

Respuesta reproductiva a la suplementación parenteral de cobre en vacas en anestro y hipocuprémicas

Reproductive response to parenteral copper supplementation in anoestrous and cows with hypocupraemia

Rodolfo Pedroso Sosa^{1*}, Felicia Roller Gutiérrez¹

RESUMEN

El estudio se realizó durante seis meses en un rebaño de 5817 vacas hipocuprémicas ($<10.0 \mu\text{mol/L}$ de cobre en suero sanguíneo) en anestro. Los animales fueron distribuidos en cuatro grupos: Grupo I ($n=2984$): se indujo el celo con aplicación de progesterona y benzoato de estradiol siguiendo el esquema de administración de progesterona en dosis de 60, 90 y 90 mg vía IM a intervalos de 48 h seguido de 1 mg de benzoato de estradiol 48 h más tarde e inseminadas a las 48 y 56 h del tratamiento; Grupo II ($n=1314$), tratado como el Grupo I, pero se suplementó con una inyección subcutánea de cobre (50 mg); Grupo III ($n=1070$), solo recibió el suplemento de cobre; Grupo IV: ($n=449$) control, sin tratamiento hormonal ni suplemento de cobre. Los grupos suplementados con cobre presentaron niveles normales del mineral al término del estudio; asimismo, presentaron tasas de preñez de 24.5% (Grupo II) y de 37.4% (Grupo III), significativamente superiores a la tasa de 19.5% del Grupo I y de 19.0% del Grupo IV ($p<0.05$). Se concluye que la suplementación de cobre en vacas hipocuprémicas puede contribuir a reducir la tasa de anestro con y sin la administración de una terapéutica hormonal en las condiciones del estudio.

Palabra clave: cobre, suplementación de cobre, reproducción

¹ Facultad de Veterinaria, Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador

* E-mail: rodolfo.pedroso@utm.edu.ec

Recibido: 18 de mayo de 2023

Aceptado para publicación: 20 de diciembre de 2023

Publicado: 29 de febrero de 2024

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The study was carried out for six months in a herd of 5817 cows with hypocupraemia ($<10.0 \mu\text{mol/L}$ copper in blood serum) in anoestrus. The animals were distributed into four groups: Group I ($n=2984$): Oestrus was induced with the application of progesterone and oestradiol benzoate following the administration scheme of progesterone in doses of 60, 90 and 90 mg via IM at 48 h intervals followed by 1 mg of oestradiol benzoate 48 h later and inseminated at 48 and 56 h after treatment; Group II ($n=1314$), treated as Group I. but supplemented with a subcutaneous injection of copper (50 mg); Group III ($n=1070$), only received the copper supplement; Group IV: ($n=449$), control, without hormonal treatment or copper supplement. The groups supplemented with copper presented normal levels of the mineral at the end of the study, likewise, they presented pregnancy rates of 24.5% (Group II) and 37.4% (Group III), significantly higher than the rate of 19.5% in Group I and 19.0% in Group IV ($p<0.05$). It is concluded that copper supplementation in cows with hypocupraemia can contribute to reducing the percentage of anoestrus with and without the administration of hormonal therapy under the conditions of the study.

Key words: copper, supplementation, reproduction

INTRODUCCIÓN

Una de las deficiencias minerales más frecuentes en bovinos al pastoreo es la de cobre (Underwood y Suttle, 2001; Hartati *et al.*, 2022), siendo reconocida por los productores a nivel mundial (McDowell, 2005; Slavik *et al.*, 2006), especialmente en América Latina (Picco *et al.*, 2004; Da Silva *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2021) y es considerada una causa importante de trastornos reproductivos funcionales e infecciones de la glándula mamaria y el tracto reproductor en la hembra bovina (Spear y Weis, 2008; Torrez *et al.*, 2017; Gómez *et al.*, 2019). Es así que Xin *et al.* (1993), Corbellini (1998) y Kendal *et al.* (2006) señalan que el impacto ejercido por la deficiencia de Cu en la reproducción está asociado con cambios en los perfiles endocrinos y en la esteroidogénesis, afectando el desarrollo de los folículos ováricos, conduciendo a ciclos anovulatorios y anestro. Asimismo, en estudios más recientes se ha demostrado su efecto en el desarrollo del embrión producido *in vitro* (Gao *et al.*, 2007; Rosa, 2015).

