPS 1991. Organización panamericana de la salud. Manual para el cálculo de muestreos.
- Pandit, A.N.; Bhawe, S.A. 2002. Copper metabolic defects and liver disease: Environmental aspects. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 17: 403–407.
- Paretas, J.J. 1993. La producción bovina en Cuba. ACPA 1. p13.

-
- Parker, R. 1989. Body condition scoring of Dairy Casttle. Factsheet AGNES. 410: 420.
- Patterson, J., C.; Swenson, B. Johnson, Ansotegui, R. 1999. Assessing the role of copper and zinc in the cow-calf production cycle, in Proc Mid-South Ruminant Nutrition Conference, Dallas-Ft. Worth, Tx, pp. 1-1
- Pedroso, R.; Felicia, R. 2004. Efecto de la Condición Corporal obre la fertilidad de las vacas mestizas Holstein x Cebú en clima tropical. *Rev. Cub. Reprod. anim.* 30 (1y2): 31 – 37.
- Peñafort, C.; Bavera, G.A. 2003. Condición. In Fac. Agron. Y vet (UNCR), curso de producción bovina de carne (Cap VI).
- Perea, J.; Verna, A.; Morsella, C.; Cseh, S.; Paolicchi, F. 2002. Relación entre los microelementos Cobre, Zinc, Hierro, Selenio, Molibdeno y la paratuberculosis en ganado bovino. XIVa. Reunión Anual de la AAVLD (Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico) 13 al 15 de noviembre de 2002, Villa Gral. Belgrano, Sierras de Córdoba.
- Pérez-Clariget, R.; Carriquiry, M.; Soca, P. 2007. Estrategias de manejo nutricional para mejorar la reproducción en ganado bovino de carne. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* Vol. 15: 114-119 (Supl. 1).
- Picco, S.J.; Abba1, M.C.; Mattioli, G.A.; Fazzio, L.E.; D.; Rosa, J.; De Luca, C.; Dulout, F.N. 2004. Association between copper deficiency and DNA damage in cattle. *Mutagenesis.* 19 (6): 453—456.
- Power, R. 2006. Organic mineral absorption, molecular mimicry or modified mobility? In: Proceedings of the 22nd Annual Symposium on Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Lexington,KY, USA.
- Puschner, B.; Choi ,Y.; Tegzes, J.H.; Thurmond, M.C. 2004. Influence of age, sex, and production class on liver zinc concentration in calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 16:278–282
- Quiroga, M.; Igarza, L. Landa, R.; Ruiz Moreno, M.; Perotti R.; Silva, E. 1995. Evaluación del tratamiento con glicinato de cobre en bovinos con deficiencia de cobre. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15(3-4): 806-808.

- Quiroz, R.G. F. 2001. Empleo de las concentraciones de cobre y ceruloplasmina plasmáticas para el diagnóstico de deficiencias de cobre en rumiantes (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM,
- Rabotnikof, C. M.; Gonella, C. A.; Stritzler N. P.; Floris, N. R.; 1983. Efecto de la suplementación parenteral de cobre sobre los niveles de cobre en sangre y la ganancia de peso en novillos en el área de General Villegas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 3 (5): 446-457.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W. 2000. Veterinary medicine. a text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats, and horses; 9th edition. ISBN 0 7020 2604 2. W. B. Saunders company Ltd. London.
- Rayburn, E. B. 2009. Nutrient Requirements for Beef Cattle. West Virginia University. Extension Service. Disponible en: <http://www.wvu.edu/~agexten/forglvst/NutrientRequirementsforBeefCattle.pdf> 6pp. [Consultado 11/04/2011].
- Reeves, P. G.; DeMars, L.C. 2005. Repletion of Copper-Deficient Rats with Dietary Copper Restores Duodenal Hephaestin Protein and Iron Absorption. *Experimental Biology and Medicine*. 230(5): 320 – 325.
- Reinoso, M. 2000. Condición corporal y desempeño productivo y reproductivo de vacas Siboney de Cuba en un contexto silvopastoril. *Pastos y forrajes*. 20: 23-47.
- Reinoso, M.; Pino, M. 2003. Estudio de algunos indicadores del comportamiento reproductivo de bovinos de leche manejados en condiciones de pastoreo racional con y sin alborización. *Rev. Med. Vet.* 3: 38-43.
- Reinoso, M.; Díaz, F. y Simón, L. 2005. Pastizales alborizados. Beneficios nutricionales en comparación con monoculturas. *Revista cubana de ciencia agricola*. 39 (2): 165-173.
- Reinoso, O.; Valeria.; Silva, A, S.; Claudio. 2010 .El uso de sales minerales Suplementación mineral en ganado de carne. Disponible en: <http://vademecum.com.uy/articulos-tecnicos/bovinos-articulos-tecnicos/el-uso-de-sales-minerales-suplementacion-mineral-en-ganado-de-carne.html> (Consultado 06-28-2010).

