

Caracterización del contenido de microelementos en el sistema suelo-planta-animal y su influencia en la reproducción bovina en la zona central de Cuba

J.R. García¹, M. Cuesta¹, R. García López², R. Quiñones¹, J. M. Figueredo³, R. Faure³, R. Pedroso⁴ y Á. Mollineda¹

¹Universidad Central de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carretera a Camajuaní, km 5½. Santa Clara, Villa Clara, Cuba

²Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana, Cuba

³Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, San José de las Lajas, La Habana, Cuba

⁴Centro de Investigación de Mejoramiento Animal de la Ganadería Tropical, Loma de tierra, Cotorro, Ciudad de la Habana, Cuba

Correo electrónico: juanramon@uclv.edu.cu

El objetivo de este estudio fue evaluar el contenido de microelementos en suelo, pastos, hembras bovinas lecheras e indicadores reproductivos en vaquerías de la zona centro sur de la provincia Villa Clara. Se utilizaron cuatro unidades pecuarias representativas de la zona, dos vaquerías y dos centros de novillas, donde se estudiaron las características de la composición mineral del suelo, el pasto y el perfil mineral de los animales, incluidos órganos de reserva e indicadores reproductivos. Se calcularon los estadísticos descriptivos para todas las variables, los niveles de microelementos en el pasto en las dos épocas del año y entre vacas y novillas. En el suelo se encontraron 61, 66, 77 y 100 % de las muestras deficientes en Fe, Mn, Zn y Cu, respectivamente. En el pasto, durante el período lluvioso, se observaron deficiencias de Mn, Zn y Cu, en 38, 33 y 100 %, y durante el poco lluvioso de Mn y Cu en 27 y 100 % de las muestras. El 75 % de las muestras de suero sanguíneo eran deficientes en Cu y en tejido hepático. Se diagnosticaron 72, 42 y 50 % de las muestras deficientes en Cu, Zn y Mn, respectivamente. Se concluye que en la zona de estudio la deficiencia mineral más acentuada fue la de Cu, diagnosticándose igualmente deficiencias de Zn y Mn, y un marcado deterioro de los indicadores reproductivos.

Palabras clave: *indicadores reproductivos, composición mineral, deficiencias, bovinos, leche.*

En el mundo, las deficiencias minerales en bovinos en pastoreo es uno de los factores limitantes de los sistemas de producción. En empresas pecuarias de la región central de Cuba se diagnosticaron altas proporciones de vacas, novillas y sementales vacunos con carencias minerales que afectaban 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, asociada a severos trastornos reproductivos (Pedroso 2005).

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, no se han realizado estudios acerca de sus niveles en el suelo, donde desempeñan una función preponderante (Kalmbacher *et al.* 2005). En los pastos se realizaron pocos trabajos, fundamentalmente en la década del 80, por lo que se necesita conocer y actualizar la incidencia de las carencias de minerales trazas en el eje suelo-planta-animal, para determinar la magnitud real de este déficit e incluir en el diagnóstico no solo la determinación de las concentraciones de estos minerales en suero sanguíneo, sino también medir el contenido en órganos de reserva, que constituye el verdadero indicador de su estado en el organismo (Bouda *et al.* 2005).

El objetivo de este experimento fue evaluar el contenido de microelementos en suelo, pastos, hembras

bovinas lecheras e indicadores reproductivos en vaquerías de la zona centro sur de la provincia Villa Clara.

Materiales y Métodos

Ubicación y características del área experimental.

El estudio se desarrolló en unidades de producción de la zona centro sur de la provincia Villa Clara. En el área experimental predominan los suelos pardos con carbonatos, de rápida desecación, arcillosos y profundos sobre rocas calizas (Hernández *et al.* 1999).

Procedimiento experimental.

