

DETERMINACIÓN SÉRICA DE MICROMINERALES EN VACAS VACÍAS Y GESTANTES DE LA RAZA BRAHMAN

SERUM TRACE ELEMENTS DETERMINATION OF EMPTY AND PREGNANT BRAHMAN COWS

iD	¹ Ricardo Andrés Moreno Ruiz *	ramoreno@uce.edu.ec
iD	¹ Yolanda Mercedes Cedeño Prócel	ymcedeno@uce.edu.ec
iD	¹ Juan Alberto Vargas Tipán	javargas@uce.edu.ec
iD	² Arnulfo Rigoberto Portilla Narváez	arportilla@uce.edu.ec
iD	¹ Diego Fernando Luna Narváez.	dluna@uce.edu.ec

¹ Universidad Central del Ecuador – Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Jerónimo Leiton s/n y Gatto Sobral, Quito, Ecuador.

² Universidad Central del Ecuador, Facultad de ciencias agrícolas, Laboratorio de Nutrición Animal, Quito, Ecuador.

E-mail: *dluna@uce.edu.ec

RESUMEN

Los microminerales son nutrientes esenciales en la dieta de los organismos animales y pese a que son requeridos en concentraciones muy bajas, desempeñan funciones vitales de tipo estructural, regulador, metabólico, entre otras; es por ello por lo que su déficit tiene impacto tanto en la salud como en el rendimiento productivo de los bovinos. El objetivo de este trabajo fue comparar la concentración en suero sanguíneo de siete microminerales (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Se y Zn) entre una muestra de vacas gestantes y una muestra de vacas vacías de raza Brahman. Para este propósito, se determinó la concentración de los minerales mediante un sistema ICP-MS (espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado). El cobalto, manganeso, molibdeno, selenio y zinc estuvieron dentro de los rangos de referencia para ambos grupos, sin que exista diferencia significativa entre ellos. El hierro también estuvo en valores normales, pero fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en vacas gestantes, lo que consideramos como un hallazgo relevante de este estudio, debido a que en estudios previos no se indica que sea un mineral cuya concentración esté afectada por la gestación. Por último, el cobre estuvo por debajo del rango de referencia en ambos grupos, y fue significativamente menor ($p < 0.05$) en vacas gestantes.

Palabras clave: microminerales, vacas, gestación, suero.

ABSTRACT:

Microminerals are essential nutrients in the diet of animal organisms and although they are required in very low concentrations, they perform vital structural, regulatory and metabolic functions, among others; therefore, their deficiency has an impact on both health and productive performance of cattle. The aim of this study was to compare the blood serum concentration of seven microminerals (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Se and Zn) between a sample of Brahman pregnant cows and a sample of empty Brahman cows. For this purpose, the concentration of minerals was determined by ICP-MS (coupled plasma source mass spectrometry) system after an acid digestion process of the serum samples. Cobalt (Co), manganese (Mn), molybdenum (Mo), selenium (Se) and zinc (Zn) were within the reference ranges for both groups, with no significant difference between them. Iron (Fe) was also in normal values but was significantly higher ($p < 0.05$) in pregnant cows, which is a relevant finding of this study, since previous reports do not indicate that it is a mineral whose concentration is affected by gestation. Finally, copper (Cu) was below the reference range in both groups and was significantly lower ($p < 0.05$) in pregnant cows.

Palabras clave: trace elements, cattle, pregnancy, serum.

1. INTRODUCCIÓN

En Ecuador, la mayor fracción de la producción cárnica bovina está concentrada en la región Costa, debido a que tiene un clima más propicio para el confort y mejor rendimiento de los cebús. De forma más específica, las razas preferidas por sus bondades son Brahman, Nelore y cruces F1 que animales de raza *Bos taurus* de carne como Angus y Charolais, las cuales se han extendido de forma considerable para mejorar la calidad de la carne (1).

En las provincias de Manabí, Esmeraldas y Santo Domingo es bastante relevante el manejo de la raza Brahman debido a sus características beneficiosas, entre las que se destacan buena ganancia de peso, precocidad en desarrollo muscular, habilidad materna, temperamento relativamente dócil, resistencia y adaptabilidad al ambiente (2).

Un ámbito fundamental en la crianza del ganado cárnico es la nutrición, pues de ella depende gran parte del éxito zootécnico y financiero de la unidad productiva (3). En Ecuador, debido a que los sistemas extensivos y mixtos son empleados en prácticamente la totalidad de las ganaderías, la alimentación de los bovinos está basada en forrajes y, no siempre, suplementación con concentrado (4).