-
- Ricciardino, M.Z.; Zulema, A.; Piccinalli, R.L. 1998. Efectos de la suplementación parenteral con minerales (Cu, Se, P) y vitaminas (E y D), sobre parámetros productivos en Vaquillas sobre pasturas naturales. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 18 (1): 335-341.
- Rivero, Y. 2010. Efecto de la suplementación con microelementos por vía parenteral sobre la calidad composicional de la leche y la salud de la ubre de las hembras bovinas. Tesis predefendida en opción al título de Especialista en Clínica veterinaria. Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UCLV.
- Sánchez, O. 2010. Efecto de la suplementación con microelementos por vía parenteral sobre el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas. Tesis predefendida en opción al título de Especialista en Clínica veterinaria. Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UCLV.
- Schroeder, J.W. 2004. Use of minerals in dairy cattle what they are and why they are important. North Dakota State University disponible en <http://www.ext.nodak.edu/extpubs/ansci/dairy/as1271w.htm>,
- Sekler, I.; Sensi, S.L.; Hershinkel, M.; Silverman, W.F. 2007. Mechanism and regulation of cellular zinc transport. *Mol Med*; 13(7-8):337-43.
- Siciliano J. L., M. T, Socha, D. J Tomlinson, and J. M. DeFrain. 2008. Effect of Trace Mineral Source on Lactation Performance, Claw Integrity, and Fertility of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 91:1985–1995
- Small, J.A.; Charmley, A.V.; Rodd, A. V.; Fredeen, A.H. 2008. Serum mineral concentration in relation to estrus and conception in beef heifers and cow feed conserved forage. *Animal Sci.* 77: 55-62
- Smith, R.D.; Chase, L. E. 2007. Nutrition and reproduction notational dairy database, Volume northeast. Disponible en: www.Productionanimal.com.ar.
- Spears J.W, 2003. Trace mineral bioavailability in ruminants. *J. Nutr.* 133(5 Suppl 1):1506S-9S.
- Spears, J.W.; Schlegelb, P.; Seala, M.C, Lloyd, K.E. 2004. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. *Livestock Production Science*; 90: 211-217.

-
- Suárez, M.A.; Pérez, T.; Évora, J.C. 2001. Edad y peso a la incorporación en novillas Siboney de Cuba en relación a su comportamiento reproductivo posterior. II Cong Intern Ganadería Doble propósito. La Habana, Cuba. En: XVII Reunión Latinoam. Prod. Animal. *Arch. Latinoam. Prod. Animal.* 9 (1): 25-30.
- Sugino, N.; Hirosawa-Takamaori, M.; Zhong, L. Telleria, C.M.; Shiota, K.; Gibori, G. 1998. Hormonal regulation of copper-Zinc superoxide dismutase and manganese superoxide dismutase messenger ribonucleic acid in the rat corpus luteum: Induction by prolactin and placental lactogens. *Biology of Reproduction* 59: 599-605
- Suttle, N. F. 2002 Copper deficiency – how has the disease and its diagnosis changed in the last 15 years? *Cattle Practice* 10: 275-278.
- Swenson, M.J.; Reece, W.O. 1993. Duke's physiology of domestic animals. 11th ed. New York: Comstock Publications Assoc.
- Tapiero, H.; Tew, K.D. 2003.Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother.* 57(9):399-411.
- Telfer, S. B.; Kendall, N. R.; Illingworth, D. V.; Mackenzie, A. M. 2004 Molybdenum toxicity in cattle: an underestimated problem. *Cattle Practice* 12: 259-263.
- Thomas, C.; Oates, P. S. 2003. Copper deficiency increases iron absorption in the rat. *Am. J. Physiol.* 285: 789-795.
- Tiffany, M.E.; McDowell, L.R.; O'Connor, G.A.; Nguyen, H.; Martin, F.G.; Wilkinson, N.S.; Cardoso, E.C. 2000. Effects of pasture-applied biosolids on forage and soil concentrations over a grazing season in North Florida. II Microminerals. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31: 215–227.
- Tubek S. 2007. Zinc supplementation or regulation of its homeostasis: advantages and threats. *Biol Trace Elem Res*; 119(1):1-9.22
- Uchida, K.; Mandevu, C., P.; Ballard, C.S.; Sniffen, C. J.; Carter, M. P. 2001. Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 93: 193–203.