Se utilizaron cuatro unidades pecuarias representativas de la zona: dos vaquerías y dos centros de novillas, donde se estudiaron las características de la composición mineral del suelo y el pasto. En los rebaños de estas unidades se estudiaron los niveles de microelementos (Cu, Zn y Fe) en suero sanguíneo, seleccionando una muestra representativa de las diferentes categorías y estados productivos de los rebaños seleccionados (Álvarez 2001), que comprendieron 140 animales (40 vacas y 100 novillas). Se evaluaron las reservas hepáticas de Cu, Zn, Fe y Mn, seleccionándose 25 animales de los rebaños estudiados. Se evaluó también la condición corporal y el comportamiento de los indicadores reproductivos.

Toma de muestras y procedimientos analíticos del suelo. Para la obtención de las muestras de suelo se siguieron los procedimientos descritos por Rodríguez (2000). Las muestras, después de secarlas al aire, se

pasaron por un tamiz con malla de 0.5 mm y se les determinó la materia orgánica (MO) mediante el método de Walkley y Black (citado por Jackson 1970). El pH se determinó por el método potenciométrico, según la NRAG 878/1987. 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 se recolectaron entre las 8 a.m. y las 12 a.m., en el estrato superior de la planta, a 15 cm del suelo, según Herrera (2007). Las mismas se enviaron al laboratorio, donde primeramente se colocaron en una estufa a 60 °C durante 72 h y después se molieron. Los contenidos de Cu, Zn, Fe y Mn se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Miles *et al.* 2001) en un equipo SP-9 de la firma PYE UNICAM, según los procedimientos del fabricante.

Sistema de alimentación y manejo. Los animales estaban en un sistema de pastoreo rotacional restringido en el tiempo, con intensidad de 244.8 UGM ha/d, carga global de 1.5 animales/ha, pastoreaban 16 h diarias. El alimento fundamental fue el pasto, con una disponibilidad media por animal y día de 27 kg de materia seca, con suplementación de fosfato dicálcico y mieles. Las vacas se ordeñaron de forma manual, una vez al día, entre las 2 a.m. y 5 a.m., empleándose el sistema de ama-mantamiento restringido.

Comportamiento reproductivo y condición corporal (CC). Los indicadores reproductivos se evaluaron según los procedimientos descritos por Brito (2001). En las novillas se determinó la edad a la incorporación (EI), edad a la gestación (EG), intervalo incorporación gestación (IIG), edad al parto (EP) e intervalo incorporación parto (IIP). En las vacas se calculó el intervalo parto primer servicio (IPPI), período de servicio (PS), intervalo entre partos (IPP) e índice de inseminación (II). La CC se diagnosticó por inspección clínica y se clasificó en la escala de cinco puntos (Parker 1989).

Recolección de las muestras de sangre e hígado. Para la determinación de los microelementos en suero sanguíneo, se realizó venopunción de la yugular. Se extrajeron 10 mL de sangre y se depositaron en tubos vacutainer sin anticoagulante, esterilizados y desmineralizados. Posteriormente, se centrifugaron a 3500 rpm x 10 min, obteniéndose el suero sanguíneo. Este se congeló a -10 °C hasta su análisis. Las muestras de hígado se tomaron durante los 15 min posteriores al sacrificio de los animales. Se obtuvieron muestras del borde ventral del lóbulo derecho (15cm³), previa inspección general de la víscera para descartar alguna alteración. Las muestras se conservaron a -10 °C hasta su análisis.

Técnicas para la determinación de los niveles séricos y hepáticos de minerales. Se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (Miles *et al.*

2001), en un equipo SP-9 (PYE UNICAM), según los procedimientos del fabricante. Para determinar la proporción de animales con valores normales, sospechosos o patológicos de cada mineral en suero sanguíneo, se consideraron los criterios de Álvarez (2001).

