

COBRE E SELÊNIO: NUTRIENTES ESSENCIAIS PARA BOVINOS A PASTO

John D. Arthington

Range Cattle Research and Education Center

University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences

INTRODUÇÃO¹

Bovinos precisam de cinco nutrientes básicos: 1) água, 2) energia (carboidratos), 3) proteína 4) vitaminas e 5) minerais. A água, é claro, nunca deve faltar e todos os produtores conhecem a importância desse nutriente essencial. Carências de energia e proteína são comuns em bovinos e várias estratégias de suplementação foram desenvolvidas para atender a essa questão. Essas carências costumam ser reconhecidas através do declínio no peso e na condição corporal do animal, ao contrário das carências de vitaminas e minerais que não são tão visíveis, principalmente quando a deficiência é subclínica. Grande parte das perdas em eficiência de produção se deve à carência de vitaminas e minerais que não evoluiu para a apresentação clínica do quadro. No futuro próximo, o aprimoramento na nutrição de vitaminas e minerais provavelmente será a chave para a ciência da nutrição visando aumentar a produtividade do gado nas regiões tropicais e subtropicais. As informações contidas neste texto enfocam a nutrição de micro minerais para bovinos a pasto, especificamente cobre e selênio.

A suplementação mineral de bovinos de corte pode ser dividida em duas grandes categorias: macro e microminerais. Essas categorias são baseadas na quantidade necessária de minerais na dieta dos animais. Grosso modo, microminerais são aqueles necessários em quantidades inferiores a 1 grama por dia e macrominerais são necessários em quantidades superiores a 1 grama por dia. Vários micro minerais são essenciais para funções fisiológicas básicas de bovinos de corte. A Tabela 1 ilustra os minerais considerados essenciais para bovinos a pasto.

A Tabela 2 mostra um resumo dos requerimentos minerais de bovinos de corte. A qualidade nutricional das espécies de forragens tropicais pode muitas vezes ser deficiente em termos de conteúdo de micro minerais. Como as forragens são a principal fonte de micro minerais na nutrição de bovinos criados a pasto, é importante considerar esses déficits e o impacto que eles podem ter sobre o desempenho dos animais. As Tabelas 2 e 3 ilustram as concentrações minerais médias normalmente encontradas em forrageiras tropicais e subtropicais. Existe uma revisão sobre as deficiências de micro minerais mais comuns em forragens tropicais e subtropicais (McDowell and Arthington, 2005). Essa revisão descreve tanto os sinais clínicos quanto subclínicos das carências minerais bem como os métodos de suplementação e avaliação do status de micro minerais.

Tabela 1. Requerimentos Minerais de Bovinos de Corte¹.

Macrominerais, % ³	Gestação	Lactação	Microminerais, ppm ³	
Potássio (K)	0,60	0,70	Cobre (Cu)	10,00
Magnésio (Mg)	0,12	0,20	Ferro (Fe)	50,00
Sódio (Na)	0,06 – 0,08	0,10	Manganês (Mn)	40,00
Enxofre (S)	0,15	0,15	Zinco (Zn)	30,00
Fósforo (P)	16 – 33 g / dia ²		Cobalto (Co)	0,10
Cálcio (Ca)	13 – 24 g / dia ²		Iodo (I)	0,50
			Selênio (Se)	0,10

¹Dados de Requerimentos Nutricionais de Bovinos de Corte, National Research Council, 1996.

²Os requerimentos dietéticos variam conforme o estágio de produção, sendo que eles são maiores nos 3 primeiros meses após o parto.

³Requerimentos macrominerais listados como % da dieta total com base na matéria seca. Microminerais listados em ppm ou mg/kg de dieta com base na matéria seca.

Tabela 2. Concentração Mineral Média na Grama Batatais (Bahagrass)^a

Macrominerais	Concentração, %	Microminerais	Concentração, ppm
Cálcio	0,43	Cobre	6,4
Fósforo	0,27	Zinco	51,4
Potássio	0,74	Manganês	54,8
Magnésio	0,33	Ferro	77,4

^aAmostras colhidas mensalmente de 9 condados no sul da Flórida, de março a dezembro. As pastagens foram fertilizadas em março (67,5 kg nitrogênio/ha).

Tabela 3. Minerais (nas forragens) abaixo das concentrações críticas necessárias para ruminantes^a.