Las leguminosas y las gramíneas suelen constituir la proporción mayoritaria de las dietas y en el caso de unidades productivas principalmente medianas y pequeñas, esto está relacionado con un balance inadecuado y posibles déficits en minerales y vitaminas (5).

Esta problemática nutricional tiene impacto en los parámetros zootécnicos, mermando los rendimientos a la canal e incrementando los tiempos de cebo, y es de especial relevancia en el manejo de animales en estados como enfermedad o gestación, en los cuales se modifican estos requerimientos (6).

Los microminerales (o elementos traza) se encuentran presentes en los tejidos animales en pequeñas cantidades, abarcando menos del 0.3% de los minerales almacenados y con niveles de inclusión promedio menores a 100mg/kg de materia seca (7)(8).

Pese a la baja cantidad en la que son requeridos, los microminerales desempeñan importantes funciones de tipo estructural, fisiológico, catalítico y regulador, siendo principalmente cofactores de varios procesos metabólicos y hormonales, así como previniendo el daño inducido por radicales libres (9).

Debido a que las deficiencias o toxicosis por microminerales suelen cursar con cuadros inespecíficos o incluso de manera subclínica, es importante conocer los métodos para evaluación o medición de estos microminerales en los animales, la determinación de los valores séricos permite identificar desbalances en una explotación que pueden ser la causa de una baja productividad (10).

El déficit en el aporte dietario de microminerales tiene impacto en el crecimiento, la reproducción, la inmunidad y el estado de salud general de los animales (9).

Las deficiencias en ciertos elementos minerales pueden ser de origen primario debido a escasas en el alimento, un ejemplo de esto es la deficiencia de cobalto en bovinos alimentados con dietas a base de gramíneas pobres en cobalto y con poca inclusión de leguminosas (10)(7).

Así también, las deficiencias de origen secundario se producen por interacciones nutricionales con otros elementos, un ejemplo de esto lo es el cobre donde la presencia de altas concentraciones de molibdeno o azufre en las dietas inhiben su absorción (11), el hierro y el calcio pueden alterar su distribución y metabolismo y el zinc además de impedir su absorción incrementa la movilización hepática y reduce las reservas de este elemento (9).

Los disturbios del estatus mineral también pueden ser consecuencia directa del tipo de suelo y manejo de pasturas; la deficiencia de selenio es relativamente frecuente en bovinos y depende de la concentración del mineral en el suelo y se presenta en animales criados en áreas no seleníferas (12), para el caso del zinc los forrajes muy maduros o los cortes sucesivos son factores que disminuyen su disponibilidad de tal forma que identificar estas deficiencias en los animales permite una correcta suplementación (13)(10).

En otros casos como manganeso, hierro, tanto las deficiencias como los excesos son poco comunes en bovinos, sin embargo, los imbalances en la formulación o los niveles de inclusión de sales minerales pueden generar alteraciones en el estatus mineral de estos y otros elementos.

A pesar de su importancia, en nuestro país están disponibles pocos estudios relacionados a la evaluación de la concentración sanguínea de microminerales en bovinos. Por ejemplo, se ha estudiado el impacto del uso de sal mineral común contra quelatados inyectables en los niveles sanguíneos en vacas lecheras (14). También existe un reporte acerca del efecto

de la suplementación de cobre en los parámetros reproductivos de una vaca en pastoreo (15).

No obstante, no existen estudios descriptivos que determinen la situación en cuanto al estatus micromineral en bovinos en relación con variables, como, por ejemplo, región, altura o estado fisiológico. En esa línea solamente se realizó una tesis que evalúa las concentraciones de macro y microminerales en alpacas con relación a distintos factores (16), pero no hay investigaciones de esas características en bovinos.

Por ello, este trabajo se plantea comparar y analizar los niveles séricos de microminerales entre vacas vacías y gestantes de la raza Brahman, localizadas en la provincia de Esmeraldas, como un aporte relevante para el ámbito nacional debido a que no existen investigaciones previas con este propósito, lo que dificulta tener un panorama más real de cómo manejar las dietas de acuerdo al estado fisiológico y cómo suplementar y formular las raciones para optimizar la eficiencia productiva, los costos y asegurar el éxito de los programas de reproducción.