-
- Underwood, E.J.; Suttle, N.F., 2001. The Mineral Nutrition of Livestock, third ed. CABI International, Wallingford, UK: 283–342.
- Van Saun, R.J.; Herdt, T.H.; Stowe H.D. 1989^a. Maternal and fetal selenium concentrations and their interrelationships in dairy cattle. *J. Nutr.* 119:1128.
- Van Saun, R.J., Herdt, T.H.; Stowe H.D. 1989^b. Maternal and fetal vitamin E concentrations and selenium-vitamin E interrelationships in dairy cattle. *J. Nutr.* 119:1156.
- Van Saun, R.J. 2007. Importance of transition cow mineral and vitamin nutrition for calf development and survival. 7 pp. In: Proceedings Danske Kvægdyrlægers Årsmøde (Danish Bovine Practitioner Seminar), Middelfart, Denmark, January 24-25, 2007.
- Vanegas, J.A.; Reynolds, J.; Atwill, E.R. 2004. Effects of an Injectable Trace Mineral Supplement on First-Service Conception Rate of Dairy Cows *J. Dairy Sci.* 87:3665–3671 American Dairy Science Association.
- Viamonte, M.I. 2010. Sistema integrado de manejo para incrementar la productividad en vacas de la raza Criolla cubana. [Tesis de Doctorado]. Instituto de Ciencia Animal (ICA). San José de las Lajas. La Habana. Cuba. 2010. 67 pp.
- Viamonte, M.I.; Fajardo, H.; Benítez, D.; Rondón, G.; Sánchez, Magdalena. 2009. Estudio metabólico y su relación con la reproducción en hembras bovinas criollas anéstricas en el Valle del Cauto. Memorias de la IV conferencia sobre desarrollo agropecuario y sostenibilidad (AGROCENTRO). Santa Clara, Villa Clara, Cuba 22-24 de abril del 2009.
- Viejo, R.E.; Casaro, A. P. 1993. Efectos de la suplementación con cobre sobre la ganancia de peso, cobre hepático y plasmático en terneros. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 13 (2):97-105.
- Waldron, K.J.; Rutrherford, J.C.; Robinson, D.J. 2009. Metalloproteins and metal sensing. *Nature.* 460:823-830.
- Wattiaux, M.A. 1996. Manejo de la eficiencia Reproductiva en: El Instituto Babcock para Investigación y Desarrollo Internacional para la Industria Lechera. Universidad de Wisconsin-Madison, Wisconsin. Resumen No. 6: 1-4.

-
- West, E.C. Prohaska, J. R. 2004. Cu,Zn-Superoxide Dismutase Is Lower and Copper Chaperone CCS Is Higher in Erythrocytes of Copper-Deficient Rats and Mice. *Experimental Biology and Medicine*. 229 (8): 756 – 764.
- Wright C.L.; Spears J.W 2004. Effect of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein calves. *J. Dairy Sci*. 87(4):1085-91.
- Wu, Z.; Satter, L.D.; Soja, R. 2000. Milk production, reproductive performance, and fecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. *J. Dairy Sci*. 83:1028–1041.
- Xu, C.; Wensing, T.; Beynen, A.C. 1997. The effects of dietary soybean versus skim milk protein on plasma and hepatic concentrations of zinc in veal calves. *J. Dairy Sci*. 80(9):2156-61
- Yost, G.P.; Arthington, J.D.; McDowell, L.R.; Martin, F.G.; Wilkinson, N.S.; and Swenson. C.K. 2002. Effect of Copper Source and Level on the Rate and Extent of Copper Repletion in Holstein Heifers. *J. Dairy Sci*. 85: 3297-3303.
- Zaldívar, V.; Margolles, E.; Álvarez, J.L.; Valdés, Elena. 1989. Valores de actividad sérica de ASAT, GLGH y F. alc. En bovinos Holstein. *Rev. Salud anim*. 11: 218-222.

