

El periodo reproductivo y la gestación gemelar modifican las concentraciones séricas de hierro, cobre y cinc en la oveja de raza Gallega

José Luis Benedito Castellote*
Cristina Castillo Rodríguez*
Joaquín Hernández Bermúdez*
Cándido Gutiérrez Panizo**
Paulino García Partida****

Resumen

Se estudió el comportamiento de tres oligoelementos séricos (hierro, cobre y cinc) en cuarenta hembras ovinas de raza Gallega durante diferentes periodos productivos: anoestro, gestación, parto y puerperio. Asimismo, se quiso conocer cuáles serían las variaciones de estos oligoelementos en cada fase, dependiendo del tipo de gestación: sencilla o gemelar. Una vez determinados los valores basales, se obtuvieron muestras de sangre mensualmente, intentando abarcar los diferentes meses de gestación. También se tomó en cuenta el momento peripartal, considerado en tres etapas: 36 horas previas, 5-10 horas y 36 horas posteriores al parto. Finalmente la lactancia se consideró a los 10 días posparto. Las concentraciones de oligoelementos en el suero se determinaron mediante espectrometría de absorción atómica, con ayuda del efecto Zeeman. Los datos se procesaron estadísticamente mediante el empleo de un análisis de varianza de una y doble vías, con el propósito de conocer el efecto ejercido por la toma y el binomio toma-número de crías, respectivamente. Los resultados muestran que, en efecto, existen marcadas influencias en el comportamiento de los parámetros analizados. El hierro y el cobre séricos presentan modificaciones evidentes en el último mes de gestación y en el posparto, más marcadas en las hembras de parto doble. Por el contrario, el cinc en suero apenas sufre cambios durante la gestación pero sí se ve influido por el parto, especialmente entre 5 y 10 horas después del parto, y la lactación.

Introducción

Desde que España entró a la Unión Europea, han tenido lugar una larga serie de transformaciones en la cabaña

ganadera del país: entre otras, la disminución considerable de sistemas tradicionales de explotación, como la del ganado bovino en el norte de España.

Desde entonces, ha sido necesario buscar nuevas fuentes de explotación, de ser posible, sobre la base de infraestructuras creadas en décadas anteriores. De ahí que, desde hace pocos años, esté adquiriendo mayor relevancia la explotación del ganado ovino. Son mundialmente conocidas las virtudes de la raza Merina, pero su gran selección, con base en la producción, la incapacita para adaptarse a hábitats especialmente difíciles, como puede ser la zona donde se efectuó el presente trabajo.

Por ello es creciente el interés que se ha despertado en diversas regiones de España en busca de la mejora de razas ovinas rústicas, perfectamente adaptadas a su lugar de origen. En el presente estudio se pretende dar respuesta a esa necesidad, al buscar con la raza ovina Gallega, la más adecuada a la provincia de Lugo, de la cual se pueden extraer los máximos rendimientos. Además, es necesario tomar en cuenta que Galicia ha sido, y es, una de las regiones más afectadas por la reforma ganadera comunitaria.

La raza Gallega, cuyo origen parece remontarse al tronco étnico *Ovis aries ibericus*, está especialmente adaptada al clima oceánico-continental, presente en la zona central de Galicia. Son animales pequeños (25-30 kg) destinados fundamentalmente a la producción de carne de buena calidad. Hay numerosos estudios que resaltan su precocidad sexual, ya que las hembras pueden ser cubiertas a los 6 o 7 meses de vida. También se le ha asignado a esta raza el carácter de poliéstrica continua, sin estar influido por la estacionalidad. Finalmente, la predisposición para dar partos dobles es constante, el parto triple es frecuente y no es raro el cuádruple.¹⁴

Como se puede apreciar, son bastantes las razones que animan a efectuar estudios profundos sobre su metabolismo, reflejo de la adaptación al medio, y posibles patologías asociadas a él. Se cree que el análisis de los niveles de ciertos oligoelementos (hierro, cobre y cinc) en diferentes estados productivos puede constituir una base para el desarrollo de posteriores estudios nutricionales, destina-

Recibido para su publicación el 13 de marzo de 1996.

* Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, España.

