

INTERAÇÃO COBRE, MOLIBDÊNIO E ENXOFRE EM RUMINANTES

COPPER, MOLYBDENUM AND SULPHUR INTERACTION IN RUMINANT NUTRITION

Eduardo Fabián Aragón Vásquez¹ Alexandra del Pilar Naranjo Herrera² Genario Sobreira Santiago³

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

O cobre (Cu) é um componente essencial a várias funções no metabolismo animal. A deficiência de Cu em ruminantes é endêmica em várias regiões ao redor do mundo, especialmente quando as pastagens são altas em molibdênio. O Cu, Mo e enxofre podem se combinar no rúmen para formar complexos triplos não absorvíveis denominados cupro-tiomolibdatos (Cu-TMs). O efeito fisiológico importante dos Cu-TMs está na restrição da disponibilidade de Cu para a síntese de ceruloplasmina. Os ruminantes, especialmente ovinos, são muito mais susceptíveis ao desequilíbrio Cu:Mo que animais não ruminantes pela relação entre as bactérias ruminais com a geração de sulfeto. Os efeitos de um determinado nível de Cu dietéticos são altamente influenciados pelo índice deste cobre com o molibdênio e enxofre dietéticos.

Palavras-chave: cobre, molibdênio, enxofre, tiomolibdatos.

SUMMARY

Copper is an essential component of several functions in animal metabolism. Ruminant Cu deficiency is endemic in regions throughout the world, specially when the pasture are rich in molybdenum. Cu, Mo and sulphur could combine in the rumen to form an unabsorbable triple complex nominated copper thiomolybdate (Cu-TMs). The important physiological effects of Cu-TMs is to restrict the availability of Cu for ceruloplasmin synthesis. Ruminant animals, especially sheep, are much more susceptible to Cu:Mo imbalance than are nonruminant animals because of the sulfide generating bacteria in the rumen. The effects of a particular level of dietary Cu are

also greatly influenced by the ratio of this copper to dietary Mo and sulphate.

Key words: copper, molybdenum, sulphur, thiomolybdates.

INTRODUÇÃO

O papel e importância do cobre (Cu) no metabolismo animal são bem conhecidos. A deficiência e toxicidade do Cu em ruminantes ocorrem freqüentemente em muitas partes do mundo. A mais importante deficiência de origem mineral depois do fósforo, talvez seja a de Cu (MILTIMORE & MASON, 1971). O desenvolvimento da deficiência de Cu depende tanto da concentração de Cu na dieta como das concentrações dos antagonistas que interferem com a absorção e a subsequente utilização para os processos metabólicos (GOONERATNE *et al.*, 1989).

A deficiência "simples" causada pela ingestão de quantidades pequenas de Cu dietético é freqüentemente responsável pelo desenvolvimento de desordens clínicas como: anormalidades na pigmentação e queratinização da lã e pêlo, anemia, anormalidades esqueléticas e ataxia enzoótica (GOONERATNE *et al.*, 1989). Embora seja comum

¹Médico Veterinário e Zootecnista, Mestre em Zootecnia, Doutorando em Ciência Animal. EV/Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Escola de Veterinária da UFMG, Departamento de Zootecnia. Av. Antônio Carlos 6627, CP 567, 30161-970 Belo Horizonte, MG. E-mail: eduardoaragon@yahoo.com. Autor para correspondência.

²Médico Veterinário e Zootecnista, Mestre em Zootecnia EV/UFMG.

