

Efeito da suplementação de cobre e selênio na dieta de novilhos Brangus sobre o desempenho e fermentação ruminal

[*The effects of copper and selenium supplementation in the diet of Brangus steers on performance and rumen fermentation*]

G.R. Del Claro¹, M.A. Zanetti¹, A. Saran Netto^{1*}, F.G. Vilela⁴, M.P. Melo¹,
L.B. Correa¹, J.E. Freitas Jr.²

¹Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP – Pirassununga, SP

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP – São Paulo, SP

RESUMO

Vinte e oito bovinos Brangus foram usados para determinar o efeito da suplementação de cobre e selênio no desempenho e na fermentação ruminal. Os animais foram divididos em: 1) C(Controle) – sem a suplementação de cobre e selênio; 2) Se – 2mg Se/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio; 3) Cu – 40mg Cu/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre; 4) Se/Cu – 2mg Se/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40mg Cu/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre. As pesagens dos animais foram feitas em intervalos de 28 dias, após jejum completo de 18 horas. Foram colhidas amostras de líquido ruminal para análises de ácidos graxos voláteis e pH. O ganho de peso diário aumentou com a suplementação de Se ($P<0,05$). A ingestão de matéria seca não foi alterada pelos tratamentos ($P>0,05$). Os animais submetidos à suplementação com Cu apresentaram menor pH ruminal quando comparado com a suplementação Se/Cu ($P<0,05$). Os animais suplementados com Se/Cu apresentaram maior proporção de ácido acético quando comparado com o controle ($P<0,05$). Para o ácido propiônico e butírico, não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos. Apesar do pouco efeito na fermentação ruminal, as suplementações de selênio, cobre e selênio/cobre proporcionaram uma melhor eficiência alimentar.

Palavras-chave: ácidos graxos voláteis, fontes, minerais, nutrição, ruminantes

ABSTRACT

Twenty-eight Brangus cattle were used to determine the effect of copper and selenium supplementation on performance and rumen fermentation. The animals were divided in: 1) (Control) – without supplementation of copper and selenium; 2) Se – 2mg Se/kg of dry matter as sodium selenite; 3) Cu – 40mg Cu/kg of dry matter as copper sulphate; 4) Se/Cu – 2mg Se/kg of dry matter as sodium selenite and 40mg Cu/kg of dry matter as copper sulphate. Animal weighing was performed in 28 day intervals, after 18 hours of fasting. Samples of rumen liquid were collected for analysis of volatile fatty acid and pH. The daily weight gain increased with selenium supplementation ($P<0.05$). The dry matter intake was not altered by treatments ($P>0.05$). The animals that received copper supplementation had lower pH rumen compared with selenium/copper supplementation ($P<0.05$). The animals supplemented with selenium/copper had a high proportion of acetic acid when compared to control ($P<0.05$). For propionic and butyric acid, there was no difference ($P>0.05$) among treatments. Despite the little effect on rumen fermentation, the supplementations of selenium, copper and selenium/copper provided better feed efficiency.

Keywords: minerals, nutrition, ruminants, sources, volatile fatty acids

Recebido em 18 de maio de 2011

Aceito em 6 de setembro de 2012

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: saranetto@yahoo.com

INTRODUÇÃO

O cobre tem baixa absorção, geralmente 5-10% do cobre na dieta são absorvidos por animais adultos, enquanto que jovens podem absorver de 15-30%. Em ruminantes, segundo McDowell (1992), cerca de 1-3% do cobre são absorvidos. A absorção do cobre se dá em todos os segmentos do trato gastrointestinal. O intestino delgado tem a maior absorção, entretanto o estômago de humanos e o intestino grosso de ovinos apresentam absorção considerável (O'Dell e Sunde, 1997). Segundo Underwood e Suttle (1999), ocorrem excreções via bile, urina e pequenas quantidades na respiração, além de secreções nas fezes.

Estudos com animais e humanos relatados por McDowell (1992), Underwood e Suttle (1999) e NRC (National..., 2005) têm revelado que o cobre está envolvido em grande número de reações enzimáticas. Ele é componente essencial de importantes metaloenzimas, como a citocromo oxidase, superóxido dismutase, hidrolase e tirosinase.