Procesamiento estadístico. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics ver 5.0. Se calcularon los estadísticos descriptivos para todas las variables. En el pasto se realizó la comparación de las variables en las dos épocas del año y en el perfil mineral entre vacas y novillas. Se empleó la prueba de t-student para muestras independientes. Se realizó un análisis de correlación lineal simple entre la cupremia y las concentraciones de Cu del tejido hepático, y entre estas y las concentraciones de Fe en hígado.

Resultados y Discusión

El resultado del análisis químico (tabla 1) indicó altos valores de la MO para este tipo de suelo (Cairo y Fundora 2005). Estos fueron superiores a los informados en otros trabajos (Rodríguez *et al.* 2006 y Vargas 2008), y pueden estar influenciados por los más de 50 años de explotación ganadera a los que estuvo sometido el suelo. El pH se clasifica como neutro y está en correspondencia con otros estudios desarrollados en suelos pardos con carbonatos (Rodríguez *et al.* 2006 y Vargas 2008).

Tabla 1. Caracterización de la composición química y los niveles de microelementos del suelo en cuatro unidades de la zona centro sur de la provincia Villa Clara

	Microelementos (ppm)					
	MO, %	pH	Cu	Mn	Zn	Fe
LC	< 5.0		0.6	5.0	2.0	2.5
Media	5.69	6.7	0.19	4.83	1.55	2.07
DE	0.39	0.24	0.02	0.39	0.40	0.41

LC: Límites críticos de deficiencia, según McDowell y Arthington (2005)

Los niveles de pH encontrados no influyeron negativamente en la disponibilidad y asimilación de los microelementos estudiados (McDowell y Arthington 2005). Sin embargo, al considerar los niveles críticos, establecidos por los autores citados, se encontró que 61, 66, 77 y 100 % de las muestras de suelo eran deficientes en Fe, Mn, Zn y Cu, respectivamente. Los resultados en el Mn y el Zn coincidieron con los informados en la Florida por Kalmbacher *et al.* (2005), mientras que los valores del Fe fueron inferiores a los obtenidos por estos autores. La deficiencia micromineral más acentuada en el suelo fue la de Cu. Resultados similares se encontraron en la Florida (Tiffany *et al.* 2000), donde se diagnosticó 100 % de las muestras de suelo deficientes en Cu. Esto repercutió negativamente en los niveles de Cu del ganado que pasta en estas regiones.

Estos valores de Cu disminuidos en el suelo, unido a los altos niveles de materia orgánica que lo antagonizan

al formarse uniones muy fuertes entre ambos (Arthington y Brown 2005), hacen que no sea asimilable por la planta y, por tanto, no llega al animal produciéndose la hipocuprosis.

Las concentraciones de los minerales en el pasto (tabla 2) muestran que en el período lluvioso hubo deficiencias de Mn y Zn en 38 y 33 % de las muestras analizadas respectivamente. En cambio, en el período poco lluvioso, en 27 % de los casos hubo deficiencia del primero, mientras que el segundo se encontraba entre los parámetros normales. En el caso del Fe, en ambos períodos, 100 % de las muestras presentaron valores normales. La deficiencia férrica es rara, debido a que los forrajes poseen, generalmente, un volumen adecuado de este mineral (McDowell y Arthington 2005).

Tabla 2. Contenido de microelementos del pasto en cuatro unidades de la zona centro sur de Villa Clara

Microelementos (ppm)	LC	Períodos	
		Lluvioso.	Poco Lluvioso
Cu	< 10	4.98 ± 2.01	5.63 ± 1.20
Fe	< 50	57.45 ± 8.89	54.41 ± 6.78
Zn	< 30	33.57 ± 5.68	36.03 ± 2.39
Mn	< 40	43.42 ± 6.68	41.44 ± 3.44

Los límites críticos se basaron en las siguiente referencias: NRC (2001) y McDowell y Arthington (2005)

Los resultados obtenidos en Mn y Zn se corresponden con lo informado en la mayoría de los estados de Venezuela (Chico y Godoy 2002). Sin embargo, contrastan con lo obtenido en la Florida (McDowell *et al.* 2005) y en el valle central de México (Morales *et al.* 2007), donde las concentraciones de estos minerales en el pasto se encontraban entre los parámetros normales de referencia. Esto indica la incidencia geográfica de estas carencias, influenciadas por las características físicas y químicas de los suelos, la pluviometría, la especie y el estado vegetativo de la planta.