³Médico Veterinário, Professor Adjunto de Bioquímica Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Mestre em Zootecnia, Doutorando em Ciência Animal EV/UFMG.

observar-se deficiência de Cu em ruminantes a pasto com concentrações, aparentemente adequadas de Cu (DICK *et al.*, 1975); esta deficiência “induzida” ou “condicionada” é causada pela presença de antagonistas que reduzem a disponibilidade de Cu. Molibdênio (Mo) e enxofre (S) têm sido identificados como os antagonistas do Cu de maior importância (HUMPHRIES *et al.*, 1983). McDOWELL *et al.* (1988) categorizaram as deficiências de cobre em três grupos: alimentos com níveis altos de Mo, baixo teor de Cu porém quantidades significativas de Mo (< 2:1), e conteúdo normal de Cu e baixo de Mo, com altos níveis de proteína solúvel. A última situação é o resultado do elevado consumo de proteína solúvel encontrada nos pastos novos, que aumenta o conteúdo de sulfato no rúmen, resultando na formação de sulfato de cobre que não é utilizável. Este artigo tem como objetivo estudar a interação Cu - Mo - S e a formação de tiomolibdatos em ruminantes.

COBRE - MOLIBDÊNIO – ENXOFRE

O conteúdo de cobre nas dietas para ruminantes geralmente varia entre 4 a 10mg/kg de MS, sendo bem conhecido o risco de toxicidade por Cu nesta classe de animais (GOONERATNE *et al.*, 1989). A excreção urinária de Cu tem sido considerada como de menor importância comparada a biliar, podendo constituir 25% do total das perdas e sendo maior em animais jovens que em velhos. A adição de Mo e S a dietas com nível adequado de Cu, aumenta a excreção urinária desse último (SUTTLE, 1991).

A concentração de molibdênio no pasto, freqüentemente, encontra-se entre 0,5 a 5mg/kg de MS (GOONERATNE *et al.*, 1989), variando mais que o Cu. Ao contrário do Cu, a concentração de Mo incrementa quando o pH do solo aumenta (GALBRAITH *et al.*, 1997). LADEFOGED & STÜRUP (1995) manifestam que ao adicionar-se Mo em excesso à silagem para vacas observam-se alterações na pele e diarreia justamente quando as concentrações séricas de Cu e ceruloplasmina permanecerem altas.

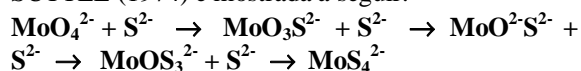
O conteúdo de S no pasto depende grandemente de sua concentração nas proteínas e dificilmente excede 3g/kg de MS. A metionina e cisteína geralmente contêm mais de 90% do enxofre orgânico da forragem (GOONERATNE *et al.*, 1989). Dos três componentes da interação, o S apresenta maior variação por causa das vias metabólicas alternativas do rúmen. A saída de S do rúmen é principalmente por absorção como sulfeto (S²⁻), porém também por excreção na forma de enxofre protéico

ou proteína microbiana. Só o enxofre protéico degradado e o S inorgânico proveniente da dieta ou saliva são disponíveis para interagir com Mo e Cu no rúmen. Dietas ricas em enxofre, porém pobres em Mo incrementam a concentração ruminal de sulfeto e diminuem a disponibilidade de Cu em ovelhas (SUTTLE, 1991). A suplementação com sulfato pode contribuir para aumentar a excreção urinária de Cu (<1mg Cu/dia) (MASON *et al.*, 1982).

TOKARNIA *et al.* (1999) apresentaram uma revisão dos estudos realizados no Brasil durante o período de 1987 a 1998, mostrando que grandes partes dos solos brasileiras produziram forrageiras com baixos níveis de Cu. Já para Mo, existiu grande variação, embora haja pouca investigação deste mineral, se conhece que na sub-região Nhecolândia (parte central) do Pantanal mato-grossense existem níveis normais a baixos tanto no solo como nos hepatócitos de bovinos da região (POTT *et al.*, 1989), porém nas regiões Centro-Oeste e Norte, demonstrou-se que nas pastagens existem teores elevados de molibdênio, e principalmente de enxofre (MORAES *et al.*, 1994). Pesquisas realizadas na ilha de Marajó (Pará), com bovinos e búfalos, CARDOSO *et al.* (1997) mostraram que a concentração média de Cu e Mo nas forragens foi menor que os valores críticos e tóxicos respectivamente. A relação Cu:Mo (1,2:1) também foi menor que o mínimo recomendado (2:1), indicando valores críticos para cobre.