7: Anexos

Anexo 1: Distribución de frecuencias de los indicadores reproductivos de las novillas investigadas en el ecosistema de llanura.

Indicador	Inferior	Superior	FRA	Indicador	Inferior	Superior	FRA
II	0.0	1.38	0.75	IIPI	0.0	83.3	0.09
	1.38	1.86	0.00		83.3	125.0	0.54
	1.86	2.34	0.96		125	166.6	0.66
	2.34	3.0	1.00		166.6	208.3	0.87
					208.3	250.0	1.00
IIG	0.0	103.3	0.27	IIP	0.0	383.3	0.27
	103.3	136.6	0.54		383.3	416.6	0.54
	136.6	170.0	0.72		416.6	450.0	0.69
	170.0	203.3	0.84		450.0	483.3	0.84
	203.3	236.6	0.96		483.3	516.6	0.93
	236.6	270	1.00		516.6	550.0	1.00

Anexo 2: Distribución de frecuencias de los indicadores reproductivos de la unidad 3 en el ecosistema de llanura.

Indicador	Inferior	Superior	FRA	Indicador	Inferior	Superior	FRA
II	0.0	1.38	0.75	IPPI	0.0	120.0	0.20
	1.38	1.86	0.00		120.0	240.0	0.80
	1.86	2.34	0.96		240.0	360.0	0.93
	2.34	3.0	1.00		>	360	1.00
PS	0.0	160.0	0.33	IPP	0.0	434.2	0.26
	160.0	320.0	0.73		434.2	548.5	0.66
	320.0	480.0	0.80		548.5	662.8	0.73
	480.0	640.0	0.93		662.8	777.1	0.86
	>	640.0	1.00		777.1	891.4	1.00

Anexo 3: Distribución de frecuencias de los indicadores reproductivos de la unidad 4 en el ecosistema de llanura.

Indicador	Inferior	Superior	FRA	Indicador	Inferior	Superior	FRA
II	0.0	1.2	0.44	IPPI	0.0	86.6	0.03
	1.2	2.2	0.88		86.6	140.0	0.19
	2.2	3.3	1.00		140.0	166.6	0.61
					166.6	193.3	0.80
					193.3	220.0	1.00
PS	0.0	125.0	0.03	IPP	0.0	420.0	0.07
	125.0	150.0	0.11		420.0	450.0	0.34
	150.0	175.0	0.42		450.0	480.0	0.73
	175.0	200.0	0.73		480.0	510.0	1.00
	200.0	225.0	1.00				