** Departamento de Patología Animal: Medicina Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España.

**** Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España.

dos a compaginar la eficacia biológica con el rendimiento económico. Además es importante tener en cuenta que este estudio se ha llevado a cabo en condiciones "de campo", lejos de los protocolos experimentales controlados y en los que los animales están sometidos a condiciones medioambientales y nutricionales específicas.

También es verdad que, aunque existen numerosos estudios relativos al papel fisiológico desempeñado por dichos oligoelementos, son muy escasas las referencias, por no decir nulas, que analizan el comportamiento de éstos en las hembras gestantes, en función del número de fetos que engendre. Se cree que este estudio puede contribuir, en la medida de lo posible, a subsanar algunas de las lagunas existentes al respecto, y conocer el momento concreto en el que el número de crías imprime diferencias en las concentraciones séricas de los tres oligoelementos.

Material y métodos

Características del binomio suelo-planta en la zona

El área donde se efectuó el análisis se caracteriza por presentar suelos muy ácidos, con un pH que oscila entre 4.8 y 5.3. Esta característica ha propiciado la realización de diversos estudios dirigidos a conocer la biodisponibilidad de diferentes oligoelementos tanto en el suelo como en la planta.

Diversos autores, al realizar un estudio geoquímico del cobalto y otros oligoelementos en la provincia de Lugo,⁸ así como en estudios posteriores al respecto,* señalaron que, dado el carácter sedimentario de este suelo, junto con su pH muy ácido, existen niveles adecuados-altos de diferentes micronutrientes, en especial, los analizados en el presente estudio. Ello se debe a que éstos se hallan en la fracción soluble del suelo, por lo que son fácilmente aprovechables. También destacaron la escasa influencia de la estacionalidad sobre el comportamiento de los oligoelementos.

Material vivo

Para este trabajo se emplearon 40 hembras ovinas clínicamente sanas, de raza Gallega, con un peso medio de 28 kg al inicio del estudio, con un rango de edad que oscilaba entre 2 y 4 años. Las hembras se alimentaron, durante el verano y el otoño, de pradera natural desarrollada durante la primavera, la cual estaba compuesta fundamentalmente por ray-grass inglés y trébol blanco (*Trifolium repens*). En el último mes de gestación y hasta el final de la experiencia, se les suministró ensilado de hierba como

ración base, al agotarse el forraje verde en la pradera.

Con el propósito de establecer idénticas condiciones medioambientales, fisiológicas y nutricionales, los animales fueron sincronizados empleando acetato de fluorogestona** y PMSG en dosis de 30 mg/esponja y 300 UI/animal, respectivamente.

El diagnóstico de la gestación se efectuó por ultrasonido al segundo mes de la sincronización, mediante ecografía transrectal, pudiendo constatar que de las 40 hembras empleadas, 25 presentaron una gestación gemelar, por lo que se dividió el total de los animales en dos lotes: gestación sencilla y gemelar.

Recolección de muestras

La primera muestra, efectuada en julio (toma 1), corresponde al momento en que fueron sincronizadas las hembras en estado anoéstrico. A partir de entonces se realizaron tomas con una periodicidad mensual, desde agosto hasta noviembre (tomas 2 a 5). En diciembre, cercano ya al parto, las muestras se tomaron de la siguiente manera: a los quince días anteriores al parto (toma 6) y en el momento peripartal: 36 horas previas al parto (toma 7), así como en las horas que siguieron al mismo: en el intervalo de 5 a 10 horas posparto (toma 8) y a las 36 horas posteriores al mismo (toma 9). Finalmente, la última toma (toma 10), se realizó en enero, a los 10 días posparto.

En todos los casos, la extracción de sangre de la vena yugular se efectuó entre las 9 y las 11 de la mañana, con los animales en ayunas. Las hembras fueron separadas del rebaño la noche anterior con el fin de minimizar la respuesta al estrés. El suero obtenido fue congelado hasta su análisis en el laboratorio.