OS TIOMOLIBDATOS

Os efeitos adversos de aumentar o Mo e S dietéticos sobre a utilização de Cu pelos ruminantes têm sido atribuídos à formação de tiomolibdatos (TMs ou MoS₄²⁻) no ambiente ruminal rico em sulfeto (DICK *et al.*, 1975; SUTTLE, 1974). Os efeitos sistêmicos dos TMs envolvem principalmente a inibição do metabolismo do Cu (MILTIMORE & MASON, 1971). As descobertas mostram que os tetratiomolibdatos (TM₄) parecem ser dominantes no rúmen com aportes moderadamente altos de Mo e S. Segundo SUTTLE (1991), as porcentagens com que participam os TMs são: 41% como tetratiomolibdato (TM₄ ou MoS₄²⁻), 34% como tritiomolibdato (TM₃ ou MoS₃²⁻), e monotiomolibdato (TM₁ ou MoO₃S²⁻) e ditiomolibdato (TM₂ ou MoO₂S²⁻) em menores quantidades. A reação para a formação de mono, di, tri e tetratiomolibdato sugerida por SUTTLE (1974) é mostrada a seguir:



Os TMs ligam-se com o Cu, no rúmen, para formar cupro-tiomolibdatos (Cu-TMs) que são

insolúveis e indisponíveis para a absorção (MASON, 1990). Os TMs ligam-se aos sólidos do rúmen e, quando a concentração de TMs é alta, também com a fase líquida do rúmen. Os excessos de TMs, quando absorvidos, passam ao sangue e produzem distúrbios sistêmicos no metabolismo do Cu; estas características fazem com que a concentração plasmática de cobre aumente. Muito deste Cu está ligado a proteínas, sendo insolúvel em ácido tricloroacético (ATC) e aparentemente não disponível para a entrada nos tecidos (PRICE *et al.*, 1987). A formação de Cu-TMs provoca diminuição na concentração tissular de Cu, eleva o Cu plasmático, e surgem os sinais de deficiência de Cu (MASON *et al.*, 1982). Os Cu-TMs associam-se às proteínas de alto peso molecular, principalmente albumina e formam um complexo insolúvel e, assim, reduz-se a absorção cúprica (SUTTLE, 1991). Este complexo com a albumina é tão forte que é precipitado sobre acidificação, o que explica, a princípio, o descobrimento da fração insolúvel ATC no plasma de carneiros expostos a Mo e S (GALBRAITH *et al.*, 1997). O complexo Cu-TM-albumina apresenta um tempo de vida média maior que Cu-albumina em vacas. O efeito fisiológico importante da formação do complexo Cu-TM-albumina na corrente sanguínea relaciona-se à restrição da disponibilidade de Cu para síntese de ceruloplasmina (cobre mono amino oxidase, Cu-MAO), fração alfa-2 globulina do sangue, em que cerca de 95% do Cu sérico encontra-se ligado (GOONERATNE *et al.*, 1989). A ceruloplasmina contém três oligossacarídeos ligados por asparagina e oito sítios que ligam o Cu^+ ou Cu^{2+} . Trata-se de uma proteína (enzima) que funciona como Ferroxidase, convertendo o Fe^{2+} em Fe^{3+} . Ajuda também na manutenção da homeostase do Cu^{2+} e serve no transporte de Cu^{2+} (SMITH *et al.*, 1988). LANGLANDS *et al.* (1981) sugerem que os TMs alteram profundamente o equilíbrio entre Cu livre e cuproproteínas, inclusive comprometendo a atividade enzimática. MASON (1990) tem sugerido que o complexo Cu:TM:albumina formado pode ser hidrolizado e seus componentes eliminados pela urina. Os TMs podem diminuir as reservas corporais de Cu por interferência com a circulação entero-hepática via secreção biliar de Cu (HUMPHRIES *et al.*, 1986).