La suplementación parenteral de cobre en la mejora del comportamiento reproductivo en trópico húmedo demuestra una disminución de los intervalos entre partos, menor tasa de aborto y mayor natalidad (García *et al.*, 2012; Hernández *et al.*, 2016; Rodríguez *et al.*, 2021); sin embargo, no se han encontrado estudios sobre su efecto en vacas en anestro y deficitarias de cobre. Con base a este contexto la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la suplementación de cobre por vía parenteral en la eficacia de los programas de inducción del celo en vacas en anestro e hipocuprémicas criadas en pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó durante un año con un enfoque cuantitativo en un diseño experimental completamente aleatorizado. Se desarrolló en una empresa pecuaria ubicada en la región occidental de Cuba. Para la realización del estudio se tomó un rebaño de 5817 vacas Siboney de 4 a 6 años de edad, no lac-

tantes y con anestro pre-servicio e hipocuprémicas distribuidas en cuatro granjas, que estaban bajo la supervisión y asistencia técnica de dos médicos veterinarios especializados en reproducción animal y seis técnicos de inseminación artificial. Los animales presentaban una condición corporal de 2.5 a 3 en escala de 0-5 y un peso vivo entre 450 a 500 kg.

El estado de anestro fue diagnosticado mediante dos exámenes ginecológicos por palpación rectal a intervalo de 9 ± 1 día y el perfil de la progesterona en suero sanguíneo. Se tomaron muestras de sangre mediante punción de la vena yugular. La sangre fue centrifugada a 1500 rpm y el suero resultante fue conservado a -20°C hasta su examen químico. Los valores de progesterona fueron determinados mediante la técnica de radioinmunoanálisis según García *et al.* (2001). Para determinar los niveles de cobre se utilizaron las muestras de sangre colectadas 10 días antes del inicio del tratamiento y previo el diagnóstico de gestación 60 días más tarde. Estos valores fueron determinados mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica según González *et al.* (1988).

Se consideró como vacas en anestro aquellas que en los exámenes por palpación rectal mostraron ausencia de cuerpo lúteo y presentaron valores de progesterona inferiores a 1.59 nmol/L en dos observaciones con un intervalo de 9 ± 1 día (García *et al.*, 2001). Se consideró que las vacas estaban en estado de hipocupremia cuando presentaron valores séricos de cobre sanguíneo menores a $10.6\text{ }\mu\text{mol/L}$, situándose los valores normales entre 12 a $146\text{ }\mu\text{mol/L}$ acorde a lo dispuesto por Kincaid (1999) y García (2008), valores determinados en investigaciones previas sobre niveles sanguíneos que se recuperan a los 10 días de la administración parenteral del cobre en bovinos y el aumento de las reservas hepáticas posterior a un periodo no menor de 70 días.

Los animales fueron distribuidos en cuatro grupos:

- Grupo I ($n=2984$). Control interno. Se administró 2 ml vía subcutánea de un placebo (solución de EDTA -glicerol 10%) 10 días previo a la administración de una solución de progesterona oleosa (P_4) en tres aplicaciones cada 48 h en dosis de 60, 90 y 90 mg vía IM, respectivamente. Finalmente, 48 h después de la última aplicación de P_4 se inyectó 1 mg de benzoato de estradiol (BE_2) vía IM ((Labiofan-Cuba).
- Grupo II ($n=1314$). Se aplicó una solución de sulfato de cobre (50 mg con EDTA-Glicerol) vía SC (Super-CU-2014 CIMAGT, Cuba) 10 días antes de la aplicación de la terapéutica hormonal indicada para el Grupo I.
- Grupo III ($n=1070$). Se aplicó la solución de sulfato de cobre como en el Grupo II, pero no se le hizo el tratamiento hormonal.
- Grupo IV ($n=449$). Control externo. Las vacas estaban ubicadas a 500 m de los grupos experimentales, y fueron mantenidos en similares condiciones de manejo y alimentación. Fueron tratados con placebo (solución fisiológica de cloruro de sodio).

Se registraron los celos durante los 24 días que siguieron al tratamiento. Se registró la fecha del servicio, el código del toro, el técnico inseminador y el grupo correspondiente. Las inseminaciones fueron realizadas por seis técnicos con más de 15 años de experiencia. Se empleó semen congelado en pastillas de un toro de fertilidad probada. Las vacas fueron inseminadas cuando mostraron signos de celo (se dejaron montar por un toro recelador). El celo se observó en horas de la mañana y la tarde. El diagnóstico de preñez fue realizado mediante palpación rectal 60 días después de realizado el servicio.