Mineral	Nível crítico	República Dominicana ^a	Bolívia ^a	Colômbia ^a	Nicarágua ^a	Venezuela ^a
Amostras	n =	69	84	36	304	198
----- % de amostras abaixo dos requerimentos -----						
Ca	0,30%	24	57	100	80	97
P	0,25%	83	100	92	67	98
K	0,60–0,80%	0	1	15	20	84
Na	0,06%	78	100	100	80	84
Mg	0,20%	33	64	56	96	94
Fe	30 ppm	0	0	0	13	0
Zn	30 ppm	86	81	74	89	96
Cu	10 ppm	64	100	100	100	99
Mn	30-40 ppm	10	0	0	41	5
Co	0,10 ppm	26	48	31	96	40
Se	0,10 ppm	48	47	74	18	96

^aMcDowell and Arthington, 2005

COBRE

A falta de cobre é uma das deficiências de minerais mais comuns em bovinos a pasto. O cobre é um importante co-fator em aproximadamente 30 sistemas enzimáticos. As concentrações de cobre no sangue aumentam em períodos de estresse, sugerindo que animais estressados podem ter requerimentos mais altos. Esse mineral deveria ser suplementado sob a forma de sulfato de cobre. O óxido de cobre é pouco absorvido e não deveria ser usado em suplemento para bovinos. Dentre os sinais da carência de cobre incluem-se (1) imunossupressão (falha na resposta à vacinação), (2) pelagem grosseira e opaca e (3) anemia. A influência

do cobre sobre a função imune já foi bastante estudada, mas produziu resultados variáveis. O cobre é um elemento essencial em pelo menos duas enzimas importantes para imunocompetência, a cobre/zinco-superóxido dismutase e a ceruloplasmina (Prohaska, 1990). É provável que o cobre exerça seu efeito sobre a imunidade através da atenuação de um ou de ambos complexos enzimáticos.

Diversos grupos estudaram o efeito do cobre na função de neutrófilos. Embora os resultados tenham sido variados, alguns estudos sugerem que um baixo status de cobre leva a uma redução na capacidade fagocitária dos neutrófilos (Boyne and Arthur, 1981; Xin et al., 1991). No entanto, nossas pesquisas não corroboram a existência de um elo entre o status de cobre e a capacidade fagocitária ou quimiotática dos neutrófilos (Arthington et al., 1995; Arthington et al., 1996a). O status de cobre parece resultar em aumento na contagem de neutrófilos no sangue (neutrofilia) de bovinos (Arthington et al., 1996a, Arthington et al., 1996b) e camundongos (Karimbakas et al., 1998). Esse fenômeno contrasta com as observações em humanos, onde a carência de cobre leva a uma marcada neutropenia (Percival, 1995). Embora o número de neutrófilos seja elevado em bovinos, não existem ainda dados sugerindo alteração na imunocompetência como resultado desse efeito.

Pesquisas avaliando o efeito do cobre sobre respostas imunes específicas em bovinos também apresentam resultados variáveis e costumam indicar a presença de pouco ou nenhum efeito do cobre na dieta sobre a função linfocitária (Stable et al., 1993; Arthington et al., 1995; Ward et al., 1997; Ward and Spears, 1999). Em alguns casos, as respostas de proliferação linfocitária à estimulação mitogênica parece aumentar em resposta à deficiência de cobre (Torre et al., 1994; Arthington et al., 1996b). É impossível sugerir que essa resposta possa assegurar uma melhora na imunocompetência sem medir a resistência a doenças. Pode ser que simplesmente essa resposta reflita um sistema imune superativado, drenando energia do crescimento e reprodução para alimentar as células imunes e seus produtos.