En los dos períodos, 100 % de las muestras de pasto eran deficientes en Cu, con valores inferiores al límite crítico, con concentraciones superiores en el período seco, debido a la madurez de la planta. Las gramíneas tropicales presentan grandes variaciones en su contenido de Cu, el cual fluctúa entre 5-8 ppm (McDowell y Arthington 2005). Los niveles de Cu obtenidos en este trabajo están en correspondencia con lo informado en otros estudios desarrollados en Cuba (González *et al.* 1984 y Vázquez 1992) y en otras áreas tropicales (Ndebele *et al.* 2005), pero contrastan con los alcanzados en varias empresas de la zona occidental de nuestro país, donde los pastos presentaban adecuado contenido de Cu (Gutiérrez *et al.* 2006). Los pastos, cuyo contenido de Cu fluctúa entre 3 y 5 ppm, como ocurrió en este estudio, no cubren los requerimientos de este mineral en la especie bovina. Esto se puede explicar por su carencia en el suelo (Arthington y Brown 2005).

Los resultados de la investigación de los niveles séricos de microelementos (tabla 3) muestran valores promedio de Cu inferiores a los 11.77 mmol/L, límite crítico de deficiencia para la especie (Álvarez 2001 y McDowell y Arthington 2005), con 75 % de los animales (vacas y novillas) con hipocupremia. Los demás microelementos (Zn y Fe) se encontraron entre los parámetros fisiológicos de referencia para la especie, expuestos por los autores mencionados, con solo 3 % de muestras deficientes en cada uno. Resultados similares a estos se han obtenido en la región central de Cuba (García y Cuesta 2004 y García *et al.* 2005). En el caso del Zn, la aparente discrepancia entre los valores séricos y los niveles deficientes en el pasto durante el período lluvioso se pueden deber al efecto de los mecanismos homeostáticos (Chico y Godoy 2005).

Tabla 3. Valores de los microelementos evaluados (mmol/L) en las hembras bovinas investigadas, procedentes de cuatro unidades de la zona centro sur de la provincia Villa Clara

Variables	LC	Novillas	Vacas
Cu	< 11.77	11.17 ^a ± 1.02	10.94 ^a ± 1.35
Fe	< 21.50	18.31 ^b ± 2.88	23.77 ^a ± 3.11
Zn	< 12.60	16.36 ^a ± 2.42	14.73 ^a ± 1.95

^{ab}Medias con diferentes superíndices en la misma fila difieren a P < 0.05. Los límites críticos son los establecidos por McDowell y Arthington (2005)

No se encontró correlación (r = 0.044) entre los valores de Cu en suero sanguíneo y en el hígado, lo que coincide con lo obtenido por Quiroz *et al.* (2003). El estudio de las reservas hepáticas de los microelementos (tabla 4) demostró que 72, 40 y 52 % de las muestras de tejido hepático presentaban concentraciones de Cu, Zn y Mn, respectivamente, y que estaban por debajo de los niveles críticos (Radostits *et al.* 2000 y McDowell y Arthington 2005). Los valores de hierro se encontraban entre los establecidos para la especie. Estos resultados están en correspondencia con los informados en Argentina (Balbuena *et al.* 1989) y Venezuela (Rojas *et al.* 1994 y Chico y Godoy 2002) y corroboran las deficiencias de Cu, Zn y Mn encontradas en el suelo y el pasto.