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza. Se tomó como variable dependiente los valores de cobre en sue-

ro sanguíneo, el número de vacas que presentaron celo y fueron inseminadas y la tasa de preñez. Como variable independiente los tratamientos I, II, III y IV. Los porcentajes se analizaron mediante prueba de comparación de proporciones. La diferencia entre medias fue estimada mediante la Dócima de Duncan con un grado de significación $p < 0.05$. Estos análisis fueron realizados empleando el paquete estadístico de SAS (1996).

RESULTADOS

Los resultados de la suplementación parenteral de Cu se presentan en el Cuadro 1. La tasa de presentación de celo fue mayor en los grupos bajo tratamiento hormonal con o sin suplementación de cobre en relación del grupo control. La tasa de preñez del grupo III (suplementado solo con Cu) fue significativamente mayor que en los demás grupos ($p < 0.001$), quedando en segundo lugar el grupo III (Cu más tratamiento hormonal) ($p < 0.05$). Por otro lado, no hubo diferencias significativas en la interacción tratamiento x técnico x rebaño no mostró diferencias significativas.

DISCUSIÓN

Una de las causas de mayor importancia en el rendimiento productivo del ganado al pastoreo, especialmente en condiciones de trópico se debe a las deficiencias de minerales en las pasturas, tanto en el contenido de macro como micro minerales (McDowell, 2005). En el caso de rebaños lecheros y de carne en Cuba, se ha demostrado que el cobre es uno de los minerales deficitarios tanto en las pasturas, como a nivel sanguíneo y en las reservas hepáticas (Petroso y Roller, 2009). Esta deficiencia estuvo relacionada con un bajo desempeño reproductivo, aumento de la frecuencia de mastitis y disminución de la capacidad de respuesta inmunológica de las vacas después del parto (Torres *et al.*, 2016; Figueroa *et al.*, 2017).

En la presente investigación, la suplementación de cobre por vía parenteral retribuyó los niveles de este microelemento a los valores normales del suero sanguíneo y mejoró la eficacia del tratamiento de inducción del celo en hembras en anestro e hipocuprémicas (Grupos II y III) con relación a los grupos no suplementados (I y IV) ($p < 0.05$).

Cuadro 1. Efecto de la suplementación con cobre (SUPER-CU-I) vía parenteral en el comportamiento reproductivo y eficacia del tratamiento de inducción del celo en vacas mestizas Siboney en anestro e hipocuprémicas

Tratamiento	n	Cobre sérico ($\mu\text{mol/L}$)		Presentación del celo e inseminaciones (%)	Preñez (%)
		Pre-tratamiento	Pos-tratamiento		
I	2984	9.17 ± 0.75	10.04 ± 0.12^a	97.9 ^a	18.5 ^a
II	1314	8.56 ± 0.83	12.16 ± 0.14^b	98.4 ^a	24.5 ^b
III	1070	8.47 ± 0.92	14.28 ± 0.20^b	78.0 ^b	37.4 ^c
IV	449	8.10 ± 0.18	8.10 ± 0.18^a	60.0 ^b	19.0 ^d

I: Control interno. Placebo + tratamiento hormonal; II: Sulfato de cobre + tratamiento hormonal; III: Sulfato de cobre sin tratamiento hormonal; IV: Control externo. Solo placebo

^{a,b,c} Letras diferentes dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Valores de referencia de cobre en suero sanguíneo: 12 a 14 $\mu\text{mol/L}$, según McDowell (2005) y García *et al.* (2008)

Similares resultados fueron reportados por otros autores (García *et al.*, 2012; Pedroso *et al.*, 2014; Gómez *et al.*, 2019). No obstante, Hackbart *et al.* (2010) no llegaron a obtener efectos favorables por la suplementación de cobre en el desarrollo folicular, y tasa de preñez en vacas lecheras.

Uno de los hallazgos más sobresalientes de este estudio fue que la mayor tasa de preñez experimentada en el grupo III, el cual solo recibió la suplementación de cobre. Al respecto, se tiene evidencia que los cambios metabólicos y carenciales manifestados en la sangre se reflejan en el contenido de licor folicular donde se desarrolla el ovocito y en el fluido del útero donde ocurre la implantación del embrión y el feto (Le Blanc, 2014; Leroy *et al.*, 2015, De Bie, 2017); sin embargo, en este sentido, no existe mucha información científica disponible en vacas criadas en pastoreo en zonas donde regularmente existe esta deficiencia (Pedroso y Roller, 2009; Nasroallah y Mohamaddi, 2013). El resultado obtenido podría atribuirse a que fueron vacas que presentaron celo espontáneo; es decir, que tuvieron un crecimiento folicular adecuado que condujo a la maduración del folículo y, de esperarse, a la ovulación (Corbellini, 1998; Brem *et al.*, 2001).