Procesamiento analítico

Los niveles séricos de hierro, cobre y cinc fueron determinados mediante el empleo de un espectrómetro de absorción atómica*** con ayuda del efecto Zeeman. Para cada parámetro se necesitó establecer una curva de trabajo y en la cual los patrones utilizados fueron de 0.500; 0.750; 1; 1.500; 2 y 2.250 ppm, respectivamente. En todos los casos, se tomaron en cuenta las posibles modificaciones generadas por la conservación de la muestra, así como la interferencia con otros componentes del suero.^{12,16}

Tratamiento estadístico

Como paso previo se verificó que la población objeto del estudio, seguía una distribución normal.¹⁵ Tras ello, los datos se procesaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de una y doble vías. En el primer caso (ANOVA tipo I), la variable independiente considerada fue la toma; en el segundo (ANOVA tipo II) se quiso estudiar el efecto de la interacción toma-número de crías producida sobre las concentraciones de hierro, cobre y cinc en suero. La diferencia entre medias fue establecida

* Graña, G.M.J., Cisneros, G.M.C. y Seoane, L.S.: Contenido de cobalto en plantas forrajeras. Influencia de la alimentación. IX Congreso Nacional de Química. Sevilla, España, 1993: 25-28

** Cronolone,® Laboratorios Intervet. Salamanca, España.

*** HITACHI, mod. F-800

Cuadro 1
EFECTO EJERCIDO POR LA TOMA Y LA INTERACCION
TOMA-NÚMERO DE CRIAS SOBRE CADA
MICRONUTRIMENTO ESTUDIADO

	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>Prob>F</i>
Hierro			
Toma	9.6532919	15.1150	0.0000
Toma-núm. crías	0.5839136	0.9143	0.5142
Cobre			
Toma	2.0775932	8.0964	0.0000
Toma-núm. crías	0.2358684	0.9192	0.5099
Cinc			
Toma	1.7718617	4.7434	0.0000
Toma-núm. crías	0.7370019	1.9730	0.0452

para una $P < 0.05$, aplicando el test de significación mínima de Fisher (*F-test*).^{15,18} Las diferencias estadísticas entre tomas fueron establecidas aplicando un análisis de rango múltiple, para una $P < 0.05$.¹⁸

Resultados

Con el fin de facilitar la exposición y discusión de los datos se han dividido las diferentes fases del protocolo en cuatro etapas: Anoestro-Sincronización (toma 1), gestación (tomas 2-6), momento peripartal, donde queda incluido el puerperio (tomas 7-9) y lactación (toma 10).

Asimismo, en el Cuadro 1 se muestran los efectos de la toma e interacción toma-número de crías. De forma general se puede señalar que el factor toma modifica significativamente la concentración de micronutrientes en suero. En relación con el efecto combinado toma y número de crías, sólo el cinc se ve claramente modificado. Al aplicar el procesamiento estadístico ANOVA tipo II, se encuentran diferencias en todos los oligoelementos, que se expresan de manera pormenorizada en las Figuras 1 a 3.

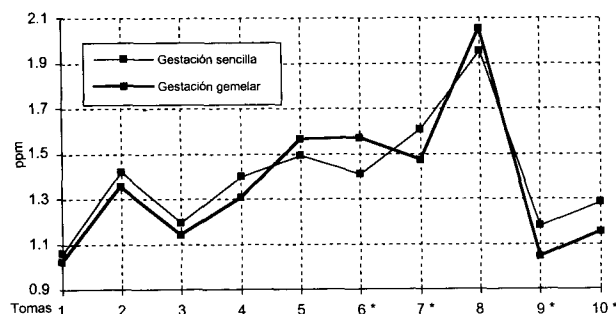


Figura 1. Concentración de hierro sérico en los dos grupos de ovejas. (*) Diferencias estadísticas entre grupos.

Cuadro 2
EVOLUCION DE LOS NIVELES MEDIOS ($\mu \pm e.s$)
DE LOS DISTINTOS OLIGOELEMENTOS (EXPRESADOS
EN PPM) EN EL TOTAL DE LAS HEMBRAS OVINAS
Y A LO LARGO DE LAS DISTINTAS TOMAS.

