

SUPLEMENTACION PARENTERAL CON COBRE EN VACAS GESTANTES Y SU EFECTO SOBRE EL TERNERO AL NACIMIENTO

Parenteral copper supplementation in pregnant cows and its effect upon the newborn calf

Viejo¹, R.E. y Casaro², A.P.

Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Balcarce

RESUMEN

Se estudió el efecto de la administración parenteral con Cu en la vaca gestante sobre las reservas hepáticas y aspectos clínicos de los terneros en el nacimiento. Se utilizó un rodeo de 300 vacas Aberdeen Angus de 2-3 años de edad, en sus últimos 4 meses de gestación. Se dividió el rodeo al azar en dos grupos de 150 animales cada uno que recibieron los siguientes tratamientos: T1, con administración parenteral de 200 mg de Cu cada 2 meses y T2, testigo. Mensualmente, se extrajeron muestras de sangre (n = 25 en cada tratamiento) y se examinó clínicamente a todos los animales. Se midió Cu en sangre por el método de la ceruloplasmina oxidasa. También, en forma mensual, se obtuvieron muestras de forraje y agua. En forraje se determinaron Cu, Mo y S; en agua, sales totales y SO_4^{2-} . En el momento del parto se examinó clínicamente a los terneros nacidos vivos, y a los nacidos muertos se les tomaron muestras de hígado (n = 9 de cada grupo de vacas) para determinar Cu y Mo. Se conformó un diseño completamente aleatorizado y los análisis se realizaron por test de comparación de medias. Las concentraciones promedio de Cu ($7 \pm 0,5$ ppm), Mo ($0,6 \pm 0,08$ ppm) y S ($0,3 \pm 0,1$ %) en el forraje y SO_4^{2-} (397 ± 80 mg/litro) en el agua, estuvieron dentro del rango considerado normal. En ninguno de los dos tratamientos la cupremia llegó al rango considerado fisiológico ($0,5 - 1,5$ ug/ml) y las diferencias entre tratamientos fueron significativas ($p < 0,01$). Los terneros provenientes de madres del T1 presentaron en el nacimiento concentraciones mayores (380 ± 176 mg/kg MS) de Cu hepático que los provenientes de madres del T2 (164 ± 43 mg/kg MS; $p < 0,01$). No hubo manifestaciones clínicas en ninguna de las dos categorías de animales en estudio (vacas y terneros), si bien las vacas tuvieron hipocupremia ($0,33 \pm 0,1$ ug/ml). El estado de hipocupremia y la falta de signos clínicos indican que los animales tuvieron una carencia subclínica. La suplementación de las madres mejoró el aporte de Cu materno al feto, con aumento en la concentración de Cu hepático en el nacimiento.

Palabras clave: cobre, deficiencia, suplementación, vacas gestantes, terneros al nacimiento.

SUMMARY

The effect of parenteral copper (Cu) supplementation in pregnant cows on hepatic reserves of calves and the clinical aspects at birth were studied. A herd of 300 Aberdeen Angus cows, 2-3 years old in their 4 last months of pregnancy, was used. The cows were allotted at random in two treatments of 150 animals each: T1 (treated with parenteral administration of 200 mg of Cu every 2 months) and T2 as control. Monthly blood samples (n = 25 for each treatment) were taken and

1. Med.Vet. Dirección Actual: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Balcarce. C.C. 276 (7620) Balcarce, Bs.As.

2. Med.Vet. Técnico de la EEA Balcarce.

all animals were clinically examined. Cu levels in blood were measured by oxidase caeruloplasmin method, forage and water samples were also taken monthly. Cu, Mo and S were determined in forage, and SO_4^{2-} and total salts in water. At calving live calves were clinically examined and liver samples ($n=9$ for each group of cows) were taken from stillborn and dystocic calves to measure Cu and Mo levels. A completely randomized design was carried out and means were compared by t-Student test. Means concentrations of Cu (7 ± 0.5 ppm), Mo (0.6 ± 0.08) and S (0.3 ± 0.1 %) in forage and SO_4^{2-} in water were considered normal for the area. In any of both treatments cupraemia reached physiological values ($0.5-1.5$ ug/ml) and differences between treatments were significant ($p < 0.01$). Calves born to cows from T1 had higher Cu hepatic concentrations (380 ± 176 mg/kg MS) than those born to cows from T2 (164 ± 43 mg/kg MS; $p < 0.01$). Although no clinical signs either in cows or calves were detected, the former showed hypocupraemia (0.33 ± 0.1 ug/ml). Hypocupraemia and lack of clinical signs indicate that the animals had a subclinical Cu deficiency. Supplementation to pregnant cows improved maternal Cu supply to the foetus, with an increased concentration of hepatic Cu at birth.