LANGLANDS *et al.* (1981) têm sugerido que o incremento inicial no plasma de Cu insolúvel em TCA, após a administração parenteral de TMs, representa o Cu mobilizado do fígado, uma vez que as reservas do fígado diminuem progressivamente. Estudos demonstram que o TM_4 intravenoso afasta o Cu tanto dos lisossomas como do citosol dos hepatócitos; esses efeitos provavelmente explicam o

incremento na secreção biliar de Cu, observado em ovelhas tratadas com TM_4 . O alto conteúdo de carboidratos fermentáveis dos alimentos digeríveis pode diminuir o pH e aumentar a disponibilidade de Cu por incremento da absorção de S^{2-} e decomposição química dos TMs; isto pode explicar porque o Mo (2,5 - 5,0mg/kg MS) não acelera o índice de depleção do Cu hepático em ovelhas alimentadas com uma dieta de grãos.

Sabe-se que os ovinos são sensíveis à intoxicação por Cu e que a administração de tetratio-molibdato de amônia ($\text{TM}_4\text{-NH}_3$) reduz a severidade desta condição (HUMPHRIES *et al.*, 1986). SUTTLE (1991) reportou que bezerras que receberam quantidades excessivas de Cu, no sucedâneo do leite (10mg de Cu/kg de MS), desenvolveram sintomas de cupro toxicidades similares àqueles observados em ovinos, porém, após a aplicação de $\text{TM}_4\text{-NH}_3$, os sintomas desapareceram. O maior problema do uso de $\text{TM}_4\text{-NH}_3$ está na retenção sistemática de Mo devido ao fato de não todo o $\text{TM}_4\text{-NH}_3$ ser excretado (MASON *et al.*, 1988). Ele é retido em alguns órgãos, principalmente cérebro e pituitária, que se constituem nos órgãos alvo (HAYWOOD, *et al.*, 1998). O Glicinato de cobre produz maior aumento da atividade sérica da ceruloplasmina e ganho de peso, podendo ser considerado de utilidade no tratamento de estados de hipocuprose produzidos pelo excesso de Mo e SO_4 (QUIROGA, *et al.*, 1998a; QUIROGA, *et al.*, 1998b).

Bovinos suplementados com Mo e S tiveram níveis baixos de cobre comparados com os animais não suplementados (CERONE, *et al.*, 1998). Nesta pesquisa, também se observou que o número e porcentagem de neutrófilos não foram alterados, porém a concentração intracelular de Cu nos neutrófilos, diminuiu no grupo suplementado com molibdênio e enxofre. Os caprinos podem apresentar características mais similares aos ovinos que aos bovinos, referente à resposta adversa para elevadas quantidades de Cu dietético, contudo informações sobre a interação Cu-Mo-S são limitadas nesta espécie (GALBRAITH *et al.*, 1997).

Estudos de permeabilidade placentária demonstraram que o Mo atravessa a placenta, porém parece altamente improvável que forme complexos TMs-proteína ou se acumulem causando efeitos prejudiciais ao metabolismo placentário. As barreiras fisiológicas podem, proteger parcialmente o feto e órgãos como cérebro e medula espinhal, dos efeitos prejudiciais dos TMs circulantes (SUTTLE, 1991).

Injeções repetidas de TM_4 em carneiros reduziram as ondulações e resistência da lã, efeitos similares aos observados na deficiência de Cu, sendo

que as concentrações de Cu no fígado e sangue encontraram-se normais. Uma possível explicação é que se produz acumulação de TMs na pele e diminuição local de Cu, afetando o desenvolvimento de pêlos e da lã (GOONERATNE *et al.*, 1989). O tecido conjuntivo pode ser outro local vulnerável, dadas as mudanças no periósteo e tecido cartilaginoso de cordeiros expostos ao Mo (MASON, 1990).