También se espera que esta investigación sea la base para estudios futuros que definan los intervalos de referencia de las concentraciones séricas para los microminerales analizados en varias etapas fisiológicas en bovinos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras fueron tomadas de vacas vacías y gestantes de la raza Brahman, El estudio se efectuó en la hacienda Europa (latitud 0.771713, longitud -79.555933), situada en la parroquia de Chinca, cantón Esmeraldas, provincia de Esmeraldas. La raza fue seleccionada por ser una de las más relevantes en la producción cárnica bovina en Ecuador.

Se tomaron muestras de 15 vacas vacías y 15 gestantes, se incluyeron a los animales que cumplieron con los siguientes criterios: animales mayores a 2 años, con gestación entre 210 y 240 días (en el grupo de vacas gestantes), en estado saludable y que reciban el mismo programa de alimentación, en este caso, pasto saboya *Panicum máximum* y sal mineral, en los dos grupos.

En cada animal se extrajo una muestra de sangre de 10 ml, mediante punción en la vena coccígea. Se utilizó un equipo de extracción vacutainer en tubos sin anticoagulante.

Las muestras fueron centrifugadas dentro de las 4

primeras horas luego de la extracción a 3000 rpm durante 15 minutos. El suero obtenido de cada animal fue congelado a -20°C de temperatura para su conservación previa al envío al laboratorio.



Figura 1: Animales muestreados en pastoreo

Digestión de las muestras

El método utilizado, fue el de digestión ácida simple (DAS) (17).

Se mezcló 1 ml de cada muestra de suero con 1 ml de HNO₃ al 69 % y 0.5 ml de H₂O₂ al 33 % en tubos de polipropileno. La digestión se efectuó manteniendo la mezcla a 60 °C durante 2 horas. Los digeridos obtenidos fueron diluidos añadiendo 2.5 ml de agua ultrapura y posteriormente se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 minutos.

El material resultante de este proceso fue analizado en el laboratorio de la RIADT (Red de Infraestructuras de Apoyo a la Investigación y al Desarrollo Tecnológico), ubicado en la facultad de veterinaria de la Universidad Santiago de Compostela, en Lugo, España.

Se realizó la determinación de las concentraciones de microminerales mediante la técnica de ICP-MS (espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado) con el sistema Agilent 7700x. Este equipo detecta la concentración de los microminerales en ug/L (ppb) o mg/L (ppm) según el caso.

Análisis estadístico

Se ordenaron los valores obtenidos en el software Microsoft Excel y luego, con el programa estadístico SPSS se determinó si los datos siguen o no una distribución normal.

En base al resultado, se aplicó la prueba t de Student

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

si la distribución de datos es normal y la prueba U de Mann-Whitney si no lo es.

Se realizó la comparación de los valores medios de concentración de microminerales entre ambos grupos, con un nivel de significación de 0.05.

En la tabla 1, se muestran los valores individuales de concentración sérica de los elementos analizados en los dos grupos. Se muestran con rojo los valores individuales menores al rango de referencia y con azul, los que se encuentran por encima de los valores normales.