<i>Toma</i>	<i>Hierro</i>	<i>Cobre</i>	<i>Cinc</i>
1	1,043 $\pm$ 0,059 ^a	0,906 $\pm$ 0,021 ^a	1,024 $\pm$ 0,046 ^c
2	1,358 $\pm$ 0,046 ^c	0,887 $\pm$ 0,026 ^a	0,969 $\pm$ 0,041 ^c
3	1,146 $\pm$ 0,045 ^a	0,894 $\pm$ 0,021 ^a	1,041 $\pm$ 0,044 ^c
4	1,332 $\pm$ 0,043 ^c	1,021 $\pm$ 0,020 ^c	1,113 $\pm$ 0,035 ^c
5	1,531 $\pm$ 0,044 ^d	0,881 $\pm$ 0,029 ^a	1,054 $\pm$ 0,047 ^c
6	1,499 $\pm$ 0,060 ^d	1,039 $\pm$ 0,042 ^c	0,955 $\pm$ 0,047 ^c
7	1,526 $\pm$ 0,081 ^d	1,063 $\pm$ 0,024 ^c	0,986 $\pm$ 0,035 ^c
8	2,002 $\pm$ 0,081 ^b	1,144 $\pm$ 0,033 ^b	1,233 $\pm$ 0,072 ^b
9	1,107 $\pm$ 0,047 ^a	1,125 $\pm$ 0,033 ^b	0,958 $\pm$ 0,031 ^c
10	1,228 $\pm$ 0,064 ^a	1,146 $\pm$ 0,090 ^b	0,791 $\pm$ 0,041 ^a

^{a, b, c, d, e} (dentro de cada columna) representan las poblaciones estadísticas halladas en el análisis de rango múltiple ($P < 0.05$).

Niveles de hierro sérico

El Cuadro 2 refleja que el valor más bajo de este estudio se localiza en el anoestro (toma 1), mientras que el más alto aparece a las 5-10 horas posparto (toma 8). Además, se puede señalar que el último mes de gestación, incluidas las horas previas al parto, se configura un grupo homogéneo totalmente diferenciable de etapas previas.

El número de crías que engendra la madre (Figura 1) modifica las concentraciones de hierro sérico, de modo significativo, sólo en los últimos 15 días de gestación (tomas 6 y 7) y una vez transcurrido el parto (tomas 9 y 10).

Niveles de cobre sérico

El máximo valor de cobre, en función de la toma (Cuadro 2), corresponde a la lactación (toma 8), mientras que el mínimo se sitúa en el cuarto mes de gestación

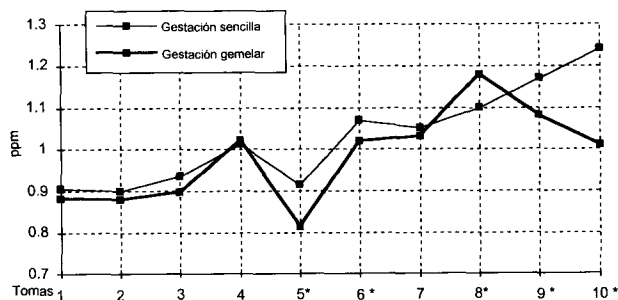


Figura 2. Concentración de cobre sérico en los dos grupos de ovejas. (*) Diferencias estadísticas entre grupos.

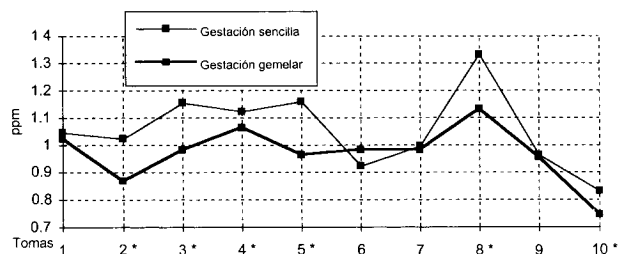


Figura 3. Concentración de cinc sérico en los dos grupos de ovejas. (*) Diferencias estadísticas entre grupos.

(toma 5). Asimismo, se puede señalar que una vez transcurrido el parto (tomas 8 a 10), la cupremia, con los máximos valores, presenta una evolución que difiere estadísticamente de las etapas anteriores.

En relación con el número de crías (Figura 2), este factor afecta a las concentraciones séricas del micronutriente en dos momentos concretos: durante el último mes de gestación (tomas 5 y 6) y una vez transcurrido el parto (tomas 8 a 10).