Key words: copper, deficiency, supplementation, pregnant cows, newborn calves.

INTRODUCCION

La deficiencia de cobre (Cu) en los ruminantes puede atribuirse a la presencia en la dieta de factores que reducen su disponibilidad (Bremner y Davies, 1980). El molibdeno (Mo) y el azufre (S) son probablemente los más importantes; aunque otros metales como el zinc (Zn) y el hierro (Fe) pueden también afectar su utilización (Humphries, Phillippo, Young, y Bremner, 1983).

En Argentina, la enfermedad se encuentra distribuida en varias regiones. De acuerdo con los antecedentes obtenidos hasta la fecha, se la puede considerar como una de las principales alteraciones de la nutrición mineral, dado su impacto económico negativo sobre los sistemas de producción (Ruksan, 1985).

Para que haya un desarrollo fetal normal, el Cu debe ser aportado en cantidad adecuada y en el momento oportuno. Los altos requerimientos fetales imponen a la madre una considerable demanda del mineral, especialmente durante el último trimestre de la gestación. El aumento en la incorporación de Cu por el hígado fetal refleja una adaptación fisiológica para el período post-natal durante el amamantamiento, puesto que la leche de vaca es una fuente pobre de Cu ($0,6$ mcg %). Los cálculos de

requerimientos revelan que para prevenir un estado de deficiencia, los terneros recién nacidos, deben tener una reserva de 300 mg Cu/kg de materia seca (MS) en hígado (Gooneratne y Christensen, 1989). La administración de Cu en las vacas gestantes aumenta la transferencia de Cu hacia los fetos (Hidiroglou y Knipfel, 1981).

En el presente estudio se evaluó el efecto de la suplementación parenteral con Cu en vacas gestantes, sobre las reservas hepáticas de Cu y la aparición de signos clínicos de hipocuprosis en terneros al momento del nacimiento, en una zona caracterizada por la presentación de deficiencia condicionada de Cu por exceso de Mo.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo se llevó a cabo en un establecimiento ubicado en el Partido de Tordillo, Provincia de Buenos Aires, durante el período mayo-septiembre de 1989. En este establecimiento se detectó en años anteriores la aparición de hipocuprosis en terneros de 1-3 meses de edad con signos clínicos muy marcados de deformaciones óseas y fracturas espontáneas en muchos de ellos (datos inéditos).

Se utilizaron 300 vacas Aberdeen Angus de 2-3 años de edad, en los últimos 4 meses de gestación. Se distribuyeron al azar en dos grupos de 150 animales cada uno que recibieron 2 tratamientos: el T1 con suplementación parenteral de 200 mg de Cu* (vía subcutánea) al mes 6 y 8 de la gestación y el T2 sin suplementar. Los animales permanecieron juntos en potreros de campo natural, de donde se obtuvieron en forma mensual muestras del forraje y agua disponible. De cada tratamiento se identificaron 25 vacas a las que se les extrajo sangre mensualmente a partir del 6° mes de gestación por punción de la vena yugular. Al mismo tiempo, se observó la posible aparición de algún signo de hipocuprosis. En ambos tratamientos hubo un número elevado de distocias debido a que provenían de un ensayo de cruzamiento. En el momento del parto, se utilizaron estos terneros distócicos o nacidos muertos y se les tomaron muestras de hígado (9 de cada grupo de vacas). Teniendo en cuenta los antecedentes de años anteriores, se observó en los terneros vivos y muertos la posible aparición de algunos signos clínicos de carencia, principalmente deformaciones articulares y fracturas. Se registraron también las precipitaciones anuales.

Análisis de Cu, Mo y S: en el suero se determinó la concentración de Cu por el método de la ceruloplasmina oxidasa (Bingley, Ruksan y Carrillo, 1978). En forraje se evaluó Cu (Eden y Green, 1940), Mo (Eden y Green modificado por Bingley, 1959) y S (expresado como sulfatos, SO_4^{2-}) por turbidimetría (Bingley y Dick, 1967). En agua se midieron sulfatos y sales totales (Bingley y Dick, 1967). La determinación de Cu y Mo en hígado se realizó mediante la misma técnica utilizada en forrajes.

* Amino acetato de Cu, 20 mg de Cu activo/ml. Producto Comercial de Laboratorio INDUVET S.R.L.