O requerimento de Cu para bovinos de corte é de 10mg/kg de matéria seca (MS), e a concentração máxima, para evitar problemas de toxidez, é de 40mg/kg de MS (National..., 2005). Esse mineral é essencial no crescimento, mecanismos de defesa, transporte de ferro, metabolismo do colesterol e glicose e desenvolvimento cerebral, entre outras funções. Além disso, é necessário para o bom funcionamento do sistema imune, respiração celular, formação óssea, função cardíaca normal, desenvolvimento do tecido conjuntivo, mielinização da medula espinhal, queratinização e pigmentação de tecidos.

O selênio é um semi-metal que pode existir em vários estados de oxidação, o que lhe permite formar uma série de compostos. Segundo McDowell (1992), o papel do selênio na nutrição animal foi descoberto quando se observou que a suplementação evitava necrose hepática em ratos. Após essa constatação, também foi relatada a prevenção de distrofia muscular quando bovinos e ovinos foram suplementados com selênio.

A absorção de selênio em ruminantes se dá principalmente no duodeno, enquanto que em

suínos ocorre no íleo ceco e cólon. A absorção em ruminantes é inferior a não-ruminantes, pois o selenito pode ser reduzido a compostos insolúveis no rúmen (McDowell, 1992). O requerimento de Se para bovinos de corte é de 0,1mg/kg de MS, e a concentração máxima estimada, para evitar problemas de toxidez, é de 2mg/kg de MS (National..., 1996), sendo que recentemente o NRC (National..., 2005) aumentou esse nível para 5mg/kg.

A interação entre esses elementos tem sido reportada em experimentos conduzidos com ruminantes. Ovinos adultos receberam grandes concentrações de sulfato de cobre por um longo período e tiveram aumento de selênio no fígado, além de maior atividade da enzima glutatona peroxidase. Entretanto, de 0 a 10mg/kg de suplementação de cobre não foram encontradas diferenças na excreção e na retenção de Se. A suplementação de Se para carneiros com deficiência de cobre resulta em significativo aumento da concentração de cobre no fígado (McChowell e Gawthorne, 1985).

Em um experimento desenvolvido com novilhos Angus, suplementados com cobre em 10 ou 20mg/kg, Engle e Spears (2000) não encontraram alteração no pH do líquido ruminal quando comparados com o grupo controle, sem suplementação adicional de cobre. Entretanto, Engle *et al.* (2000a) afirmaram que a redução de desempenho de animais em seu estudo deveu-se a uma diminuição de fermentação ruminal em função da suplementação de níveis fisiológicos de cobre.

Ward e Spears (1997) e Engle e Spears (2000) reportaram que a suplementação de cobre aumentou a eficiência alimentar de bovinos durante o período de terminação, em relação aos bovinos do tratamento controle não suplementados com cobre. Entretanto, o efeito do cobre sobre o desempenho de bovinos apresenta resultados conflitantes na literatura.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de selênio, cobre e selênio/cobre em novilhos confinados recebendo alta proporção de concentrado, em relação ao desempenho e parâmetros na fermentação ruminal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas dependências da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, no Campus de Pirassununga-SP, por um período de 131 dias, entre os meses de dezembro de 2004 a abril de 2005. Foram usados 28 bovinos Brangus machos inteiros, com peso inicial 395 ± 15 kg. Foram utilizadas 28 baias, as quais eram compostas por cocho e bebedouro automático.

Inicialmente os animais foram adaptados à dieta e ao confinamento experimental por um período de 30 dias. Após o período de adaptação ocorreu o experimento propriamente dito, que teve duração de 101 dias.

Os animais receberam dieta contendo alta proporção de concentrado (75%), sendo a fonte de volumoso a silagem de milho. Para o cálculo das exigências nutricionais, foi utilizado o Cornell Net Carbohydrate and Protein System-CNCPS. A Tab. 1 apresenta a composição percentual da dieta basal usada no experimento e a Tab. 2 mostra a composição bromatológica da mesma.