En este contexto, Sales *et al.* (2011) demostró que la suplementación de microelementos (cobre, hierro, manganeso y zinc), mejoró el desempeño reproductivo en vacas lecheras y contribuyó a mejorar los resultados de biotecnologías de reproducción asistida. En forma similar, Kendall *et al.* (2006) demostró que la suplementación con Cu puede mejorar la diferenciación de las células de la teca cultivadas *in vitro*. Más tarde, Gao *et al.* (2007) encontraron un efecto beneficioso en la tasa de maduración y en el número de embriones que completaron su desarrollo durante la producción *in vitro* de embriones

CONCLUSIONES

La suplementación de cobre por vía parenteral en vacas en anestro y con deficiencia de cobre en pastoreo puede contribuir a mejorar el reinicio de la actividad ovárica y la fertilidad del servicio de inseminación artificial en celos espontáneos

LITERATURA CITADA

1. **Corbellini CN. 1998.** Influencia de los micro nutrientes en la fertilidad en bovinos lecheros. 2ª parte. Rev Med Vet 79: 231.
2. **Brem JJ, Mestre J, Pocho DO, Trulls HE. 2001.** Alteraciones del ciclo estral provocadas por un alto ingreso de molibdeno en vaquillonas Angus y respuesta a la suplementación con cobre Rev Vet 12: 28-33. doi: 10.30972/vet.121%20y%202675
3. **Da Silva MS, Hubinger TC, Döbereiner DJ, Duvi SHP, Edwards J, Hardey RC. 2008.** Trace micro nutrients affect susceptibility to bovine tuberculosis in cattle. Prev Vet Med 87: 311-326. doi: 10.1016/j.prevetmed.-2008.05.003
4. **De Bie J. 20179.** The follicular micro-environment of the oocyte in metabolically compromised dairy cows: impact assessment as a basic from oocyte rescue. PhD thesis. Belgium: University of Antwerp. Antwerp.238 p.
5. **García JR, García L, Cuesta M, Figueredo RG, Faure R, Pedroso R, Mollineda F. 2012.** Blood cooper level and their influence on reproductive indicator of cows in tropical conditions. Cuban J Agric Sci 44: 233-239.
6. **Figueroa Y, González N, Martínez J, Mollineda A, García I, Roller F, Pedroso R. 2017.** Niveles de inmunoglobulinas, incidencia de mastitis y fer-

- tilidad de vacas lecheras hipocuprémicas suplementadas con cobre. *La Técnica* 18: 43-48.
7. **Gao G, Yi J, Zhang M, Xiong, J, Gong L, Mu Ch, Yang L. 2007.** Effect of iron and copper in culture medium on bovine oocyte maturation, preimplantation embryo development and apoptosis of blastocyst *in vitro*. *J Reprod Develop* 53: 777-784. doi: 10.1262/jrd.18109
8. **García JR. 2008.** Relación entre la cupremia y los indicadores reproductivos de la hembra bovina. Tesis Doctoral. La Habana, Cuba: Univ. Agraria de la Habana. 143 p.
9. **García M, Goodger WJ, Bennet T, Perera O. 2001.** Use of a standardized protocol to identify factors affecting the efficiency of artificial insemination service for cattle through progesterone measurement in fourteen countries. Vienna, Austria: IAEA-TECDOC-1220. p 173-184.
10. **Gómez J, Del Campo M, González M. 2019.** Algunas anotaciones sobre la importancia del cobre en la reproducción bovina. *Rev Colomb Cienc Anim* 11: 1-10. doi: 10.24188/recia.v11.n1.2019.716
11. **González N, Lavandeira LE, Pedroso R. 1988.** Incidencia de deficiencias minerales en áreas ganaderas de Cuba y utilización de mezclas minerales «abiertas» como método de combatirlas. *Rev Cub Cienc Vet* 19: 73- 80.
12. **Hackbart KS, Ferreira EM, Dietsche AA, Socha MT, Shaver RD, Wiltbank MC, Fricke PM. 2010.** Effect of dietary organic zinc, manganese, copper, and cobalt supplementation on milk production, follicular growth, embryo quality, and tissue mineral concentrations in dairy cows. *J Anim Sci* 88: 3856-3870. doi: 10.2527/jas.2010-3055
13. **Hartati E, Telupere EMS, Kleden MM, Lestari GA, Oematan G, Ola ARR, Jelantik IGN. 2022.** Effect of supplementation of concentrate containing ZnSO₄ and Zn-Cu isoleucinate on growth and postpartum reproductive performance of Bali cows grazing native pastures. *J Agric Ecol Res Int* 23: 73-81. doi: 10.9734/jaeri/2022/v23i6500.
14. **Hernández W, Ocampo P, Montoya L, Bustamante J. 2016.** Suplementación parenteral de cobre y su relación con índices de fertilidad en bovinos de regiones con altos niveles de molibdeno en el Magdalena Medio colombiano. *Rev Vet Zootec* 10: 01-12. doi: 10.17151/vetzo.2016.10.1.115
15. **Kendall NR, Master P, Gao L, Scaramuzzi RJ, Campbell BK. 2006.** Effect of copper and thiomolybdate on bovine theca cell differentiation *in vitro*. *J Endocrinol* 189: 455-463. doi: 10.1677/joe.1.06278.
16. **Kincaid RL. 1999.** Assessment of the trace mineral status of ruminants. Review. In: *Proc American Society of Animal Science*.
17. **LeBlanc SJ. 2014.** Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal* 8: 54-63. doi: 10.1017/S1751731114000524
18. **Leroy JL, Valckx SD, Jordaens L, De Bie J, Desmet KL, Van Hoeck V, Jacq H, Marei W, Bols P. 2015.** Nutrition and maternal metabolic health in relation to oocyte and embryo quality: critical view on what we learned from the dairy cow model. *Reprod Fertil Dev* 27: 693-703. doi: 10.1071/RD14363
19. **McDowell LR. 2005.** Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. 2° ed. Gainesville, USA: Universidad de Florida. 92 p.
20. **Nasroallah K, Mohamaddi K. 2013.** Follicular fluid concentrations of biochemical metabolites and trace minerals in relation to ovarian follicle size in dairy cows. *Annual Rev Res Biol* 4: 397-404.
21. **Pedroso R, González N, Roller F.** Efecto de la suplementación de cobre en la reproducción de la hembra bovina en pastoreo. *Rev La Técnica* 13: 26-31.
22. **Pedroso R, Roller F. 2009.** Efecto de las deficiencias de cobre en la reproducción y eficacia de las nuevas biotecnologías del ganado bovino en Cuba.