O cobre é transportado através da circulação periférica sob a forma de um complexo com sua proteína de transporte, a ceruloplasmina. Em episódios de carência de cobre, as concentrações de ceruloplasmina no sangue diminuem (Ward and Spears, 1999; Arthington 1996b). A ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda bastante sensível, e suas concentrações no sangue aumentam com estímulos de estresse. Bezerros com deficiência de cobre não são capazes de construir uma resposta normal de proteínas de fase aguda após um desafio inflamatório. Por outro lado, o fibrinogênio, outra proteína de fase aguda na resposta normal aumenta substancialmente após um desafio inflamatório em bezerros com carência de cobre. (Arthington et al., 1996b). Uma reação de fase aguda normal dura apenas de 24 a 48 horas. Existem mecanismos importantes de *feedback* negativo, incluindo a ação anti-inflamatória dos glicocorticóides sobre a ativação das células inflamatórias tais como macrófagos e neutrófilos. Essas células inflamatórias são as produtoras primárias das citocinas pró-inflamatórias responsáveis pela estimulação da produção de proteínas de fase aguda. Qualquer alteração no *feedback* negativo desse mecanismo de controle ou nos produtos da estimulação continuada podem resultar em processo inflamatório crônico (Baumann and Gauldie, 1994). A inflamação crônica, resultante de alterações na resposta inflamatória em animais de produção, tem implicações diretas sobre crescimento e desempenho. Esses efeitos têm grande probabilidade de resultarem em ações altamente pleiotrópicas das citocinas pró-inflamatórias (Johnson, 1997; Klasing and Korver, 1997). Provavelmente a patogênese da deficiência de cobre em bovinos se manifesta através de alterações na resposta pró-inflamatória. A neutrofilia marcada e as alterações na resposta de proteínas de fase aguda em animais estressados e com deficiência de cobre corroboram essa suposição.

SELÊNIO

O potencial da carência de selênio é reconhecido em todo o mundo. Diferentemente da maioria dos demais micro minerais essenciais, a suplementação de selênio oferece uma faixa muito mais estreita entre a carência e a toxicidade. Na verdade, em algumas regiões do mundo o problema é a toxicidade pelo excesso de selênio nas pastagens. O selênio é essencial para a manutenção da integridade tecidual. Um dos sinais

de deficiência mais conhecidos é a degeneração tecidual, caracterizando uma condição conhecida como “doença do músculo branco”. A suplementação de selênio costuma ser feita através da inclusão de selenito de sódio nos suplementos. Nos Estados Unidos, uma regulamentação federal limita a inclusão de selênio nas dietas até no máximo de 3 mg/dia. Mesmo assim, se o consumo de minerais é adequado, a carência de selênio raramente é um problema quando esse elemento é fornecido sob a forma de selenito de sódio. Dentre os sinais da carência de selênio incluem-se (1) degeneração muscular (doença dos músculos brancos), (2) falhas reprodutivas e (3) imunossupressão. Um resumo das concentrações de selênio nas forragens de regiões tropicais e subtropicais é apresentado na Tabela 4.

Os papéis antioxidantes da vitamina E e do selênio através da metaloenzima glutathione peroxidase compartilham atividades biológicas comuns. A falta de um causa um impacto sobre a funcionalidade do outro. Desse modo, pesquisadores que estudam a vitamina E e o selênio sempre levam em consideração as concentrações dietéticas de cada nutriente e até que ponto elas podem interferir nos resultados do estudo. Os resultados de estudos sobre um desses nutrientes que não levam o outro diretamente em consideração devem ser questionados.

Tabela 4. Concentrações (ppm) de selênio nas forragens de regiões tropicais e subtropicais selecionadas.

Localidade ^a	Estação	# Amostra	Média	< 0,10 ppm, %
Argentina	Águas	57	0,07	81
Bolívia	Seca	8	0,11	33
	Águas	16	0,14	22
Bolívia	Seca	17	0,07	88
	Seca	42	0,10	47
Colômbia	Seca	34	0,11	74
	Águas	35	0,12	38
Colômbia	Seca	64	0,09	69
	Águas	67	0,11	43
Costa Rica	Ambas	409	0,12	63
Rep. Dominicana	Seca	33	0,14	48
Flórida	Seca	10	0,05	90
	Águas	19	0,07	84
Guatemala	Seca	84	0,14	63
	Águas	84	0,40	49
Guatemala	Ambas	81	0,07	77
Guatemala	Ambas	72	0,16	29
Nicarágua	Seca	112	0,21	27
	Águas	192	0,25	14
Venezuela	Seca	98	0,09	71
	Águas	100	0,08	76
Média Seca ^b	7 localidades	410	0,11	61
Média Águas ^b	7 localidades	513	0,17	47

^aVide publicação original para referências individuais para cada localidade (Arthington and McDowell, 2005).