Durante vários anos, a suplementação de cobre estava limitada a formas inorgânicas do elemento, mas hoje as formas quelatadas têm começado a ser mais utilizadas pela maior biodisponibilidade destas fontes (HEMKEN, *et al.*, 1995). WARD *et al.* (1993), reportaram que na presença de níveis altos de Mo, o proteinado de Cu manteve mais estável a concentração plasmática de Cu em bovinos e teve maior biodisponibilidade do elemento, quando compararam com o grupo suplementado com sulfato de cobre (CuSO₄). É relatado que durante 73 dias de estudo com ovelhas não existiu toxicidade do cobre (30mg/kg) quando usado na forma de CuSO₄ ou proteinado (Eckert, *et al.*, 1999). No mesmo estudo, os autores também concluíram que os animais suplementados com proteinado tiveram maior atividade ceruloplasmina e menor nível de Cu no fígado quando comparado com as ovelhas suplementadas com CuSO₄.

INTERAÇÃO CU-MO-S

MILTIMORE & MASON (1971) argumentaram que mais importante que a ingestão absoluta de Cu e/ou Mo seria a concentração relativa desses elementos nas pastagens. Por exemplo, no Reino Unido, a "peat scours" era comum nos animais mantidos em pastagens com concentrações subnormais de Cu e conteúdo maior do que o normal de Mo. No mesmo país, a "teart syndrome" ocorria em pastagens cujo conteúdo de Cu mostrava-se aparentemente normal, mas a concentração de Mo era bem maior que a encontrada nas pastagens mencionadas anteriormente. Baseados nisso, EL-GALLAD *et al.* (1983) sugeriram que uma relação Cu:Mo, na dieta menor que 2, pode provocar deficiência de Cu em bovinos, ressaltando que é mais importante a relação Cu:Mo que os níveis dietéticos dos elementos. Concentrações de Mo entre cinco e 6ppm podem causar intoxicação em vacas se a relação Cu:Mo for menor que 2:1 e se níveis altos de sulfato estão presentes na dieta; porém concentrações de Mo menores que 1ppm podem provocar efeitos tóxicos, se a entrada de Cu é lenta e a entrada de enxofre é alta (WITTENBERG & BOILA, 1988). Há outra teoria sobre a possibilidade do Mo ser mais importante nessa interação que o Cu, mostrando efeitos tóxicos no metabolismo que o Cu pode anu-

lar (HUMPHRIES *et al.*, 1983; LADEFOGED & STÛRUP, 1995), sendo, portanto um problema de excesso de Mo antes que deficiência de Cu, em outras palavras molibdenosis e não hipocuprosis.

Sabe-se que, na deficiência de Cu, diminui a atividade da superóxido dismutase (XIN *et al.*, 1991), que é uma cupro-enzima que catalisa a diminuição de O₂⁻ para H₂O₂, que é o grupo oxidante que participa nas reações de defesa dos neutrófilos (BABIOR, *et al.*, 1973). A menor formação de H₂O₂ em relação a O₂⁻ pode causar peroxidação dos lípidos da membrana celular alterando sua estrutura (WOLFF, *et al.*, 1986). No caso da alteração dos componentes da membrana dos leucócitos, inicia-se o processo de síntese de prostaglandinas e leucotrienos (CLARK *et al.*, 1995) danificando a estrutura do receptor, prejudicando a função fagocitária dos macrófagos (LOEGERING, *et al.*, 1996), como consequência, os animais estarão expostos a infecções severas, por queda da função das células fagocitárias, comprometendo o sistema imune de defesa não específica (WARD, *et al.* 1997). O efeito da deficiência de Cu por baixa ingestão ou por influência do nível alto de Mo produz resultados inconsistentes na função imune, já que outras pesquisas, indicaram que esta deficiência não poderia alterar a resposta imune em bovinos (BREM, *et al.*, 1999; FAILLA & HOPKINS, 1998; WARD, *et al.*, 1997).