VACAS VACÍAS							VACAS GESTANTES						
Elemento							Elemento						
Co	Cu	Fe	Mn	Mo	Se	Zn	Co	Cu	Fe	Mn	Mo	Se	Zn
ug/L	mg/L	mg/L	ug/L	ug/L	ug/L	mg/L	ug/L	mg/L	mg/L	ug/L	ug/L	ug/L	mg/L
0.680	0.639	1.27	4.54	28.3	137.2	0.841	0.530	0.209	2.02	7.22	19.2	120.1	0.872
0.650	0.296	3.82	6.42	19.6	125.1	0.867	0.400	0.490	2.11	4.71	103.9	157.0	1.012
0.550	0.535	1.07	8.93	12.0	139.2	0.846	1.040	0.502	2.92	9.19	14.8	170.9	1.137
0.815	0.591	1.45	6.94	20.0	142.7	1.039	0.580	0.580	1.98	4.13	11.8	155.0	0.818
0.730	0.503	1.36	6.59	8.0	139.5	1.017	0.610	0.435	2.73	5.76	24.4	136.9	0.782
0.545	0.724	1.95	4.00	17.9	138.7	0.919	0.735	0.491	2.38	10.00	19.7	150.3	0.848
0.820	0.629	1.91	6.83	25.2	160.1	1.244	1.020	0.310	2.89	6.87	34.6	138.5	1.093
0.810	0.556	1.90	7.49	24.5	138.6	0.957	0.450	0.822	2.34	4.87	64.0	137.6	0.992
0.790	0.457	1.66	5.48	28.4	124.9	0.919	2.340	0.314	2.67	15.04	36.6	171.2	0.885
0.620	0.519	1.51	4.99	5.1	133.6	0.897	0.465	0.683	1.99	2.47	20.4	100.7	0.786
0.520	0.594	1.45	6.48	10.5	Error	0.743	0.370	0.201	2.47	2.07	19.2	144.0	0.796
0.695	0.511	1.98	7.15	31.8	151.7	1.122	0.785	0.632	2.03	5.61	17.0	126.0	0.925
0.590	0.622	2.22	10.39	54.5	161.4	0.967	1.430	0.584	2.40	5.14	56.0	154.9	1.034
0.785	0.839	1.77	4.37	34.8	148.1	0.889	0.680	0.121	2.52	6.10	24.5	129.5	0.929
0.750	0.782	2.63	12.53	47.9	172.1	1.132	1.130	0.254	2.15	7.23	10.5	142.7	1.071
0.17-15	0.6-1.5	1.1-2.5	0.9-7.0	2.0-100	65-300	0.6-1.9	0.17-15	0.6-1.5	1.1-2.5	0.9-7.0	2.0-100	65-300	0.6-1.9

Tabla 1. Resultados de análisis de microminerales en muestras de suero de vacas vacías y gestantes. Valores referencia (10)(18).

En la Tabla 2. Se muestran los valores medios de cada elemento obtenidos para cada grupo de animales, y los resultados de la prueba T Student comparando a las vacas vacías y gestantes.

Elemento	Vacas vacías	Vacas gestantes	Valor P
Co (ug/L)	0.69	0.84	0.294
Cu (mg/L)	0.59 _b	0.44 _a	0.028
Fe (mg/L)	1.86 _d	2.37 _c	0.015
Mn (ug/L)	6.87	6.43	0.665
Mo (ug/L)	24.57	31.77	0.344
Se (ug/L)	143.78	142.53	0.818
Zn (mg/L)	0.96	0.932	0.545

Tabla 2. Valores medios y análisis estadístico de la concentración de microminerales entre ambos grupos.

Los resultados presentados en este trabajo son de importancia en el contexto de la cría de ganado de carne debido a que es el primer estudio enfocado en analizar la concentración de microminerales esenciales, en este tipo de bovinos en la zona del litoral ecuatoriano.

Un punto fundamental para ese objetivo fue el manejo de las muestras, pues el análisis en microminerales es de metodología compleja y la digestión ácida propuesta por Luna et al. en 2019 (17) realizada como parte de la preparación del suero fue indispensable para obtener

resultados fiables.

Al evaluar la concentración de microminerales en el presente trabajo se requiere analizar los resultados a partir de dos factores: el estado fisiológico de las vacas y la alimentación, con énfasis en el aporte mineral.

En cuanto al estado fisiológico, las investigaciones disponibles sobre los microminerales estudiados determinan que, tanto en ganado de carne como de leche, solo el cobre y el zinc sufren variaciones importantes en las concentraciones séricas entre vacas gestantes y vacas vacías (19) (20) (21).

Sin embargo, no está bien definido un patrón para la dinámica de estos minerales; así, por ejemplo, en un estudio se demostró que las concentraciones séricas de cobre aumentan a medida que se aproxima el final de la gestación, debido a un efecto inducido por el nivel creciente de estrógenos (22).

No está bien descrito el mecanismo tras este efecto, pero lo más probable es que la concentración elevada de estrógenos induce la actividad de la ceruloplasmina con el objetivo de que el cobre se movilice eficazmente para el soporte de la incipiente lactación (23).

No obstante, existe evidencia de que las concentraciones

séricas de cobre alcanzan su máximo pico al séptimo de mes de gestación y después disminuyen, lo que se contrapone a la hipótesis de los estrógenos, cuyo aumento es más pronunciado a partir de las tres últimas semanas preparto (24).

En este trabajo, existió diferencia significativa entre la concentración sérica de cobre entre ambos grupos, con la particularidad de que los niveles fueron mayores en vacas vacías, lo que no está reportado en ninguno de los estudios consultados, independientemente de que exista o no diferencia significativa (19) (25) (21).