As pesagens dos animais foram feitas em intervalos de 28 dias, após jejum completo de 18 horas. Os 28 bovinos foram divididos em 4 grupos, totalizando 7 animais por tratamento: tratamento 1- dieta basal sem a suplementação adicional de cobre e selênio; tratamento 2- dieta basal com adição de 2mg de selênio/kg de matéria seca, na forma de selenito de sódio; tratamento 3- dieta basal com adição de 40mg de cobre/kg de matéria seca, na forma de sulfato de cobre; tratamento 4- dieta basal com adição de 40mg/kg de cobre, na forma de sulfato de cobre, e 2mg/kg de selênio, na forma de selenito de sódio.

Foram colhidas amostras de 500mL de líquido ruminal para análises de ácidos graxos voláteis e pH, no último dia do período experimental, utilizando sonda esofágica direcionável especial de três metros. As determinações de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo e fibra em detergente ácido das rações obedeceram às recomendações da AOAC (Association..., 1996). As determinações

quantitativas e qualitativas dos ácidos graxos voláteis foram realizadas pelo laboratório de bromatologia da FMVZ/USP segundo o método de Erwin *et al.* (1961).

Tabela 1. Composição percentual e bromatológica da dieta basal, em base seca

Ingredientes	%
Silagem de milho	25,000
Milho grão	64,200
Soja extrusada	7,875
Ureia	0,967
Bicarbonato de sódio	0,300
Sal Branco	0,285
Calcário	0,600
Rumensin	0,022
Sal mineral*	0,750
Composição Bromatológica	
Proteína Bruta	12,90 %
Extrato etéreo	4,21 %
FDN	18,34 %
FDA	16,05 %
Cobre	5,80mg/kg
Selênio	0,06mg/kg

*Ca = 115g/kg; P = 65g/kg; S = 30g/kg; Mg = 11g/kg; Na = 188g/kg; Co = 80mg/kg; I = 83mg/kg; Mn = 1400mg/kg; Zn = 400mg/kg.

A ingestão de matéria seca foi mensurada diariamente, pela diferença entre a quantidade oferecida e as sobras com base na matéria seca. A eficiência alimentar foi calculada através da relação entre o ganho de peso diário e o consumo de matéria seca por dia.

O delineamento estatístico foi do tipo inteiramente casualizado, com 7 repetições por tratamento. Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (Statistical..., 2004), através de contrastes ortogonais pelo PROC GLM. Os dados de pH e ácidos graxos voláteis foram analisados utilizando teste Tukey, sendo adotado um nível de 5% de significância para todos os dados analisados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores referentes ao ganho de peso diário, ingestão de matéria seca e eficiência alimentar durante o confinamento experimental estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 2. Ganho de peso diário (GPD) de bovinos em confinamento e desvios padrões, em kg/dia, de bovinos recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre

Período experimental	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
0-28	0,99±	1,48±	1,19±	1,05±	0,04	0,39	0,77	0,24	0,07	0,56
	0,57	0,33	0,30	0,44						
28-56	1,28±	1,36±	1,27±	1,31±	0,61	0,94	0,87	0,57	0,73	0,82
	0,42	0,26	0,17	0,26						
56-84	0,71±	0,96±	1,14±	1,08±	0,17	0,03	0,05	0,36	0,53	0,74
	0,17	0,32	0,46	0,26						
84-101	0,95±	1,71±	1,23±	1,35±	0,01	0,28	0,10	0,06	0,15	0,62
	0,72	0,09	0,31	0,52						
Total	0,98±	1,35±	1,21±	1,18±	0,01	0,06	0,09	0,26	0,17	0,84
	0,24	0,14	0,17	0,24						

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio); Se = Suplementação de 2mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio; Cu = Suplementação de 40mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre; Se/Cu = Suplementação de 2mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu

B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05).