FATORES QUE INFLUENCIAM A INTERAÇÃO CU-MO-S

Alguns agentes que competem com o molibdênio pelo sulfato no rúmen influenciam, provavelmente, o curso da interação Cu - Mo - S. O ferro é potencialmente o exemplo mais importante para animais em pastagem, porque grandes quantidades de Fe são ingeridas através dos solos e provavelmente uma fração se ligue ao sulfato. A inibição do metabolismo do Cu por suplementos de Fe em ovelhas tem sido atribuída particularmente à captura de S₂²⁻ como FeS no rúmen, seguida pela liberação de S₂ no meio ácido do abomaso para formar CuS (HUMPHRIES *et al.*, 1983; SUTTLE *et al.*, 1984). Outros metais que formam sulfatos ácidos lábeis podem ter efeitos similares àqueles exibidos pelo Fe (exemplo o Mn), mas aqueles que formam sulfatos não solúveis em ácidos (chumbo e cádmio) podem ser protegidos por restrição na formação tanto de TMs como CuS (SUTTLE *et al.*, 1984).

Parece que a forma do Mo (molibdato de sódio, molibdato de amônia ou trióxido de molibdênio) não influencia na biodisponibilidade deste elemento, já que as concentrações de Mo no músculo e soro em ovelhas foram similares usando estas três

fontes de molibdênio (POTT *et al.*, 1999b). Nesta pesquisa, também foi observado que o aumento do Mo da dieta incrementou a concentração de Cu nos rins, o nível serico total de Cu e Cu insolúvel em ATC e excreção diária de cobre pelas fezes. Aparentemente, a biodisponibilidade do Mo estaria dependendo mais da concentração do elemento na dieta que do tempo de consumo, visto que POTT *et al.* (1999a) não observaram diferença quando os animais foram expostos a 14 ou 28 dias de ingestão de Mo, mas quando comparados quatro níveis de Mo na dieta (0, 15, 30 e 45ppm) mostraram que a excreção urinária e fecal de Mo aumentou em forma linear.

CONCLUSÕES

A interação Cu-Mo-S pode ser desenvolvida no trato digestivo ou ocorre durante a metabolização, devido à redução de sulfato para sulfeto no rúmen; logo este sulfeto reage com Mo para formar TMs; e posteriormente a formação de Cu-TMs (CuMoS₄) que são altamente insolúveis e não utilizáveis. Então a interação manifesta-se com maior intensidade em ruminantes devido à relação do enxofre com o metabolismo rumenal.