Tabla 4. Concentraciones de microelementos en tejido hepático (ppm) en hembras bovinas de unidades de la zona centro sur de la provincia de Villa Clara

Mineral	LC	X	SD	Mínimo	Máximo
Cu	75.0	74.0	22.80	27.59	123.11
Zn	160.0	161.74	13.62	142.35	198.4
Fe	180.0	301.21	47.97	233.02	427.71
Mn	6.0	6.14	0.90	4.98	8.24

Los límites críticos de deficiencia se establecieron según Radostits *et al.* (2000) y McDowell y Arthington (2005)

Se encontró una correlación negativa y altamente significativa ($P < 0.0001$) entre los niveles de Cu y Fe en tejido hepático ($r = -0.872$). El aumento de las concentraciones de hierro en el hígado ocurre desde los primeros estadios de la deficiencia cúprica, donde se reduce la actividad ferroxidasa de la Ceruloplasmina, proteína Cu dependiente sintetizada en este órgano, que oxida el Fe^{+2} , por lo que este no se puede transportar hasta los tejidos hematopoyéticos por la transferrina, provocando una anemia microcítica hipocrómica (Reeves y DeMars 2005).

Aunque los métodos para evaluar el estado del Zn son relativamente insensitivos, 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 $\mu\text{mol/L}$ y a 30 ppm en el pasto. Sin embargo, 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 (McDowell y Arthington 2005).

Las consideraciones anteriores y los resultados de este estudio permiten determinar la deficiencia de estos dos microelementos en la zona de estudio, aunque la hipocuprosis es la carencia mineral de mayor incidencia en los rebaños estudiados. Esto coincide con otros estudios desarrollados en Cuba, donde se han informado valores de Cu en tejido hepático entre 25 ppm y 75 ppm en épocas de lluvia y sequía, respectivamente (González *et al.* 1984 y Tarrero *et al.* 1988).

La evaluación de los principales indicadores reproductivos de estos rebaños (tabla 5) evidenció el deterioro de estos en las novillas, con avanzada edad a la incorporación, gestación y primer parto, lo que contrasta con lo informado para estos indicadores en el Siboney de Cuba (Brito 2001).

Tabla 5. Valores de la condición corporal y de los principales indicadores reproductivos evaluados

	Indicadores reproductivos de las novillas en meses					
	CC	EI	EG	IIG	EP	IIP
Media	3.3	32.11	41.06	8.84	50.05	18.0
DE	0.47	3.81	4.46	2.07	4.48	2.42
	Indicadores reproductivos de las vacas en días					
	CC	IPPI	PS	IPP	II	
Media	2.97	163.9	222.06	503.17	2.38	
DE	0.52	42.0	58.24	56.29	0.71	

En las vacas, la situación no fue menos favorable. Tanto el IPPI, como el PS e IPP, fueron demasiado largos. El índice de inseminación se puede evaluar de malo, atendiendo a los parámetros de referencia para el bovino lechero en condiciones ideales de explotación (Blanco 2000). Estos indicadores fueron menos eficientes que los informados para el genotipo racial Siboney de Cuba en sistemas de silvopastoreo (Reinoso *et al.* 2005).

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 y al considerar 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 el suelo. Estos provocan las carencias de microminerales en el pasto y las deficiencias diagnosticadas en los animales.

Se concluye que en las unidades ganaderas de la zona centro sur de la provincia Villa Clara, la deficiencia mineral más acentuada fue la de Cu, diagnosticándose en 100 % de las muestras de suelo y pasto, en 75 % de las de suero sanguíneo y en 72 % de las muestras de tejido hepático. Se corroboró además, marcado deterioro de los indicadores reproductivos en los rebaños estudiados. Se constató que existen deficiencias de Zn y Mn, en 61 y 66 % de las muestras de suelo, en 38 y 33 % de las de pasto durante el período lluvioso. Igualmente, hubo insuficiencia en 27 % de las muestras de Mn en el período poco lluvioso, y en 42 y 50 % de las muestras de tejido hepático.