Análisis estadístico: los datos fueron analizados por el procedimiento GLM (General Linear Models) de SAS. Se conformó un diseño completamente aleatorizado y los resultados de ambos tratamientos se evaluaron usando un test de comparación de medias (t-Student test, ttest Procedure, SAS, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de los análisis del forraje se observan en el Cuadro 1. Las concentraciones de Cu, Mo y S estuvieron dentro del rango considerado normal. Es importante destacar que no hubo grandes oscilaciones ni en el Cu ni en el Mo, si bien el S tendió a elevarse hacia el final del invierno. Las concentraciones en agua también permanecieron dentro de los rangos normales (397 ± 80 mg SO_4 /litro y 3126 ± 1300 mg sales totales/litro) durante todo el período experimental. Las precipitaciones registradas fueron un 50% más bajas que las consideradas promedio para la zona (900-1000mm). La capacidad de las plantas para extraer Mo del suelo varía según la especie y aumenta con las lluvias y la humedad relativa (Ruksan, 1985). Según Bain, Spence y Jones (1986), el Cu es rápidamente secuestrado en constituyentes orgánicos del suelo para formar compuestos de variada solubilidad. Este proceso puede ser afectado por la cantidad de agua en el suelo, ya que el anegamiento produce un medio anaeróbico alrededor de las raíces y la correspondiente caída en el pH del suelo. Estas condiciones aumentan la tasa de movilización de Cu y por lo tanto su tasa de absorción. Sin embargo, este proceso también eleva la disponibilidad de Mo generando una interacción antagónica con el Cu. Las lluvias también pueden actuar negativamente al contaminar el forraje con suelo y así aumentar la ingestión de inhibidores de la absorción del Cu (por ejemplo Fe). Los registros de lluvias de los años en que existieron proble-

CUADRO 1: Concentración media de Cu, Mo y SO₄ en forraje.

Mayo	Junio	Julio	Agosto	Valor de referencia
7,1 (0,9)	7,3 (1,0)	7,5 (1,6)	6,2 (0,08)	5 - 10
0,7 (0,2)	0,6 (0,2)	0,7 (0,1)	0,5 (0,07)	1 - 2
10	12	10	12	> 2
0,18 (0,04)	0,27 (0,05)	0,42 (0,08)	0,46 (0,10)	< 0,5

(): Desvío estandar; n = 4-5 en cada fecha.

* Underwood, 1977.

mas (86-87) estuvieron por encima del promedio para la zona (1140 mm), a lo que se sumó la inundación ocurrida en ese mismo período. En cambio, durante el período del ensayo (88-89), estos registros fueron un 50% menores que el promedio. Por lo dicho anteriormente, esta relación clima-suelo-planta podría considerarse una de las causas de las bajas concentraciones de minerales observadas en los forrajes con respecto a los otros años, si bien faltan evidencias que lo confirmen.

En la inspección de las vacas no se observó la aparición de signos clínicos evidentes de carencia de Cu, salvo una leve acromotriquia. La concentración de Cu en las vacas gestantes se observa en el Cuadro 2. Las diferencias entre los tratamientos fueron significativas ($p < 0,01$) en los últimos tres meses de gestación. En las vacas gestantes, la administración parenteral con Cu elevó la cupremia, si bien no fue suficiente para alcanzar los valores considerados fisiológicos. Esta respuesta, contraria a la esperada, no es fácil de explicar dado que la concentración de los antagonistas del Cu (Mo y S) fueron normales. Posiblemente otros microelementos hayan interactuado también con el Cu alterando su disponibilidad para el animal. El Fe es un potente antagonista y

es probable que sea un determinante principal para limitar la utilización del Cu por el animal. Desafortunadamente, son poco conocidos los mecanismos por los cuales el Fe afecta el metabolismo del Cu. No es claro si el efecto es sobre la absorción o la retención del Cu hepático. Se ha demostrado que el Fe reduce la retención corporal de Cu pero, a diferencia del Mo, no induce signos clínicos de deficiencia (Humphries y otros, 1983). Sin embargo, faltan aún evidencias que demuestren que esta situación se produzca en nuestro país.

