

## **EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE COBRE EN EL CONTENIDO MINERAL DEL SUERO DURANTE EL DESARROLLO DE LAS CUERNAS EN CIERVO ROJO.**

Gambín, P., Cappelli, J., Serrano, M.P., García, A., Gallego L. y Landete-Castillejos T. Sección de Recursos Cinegéticos y Ganaderos, Instituto de Desarrollo Regional de la Universidad de Castilla-La Mancha. Campus Universitario sn, 02071, Albacete, España. [Pablo.gambin@uclm.es](mailto:Pablo.gambin@uclm.es)

### **INTRODUCCIÓN**

En España, el ciervo es apreciado por su cuerna y supone la especie de caza mayor con mayores sueltas, las cuales provienen, en su mayoría, de granjas cinegéticas (MAGRAMA, 2013). Por tanto, la rotura de las cuernas antes de su comercialización podría causar importantes pérdidas económicas en este sector. Las cuernas se consideran como un tejido óseo que crece una media de 0,67cm durante 120-135 días (Gómez *et al.*, 2013) requiriendo, por tanto, minerales de la dieta (Landete-Castillejos *et al.*, 2010) y del esqueleto (Baxter *et al.*, 1999). A pesar de que las cuernas están compuestas principalmente por calcio (Ca) y fósforo (P) (Estévez *et al.*, 2009), se ha demostrado que los minerales traza tienen un papel clave en las características de la cuerna (Landete-Castillejos *et al.*, 2010). Entre los minerales traza, el cobre (Cu) puede ser muy importante puesto que desempeña un papel esencial en la maduración del colágeno (Hyun *et al.*, 2004), el cual está implicado en la condrogénesis de la cuerna del ciervo (Price *et al.*, 1996). En ciervos, la deficiencia de Cu es la deficiencia mineral más común y puede ser detectada a través del suero (Grace y Wilson, 2002). Entre otras patologías, la deficiencia de Cu puede causar rotura de cuernas (Johnson *et al.*, 2007) y trastornos óseos como osteocondrosis (Wilson y Grace, 2001). Además, un estudio previo demuestra que las cuernas de ciervos suplementados con Cu aumentan un 4.1 % el grosor del hueso cortical, un 9% el contenido de estroncio (Sr) y un 2% el contenido de zinc (Zn) (Gambín *et al.*, 2017). Por tanto, debido a la importancia del Cu para las cuernas, se pretende estudiar los efectos de la suplementación de Cu sobre los minerales del suero durante el desarrollo de las cuernas en ciervo rojo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Este estudio se realizó en la granja experimental de la UCLM de Albacete al sureste de España. Dieciocho ciervos fueron divididos en dos grupos homogéneos (n = 9) en cuanto al peso y edad. Como promedio, el grupo control tuvo 108,5 ± 44,4 kg y 2,8 ± 1,96 años mientras que el grupo experimental tuvo 105,4 ± 49,2 kg y 2,6 ± 1,42 años. El programa de alimentación fue común para todos los ciervos y se ofreció consumo *ad libitum* durante todo el ensayo. El programa de alimentación y la composición de los ingredientes fueron los mismos que los utilizados por Gambín *et al.* (2017) y cumplió o superó los requerimientos de nutrientes de ciervos establecidos por *National Research Council* (NRC) (2007). El Cu se suministró por inyección subcutánea usando 1 cm<sup>3</sup>/30 kg de peso vivo de una solución comercial (Glypondin®, König S.A., Buenos Aires, Argentina) que contenía 0,83 mg de Cu por kg de peso corporal en el grupo de tratamiento. Las inyecciones se administraron cada 42 días siguiendo las recomendaciones del fabricante desde la mitad de febrero hasta la mitad de julio. Los animales control recibieron una dosis de suero salino (1 cm<sup>3</sup>/30 kg de peso vivo) en las mismas fechas. Se tomaron muestras de sangre en 4 fechas diferentes. La primera muestra fue 36 días antes del crecimiento de la cuerna, a mediados de febrero y coincidiendo con el inicio del incremento de condición corporal de los machos con el fin de preparar la temporada de apareamiento (Gaspar-López *et al.*, 2010), otra, durante el crecimiento de la cuerna, es decir el día 54 después del inicio del crecimiento de la cuerna (DICC), otra en el día 130 DICC (cuando el hueso cortical de la cuerna terminó su crecimiento, Gómez *et al.*, 2013) y la última en el día 197 DICC, coincidiendo cuando la cuerna estuvo limpia de terciopelo y con la temporada de apareamiento (Gaspar-López *et al.*, 2010). Las muestras de sangre se extrajeron mediante venopunción yugular e inmediatamente después se coagularon en tubos Vacutest Clot® (Vacutest Kima sr.l., Arzergrande, Italia). El suero se separó utilizando una centrífuga a 2.848 g, 4°C durante 15 min y las muestras se mantuvieron en un congelador a -20°C hasta el análisis. El contenido de minerales del suero se analizó mediante espectrometría de emisión óptica acoplada inductivamente (ICAP 6500 DUO Spectrometer / IRIS INTREPID II XDL; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EE.UU.). Los análisis estadísticos se realizaron usando el