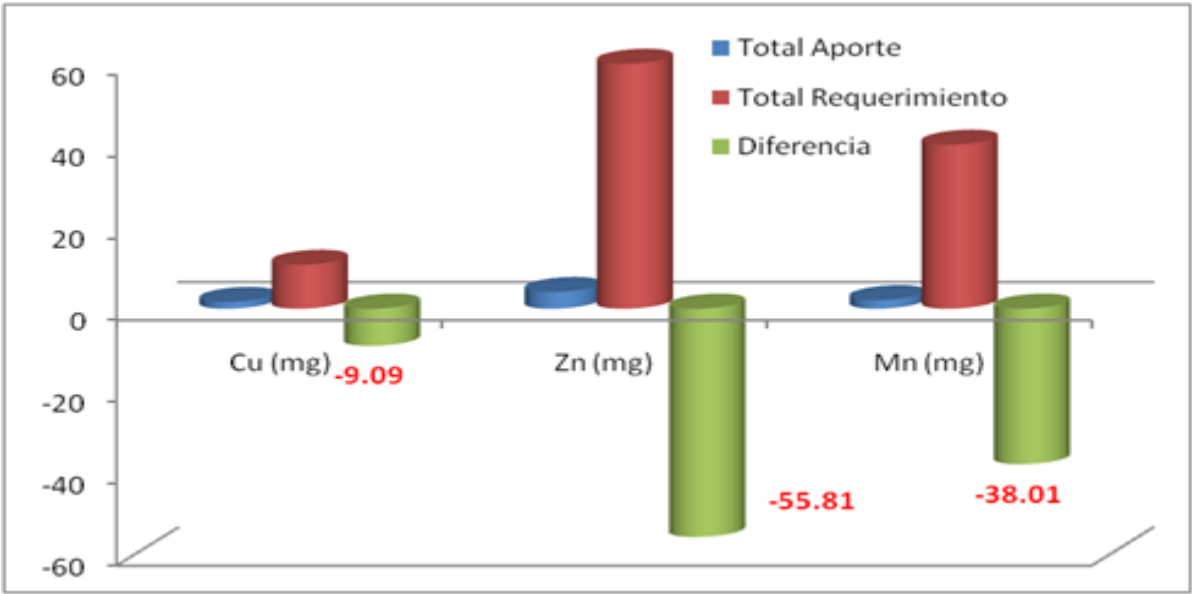
Anexo 4: Distribución de frecuencias de los indicadores reproductivos de la unidad 1 en el ecosistema de premontaña.

Indicador	Inferior	Superior	FRA	Indicador	Inferior	Superior	FRA
II	0.0	1.5	0.27	IPPI	0.0	110.0	0.21
	1.5	2.1	0.78		110.0	140.0	0.33
	2.1	2.7	0.78		140.0	170.0	0.39
	2.7	3.3	1.00		170.0	200.0	0.60
					200.0	230.0	0.87
PS	0.0	140.0	0.09	IPP	0.0	410.0	0.03
	140.0	180.0	0.24		410.0	450.0	0.24
	180.0	220.0	0.45		450.0	490.0	0.36
	220.0	260.0	0.72		490.0	530.0	0.69
	260.0	300.0	1.00		530.0	570.0	0.96
					570.0	610.0	1.00

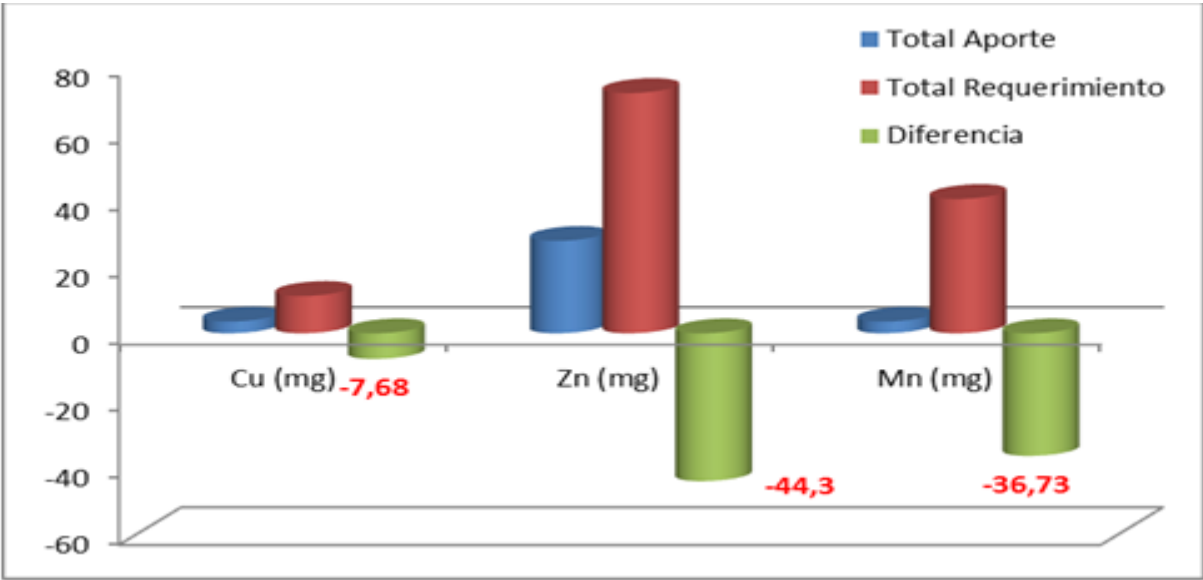
Anexo 5: Distribución de frecuencias de los indicadores reproductivos de la unidad 2 en el ecosistema de premontaña.