Otro factor a considerar es el amplio rango de variación de la cupremia que existe dentro de los rodeos muestreados. Para el T1, en promedio, el 30% de las vacas estuvo en el rango fisiológico y para el T2 el 4%. Según Suttle (1986a), mientras el valor medio de la población puede indicar una deficiencia, existen individuos que poseen valores sanguíneos considerados dentro del rango fisiológico. Además, los resultados hallados pueden ser explicados por efectos genéticos, pues si bien existe escasa variabilidad entre razas, puede existir gran variabilidad para animales de una misma raza (Suttle, 1986b; Gooneratne, Bailey, Symonds y Christensen, 1987).

Durante el desarrollo del ensayo no se

CUADRO 2: Cobre sérico en vacas gestantes con suplementación parenteral de Cu (n = 25) y control (n = 25).

Mes de gestación	Tratamientos	Media (DE) (mcg/ml)		Rango de Variación	
		Min.	Máx.	Min.	Máx.
S	6	T1	0,37 (0,07)	0,26	0,53
		T2	0,34 (0,06)	0,20	0,45
			NS		
	7	T1		0,29	0,66
		T2	0,42 (0,09)	0,15	0,60
			0,35 (0,09) **		
S	8	T1		0,27	0,65
		T2	0,43 (0,14)	0,17	0,61
			0,30 (0,09)		
	9	T1		0,26	0,77
		T2	0,48 (0,13)	0,13	0,62
			0,33 (0,13) **		

observaron evidencias clínicas de hipocuprosis (salvo una leve acromotriquia), a pesar de que muchos animales se hallaban hipocuprémicos. El nivel normal de Cu sanguíneo está dentro de límites estrechos, pero el rumiante puede llegar a tolerar valores subnormales sin que se vean afectadas sus funciones corporales. El Cu sanguíneo puede llegar a valores de 0,12 mcg/ml sin que aparezca una severa alteración de su metabolismo (Suttle, 1986a). La falta de signos clínicos puede deberse también a un cierto grado de adaptación del organismo a la condición de hipocupremia o bien a la falta de un agotamiento de las enzimas tisulares dependientes del Cu (Ramirez y Ferrer, 1989).

Los casos en que niveles normales de Mo interfieren con el metabolismo del Cu son más difíciles de explicar. Puede encontrarse una amplia variedad de signos clínicos como crecimiento subóptimo, disminución en la producción de leche, disminución del apetito, cojeras, pérdida de terneros e infertilidad (Ward, 1978). Recientes evidencias sugieren un efecto directo del Mo sobre los procesos metabólicos y por lo tanto la necesidad de un estado de molibdenosis más que de hipocuprosis para que el cuadro patológico se manifieste

(Bremner, 1987; Bremner, 1990) La introducción de dietas con Mo causan infertilidad, mientras que su retiro restaura la fertilidad a niveles normales (Phillippo, Humphries, Atkinson, Henderson y Garthwaite, 1987). Puesto que el Mo no produce cambios obvios en el estado cúprico de los animales, las lesiones clínicas observadas son un reflejo de los efectos directos del Mo sobre los procesos biológicos y no necesariamente debido a una deficiencia de Cu inducida. Quedan pocas dudas de que la formación de tiomolibdatos de Cu sean los responsables de la deficiencia de Cu inducida por excesos de Mo (Mason, 1990).

En la inspección de los terneros (vivos y muertos) no se observaron deformaciones óseas-articulares ni otros signos clínicos de deficiencia de Cu. Las concentraciones de Cu y Mo hepático en terneros se observan en la Figura 1. La suplementación parenteral con Cu en las vacas gestantes elevó la transferencia de Cu a los fetos. Los terneros provenientes de madres del T1 presentaron al momento del nacimiento concentraciones mayores ($p < 0,01$) de Cu hepático que los provenientes de madres del T2. Sin embargo, la diferencia en la concentración de Mo fue similar