programa SPSS version 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). Se utilizó en análisis ANOVA para comparar el promedio de peso y la edad con el fin de comprobar que no había diferencia entre el control y el grupo experimental. Se utilizó el modelo mixto de medidas repetidas para el estudio de los minerales del suero. Los factores fijos fueron el tratamiento de Cu, el desarrollo de cuerna y la interacción entre ambos. El factor aleatorio fue el animal.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La interacción de la suplementación de Cu y la fecha de extracción de suero fue no significativa ( $P > 0,10$ ) para todos los minerales estudiados. Por tanto, sólo los factores fijos son mencionados en este apartado. En este sentido, la suplementación con Cu aumentó el contenido de suero de Cu y P (Tabla 1). Concretamente, el contenido de Cu del suero durante el desarrollo de la cuerna fue un 24% mayor en el grupo suplementado con Cu que en el grupo de control ( $P = 0,028$ ). Este aumento está en consonancia con el estudio de Walker *et al.* (2002), los cuales encontraron que la suplementación de Cu administrado mediante bolos intrarumiales en machos de ciervo rojo de 2 años de edad, durante el período de crecimiento de la cuerna, producía un aumento de Cu en suero. Asimismo, la suplementación de Cu, incluso bajo una dieta equilibrada, aumentó en un 27% el contenido de Cu en suero (Gambín *et al.*, 2017). Además, el contenido de Cu en suero estuvo también en armonía con los niveles de referencia de suero de Cu propuestos por Wilson y Grace (2001) y siempre por debajo de los valores (1,3-1,7 mg/kg) propuestos por Laven y Wilson (2011) evitando efectos tóxicos como la hepatopatía subclínica. Este aumento de Cu podría servir para prevenir y/o contrarrestar las consecuencias de las deficiencias de Cu. A pesar de la importancia del Cu, no se han encontrado artículos para comparar los resultados obtenidos en relación a la influencia de las inyecciones subcutáneas de Cu sobre el contenido mineral del suero.

**Tabla 1.** Efecto de la suplementación de cobre (SCu) y el estado del desarrollo de la cuerna sobre los minerales del suero.