Niveles de cinc sérico

El mínimo valor de este oligoelemento (Cuadro 2) aparece en la lactación (toma 10), y el máximo a las 5-10 horas posparto (toma 8). El comportamiento global del cinc sérico durante la gestación, no difiere estadísticamente del anoestro, mostrándose todas las fases como un grupo homogéneo.

El número de crías que presente la hembra (Figura 3) modifica, significativamente, las concentraciones de cinc en suero desde el primer mes y hasta el cuarto de preñez (tomas 2 a 5), así como a las 5-10 horas posparto y lactación (tomas 8 y 10, respectivamente).

Discusion

Niveles séricos de hierro

Las concentraciones séricas de hierro, a lo largo del experimento, permanecieron encuadrados en los límites fisiológicos que, para la especie ovina, han sido señalados por diversos investigadores.^{5,11,17}

El ascenso encontrado durante la gestación, especialmente en el último mes, es el resultado de las continuas demandas que el feto, o los fetos, ejercen sobre la madre. Una de esas demandas la constituyen los depósitos de hierro en el hígado del feto y otras estructuras, depósitos que se incrementan progresivamente, llegando a presentar, al final de la preñez, niveles superiores con respecto a las madres.⁷ Estos requerimientos lógicamente implican en la hembra gestante una movilización de las reservas orgá-

nicas, acompañada de una mayor absorción intestinal del hierro para mantener la adecuada homeostasis del mismo.⁴

Por otro lado, el incremento en la reserva fetal es proporcional al número de fetos que engendre la madre.⁶ Ello implica que ésta se ve obligada a una mayor movilización y absorción intestinal de este oligoelemento para satisfacer tales demandas.

En el último mes de gestación, y en hembras que portan dos corderos, se puede apreciar que además del mayor requerimiento fetal del oligoelemento existe una utilización extraordinaria del mismo, en especial, en las horas que preceden al parto (toma 7), pues no hay que olvidar que se está formando el calostro, secreción que contiene elevadas cantidades de hierro, tres veces más que la leche.¹⁷ Es por esto que se aprecia una marcada reducción en la concentración sérica de este micronutriente, potenciado además por el descenso de la ingesta en los momentos cercanos al parto.

Tras el parto (toma 8) se observa una nueva movilización de las reservas orgánicas, con el consiguiente ascenso en los valores en suero. En esta ocasión el objetivo es básicamente la síntesis de hemoglobina, pues se ha registrado que estas hembras presentan en ese momento una eritropenia posparto, aunque de carácter transitorio.³

La eliminación del hierro con el calostro se refleja a las 36 horas posparto, lo que provoca un descenso acentuado en los niveles séricos, más acusado en las hembras que amamantan dos crías. Por último, se puede señalar que en esta especie la lactación supone una recuperación en los valores de hierro, sobre todo en las que amamantan una cría, y tal y como señala Church,⁴ como consecuencia de la poca demanda que impone tal periodo en lo que respecta a este micronutriente.

Niveles séricos de cobre

A lo largo del estudio las concentraciones séricas de cobre permanecieron dentro de los rangos aportados por diferentes autores.¹¹ Sin embargo, estos mismos valores, fisiológicos en un sentido global, son claramente superiores a los de otras razas españolas, como pueden ser la Churra y Manchega⁹ o la raza ovina Rasa Aragonesa.¹³ Tal diferencia parece radicar en las características físico-químicas del suelo,⁸ que al ser muy ácido incrementa la solubilidad del cobre en el suelo y, por tanto, su biodisponibilidad.¹⁰

Uno de los momentos más interesantes en el comportamiento del cobre sérico, y durante este estudio, ocurre en el último mes de gestación. El ascenso en los niveles obedece, entre otras razones, a la mayor actividad metabólica desarrollada en estos momentos por la madre,³ lo que implicará altos niveles de eritrocupreína en sangre con el fin de proteger a las células de los radicales libres, altamente reactivos, generados por un metabolismo celular incrementado.