O Molibdênio, especialmente quando o enxofre está presente, diminui o depósito de cobre nos órgãos e a síntese de ceruloplasmina, decorrendo a queda na excreção de Cu pela bÍlis e o aumento na excreção urinária. O incremento do Cu dietético reduz os depósitos de Mo no fígado. Quando o nível de S aumenta, a excreção urinária de Mo eleva-se substancialmente, enquanto o depósito nos tecidos diminui proporcionalmente. A mobilização do Cu hepático, produzido pela presença de Mo, é utilizado como fundamento no tratamento de cuprosis. Os efeitos da interação dependem da relação Cu:Mo, sendo secundárias as concentrações excessivas de Cu ou Mo na dieta isoladamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BABIOR, B.M., KIPNES, R.S., CURNUTTE, J.T. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potencial bacterial agent. **Journal Clinical Investigation**, v.52, p.741-744, 1973.
- BREM, J.J., PERIOLO, O. H., ROUX, J.P. Linfocitos "T" y respuesta humoral antiaftosa em bovinos com diferente disponibilidad de cobre y molibdemo. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.80, p.14-18, 1999.
- CARDOSO, E.C., McDOWELL, L.R., VALE, W.G., *et al.* Copper and molybdenum status of cattle and buffaloes in Marajo island, Brazil. **International Journal Animal Science**, v.12, p.57-60, 1997.
- CERONE, S., SANSINANE, A., STREITENBERGER, S., *et al.* Bovine neutrophil functionality in molybdenum-induced copper deficiency. **Nutrition Research**, v.18, p.557-566, 1998.
- CLARK, C.K., ANSOTEGUI, R.P., PATERSON, J.A. Mineral nutrition of the beef cow to impact immunologic response. **The Bovine Practitioner**, v.29, p.30-37, 1995.
- DICK, A.T., DEWEY, D.W., GAWTHORNE, J.M., Thiomolybdates and the copper – molybdenum – sulphur interaction in ruminant nutrition. **Journal Agricultural Science**, v.85, p.567 –568, 1975.
- ECKERT, G.E., GREENE, L.W., CARSTENS, G.E., *et al.* Copper status of ewes fed increasing amounts of copper from copper sulfate or copper proteinate. **Journal Animal Science**, v.77, p.244-249, 1999.
- EI-GALLAD, T.T., MILLS, C.F., BREMNER, I., *et al.* Thiomolybdates in rumen contents and rumen cultures. **Journal Inorganic Biology**, v.18, p.323 –334, 1983.
- FAILLA, M.L., HOPKINS, R.G. Is low copper status immunosuppressive?. **Nutrition Reviews**, v.56, p.S59-S64, 1998.
- GALBRAITH H., CHIGWADA, W., SCAIFE, J. R., *et al.* The effect of dietary molybdenum supplementation on tissue copper concentrations, mohair fibre and carcass characteristics of growing Angora goats. **Animal Feed Science Technology**, v.67, p.83 – 90, 1997.
- GOONERATNE, S.R., BUCKLEY, W.T., CHRISTENSEN, D.A. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. **Canadian Journal Animal Science**, v.69, p.819-845, 1989.
- HAYWOOD, S., DINCER, Z., HOLDING, J., *et al.* Metal (molybdenum, copper) accumulation and retention in brain, pituitary and other organs of ammonium tetrathiomolybdate-treated sheep. **British Journal Nutrition**, v.79, p.329-331, 1998.
- HEMKEN, R.W., CLARK, T.W., DU, Z. Copper: Its role in animal nutrition. In: Biotechnology in the feed industry: Proceedings of Alltech's 11th Annual Symposium, Lyons P, Jaques K (eds). Nottingham University Press, Nottingham p.35-39, 1995.
- HUMPHRIES, W.R., PHILLIPPO, M., YOUNG, B.W., *et al.* The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. **British Journal Nutrition**, v.49, p.77–86, 1983.
- HUMPHRIES, W.R., MILLS, C.F., GREIG, A., *et al.* Use of ammonium tetrathiomolybdate in the treatment of copper poisoning in sheep. **Veterinary Record**, v.119, p.596 – 598, 1986.
- LADEFOGED, O. STÜRUP, S. Copper deficiency in cattle, sheep and horses caused by excess molybdenum from fly ash: A case report. **Veterinary and Human Toxicology**, v.37, p.63–65, 1995.
- LANGLANDS, J.P., BOWLES, J.E. DONALD, G.E., *et al.* Copper status of sheep grazing pastures fertilized with sulfur and molybdenum. **Australian Journal Agriculture Research**, v.32, p.479–486, 1981.
- LOERING, D.J., RALEY, M.J., REHO, T.A., *et al.*, Macrophage dysfunction following the phagocytosis of IgG-coated erythrocytes: production of lipid peroxidation products. **Journal Leukocyte Biology**, v.59, p.357-362, 1996.