Indicador	Inferior	Superior	FRA	Indicador	Inferior	Superior	FRA
II	0.0	1.71	0.66	IPPI	0.0	100.0	0.16
	1.71	2.57	0.80		100.0	150.0	0.43
	2.57	3.42	0.96		150.0	200.0	0.86
	>	3.42	1.00		200.0	250.0	0.96
					>	250.0	1.00
PS	0.0	142.8	0.36	IPP	0.0	406.6	0.20
	142.8	214.2	0.80		406.6	473.3	0.66
	214.2	285.7	0.96		473.3	540.0	0.90
	>	285.7	1.00		540.0	606.6	0.96
					>	606.6	1.00

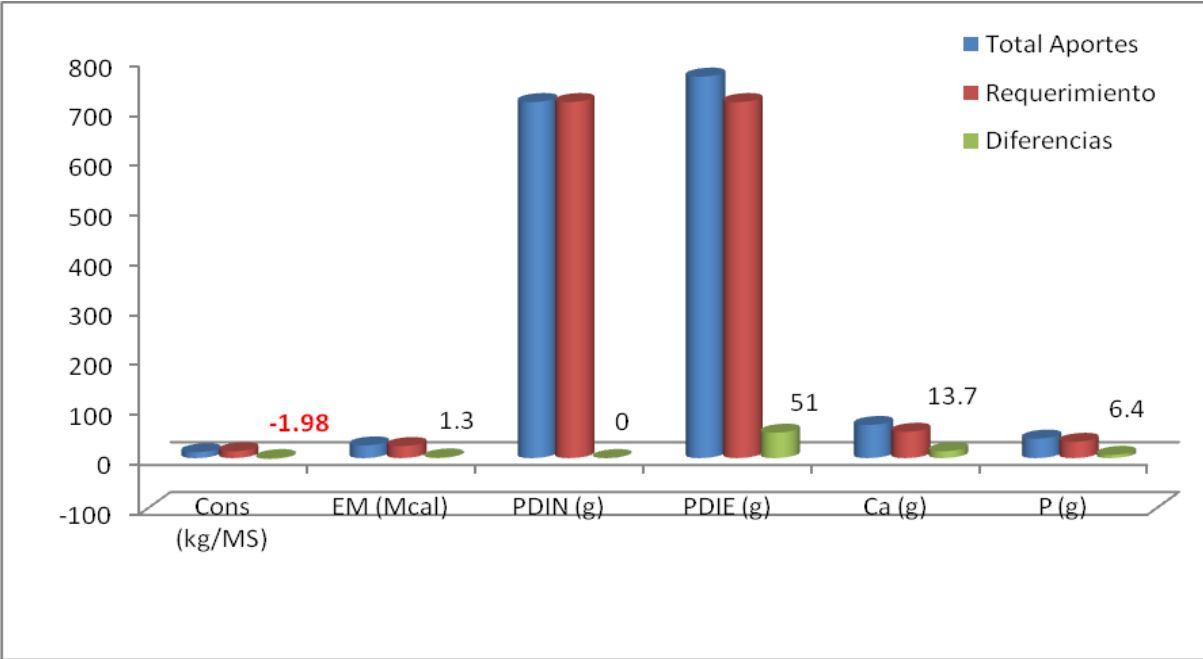
Anexo 6. Balance alimentario de los microelementos estudiados en el ecosistema premontaña.