	SCu		Estado del desarrollo de la cuerna				DE <sup>3</sup> (n= 18)	P-valor	
	Control	Experimental	36 <sup>1</sup>	54 <sup>2</sup>	130 <sup>2</sup>	197 <sup>2</sup>		SCu	Fecha
Ca(g/100)	0,007	0,007	0,007 <sup>BC</sup>	0,008 <sup>A</sup>	0,007 <sup>C</sup>	0,007 <sup>B</sup>	0,001	NS	***
P(g/100)	0,008	0,009	0,008 <sup>B</sup>	0,010 <sup>A</sup>	0,009 <sup>AB</sup>	0,008 <sup>C</sup>	0,001	**	**
Mg(g/100)	0,002	0,002	0,002 <sup>B</sup>	0,002 <sup>A</sup>	0,002 <sup>A</sup>	0,002 <sup>A</sup>	0,001	NS	***
K(g/100)	0,026	0,026	0,041 <sup>A</sup>	0,019 <sup>C</sup>	0,023 <sup>B</sup>	0,020 <sup>BC</sup>	0,002	NS	***
Na(g/100)	0,293	0,294	0,265 <sup>C</sup>	0,295 <sup>B</sup>	0,303 <sup>B</sup>	0,313 <sup>A</sup>	0,009	Ns	***
S(g/100)	0,084	0,083	0,067 <sup>C</sup>	0,083 <sup>B</sup>	0,089 <sup>B</sup>	0,097 <sup>A</sup>	0,005	NS	***
Al(mg/kg)	0,201	0,256	0,293 <sup>AB</sup>	0,337 <sup>A</sup>	0,166 <sup>BC</sup>	0,122 <sup>C</sup>	0,072	NS	***
B(mg/kg)	0,169	0,186	0,177 <sup>B</sup>	0,125 <sup>C</sup>	0,177 <sup>B</sup>	0,231 <sup>A</sup>	0,025	NS	***
Cu(mg/kg)	0,662	0,852	0,634 <sup>BC</sup>	0,811 <sup>AB</sup>	0,593 <sup>C</sup>	0,987 <sup>A</sup>	0,154	*	***
Fe(mg/kg)	3,591	3,341	5,288 <sup>A</sup>	2,454 <sup>C</sup>	3,908 <sup>B</sup>	2,182 <sup>C</sup>	0,759	NS	***
Mn(mg/kg)	0,139	0,134	0,147 <sup>A</sup>	0,118 <sup>B</sup>	0,143 <sup>A</sup>	0,137 <sup>A</sup>	0,014	NS	***
Sr(mg/kg)	0,175	0,188	0,157 <sup>B</sup>	0,198 <sup>A</sup>	0,198 <sup>A</sup>	0,176 <sup>AB</sup>	0,027	NS	***
Zn(mg/kg)	0,660	0,658	0,661 <sup>AB</sup>	0,554 <sup>B</sup>	0,655 <sup>AB</sup>	0,767 <sup>A</sup>	0,091	NS	***

<sup>1</sup> Días antes del comienzo del crecimiento de la cuerna. <sup>2</sup> Días después del comienzo del crecimiento de la cuerna. <sup>3</sup> Desviación estándar. <sup>A,B,C</sup> Valores que en la misma fila difieren a  $P \leq 0,01$ . \* $P < 0,05$ . \*\* $P < 0,01$ . \*\*\* $P < 0,001$ .

La interacción de la suplementación de Cu y la fecha de extracción de suero fue no significativa ( $P > 0,10$ ) para todos los tratamientos estudiados. Por tanto sólo se muestran los factores fijos.

El contenido de P fue un 7% mayor en el suero de ciervos suplementados con Cu que en el suero de ciervos del grupo de control ( $P = 0,002$ ). Dicho aumento fue un resultado muy sorprendente. El P es un mineral extremadamente importante para el crecimiento de cuerna, debido a que participa en su principal componente óseo, llamado hidroxapatita (Estévez *et*