- Reseña. Ciencia y Tecnología 3:101-120.
23. **Picco SJ, Abba MC, Mathiolo GA, Rosa DLE, De Luca JC, Dulout FN. 2004.** Association between copper deficiency and DNA damage in cattle. *Mutagenesis* 19: 453-456. doi: 10.1093/mutage/geh056
24. **Rodríguez PN, Cediel D, Castañeda R. 2021.** Suplementación orgánica e inorgánica de Cu y Se en dietas para vacas lecheras Normando. *Rev MVZ Córdoba* 26: e1983. doi: 10.21897/rmvz.1983
25. **Rosa DE. 2015.** Efecto del cobre durante la maduración de ovocito bovino: Impacto sobre el desarrollo embrionario preimplantado. Tesis Doctoral. Argentina: Univ. Nacional de la Plata. 161 p.
26. **Sales JNS, Pereira RVV, Bicalho RC, Baruselli PS. 2011.** Effect of injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (*Bos indicus* × *Bos taurus*) synchronized for timed embryo transfer. *Livestock Sci* 142: 59-62. doi: 10.1016/j.livsci.-2011.06.014
27. **SAS/STA. 1996.** User s Guide Release 6.03.SAS Inst, Cary, NC, USA.
28. **Slavik P, Illek J, Zeleny T. 2006.** Zinc and copper status of beef cattle in the Sumava, Czech Republic. *Acta Vet Brno* 75: 485- 488. doi: 10.2754/avb2006-75040485
29. **Spears JW, Weiss WP. 2008.** Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *Vet J* 176: 70-76. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.-12.015
30. **Torres G, Paez R, Azum JL; Roller F, González N, Acosta J, Pedroso R. 2016.** Uso del sulfato de cobre vía parenteral en vacas hipocuprémicas con mastitis y su efecto en la fertilidad. *La Técnica* 16: 56-63.
31. **Underwood EJ, Suttle NF. 2001.** Cooper. In: The mineral nutrition of livestock. 3rd ed. Wallingford, UK: CABI. Publishing. p 283-342.
32. **Vanegas JÁ, Reynolds J, Atwill ER. 2004.** Effect of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. *J Dairy Sci* 87: 33665.
33. **Xin Z, Silvia WJ, Waterman DF, Hemken RW, Tucker WB. 1993.** Effect of copper status on luteinizing hormone secretion in dairy steers. *J Dairy Sci* 76: 3665-3671. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73505-5