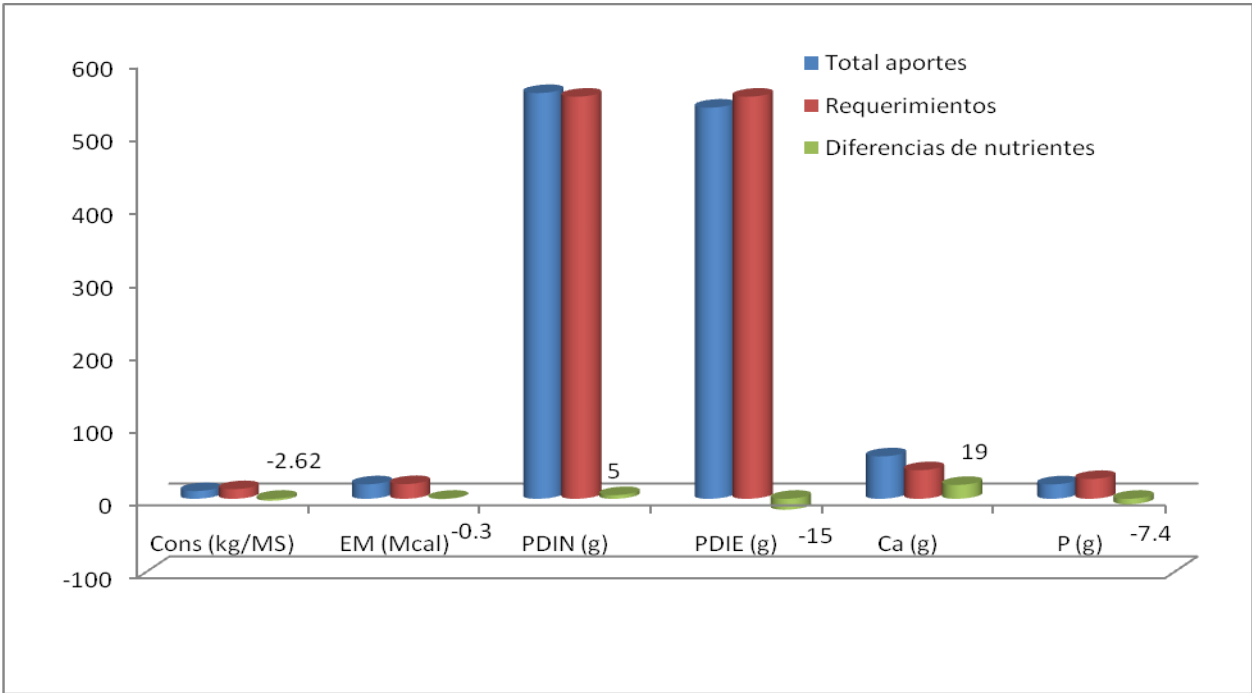
Anexo 7. Balance alimentario de los microelementos estudiados en el ecosistema de llanura.



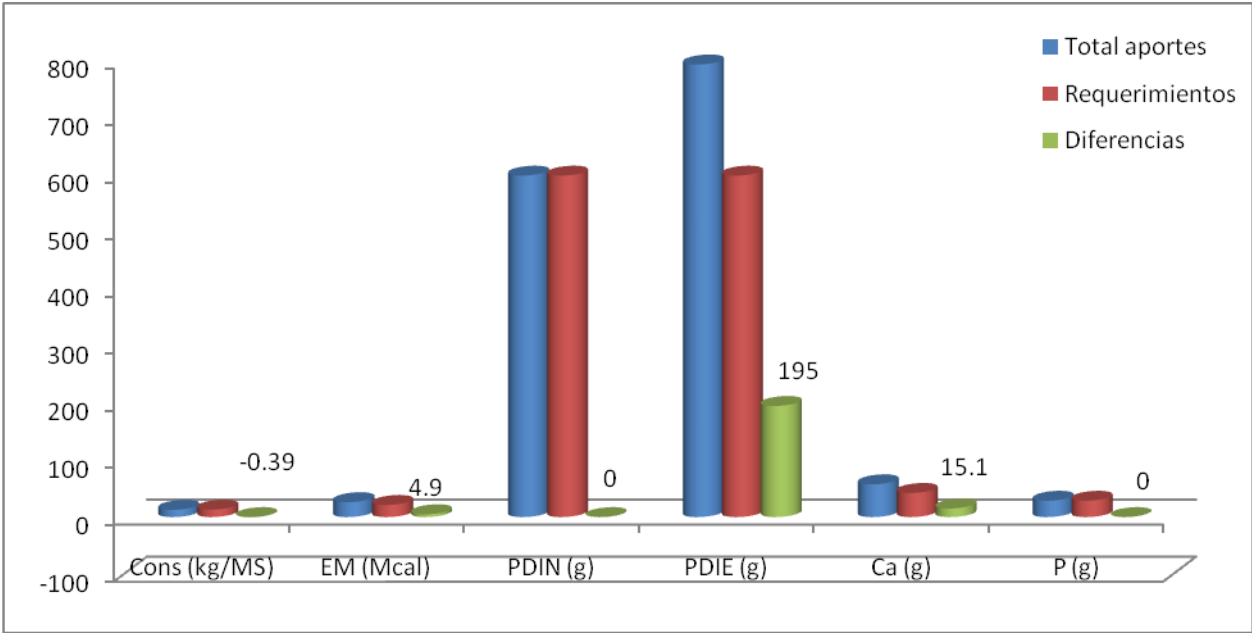
Anexo 8: Balance de nutrientes en el ecosistema de llanura