Tabela 3. Ingestão de matéria seca e desvios padrões, em kg/dia, de bovinos em confinamento, recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre

Período experimental	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
0-28	10,57±	11,04±	11,07±	10,82±	0,50	0,41	0,71	0,96	0,75	0,73
	1,69	1,22	0,74	1,17						
28-56	10,01±	10,63±	10,70±	10,22±	0,40	0,43	0,78	0,93	0,61	0,56
	1,53	1,48	1,04	1,63						
56-84	9,82±	10,68±	10,79±	10,49±	0,21	0,29	0,19	0,88	0,81	0,69
	1,40	1,41	0,86	1,74						
84-101	10,22±	11,52±	11,13±	11,07±	0,11	0,28	0,29	0,64	0,57	0,93
	1,59	1,43	0,89	1,82						
Total	10,16±	10,89±	10,99±	10,65±	0,23	0,31	0,48	0,88	0,62	0,73
	1,32	0,73	1,31	1,56						

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio); Se = Suplementação de 2mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio; Cu = Suplementação de 40mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre; Se/Cu = Suplementação de 2mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu

B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05).

O tratamento com 2mg/kg de selênio, suplementado na forma de selenito de sódio, apresentou maior ganho de peso diário (P<0,05) do que o tratamento controle. Não houve efeito significativo (P>0,05) para ingestão de matéria seca entre os tratamentos estudados. Para a

eficiência alimentar, os tratamentos selênio, cobre e selênio/cobre foram superiores (P<0,05) ao controle. O tratamento selênio ainda apresentou maior eficiência alimentar que o tratamento selênio/cobre (P<0,05).

Efeito da suplementação de cobre...

Tabela 4. Eficiência alimentar (ganho de peso/ingestão de matéria seca) e desvios padrões de bovinos em confinamento, recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre

Período experimental	Tratamentos				Contrastes ortogonais					
	C	Se	Cu	Se/Cu	A	B	C	D	E	F
0-28	0,09± 0,04	0,13± 0,02	0,10± 0,03	0,09± 0,03	0,03	0,36	0,80	0,22	0,05	0,50
28-56	0,12± 0,03	0,12± 0,01	0,11± 0,01	0,13± 0,02	0,81	0,54	0,69	0,40	0,87	0,32
56-84	0,07± 0,02	0,08± 0,02	0,10± 0,04	0,09± 0,02	0,38	0,06	0,13	0,28	0,52	0,63
84-101	0,08± 0,06	0,15± 0,01	0,11± 0,03	0,12± 0,04	0,01	0,30	0,08	0,12	0,34	0,50
Total	0,09± 0,01	0,12± 0,01	0,11± 0,01	0,10± 0,01	<0,01	0,03	0,05	0,10	0,05	0,78

C = Dieta controle (sem suplementação de cobre e selênio); Se = Suplementação de 2mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio; Cu = Suplementação de 40mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre; Se/Cu = Suplementação de 2mg de selênio/kg de matéria seca na forma de selenito de sódio e 40mg de cobre/kg de matéria seca na forma de sulfato de cobre.

A=C X Se C=C X Se/Cu E=Se X Se/Cu

B=C X Cu D=Se X Cu F=Cu X Se/Cu

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si (P<0,05).

A explicação para o maior desempenho, encontrado para os animais suplementados com selênio, cobre e selênio/cobre, pode ser atribuída à ingestão desses minerais abaixo do preconizado pelo NRC (National..., 2000) no tratamento controle. A dieta basal usada no tratamento controle apresentava cerca de 60% do valor preconizado pelo NRC, tanto no caso do selênio quanto no do cobre. Não foi observado nenhum sinal clínico de deficiência, seja de cobre ou selênio, mas talvez essa ingestão abaixo dos níveis recomendados, pelo período de 101 dias, possa ter acarretado um desempenho inferiorizado dos animais não suplementados.

Lawler *et al.* (2004) suplementaram selênio com diferentes fontes para novilhos, com doses acima das preconizadas pelo NRC e não encontraram alteração no ganho de peso ou eficiência alimentar. Entretanto, o tratamento controle desse estudo se apresentava dentro das recomendações de selênio preconizadas pelo NRC (National..., 2000).

Para a suplementação de 40mg de cobre/kg de MS, alguns experimentos encontraram queda de desempenho, resultado esse não observado no presente estudo. Engle *et al.* (2000a), em experimento desenvolvido com bovinos da raça Angus e Angus-Hereford em crescimento e terminação, com suplementação de 20 e 40mg de

Cu/kg de MS, não encontraram, durante a fase de crescimento, alteração no desempenho pela suplementação de cobre; entretanto, na fase de terminação, a suplementação com cobre reduziu o ganho em 19%, o consumo em 6,3% e a eficiência alimentar em 14%.