Tampoco debe olvidarse el hecho de que en los rumiantes, la regulación de los niveles de cobre se efectúa de acuer-

do a la tasa de absorción, incrementándose por tanto cuando las necesidades son mayores.⁴ Los menores índices observados en las hembras de gestación gemelar reflejan, por otro lado, una mayor demanda de cobre por parte de los fetos.⁶

Transcurrido el parto (toma 8) aparecen, de una forma global, los máximos niveles de cobre sérico, que coinciden con los máximos valores de hierro en suero, y es que, para que éste pueda desempeñar sus funciones, es necesario que haya una mayor presencia de ceruloplasmina ferroxidasa, que interviene en la utilización del hierro.⁴ Además, las hembras que parieron dos crías, con mayores niveles de hierro, son quienes también poseen mayores y significativos índices de cobre.

La diferencia en el comportamiento entre ambos grupos, una vez transcurrido el parto (tomas 9 y 10), sólo puede ser explicada con base en que la salida de cobre con la leche es mayor en las hembras que amamantan dos crías, y menos relevante en el otro grupo, con recuperación de los valores.

Niveles séricos de cinc

Durante el experimento las fluctuaciones que manifestaron las concentraciones de cinc en suero nunca llegaron a alcanzar caracteres patológicos, ya que siempre se mantuvieron dentro de rangos fisiológicos.²

La ausencia de significación estadística entre el anoestro y la gestación coincide con los resultados obtenidos en la raza ovina Rasa Aragonesa.¹³ Además, Church⁴ señala que, en ganado vacuno, los niveles séricos de cinc permanecen prácticamente invariables desde la concepción hasta el final de la gestación, comenzando entonces un descenso de los valores en los últimos días, que puede ser más intenso antes o después del parto.

Las menores concentraciones en el grupo de gestación gemelar pueden atribuirse a una mayor tasa de absorción del oligoelemento, para destinarlo hacia los productos de la concepción.⁴ Asimismo, las mayores demandas del oligoelemento, por parte de los fetos, se establecen entre el primer y segundo tercios de la gestación, siendo menores, aunque importantes, en el último tercio (Figura 3).

Las horas que siguen al parto (toma 8) se caracterizan por mostrar los mayores índices de cinc en suero. Es indudable que el parto supone un elevado esfuerzo muscular, con liberación de metaloenzimas láctico deshidrogenasa, de la que el cinc es componente fundamental. También es componente de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa, y que interviene en la protección de los tejidos contra la peroxidación lipídica.⁴ Es evidente que el hígado, sometido a una sobrecarga durante el final de la preñez, ha de hacer frente ahora a las demandas que implica la lactación.

La razón de que las hembras que parieron dos corderos presenten niveles significativamente inferiores obedece a la eliminación del cinc con el calostro, fluido que contiene 3-4 veces más cinc que la leche.⁴ Aunque no se puede

descartar que en estas hembras, sometidas a un mayor esfuerzo muscular, este oligoelemento esté quelado a la metaloenzima, en mayor o menor grado, y no como ión libre.

El acusado descenso en los valores durante el puerperio y lactación (tomas 9 y 10), y para ambos grupos de hembras, refleja la gran demanda que esta fase supone para los niveles de este oligoelemento, ya que la leche de oveja es rica en compuestos a base de cinc, y es capaz de aportar al cordero o corderos las cantidades correctas.¹

Abstract

The behaviour of three serum microminerals (iron, copper and zinc) in forty healthy adult ewes of the Gallega breed has been studied during different productive periods: Anoestrus, pregnancy, parturition, puerperium and lactation. Variations of these oligoelements in each period depending on the effect of single or twin pregnancy were also recorded. Sampling began considering a baseline state. The samples were taken monthly during pregnancy and afterwards during the peripartal moment (divided in three phases), and ten days after delivery, considering this last one as lactation. Serum oligoelement determinations were done using an atomic absorption spectrophotometer, employing Zeeman's effect. All data were processed through an analysis of variance (Anova-I and Anova II). Results showed that there were significant modifications in the oligoelement serum values. Iron and copper serum concentrations changed in the last month of pregnancy and after parturition; this was more evident in twin pregnancy than in the single one. Serum zinc did not vary during pregnancy, but parturition (5-10 hours) and lactation implied significant modifications in its values.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a la explotación Hermanos Saavedra por permitir el empleo de los animales del estudio, así como a la familia García Nogueira, por el cuidado que les dispensaron.