^bMédia derivada de localidades que forneceram amostras tanto da estação das águas quanto da seca.

Weiss et al. (1990) apresentaram um levantamento feito com rebanhos de granjas leiteiras comerciais. Seus resultados indicam que o gado com altas concentrações séricas de selênio e alfa-tocoferol tinha incidência menor de mastite clínica; e à medida que as médias das concentrações plasmáticas de selênio no rebanho aumentavam, a contagem de células somáticas (CCS) no leite no tanque de expansão diminuía (Figura 1). Isso

pode ter ocorrido em parte devido a essa conexão bastante observada entre a nutrição com vitamina E e selênio e a função dos neutrófilos. Os neutrófilos, células fagocitárias não específicas, são importantes para controlar as infecções intramamárias. Os neutrófilos isolados do leite de vacas suplementadas com selênio apresentaram uma melhor capacidade fagocitária quando comparados a aqueles de vacas recebendo uma dieta carente de selênio (Grasso et al., 1990). De maneira semelhante, os neutrófilos no sangue de vacas suplementadas com vitamina E e selênio também tinham melhor capacidade fagocitária. (Figura 2; Hogan et al., 1990).

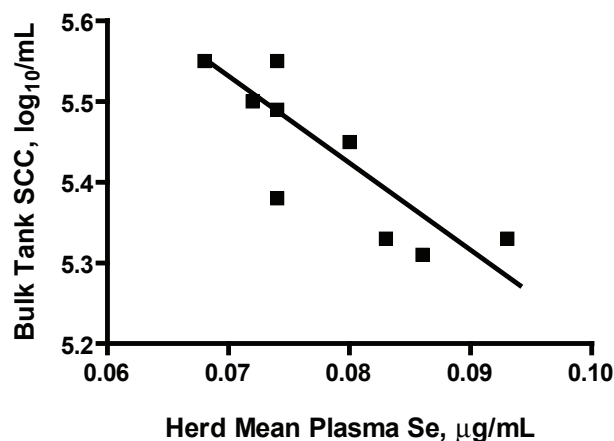


Figura 1. Relação entre o status de Se no rebanho e a contagem de células somáticas no leite (adaptado de Weiss et al. (1990).