*al.*, 2009) y su deficiencia está asociada a la rotura de las cuernas (Johnson *et al.*, 2007). De manera similar, se encontró un incremento en el porcentaje de P en huesos de cerdos suplementados con Cu (Davin *et al.*, 2016). El aumento del contenido de suero de P producido por la suplementación de Cu podría tener consecuencias beneficiosas para el tejido óseo de la cuerna. Es más, en cerdos existe una relación positiva entre el contenido de P en suero y la densidad ósea (Oster *et al.*, 2016). Sin embargo, habría que confirmar que el aumento del P en suero podría aumentar la densidad de las cuernas. Además, los resultados también mostraron que el contenido mineral del suero estuvo influenciado por el estado de desarrollo de la cuerna. Los contenidos en suero de Ca, P y Mg fueron más altos en el día 54 DICC coincidiendo con la mineralización del hueso lamelar en las cuernas (Gómez *et al.*, 2013). Esto está en consonancia con Kuba *et al.* (2015) que sugiere que los minerales en suero se rigen por cambios en el desarrollo de la cuerna. El Cu tuvo un aumento el día 54 DICC y puede ser debido a la formación del colágeno (Hyun *et al.*, 2004) durante la condrogénesis (Price *et al.*, 1996). En conclusión, el contenido en suero varía con el estado del desarrollo de la cuerna y la suplementación de Cu aumenta los contenidos de Cu y P en suero, incluso bajo una dieta equilibrada. Por lo tanto la inyección de Cu podría servir para aumentar el P y Cu en suero y prevenir la rotura asociada a las deficiencias.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baxter, B.J. *et al.*, 1999. *Anat. Rec.* 256:14-19.
- Davin, R. *et al.*, 2016. *J. Anim. Sci.* 94: 74-75.
- Estévez, J.A. *et al.*, 2009. *Acta Theriol.* 54: 235-242.
- Gambín, P. *et al.*, 2017. *Animal* doi:10.1017/S1751731116002767
- Gaspar-López, E. *et al.*, 2010. *Reprod. Domest. Anim.* 45: 243-249.
- Gómez, S. *et al.*, 2013. *Bone* 52: 506-515.
- Grace, N.D. y Wilson, P.R. 2002. *New Zeal. Vet. J.* 50: 252-259
- Hyun, T.H. *et al.*, 2004. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 715-721.
- Johnson, H.E. *et al.*, 2007. *J. Wildlife Dis.* 43: 61-74.
- Kuba, J. 2015. *Biol. Trace Elem. Res.* 168: 356-361.
- Landete-Castillejos, T. *et al.*, 2010. *Bone* 47: 815-825
- Laven, R.A. y Wilson, P. R. 2011. *New Zeal. Vet. J.* 59, 197-200.
- MAGRAMA, 2013, *Inventario Español del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad*
- NRC. 2007. *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids.*
- Oster, M. *et al.*, 2016. *Am. J. Physiol.-Reg. I.* 310: 917-925.
- Price, J.S. *et al.*, 1996. *Dev. Dynam.* 205: 332-347.
- Walker I.H. *et al.*, 2002. *New Zeal. Vet. J.* 50: 177-181.
- Wilson, P.R. y Grace, N.D. 2001. *New Zeal. Vet. J.* 49: 126-132.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación y Deportes de Castilla-La Mancha (PEII-2014-004-P) y por el Ministerio de Economía y Competitividad (RTC-2016-5327-2).

### EFFECT OF COPPER SUPPLEMENTATION IN MINERAL SERUM CONTENT DURING ANTLER GROWTH ON RED DEER

**ABSTRACT:** In Spain, the deer is appreciated for its antlers, so the breakage could cause important economic losses. Despite antlers are composed mainly of Ca and P, trace minerals as Cu could have a key role. In fact, Cu deficiency is associated with antler breakage. Our objective was to verify that serum Cu increases throughout Cu supplementation previous and during the antlers growth. Seventeen deer were divided in 2 homogeneous groups (n = 9). Experimental group, was Cu-injected every 42 days, from February to July (0.83 mg Cu/kg body weight) while in control group was saline serum injected. Mineral content of the serum was analysed by ICP spectrometry. It was used a GLMM analysis to compare, treatment and serum minerals content of 4 different dates: at day 36 before beginning antler growth and at days 54 after beginning antler growth (ABAG), 130 ABAG and 197 ABAG. The results showed that Cu supplementation increased the serum content of Cu (+24%) and P (+7%) in the supplemented group and serum contents of Ca, P, Mg and Cu were highest at day 54 ABAG. In conclusion, even under a balanced diet, therefore Cu injection could serve to increase serum P and Cu values, whose deficiencies are associated with the rupture of antlers. Besides, mineral serum content varies depending on antler development stage.

**Keywords:** *Cervus elaphus*; Cu; plasma minerals; stags