Literatura citada

1. Benemariya, H., Robberecht, H. and Deelstra, H.: Zinc, copper and selenium in milk and organs of cow and goat from Burundi, Africa. *Sci. Total Envir.*, 128: 83-98 (1993).
2. BMSA: Exámenes de Laboratorio para el Diagnóstico y Control Terapéutico en Veterinaria. *Boehringer Mannheim S.A.*, Barcelona, España, 1984.
3. Castillo, R.C.: Estudio fisiopatológico de la homeostasis del equilibrio ácido-base y electrolítico, e interacciones con la hematología y perfil metabólico en hembras de ganado ovino durante la preñez, parto y puerperio. Tesis doctoral. *Fac. de Vet. Universidad de Santiago de Compostela*. Lugo, España, 1994.
4. Church, C.D.: El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición. *Acribia*, Zaragoza, España, 1993.
5. Clarenburg, R.: *Physiological Chemistry of Domestic Animals. Mosby Year Book*, St. Louis, Missouri, 1992.

6. Grace, N.D. and Clark, R.G.: Trace element requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology. Sendai, Japan. 1989. 321-349. *Academic Press*. San Diego, California (1991).
7. Graham, T.W., Thurmond, H.C., Mohr, F.C., Holmberg, C.A., Anderson, M.L. and Keen, C.L.: Relationship between maternal and fetal liver copper, iron, manganese and zinc concentrations and fetal development in California Holstein dairy cows. *J. vet. Diag. Invest.*, 6: 77-82 (1994).
8. Graña, G.M.J.: Contribución al estudio geoquímico del cobalto en suelos y plantas de la provincia de Lugo. Tesis doctoral. *Fac. de Química*. Universidad de Santiago de Compostela. Lugo, España, 1989.
9. Gutiérrez, P.C., Montes, C.A.M., Fernández, P.J., Bernal, G.L. y Vigil, M.E.: Perfil metabólico de las razas ovinas Churra y Manchega en periodo de crecimiento. XV Congreso Mundial de Buiatría. Palma de Mallorca, España. 1988. 1562-1566. *Asociación de Veterinarios Españoles Especialistas en Buiatría (AVEBU)*, León, España, 1988.
10. Kabata-Pendias, A. and Pendias, H.: Trace Elements in Soils and Plants. *CRC Press*, San Diego, California, 1984.
11. Kaneko, J.J.: Normal Concentrations of Blood Constituents in Domestic Animals. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Edited by: Kaneko, J.J., 792-796. *Academic Press*, San Diego, California, 1980.
12. Kaplan, L.A. and Pesce, A.J.: Química Clínica. Técnicas de Laboratorio. Fisiopatología. Métodos de Análisis. Teoría. Análisis y Correlación. *Médica Panamericana*, Buenos Aires, Argentina, 1990.
13. Pastor, M.J.: Influencia del binomio suelo-planta sobre la bioquímica sérica de la raza ovina Rasa Aragonesa en la confluencia de los ríos Gállego y Ebro. Congreso Nacional sobre Explotación Extensiva de Rumiantes (Fe. Me. S. P. Rum). Salamanca, España. 1992. 223-225. *Asociación de Veterinarios Españoles Especialistas en Buiatría (AVEBU)*, Lugo, España, (1992).
14. Sánchez, G.L., Iglesias, B.A. y Vallejo, V.M.: Raza Ovina Gallega. *Diputación Provincial de Lugo*, Lugo, España, 1989.
15. Sokal, R.R. y Rohlf, F.J.: Introducción a la Bioestadística. *Reverté*, Barcelona, España, 1980.
16. Subramanian, K.S.: Storage and preservation of blood and urine for trace elements analysis. A review. *Biol. Trace Elem. Res.*, 49: 187-208 (1995).
17. Underwood, E.J.: Los Minerales en la Nutrición del Ganado. 2a ed. *Acribia*, Zaragoza, España, 1983.
18. Williams, B.: Biostatistics: Concepts and Applications for Biologists. *Chapman & Hall*, U.K., 1993.