Una probable explicación es que durante el período de gestación en que se encontraron las vacas muestreadas (entre séptimo y octavo mes) aumenta la movilización de cobre hacia el feto debido a que es la etapa crítica para su desarrollo y por ello, aumentan sus demandas fisiológicas, resultando en que las concentraciones séricas fueron menores (24).

Además, la medición de cobre en ambos grupos estuvo por debajo del rango de referencia, lo que puede atribuirse a tres factores: aporte insuficiente en la dieta, interacción con otros minerales y error atribuible al método de análisis (26).

La deficiencia de cobre puede manifestarse con un amplio rango de signos, tales como disminución del apetito, debilidad de los miembros, temores, ataxia, pobre condición corporal, baja ganancia de peso, inmunosupresión, anestro, quistes ováricos y pérdidas embrionarias (27) (17).

En cuanto al aporte dietético, también está descrito que las interacciones con minerales como el hierro, el calcio y el zinc pueden conducir a deficiencias de cobre por diversos mecanismos que impiden su distribución en la circulación o la utilización celular; por ejemplo, el zinc incrementa la síntesis de metalotioneínas, lo cual "secuestra" el cobre a nivel intestinal (28) (26), esto podría relacionarse a que en el presente estudio en el grupo de vacas gestantes existe una mayor concentración de hierro.

El grupo de animales gestantes muestreado en este estudio reciben suplementación mineral con inclusión de cobre, las guías de nutrición en bovinos sugieren niveles de adición a partir de fórmulas que consideran el peso, edad y etapa gestacional, lo que garantiza un consumo de cobre basado en la dinámica de la depleción de cobre de la madre hacia el feto (29) (30).

Respecto al molibdeno, las concentraciones séricas en valores normales son un buen indicador sobre la

presencia de tio-cupro-molibdatos pues la formación de estos tiende a ser compatible con elevación de molibdeno en muestras sanguíneas (26).

Pese a que los resultados de laboratorio están en rango, una evaluación completa de la interferencia en la absorción de cobre debe incluir un análisis de molibdeno y azufre en forraje, así como calcular la proporción entre estos minerales y el cobre(30).

En este caso, se conoce que los niveles de cobre y azufre en el pasto ofrecido son adecuados, pero para investigaciones futuras de la misma índole se recomienda disponer de un análisis más completo de microminerales, para aproximarse con mayor precisión a las interacciones existentes y al origen de las deficiencias.

Otro mineral que podría influir en la concentración de cobre es el hierro, debido a que, junto con el zinc, compite por el receptor DMT1, que capta sobretodo cationes divalentes, pudiendo disminuir el grado de absorción de cobre cuando existen niveles elevados de hierro (23).

Sin embargo, en esta investigación la concentración de hierro estuvo dentro del rango de referencia, por lo que esta interacción sería menos probable, considerando también que en rumiantes, el DMT1 constituye un mecanismo secundario para la absorción de cobre (31).

Por último, referente al método de análisis laboratorial, aunque la medición en hígado es la técnica más adecuada para la evaluación del estatus de cobre, el análisis en suero refleja en forma aceptable la concentración real del elemento, y solo habría falsas disminuciones en presencia de elevados niveles de molibdeno (26), que no corresponde a los resultados obtenidos.

El otro micromineral influenciado por la gestación, es el zinc, está reportado como disminuido durante la preñez debido a que es uno de los elementos con mayor demanda desde el feto y también porque las concentraciones más estables de cobre inhiben su absorción (24) (21).

En este trabajo se conservó esta tendencia, existiendo mayor concentración de zinc en las vacas vacías, pero sin que sea significativa la diferencia y con ambos grupos con valores en rango.

Por ende, a excepción del cobre, todos los valores promedio estuvieron en rango y, a excepción del hierro, no se encontró diferencia significativa entre

los grupos, este resultado es de importancia en el caso del zinc y el selenio, debido a que estos dos elementos traza disminuyen la incidencia de enfermedades reproductivas, infecciosas y patologías podales en el período del parto (32)(12).

Estas concentraciones ideales son producto de la buena calidad del suelo y de la dieta ofrecida a las vacas, y una manera práctica de evaluar sus beneficios es a través de los parámetros reproductivos de la explotación donde se realizó el muestreo (33).