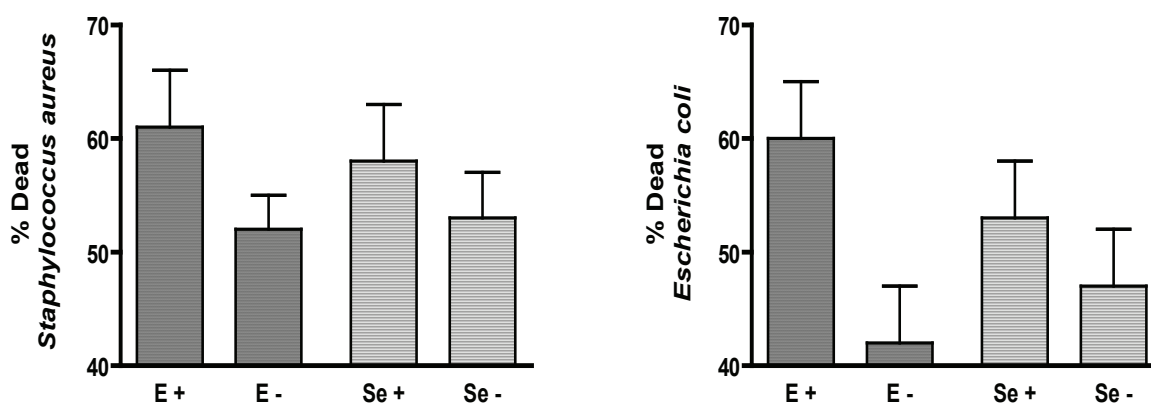


Figura 2. Porcentagem de morte intracelular por neutrófilos de bovinos. Médias representadas (\pm EP); E = vitamina E e selênio = vacas suplementadas com selênio. Não houve interações significativas entre vitamina E x selênio. A morte intracelular de *S. aureus* foi superior para vacas suplementadas com vitamina E ($P < 0,01$) e selênio ($P < 0,05$). A morte intracelular de *E. coli* foi superior para vacas suplementadas com vitamina E ($P < 0,01$), mas não com selênio ($P > 0,05$). Figura adaptada de Hogan et al. (1990). A maioria das pesquisas com vitamina E e selênio concorda quanto ao impacto que esses nutrientes exercem sobre a função dos neutrófilos. Embora a vitamina E e o selênio também possam contribuir com funções relacionadas à imunidade específica, há poucos exemplos publicados na literatura. A vitamina E, como alfa-tocoferol, não atravessa prontamente a placenta. Bezerros recém-nascidos costumam apresentar concentrações baixas de vitamina E e dependem do colostro e do leite como fonte desse nutriente. As concentrações maternas de alfa-tocoferol costumam diminuir logo antes e após o parto. Mostrou-se que injeções e suplementos com altos níveis de vitamina E antes do parto são capazes de manter as concentrações de alfa-tocoferol durante esse período crítico (Smith et al., 1997).

Mostrou-se que o selênio afeta vários aspectos da imunocompetência de bovinos. É claro que, como discutido anteriormente, a inter-relação da vitamina E com esses fatores individuais não é bem compreendida, mas ela deveria ser considerada. Um dos papéis mais reconhecidos do selênio em sistemas normais de produção de bovinos é sua relação aparentemente direta com a involução uterina pós-parto. Vários estudos mostraram que o gado com carência de selênio apresenta maior incidência de retenção de placenta quando comparado

com gado que recebe uma nutrição adequada de selênio. A retenção de placenta está intimamente relacionada com o sistema imune dos animais através das respostas inflamatórias resultantes associadas à expulsão ou a retenção das membranas placentárias. Alguns dos dados preliminares freqüentemente citados relatando essa associação são da Ohio State University. Em um estudo (Julien et al., 1976a), os autores relataram redução de 38% na retenção de placenta de vacas tratadas com selênio vs. controle. Em um segundo estudo de campo (Julien et al., 1976b), os autores observaram redução de 42% na incidência de retenção de placenta em vacas recebendo uma injeção de uma mistura de selênio e vitamina E antes do parto quando comparadas com vacas controle. Finalmente, a suplementação com selênio também parece ser eficiente para reduzir o tempo de recuperação de vacas com metrite. Harrison et al. (1986) relataram que o selênio pode ser importante para vacas com metrite. Em seu estudo, esses animais com metrite e que receberam suplementação com selênio precisaram de menos dias para a recuperação uterina do que as vacas não suplementadas.

CARÊNCIAS MINERAIS PRIMÁRIAS E SECUNDÁRIAS

As carências minerais podem ser agrupadas em duas grandes categorias dependendo das características de seu desenvolvimento, sendo 1) Carência primária e 2) Carência secundária.

1. As carências minerais primárias resultam do consumo de alimento que contém naturalmente uma quantidade baixa de um ou mais minerais. Essas carências normalmente levam um período longo de tempo para se desenvolverem; freqüentemente um ano ou mais. A falta de suplementação mineral é uma característica comum nas carências minerais primárias, já que elas são raras em sistemas de produção de bovinos de corte bem manejados.

As carências minerais secundárias são as mais comuns. Elas são derivadas do consumo de um ou mais minerais antagonistas que interferem com o metabolismo normal de outro mineral. Uma avaliação mineral simples do alimento dos animais pode sugerir que as concentrações de micro minerais estão adequadas; no entanto, a presença de um mineral antagonista diminui a disponibilidade do mineral e pode potencialmente levar à carência.

As interações entre vários minerais são numerosas (Figura 3). Com os conhecimentos disponíveis até hoje, é impossível fazer um delineamento claro entre cada antagonismo mineral-mineral. Além disso, animais ruminantes e não-ruminantes metabolizam micro minerais de maneira diferente, sugerindo que os potenciais antagonismos também podem variar. O estágio de produção do animal também influencia a metabolização dos minerais e as potenciais influências entre os antagonistas existentes.