- MASON, J. The biochemical pathogenesis of molybdenum-induced copper deficiency syndromes in ruminants: Towards the final chapter. **Irish Veterinary Journal**, v.43, p.18 – 21, 1990.
- MASON, J., KELLEHER, C. A., LETTERS J. The demonstration of protein-bound ⁹⁹Mo-di- and trithiomolybdate in sheep plasma after the infusion of ⁹⁹ Mo-labelled molybdate into the rumen. **British Journal Nutrition**, v.48, p.391 – 397, 1982.
- MASON, J., LAMAND, M., TRESSOL, J.C., *et al.* Studies on the changes in systemic copper metabolism and excretion produced by the intravenous administration of trithiomolybdate in sheep. **British Journal Nutrition**, v.59, p.289-300. 1988.
- McDOWELL, L.R., CONRAD, J.H., ELLIS, G.L., *et al.* Nutrición mineral para rumiantes bajo pastoreo en los trópicos. **Asociación latinoamericana de Producción Animal (ALPA)**, v.23, p.25-39, 1988.
- MILTIMORE, J.E., MASON, J.L. Cooper to molybdenum ratio and molybdenum and copper concentration in ruminant feeds. **Canadian Journal Animal Science**, v.51, p.193 – 200, 1971.
- MORAES, S.S., SILVA, G.N., DOBEREINER, J. Microelementos minerais e a “cara inchada” dos bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.14, p.25-33, 1994.
- POTT, E.B., ALMEIDA, I.L., BRUM, P.A.R., *et al.* Nutrição mineral de bovinos de corte no Pantanal Mato-grossense. 2. Micronutrientes na Nhecolândia (parte central). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.24, p.109-126, 1989.
- POTT, E.B., HENRY, P.R., RAO, P.V., *et al.* Estimated relative bioavailability of supplemental inorganic molybdenum sources and their effect on tissue molybdenum and copper concentrations in lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.107-117, 1999a.
- POTT, E.B., HENRY, P.R., ZANETTI, M.A., *et al.* Effects of high dietary molybdenum concentration and duration of feeding time on molybdenum and copper metabolism in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.93-105, 1999b.
- PRICE, J., WILL, A.M., PASCHALERIS, G., *et al.* Identification of thiomolybdates in digesta and plasma from sheep after administration of Mo-labelled compounds into the rumen. **British Journal Nutrition**, v.58, p.127 – 138, 1987.
- QUIROGA, M.A., IGARZA, L.M., LANDA, R.D. *et al.* Evaluación farmacotécnica, toxicológica y terapéutica del Glicinato de Cobre en bovinos con Molibdenosis. 1o Parte. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.79, p.311-316, 1998a.
- QUIROGA, M.A., IGARZA, L.M., LANDA, R.D. *et al.* Evaluación farmacotécnica, toxicológica y terapéutica del Glicinato de Cobre en bovinos con Molibdenosis. 2o Parte. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.79, p.357-364, 1998b.
- SMITH, E.L., HIL, R.L., LEHMAN, I.R., *et al.* **Bioquímica dos mamíferos**. Rio de Janeiro: 7ªed. Guanabara Koogan. 1988. 620p.
- SUTTLE, N.F. Recent studies of the copper-molybdenum antagonist. **Proceeding Nutrition Society**, v.33, p.299–305, 1974.
- SUTTLE, N.F. The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. **Annual Veterinary Nutrition**, v.11, p.121–140, 1991.
- SUTTLE, N.F., ABRAHAMS, P., HORNTON, I. The role of a soil x dietary sulphur interaction in the impairment of copper absorption by ingested soil in sheep. **Journal Agriculture Science (Cambridge)**, v.103, p.81–86, 1984.
- TOKARNIA, C.H., DÓBEREINER, J., MORAES, S.S., *et al.* Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos-revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987-1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, p.47-62, 1999.
- WARD, J.D., GENGBACH, G.P., SPEARS, J.W. The effects of copper deficiency with or without high dietary iron or molybdenum on immune function of cattle. **Journal Animal Science**, v.75, p.1400-1408. 1997.
- WARD, J.D., SPEARS, J.W., KEGLEY, E.B. Effect of copper level and source (copper lysine vs copper sulfate) on copper status, performance, and immune response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum and sulfur. **Journal Animal Science**, v.71, p.2748-2754, 1993.
- WITTENBERG, K.M., BOILA, R.J. Supplementary copper for growing cattle consuming diets high in molybdenum or molybdenum plus sulfur. **Canadian Journal Animal Science**, v.68, p.1143–1154, 1988.
- WOLFF, S.P., GARNER, A., DEAN, R.T. Free radicals, lipids and protein degradation. **Trends Biochemical Science**, v.11, p.27-31, 1986.
- XIN, Z., WATERMAN, D.F., HEMKEN, R.W. *et al.* Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase, and copper distribution in steers. **Journal Dairy Science**, v.74, p.3078-3085, 1991.