En la explotación en donde se realizó la toma de muestras, los registros disponibles reflejan que la tasa de concepción está alrededor de 80%, que es una cifra excelente, considerando que para la raza Brahman el objetivo debe ser un valor de al menos 60% (34).

Seguramente estos parámetros están influenciados por los efectos del zinc y el selenio en concentraciones séricas adecuadas, especialmente por su acción antioxidante y el incremento de la viabilidad de los gametos, tanto en machos como en hembras (35)(6).

En cuanto al hierro, la concentración estuvo dentro del rango en ambos grupos, pero fue mayor en vacas gestantes y la diferencia respecto a las vacas vacías fue estadísticamente significativa; una probable explicación es que el nivel de cobre en las vacas gestantes es menor, lo que disminuiría la interacción con el hierro, facilitando su absorción (31)(17).

No obstante, al momento no existe evidencia que soporte un motivo para este hallazgo pues en teoría el hierro es un mineral que no varía representativamente por la gestación (21), por lo que este aspecto podría investigarse con más profundidad en futuros trabajos.

4. CONCLUSIONES

Tanto en vacas gestantes como en vacas vacías de la raza Brahman, existieron concentraciones dentro de los rangos de referencia para los microminerales Co, Fe, Mn, Mo, Se y Zn.

En los dos grupos analizados, la concentración de cobre fue menor al rango de referencia, y existió diferencia significativa entre ambos grupos ($p < 0.05$), siendo mayor en vacas vacías.

El incremento en la concentración de hierro en vacas gestantes ($p < 0.05$) es relevante ya que no se reportan variaciones importantes durante la etapa de gestación, sin embargo, requiere un mayor análisis

las repercusiones de este hallazgo en la salud y productividad de los animales.

5. AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a los propietarios de la Hacienda Europa y al Laboratorio RIADT por su colaboración para la toma y análisis de las muestras.

6. CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en la realización y presentación de este trabajo. El presente estudio fue financiado por los investigadores.

7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Castillo M. Análisis de la Productividad y Competitividad de la Ganadería de Carne en el Litoral Ecuatoriano. Santiago, Chile: Rimisp, Grupo de Trabajo: Desarrollo con Cohesión Territorial, Programa: Impactos a Gran Escala, Serie Documentos de Trabajo. 2015;(144).
- Pareja Mejía RI. El ganado Brahman para la zona tropical. Revista de la Universidad de la Salle. 2002;2002(34):85-92.
- Núñez Delgado J, Ñaupari Vásquez J, Flores Mariazza E. Comportamiento nutricional y perfil alimentario de la producción lechera en pastos cultivados (*Panicum maximum* Jacq). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2019;30(1):178-92.
- Erickson PS, Kalscheur KF. Nutrition and feeding of dairy cattle. In: Animal Agriculture. Elsevier; 2020. p. 157-80.
- Derichs K, Mosquera J, Ron-Garrido LJ, Puga-Torres B, De la Cueva F. Intervalos de corte de pasto Saboya (*Panicum maximum* Jacq.), sobre rendimiento de materia seca y composición química de su ensilaje. Siembra. 2021;8(2).
- Van Emon M, Sanford C, McCoski S. Impacts of bovine trace mineral supplementation on maternal and offspring production and health. Animals. 2020;10(12):2404.
- Silva WJ, Guizelini CC, Franco GL, Veiga RCP, Arruda WG, Nascimento VA, et al. Cobalt deficiency in cattle and its impact on production. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2021; 40:837-41.
- Uniyal S, Ashwin K, Mishra A, Sahoo JK, Paladan V. Importance of micro minerals in reproductive