Referencias

- Álvarez, J.L. 2001. Bioquímica nutricional y metabólica en el trópico. Ed. Universidad de Antioquía. Primera Edición. Medellín. Colombia. pp. 21
- Arthington, J. D. & Brown, W.F. 2005. Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity. *J. Anim. Sci.* 83: 1726
- Balbuena, O., McDowell, L.R., Toledo, H.O., Conrad, J.H., Wilkinson, N. & Martin, F.G. 1989. Estudios de la nutrición mineral de los bovinos para carne del este de las provincias de Chaco y Formosa, Argentina. *Vet. Arg.* 59: 584
- Blanco, G.S. 2000. Solución de problemas reproductivos en la vaca. Ed. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria de La Habana, La Habana. Cuba. p 12
- Bouda, J., Gutiérrez, C.A., Salgado, H.G & Kawabata, G.K. 2005. Monitoreo, diagnóstico y prevención de trastornos metabólicos en vacas lecheras. Disponible: <http://www.fm.vz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgCliG005.pdf>. Consultado: 1/06/06
- Brito, R. 2001. Patología de Reproducción Animal. Ed. Félix Varela. La Habana. Cuba
- Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Rep. Sci.* 60: 449
- Cairo, P. & Fundora, H.O. 2005. Edafología. Primera Parte. Ed. «Félix Varela». La Habana. Cuba. p. 265
- Chicco, C.F. & Godoy, S. 2002. Nutrición mineral de los bovinos de carne en Venezuela. XVIII Cursillo sobre bovinos de carne. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela. 135 pp.
- Chicco, C.F. & Godoy, S. 2005. Deficiencias minerales y condiciones asociadas en la ganadería de carne de las sabanas de Venezuela. Primer Curso Internacional sobre Avances en la Nutrición de los Rumiantes. 101 pp.
- García, J.R & Cuesta, M., 2004 Diagnóstico y tratamiento de la deficiencia de cobre y su efecto sobre la reproducción y el