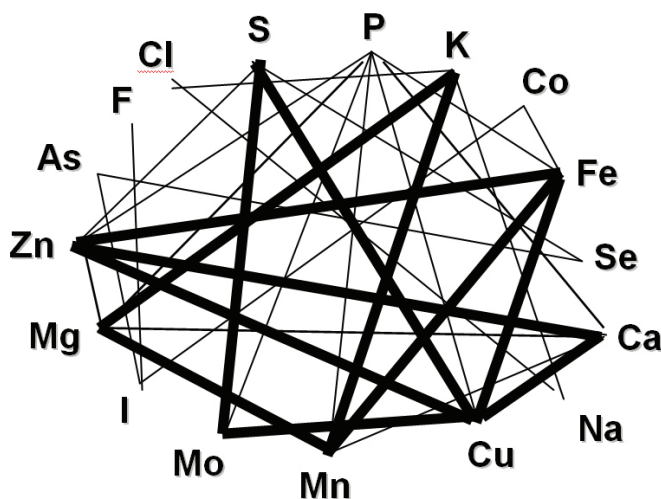


Figura 3. Antagonismos minerais potenciais na nutrição animal (Cortesia da Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN)

A deficiência de cobre está quase sempre relacionada com uma condição de carência secundária relacionada a um ou mais antagonistas desse elemento. Dentre os antagonistas de cobre mais reconhecidos incluem-se 1) ferro (Fe), 2) molibdênio (Mo) e 3) enxofre (S).

ANTAGONISMO COM FERRO, MOLIBDÊNIO E ENXOFRE

Antagonismo com Ferro. O ferro é o segundo metal traço mais freqüente na Terra. Ele é encontrado em quase todas as fontes de alimento para gado, inclusive na água. Uma quantidade considerável de ferro também pode ser ingerida através da terra consumida durante o pastejo ou presente em forragens conservadas sujas. Na verdade, com a exceção de animais jovens, a carência de ferro é bastante rara em bovinos saudáveis criados nas condições da pecuária moderna. Nesse caso, o papel mais importante do ferro se torna seu antagonismo com outros minerais traços, principalmente cobre e zinco. A concentração máxima tolerável para ferro nas rações de bovinos é 1000 ppm; no entanto, concentrações de 250 a 500 ppm já foram associadas à carência de cobre (Beef NRC, 1996). O papel do ferro como antagonista na nutrição do cobre não é bem compreendido. Uma explicação se refere à possível dissociação dos complexos sulfeto ferrosos no pH baixo do abomaso. Nesse cenário, o sulfeto pode reagir com o cobre formando complexos de sulfeto de cobre (Suttle et al., 1984). Reduções no desempenho do gado leiteiro na Nova Zelândia foram associadas à carência de cobre como resultado do consumo de forragens com alto teor de ferro (Campbell et al., 1974).

Antagonismo com Molibdênio. O molibdênio é um elemento traço essencial necessário para todos os animais; mesmo assim, há poucos relatos de carência de molibdênio. Ao contrário, o impacto do antagonismo do molibdênio sobre o metabolismo do cobre já é reconhecido há vários anos. Normalmente, o molibdênio exerce sua influência sobre o cobre através da associação com o enxofre formando tiomolibdatos no rúmen (discutido a seguir). No entanto, há fortes evidências de que a queda no desempenho dos animais pode estar relacionada com a intoxicação por molibdênio, independentemente da redução na disponibilidade de cobre. Novilhas recebendo suplementação de molibdênio (concentração dietética = 5 ppm) apresentaram sinais de carência de cobre, enquanto aquelas suplementadas com ferro e com o mesmo status de cobre, não apresentaram sinais de deficiência de cobre. Nesses estudos, os sinais de deficiência de cobre incluíram redução no crescimento e na eficiência alimentar (Phillippo et al., 1987a) e infertilidade (Phillippo et al., 1987b). Em outro estudo (Gengelbach et al., 1997), bezerros recebendo dietas com suplementação de molibdênio apresentaram menor ganho de peso do que bezerros suplementados com ferro. Ambos os grupos de bezerros apresentavam o mesmo nível de depleção de cobre comparados com os bezerros do grupo controle suplementado com cobre. Esses resultados sugerem que algumas condições, associadas com a carência de cobre, podem ser descritas mais precisamente como uma toxicidade do antagonista (como a intoxicação por molibdênio).