- performance of farm animals. *Intl J Curr Microbiol Appl Sci.* 2018; 7:3584–9.
9. López-Alonso M. Trace minerals and livestock: not too much not too little. *Int Sch Res Notices.* 2012;2012.
 10. Herdt TH, Hoff B. The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice.* 2011;27(2):255–83.
 11. Clarkson AH, Paine S, Martín-Tereso J, Kendall NR. Copper physiology in ruminants: trafficking of systemic copper, adaptations to variation in nutritional supply and thiomolybdate challenge. *Nutr Res Rev.* 2020;33(1):43–9.
 12. Oltramari CE, Pinheiro M da G, de Miranda MS, Arcaro JRP, Castelani L, Toledo LM, et al. Selenium sources in the diet of dairy cows and their effects on milk production and quality, on udder health and on physiological indicators of heat stress. *Ital J Anim Sci.* 2014;13(1):2921.
 13. Cortinhas CS, Freitas Júnior JE de, Naves J de R, Porcionato MA de F, Rennó FP, Santos MV dos. Organic and inorganic sources of zinc, copper and selenium in diets for dairy cows: intake, blood metabolic profile, milk yield and composition. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2012; 41:1477–83.
 14. Álvarez A. Evaluación de microelementos a nivel sanguíneo en vacas de producción lechera, mediante la administración de sal mineral comercial y componentes quelatados inyectables en la hacienda aychapicho agro's del cantón mejía. 2012;
 15. Sosa RP, Cabrera NG, Gutiérrez FR. Efecto de la suplementación con cobre en la reproducción de la hembra bovina en pastoreo. *La Técnica.* 2014;(13):26–31.
 16. Toral Martínez CJ. Determinación de macro y micro minerales en suero sanguíneo de alpacas, en la comunidad de Guangaje, cantón Pujilí. 2012;
 17. Luna D, Miranda M, Minervino AHH, Piñeiro V, Herrero-Latorre C, López-Alonso M. Validation of a simple sample preparation method for multielement analysis of bovine serum. *PLoS One.* 2019;14(2): e0211859.
 18. Puls R. Mineral Levels in Animal Health. *Second. Sherpa International;* 1994. 91–93 p.
 19. Gooneratne SR, Pathirana KK, Laarveld B, Christensen DA. Biliary and plasma copper and zinc in pregnant Simmental and Angus cattle: research communication. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 2013;80(1):1–7.
 20. Kulcu R, Yur F. A study of some serum mineral levels before and during pregnancy and during lactation period of sheep and cattle. *Biol Trace Elem Res.* 2003; 92:275–9.
 21. Yokus B, Cakir UD. Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. *Biol Trace Elem Res.* 2006; 109:255–66.
 22. Hefnawy AE, El-Khaiat HM. The importance of copper and the effects of its deficiency and toxicity in animal health. *International Journal of Livestock Research.* 2015;5(12):1–20.
 23. Arredondo M, Martinez R, Nunez MT, Ruz M, Olivares M. Inhibition of iron and copper uptake by iron, copper and zinc. *Biol Res.* 2006;39(1):95–102.
 24. Gooneratne SR, Pathirana KK, Laarveld B, Christensen DA. Biliary and plasma copper and zinc in pregnant Simmental and Angus cattle: research communication. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 2013;80(1):1–7.
 25. Kulcu R, Yur F. A study of some serum mineral levels before and during pregnancy and during lactation period of sheep and cattle. *Biol Trace Elem Res.* 2003; 92:275–9.
 26. Herdt TH, Hoff B. The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice.* 2011;27(2):255–83.
 27. Hefnawy AE, El-Khaiat HM. The importance of copper and the effects of its deficiency and toxicity in animal health. *International Journal of Livestock Research.* 2015;5(12):1–20.
 28. Hill GM, Shannon MC. Copper and zinc nutritional issues for agricultural animal production. *Biol Trace Elem Res.* 2019; 188:148–59.
 29. Cortinhas CS, Freitas Júnior JE de, Naves J de R, Porcionato MA de F, Rennó FP, Santos MV dos. Organic and inorganic sources of zinc, copper and selenium in diets for dairy cows: intake, blood metabolic profile, milk yield and composition. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2012; 41:1477–83.
 30. National Academies of Sciences and Medicine E. Nutrient requirements of beef cattle. 2016;
 31. Clarkson AH, Paine S, Martín-Tereso J, Kendall NR. Copper physiology in ruminants: trafficking of systemic copper, adaptations to variation in nutritional supply and thiomolybdate challenge. *Nutr Res Rev.* 2020;33(1):43–9.
 32. Langova L, Novotna I, Nemcova P, Machacek M, Havlicek Z, Zemanova M, et al. Impact of

- nutrients on the hoof health in cattle. *Animals*. 2020;10(10):1824.
33. Ensley S. Evaluating mineral status in ruminant livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 2020;36(3):525–46.
 34. Islam MT, Bhuiyan MJS, Juyena NS, Bhuiyan MMU. Post artificial insemination conception rate of a Brahman bull in selected areas of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine (BJVM)*. 2019;17(1):61–9.
 35. Mehdi Y, Dufrasne I. Selenium in cattle: a review. *Molecules*. 2016;21(4):545.