- estado de salud de las hembras bovinas en Ecosistemas Frágiles y Degradados. Bayamo, Granma. Cuba
- García, J.R., Cuesta, M. & Pedroso, R. 2005. Administración de sulfato de cobre sobre la hemoquímica, hematología y bioactividad del líquido ruminal en vacas. *Rev. MVZ-Córdoba*. 10: 639
- González, N. Gerrken, C., Pedroso, R. & Lavandeira, L. 1984. Composición mineral en tejidos de novilla $\frac{3}{4}$ BS $\frac{1}{4}$ C. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 4: 35
- Gutiérrez, O., Crespo, G., Oramas, A., Cairo, J. & Fraga, S. 2006. Situación actual del status mineral en áreas ganaderas del occidente de Cuba. III Congreso Internacional de Agricultura en Ecosistemas Frágiles y Degradados. Bayamo. Granma
- Hernández, A., Pérez, J.M. & Boch, D. 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Ministerio de la Agricultura. Ciudad de La Habana. Cuba. p. 43
- Herrera, R. 2007. Toma y procesamiento de la muestra de pasto. Su influencia en los indicadores morfológicos y composición química. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 41:217
- Jackson, M.L. 1970. Análisis químico de suelos. Univ. de Wisconsin. 662 pp.
- Kalmbacher, R.S., Ezenwa, E.V., Arthington, J.D. & Martin, F.G. 2005. Sulfur fertilization of bahiagrass with varying levels of nitrogen fertilization on a Florida Spodosol. *Agron. J.* 97: 661
- López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J., Rutlant, J. & López-Béjar, M. 2001. Persistent ovarian follicles in dairy cows: a therapeutic approach. *Theriogenology* 56: 649
- McDowell, L.R. & Arthington, J.D. 2005. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. 4^a Ed. Dep. Zoot. Universidad de la Florida. Gainesville. USA
- McDowell, L.R., Davis, P.A., Cristaldi, L.A., Wilkinson, N.S., Buergelt, C.D & van Alstyne, R. 2005. Proc. Florida Ruminant Nutrition Symposium. Univ. Florida, Gainesville. USA. p. 38
- 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. USA
- Morales, E., Domínguez, I., González, M., Jaramillo, G., Castelán, O., Pescador, N. & Huerta, M. 2007. Diagnóstico mineral en forraje y suero sanguíneo de bovinos lecheros en dos épocas en el valle central de México. *Téc. Pec. Méx.* 45: 329
- Ndebele, N., Mtumuni, J. P., Mpofo, I.D., Makuza, S. & Mumba, P. 2005. The Status of Selected Minerals in Soil, Forage and Beef Cattle Tissues in a Semi-arid Region of Zimbabwe. *Trop. Animal Health and Prod.* 37: 381
- NRAG 878/1987. Suelos. Análisis químico. Determinación de los índices de grados de acidez.
- NRAG 894/1988. Suelos. Análisis químico. Determinación de Cu, Zn, Fe y Mn.
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. (7th Rev. Ed.). Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- Parker, R. 1989. Body condition scoring of Dairy Cattle. Factsheet AGNES. 410
- Pedroso, R. 2005. Interacción entre nutrición y reproducción en la hembra bovina. Conferencia. Instituto de Ganadería Tropical. Ministerio de la Agricultura. La Habana
- Quiroz, G.F., Bouda, J., Núñez, O.L., Sosa, F.C. & Castillo, D. 2003. Utilización de la ceruloplasmina, cobre sérico y hepático para el diagnóstico de deficiencias de cobre en vacas. *Vet. Méx.* 34: 146
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. & Hinchcliff, K.W. 2000. Veterinary medicine. a tex book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats, and horses. 9th Ed. Saunders company, Ltd. Londres
- Reeves, P.G. & DeMars, L.C. 2005. Repletion of Copper-Deficient Rats with Dietary Copper Restores Duodenal Hephaestin Protein and Iron Absorption. *Exp. Biol. Medicine*. 230: 320
- Reinoso, M., Díaz, F. & Simón, L. 2005. Pastizales alborizados. Beneficios nutricionales en comparación con monoculturas. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 39: 165
- Rodríguez, I. 2000. Influencias de las excreciones de vacas lecheras en el reciclaje de los macronutrientes en el agroecosistema de pastizal. Tesis Dr. Instituto de Ciencia Animal, La Habana. Cuba
- Rodríguez, I., Crespo, G., Torres, V., Calero, B., Morales, A., Otero, L., Hernández, L., Fraga, S. & Santillán, B. 2006. Evaluación integral del complejo suelo-planta-animal en una unidad lechera con silvopastoreo en la provincia La Habana, Cuba. IV Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la producción pecuaria sostenible. Varadero. Cuba
- Rojas, LX., Moya, A., McDowell, L.R., Martín, F.G & Conrad, J.H. 1994. Estado mineral de una finca en el suroeste de los llanos de Venezuela. *Zootecnia Trop.* 12:161
- Tarrero, R., Lavandeira, L., Pedroso, R., Martínez-Moles, M., Ruiz, T. & Caballero, O. 1988. Corrección de la deficiencia de cobre en rebaños de vacas lecheras y su relación con la reproducción en condiciones de producción. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 1: 59
- 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
- Vargas, S. 2008. Rediseño, manejo y evaluación de un agroecosistema de pastizal con enfoque integrado para la producción de leche bovina. Tesis Dr. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central de Las Villas, Santa Clara. Cuba. pp. 62-64
- Vazquez, O. 1992. Contribución al estudio de la deficiencia de cobre en el ganado bovino en pastoreo en condiciones de producción. Tesis de Especialidad en Bioquímica-Bromatología- Toxicología. Instituto de Ciencia Animal- Universidad Agraria de La Habana. p. 42

Recibido: 5 de julio de 2009