Antagonismo do Enxofre. O enxofre é encontrado naturalmente em quase todos os alimentos para animais. A forma do enxofre varia bastante, desde sais inorgânicos até aminoácidos sulfurados. Recentemente, mais evidências foram obtidas de fazendas de cria na Flórida, sugerindo que o enxofre pode ser um contribuinte primário para a carência secundária de cobre. A relação entre enxofre, molibdênio e cobre já foi bastante estudada em ruminantes a pasto. Embora o molibdênio seja um componente essencial nesse antagonismo, ele raramente afeta os estoques teciduais de cobre quando os níveis de enxofre são baixos. Desde que haja uma quantidade adequada de enxofre na dieta, o molibdênio se combina com o cobre e forma um complexo insolúvel no rúmen, fazendo com que o cobre não esteja disponível para absorção. Observamos que uma concentração dietética de enxofre de 0,35% (enxofre total) é suficiente para que esse antagonismo seja um problema. O NRC (1996) atual para gado de corte sugere um limite máximo tolerável para a concentração de enxofre na dieta de 0,40 %.

Enxofre no Fertilizante. O sulfato de amônio é uma fonte amplamente disponível de nitrogênio fertilizante. Nos últimos anos, produtores passaram a se preocupar com a carência de enxofre na grama batatais na Flórida. No passado, as impurezas nos fertilizantes forneciam uma suplementação de enxofre para as pastagens, mas com o aperfeiçoamento nos processos de produção, a contaminação com enxofre se tornou mais rara. Desse modo, o efeito da fertilização com enxofre sobre o rendimento e a qualidade da grama batatais e a influência de forragens adubadas com enxofre sobre o metabolismo mineral de bovinos se tornaram questões importantes e dignas de pesquisas.

Avaliou-se o efeito do sulfato de amônio versus nitrato de amônio nas taxas comuns de nitrogênio (67,5 kg/ha) ao longo de três estações de crescimento consecutivas de pastagens de grama batatais no sul da Flórida. Nesse estudo, a aplicação de enxofre aumentou o rendimento da forragem em um ano, mas produziu um aumento substancial na concentração de enxofre na planta a cada ano, com uma média de 0,50% ao longo dos três anos do estudo. Vacas criadas em pastos fertilizados com sulfato de amônio apresentaram concentrações mais baixas de cobre no fígado no final da estação de pastejo quando comparadas com vacas alojadas em pastos não fertilizados ou em pastos fertilizados com nitrato de amônio (Figura 4). Concentrações hepáticas de cobre superiores a 125 ppm são consideradas adequadas, de 75 a 125 ppm são marginais e inferiores a 75 ppm são deficientes. Uma coleção aleatória de 12 amostras de fígado no início do estudo revelou concentração inicial de cobre de 68,0 ppm, o que sugere que as vacas apresentavam uma carência de cobre. As vacas em cada pasto tiveram acesso de livre escolha a um suplemento de minerais traços com base de sal contendo 0,25% de cobre de sulfato de cobre. A explicação mais provável para as baixas concentrações hepáticas de cobre nas vacas alojadas em pastos fertilizados com sulfato de amônio é a alta concentração de enxofre nas forragens.

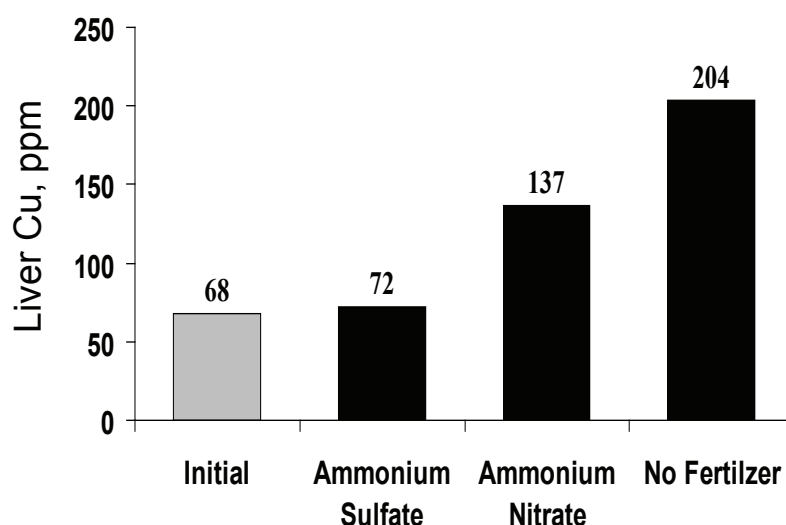


Figura 4. Efeito da fonte de fertilizante da pastagem sobre as concentrações hepáticas de cobre em bovinos a pasto.