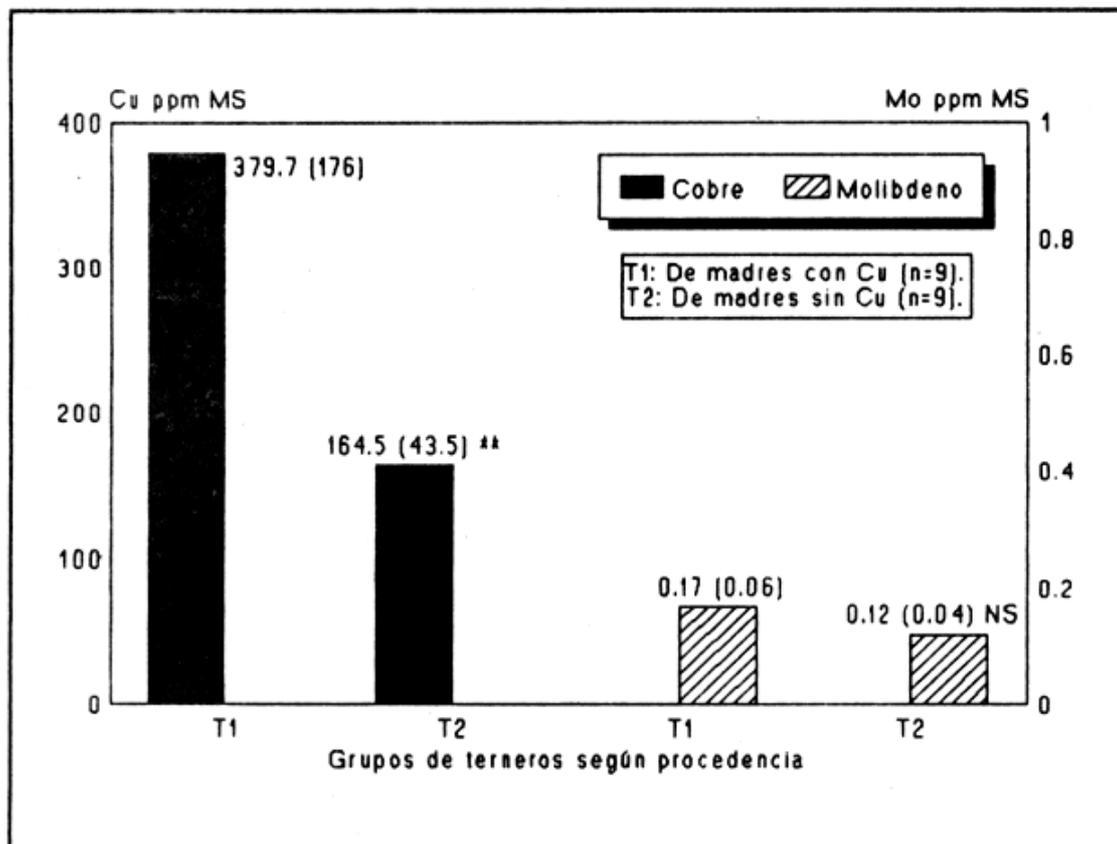


FIGURA 1: Concentración hepática de Cu y Mo en terneros al momento de nacer. (): Desvío estándar de la media. **: $p < 0,01$, NS: no significativo.

($p > 0,01$) entre tratamientos. Estos datos son coincidentes con los de Hidiroglou y Knipfel (1981), quienes observaron que la administración parenteral de Cu en vacas de 1 a 4 meses antes del parto aumenta la transferencia de Cu hacia los fetos y eleva la concentración de Cu en el hígado de los terneros recién nacidos.

Un aspecto para destacar es que en la zona existen períodos intermitentes de agudización de la enfermedad. Por ejemplo, en el establecimiento donde se realizó el presente ensayo se observó, durante los años 86-87, una severa deficiencia condicionada de Cu por exceso de Mo en los terneros de 1 a 3 meses de edad con fracturas espontáneas. Las concentraciones sanguíneas de Cu fueron de 0,26 mcg/ml para los terneros y de 0,10 mcg/ml para las vacas. La concentración de Cu hepático en los terneros fue anormalmente

baja (4,4 ppm MS) (datos inéditos).

La ocurrencia de este fenómeno de intermitencia puede explicarse por la acción conjunta de factores climáticos y edáficos combinados con las fluctuaciones de la composición química del forraje (Cu y Mo) y agua de bebida ($SO_4 =$). La relación entre las condiciones edáficas e hidrológicas con los desequilibrios minerales es un hecho bien conocido (Culot, Fernandez, Tuñón, Bolaño, Petroni y Garces, 1967; Loneragan, 1975).

Resta aún profundizar desde un punto de vista nutricional y fisiopatológico las interacciones entre el Cu y otros microelementos (Fe, Zn) bajo nuestras condiciones de pastoreo, al igual que la posible relación directa del Mo con enfermedades neonatales a fin de desarrollar técnicas diagnósticas y aplicar terapéuticas correctas.

CONCLUSIONES

La suplementación parenteral con Cu durante los últimos 4 meses de gestación, a pesar de no haber elevado la cupremia a los valores considerados fisiológicos, mejoró el aporte de Cu materno hacia los fetos. Esto se tradujo en un aumento del Cu hepático en los terneros al momento de nacer.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Sra. Mónica Drake y a la Srta. María Yarrar, del Laboratorio de Bioquímica de la EEA Balcarce, por su inestimable colaboración en el desarrollo de este trabajo.