Anexo 9: Balance de nutrientes en el ecosistema de premontaña en periodo poco lluvioso



Anexo 10: Balance de nutrientes en el ecosistema de premontaña en periodo lluvioso



Opinión del tutor.

La tesis de maestría presentada por el aspirante Dr. MVZ. Harun Munyori Nderitu, titulada **“Efecto de la suplementación parenteral de Cu, Zn y Mn sobre el comportamiento bio-reproductivo en hembras bovinas lecheras en diferentes ecosistemas ganaderos de la provincia de Villa Clara”**, se enmarca dentro del proyecto de investigación territorial del CITMA en Villa Clara, titulado: **“Efecto de la suplementación parenteral de Cu, Zn y Mn sobre el comportamiento bio-productivo de las hembras bovinas lecheras”**, con código 0483, ejecutado por un grupo de docentes e investigadores de la Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, dirigido por el que suscribe y dentro del cual ha colaborado el aspirante.

La tesis posee actualidad dada la importancia de los microelementos estudiados para la especie bovina, especialmente por su influencia para el comportamiento reproductivo de la misma. Sobre la carencia de estos microelementos y su suplementación existen numerosos reportes; sin embargo, el presente trabajo es novedoso ya que evalúa y demuestra fehacientemente por primera vez, las carencias de Cu, Zn y Mn en el eje suelo planta animal como un problema común en diferentes ecosistemas ganaderos, considerados típicos dentro de la ganadería bovina en Cuba y el efecto negativo de las mismas sobre el comportamiento reproductivo de las hembras bovinas en esas condiciones.

Por otra parte, se realiza un amplio estudio del estado metabólico de los animales en los rebaños investigados, que abarca la determinación de indicadores del metabolismo energético, proteico, ácido-básico, hematológicos y el perfil hepático, dándole una gran integralidad al trabajo realizado, que conjuntamente con el empleo un correcto diseño experimental y de métodos analíticos y estadísticos adecuados le proporcionan una mayor confiabilidad a los resultados obtenidos; que a su vez, requieren de un alto grado de especialización del aspirante para su correcta interpretación.

La tesis aborda además, la suplementación del Cu, Zn y Mn por vía parenteral, ofreciendo una metodología de trabajo para efectuar el suministro de estos microelementos, con la cual se obtuvo un efecto beneficioso sobre los indicadores bioreproductivos de los animales suplementados, en este caso con un candidato de suplemento genérico de estos microelementos, que abre un nuevo campo de estudio para la obtención definitiva, producción, registro e introducción del mismo.

La tesis cumple con la estructura metodológica reglamentada para la confección de la misma, durante el desarrollo del trabajo el aspirante alcanza un satisfactorio grado de cumplimiento de los objetivos propuestos, mostrando un elevado nivel de independencia y dedicación; resolviendo satisfactoriamente los problemas prácticos y científico-técnicos que se le presentaron durante el desarrollo del mismo, lo que demuestra la experiencia y preparación del aspirante que lo hacen merecedor del grado científico al que aspira.

Dr. MVZ. Harun Munyori Nderitu
Aspirante

Dr. C. Juan Ramón García Díaz
Tutor
Santa Clara, 1 de febrero de 2012.