Engle e Spears (2000) e Engle *et al.* (2000b) em experimentos semelhantes ao anterior, não encontraram alteração no desempenho dos animais com a suplementação com cobre. A diferença entre os experimentos está na duração da suplementação desse mineral. Engle *et al.* (2000a) adicionaram cobre à dieta na fase de crescimento e também na de terminação; Engle e Spears (2000) e Engle *et al.* (2000b) suplementaram cobre apenas na fase de terminação. O presente estudo utilizou-se da suplementação de cobre nos níveis estudados apenas durante o período de terminação dos animais (101 dias), o que explica o fato de não encontrarmos queda no desempenho. Alguns fatores podem contribuir para a discrepância de resultados na literatura em relação ao efeito do cobre no desempenho de bovinos, tais como: a duração da suplementação de cobre, o “status” inicial de cobre dos animais, presença ou não de antagonistas como o enxofre e o molibdênio, diferenças raciais, entre outras.

A Fig. 1 apresenta o pH do rúmen de bovinos recebendo tratamento controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre. A Tab. 5

apresenta as proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico no rúmen dos bovinos nos diferentes tratamentos propostos.

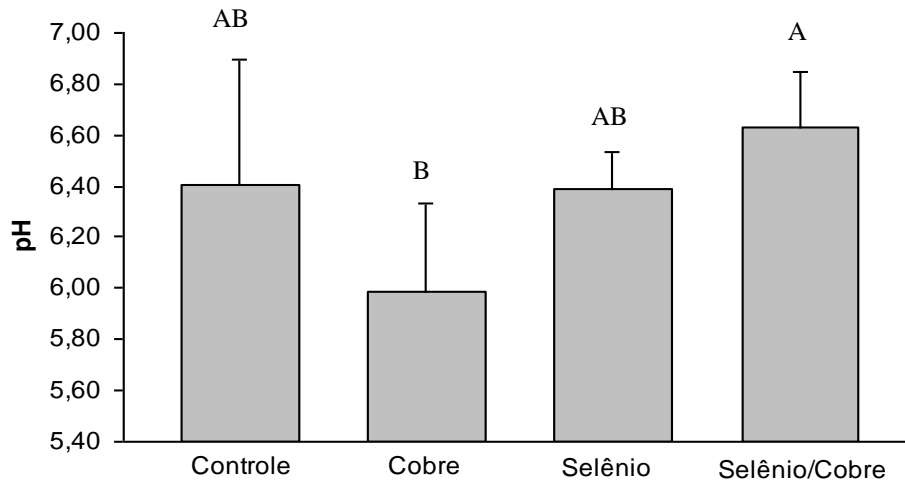


Figura 1. pH do rúmen e desvios padrões de bovinos recebendo dieta controle (sem suplementação de Cu e Se), Cu (40mg/kg de MS), Se (2mg/kg de MS) ou Se (2mg/kg de MS)/Cu (40mg/kg de MS) durante confinamento experimental.

Tabela 5. Proporções molares e desvios padrões dos ácidos acético, propiônico e butírico no rúmen de bovinos em confinamento, recebendo dieta controle, suplementados com selênio, cobre ou selênio/cobre

Ácidos Graxos Voláteis	Tratamentos				Média
	C	Cu	Se	Se/Cu	
Acético (% molar)	68±2b	69±1ab	70±0,5ab	72±2a	69,75
Propiônico (% molar)	22±8	21±5	19±3	18±3	20
Butírico (% molar)	10±4	10±4	11±2	10±2	10,25

* Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$)

Através da Fig. 1, pode-se observar que o tratamento cobre apresentou menor pH ruminal, quando comparado com o tratamento selênio/cobre; no entanto, o pH ruminal variou no presente estudo de 5,42 a 6,75, sendo considerado normal (Berchielli *et al.*, 2006).

O pH do líquido ruminal reflete o balanço entre as taxas de produção e absorção ruminal dos ácidos graxos voláteis, o tamponamento por meio da saliva e a presença de tampões ou bases dos alimentos (Van Soest, 1994). No presente estudo, quando comparado com o grupo controle, não houve diferença no pH ruminal para nenhum tratamento.