A los Meds.Vets. Juvel Daguerre y Pablo Cacace por el apoyo técnico y a la Srta. Gloria Monterrubianesi por su colaboración en el análisis estadístico.

BIBLIOGRAFIA

- BAIN, M.S., SPENCE, J.B. y JONES, P.C. 1986. An investigation of bovine serum copper levels in Lincolnshire and South Humberside. *Vet. Rec.* 119: 593-595.
- BINGLEY, J.B. 1959. Simplified determination of molybdenum in plant material by 4-methyl-1,2 dimercatobencene, dithiol. *J. Agr. Food Chem.* 7: 269.
- y DICK, A.T. 1967. Semimicro determination of inorganic sulfate in plant material. *J. Agr. Food Chem.* 15: 539.
- , RUKSAN, B. y CARRILLO, B.J. 1978. Método de la ceruloplasmina oxidasa en plasma para la detección de la hipocuprosis bovina y su correlación con la concentración de cobre plasmático. *Rev. Med. Vet.* 59:63-67.
- BREMNER, I. y DAVIES, N.T. 1980. Dietary composition and the absorption of trace elements by ruminants. In: *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. Ruckebush-Thivend ed. Lancaster. MTP Press. pp 409-428.
- , 1987. Mechanisms and nutritional importance of trace elements interactions. In: *Trace elements in man and animals 6*. Hurley, L. ed. Plenum Press. California. pp 303-307.
- , 1990. Trace elements in animal nutrition-the changing scene. *J. Sci. Food Agr.* 50: 271-285.
- CULOT, J., FERNANDEZ TUÑON, E., BOLAÑO, A., PETRONI, R. y GARCES, N.E. 1967. Condiciones edáficas e hidrológicas relacionadas con desequilibrios minerales del ganado vacuno de la zona de cría del sudeste bonaerense. *Boletín Técnico Nro. 53*. INTA, EEA Balcarce. Argentina.
- EDEN, A. y GREEN, H.H. 1940. Microdetermination of copper in biological material. *Biochem. J.* 34:1202.
- GOONERATNE, S.R., BAILEY, J.V., SYMONDS, H.W. y CHRISTENSEN, D.A. 1987. Effect of dietary Cu, Mo and S levels on bile and urine Cu excretion in breeds of cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 67: 1188.
- y CHRISTENSEN, D.A. 1989. A survey of maternal copper status and fetal tissue copper concentrations in Saskatchewan bovine. *Can. J. Anim. Sci.* 69: 141-150.
- HIDIROGLOU, M. y KNIPFEL, J.E. 1981. Maternal-fetal relationships of copper, manganese, and sulfur in ruminants. *J. Dairy Sci.* 64: 1637-1647.
- HUMPHRIES, W.R., PHILLIPPO, M., YOUNG, B.W. y BREMNER, I. 1983. The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. *British J. Nutr.* 49, 77-86.
- LONERAGAN, J.F. 1975. In: *Trace elements in soil-plant animal systems*. Nicholas-Egan ed. Academic Press Inc. London pp 109-134.
- MASON, J. 1990. The biochemical pathogenesis of molybdenum-induced copper deficiency syndromes in ruminants: Towards the final chapter. *Irish Vet. J.* 43:18-21.
- PHILLIPPO, M., HUMPHRIES, W. ATKINSON, T. HENDERSON, G. y GARTHWAITE, P. 1987. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrus cycles in cattle. *J. Agric. Sci.* 109: 315-320.
- RAMIREZ, C. y FERRER, C.G. 1989. Variación estacional de la cupremia en bovinos de cría del Partido de Magdalena (Provincia de Buenos Aires). *Rev. Arg. Prod. Anim.* 9: 179-184.
- RUKSAN, B. 1985. Mapa de microelementos en forrajes de Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 4: 89-98.
- SAS. 1988. User's guide. Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, N.C. pp 941-947.
- SUTTLE, N.F. 1986a. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet. Rec.* 119: 148-152.
- , 1986b. Copper deficiency in ruminants; recent developments. *Vet. Rec.* 119: 519-522.
- UNDERWOOD, E.J. 1977. Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, Inc.

London. pp 56-108.
WARD, G.M. 1978. Molybdenum toxicity and hypo-

cuprosis in ruminants: a review. *J. Anim. Sci.*
46: 1078-1085.