Com relação aos ácidos graxos voláteis no rúmen, pode-se observar que o tratamento selênio/cobre apresentou maior proporção de ácido acético, quando comparado com o controle ($P < 0,05$). Para o ácido propiônico e ácido

butírico, não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Dessa forma, podemos afirmar que foi encontrado pouco efeito com a suplementação de cobre, selênio ou selênio/cobre sobre a fermentação ruminal, e o efeitos encontrados não promovem alterações significativas para justificativas plausíveis, uma vez que permanecem dentro dos limites considerados normais para bovinos em confinamento.

Engle e Spears (2000), em experimento desenvolvido com novilhos Angus suplementados em níveis fisiológicos de cobre, assim como o presente estudo, não encontraram alteração na fermentação ruminal.

Dessa forma, possivelmente a suplementação de cobre ou selênio nos níveis estudados não é suficiente para uma alteração no crescimento de bactérias ruminais e, conseqüentemente, na

fermentação ruminal de bovinos Brangus alimentados com uma dieta de 75% de concentrado. Isso pode ser evidenciado pela pouca alteração na proporção de ácidos graxos voláteis e também por não haver queda de desempenho nos animais suplementados com cobre, selênio ou selênio/cobre.

CONCLUSÕES

As suplementações em dietas com 75% de concentrado de bovinos confinados com cobre (40mg/kg de MS), selênio (2mg/kg de MS) ou selênio (2mg/kg de MS)/cobre (40mg/kg de MS) produziram pouco efeito na fermentação ruminal, principalmente em relação aos ácidos graxos – propiônico e butírico; entretanto, proporcionaram uma melhor eficiência alimentar sem alterar a ingestão de matéria seca. A suplementação com selênio (2mg/kg de MS) aumentou significativamente o ganho de peso quando comparado ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 16th ed. Arlington: AOAC, 1996. 1298 p.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, v.1, 2006. 583 p.
- ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W. Dietary copper effects on lipid metabolism, performance and ruminal fermentation in finishing steers. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.2352-2458, 2000.
- ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W.; ARMSTRONG, T.A. *et al.* Effects of dietary copper source and concentration on carcass characteristics and lipid and cholesterol metabolism in growing and finishing steers. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.1053-1059, 2000a
- ENGLE, T.E.; SPEARS, J.W.; XI, L. *et al.* Effects of dietary soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.2713-2721, 2000b.
- ERWIN, W.S.; MARCO, G.J., MERY, E.M. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, v.44, p.1768-1771, 1961.
- LAWLER, T.L.; TAYLOR, J.B.; FINELY, J.W. *et al.* Effect of supranutritional and organically bound selenium on performance carcass characteristics, and selenium distribution in finishing beef steers. *J. Anim. Sci.*, v.82, p.1488-1493, 2004.
- McCHOWELL, J.; GAWTHORNE, J.M. *Cooper in Animals and Man*. CRC Press: Boca Raton, Florida, v.1, p.101-119, 1985.
- McDOWELL, L.R. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. New York: Academic Press, 1992. 524p.
- NATIONAL research council-NRC. *Nutrients requirements of beef cattle*. 7th ed. Washington: National Academy of Sciences, 1996. 242p.
- NATIONAL research council-NRC. *Nutrient requirements of beef cattle*. 8th ed. Washington: National Academy Press, 2000. 234p.
- NATIONAL research council-NRC. *Mineral tolerance of animals*. 2th ed. Washington: National Academy Press, 2005.
- O'DELL, B.L.; SUNDE, R.A. *Handbook of nutritionally essential mineral elements*. New York: Marcel Dekker, 1997. 692p.
- STATISTICAL Analysis Sistem. SAS INSTITUTE INC. SAS Stat User's guide. Version 9.1 edition. Cary, NC: SAS Institute, 2004.
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. *The mineral nutrition of livestock*. 3th ed. New York: Cabi, 1999. 624p.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the Ruminant*. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.
- WARD, J.D.; SPEARS, J.W. Long-term effects of consumption of low-copper diets with or without supplemental molybdenum on copper status, performance, and carcass characteristics of cattle. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.3057-3065, 1997.