Um estudo concomitante foi conduzido utilizando novilhas prenhes alojadas em pastagens fertilizadas com sulfato de amônio, na mesma fazenda na Flórida. As novilhas apresentavam inicialmente uma carência de cobre (54 ppm cobre hepático). Em 83 dias elas apresentaram um marcado aumento linear (1,91 ppm por dia) na concentração hepática de cobre quando foram removidas do pasto e passaram a receber uma dieta controlada contendo 123 mg cobre por dia. Esses dados sugerem que os animais foram capazes de responder rapidamente à suplementação com cobre assim que o antagonismo da dieta com enxofre foi removido.

Formação de Tiomolibdato (Enxofre e Molibdênio). O enxofre e o molibdênio interferem com o metabolismo do cobre através da formação ruminal de complexos denominados tiomolibdatos. Esses

complexos podem afetar a nutrição de cobre em ruminantes de duas maneiras: 1) ligação irreversível com o cobre no intestino, prevenindo assim sua absorção; 2) depleção sistêmica do cobre de sítios teciduais após a absorção (Mason, 1990). A formação de tiomolibdatos depende diretamente da disponibilidade de enxofre na dieta, e o consumo desse elemento é um fator essencial influenciando a sensibilidade dos ruminantes ao molibdênio (Mason, 1981). O enxofre da dieta precisa inicialmente ser reduzido a sulfeto antes de poder interagir com o molibdênio e formar tiomolibdatos (Mason, 1986). O enxofre também precisa diminuir a disponibilidade de cobre independentemente do molibdênio. Em uma série de experimentos conduzidos por Suttle (1974) a adição tanto de enxofre orgânico quanto inorgânico a dietas de ovinos com carência de cobre diminuiu a taxa e a extensão da repleção de cobre. Essas respostas foram atribuídas à formação de complexos insolúveis de sulfeto de cobre no intestino. Seus dados sugerem que o aumento no enxofre de 0,10 para 0,40% do total da dieta podem resultar em um aumento de 50% nos requerimentos totais de cobre.

Água com Níveis Elevados de Enxofre. O excesso de enxofre nas dietas está freqüentemente associado a uma doença neurológica do gado em confinamentos denominada polioencefalomalácia (Jeffrey et al., 1994; McAllister et al., 1997). Concentrações de enxofre superiores a 0,40% da MS da dieta podem ser tóxicas para bovinos (Kandylis, 1984; NRC, 1996). O enxofre total na dieta é uma combinação do conteúdo desse elemento nas forragens, nos suplementos, na água, nos minerais e no solo ingerido. Dependendo da localidade no mundo cada um desses fatores, além de vários outros, tem o potencial de contribuir com uma quantidade substancial de enxofre na dieta total. Um dos mais difíceis de controlar é água com excesso de enxofre. Diferentemente do fertilizante ou do suplemento, uma simples mudança no manejo não é suficiente para contornar o problema. O cheiro da água não é um bom indicador do conteúdo de enxofre. Muitas vezes as pessoas acreditam que a água com “cheiro de enxofre” tem uma concentração alta desse elemento. Na realidade, o cheiro que sentimos é sulfeto de hidrogênio que volatilizou da água. O nariz humano consegue detectar o cheiro do sulfeto de hidrogênio em concentrações de partes por bilhão. Em muitos casos, esses níveis podem ser demasiado baixos para contribuir significativamente com o total de enxofre na dieta. Devem ser feitas análises da água para verificar o total de enxofre, incluindo sulfatos, que são muito mais importantes para o total de enxofre na dieta.

Um estudo conduzido por Weeth and Hunter (1971) verificou que novilhas de corte consumindo água com 5.000 ppm de enxofre apresentaram redução no consumo de alimento e água associada a perda de peso. Nesses níveis elevados, a água contribui com cerca de 200 g diárias de enxofre na dieta total. Isso seria equivalente a consumir uma dieta contendo mais de 1,75% de enxofre, o que é extremamente alto. Também, o enxofre das fontes de água pode ser mais disponível para participar dos antagonismos quando comparado com o enxofre de outras fontes de alimento, sugerindo que a água altamente sulfurada pode afetar os animais através de vias relacionadas à nutrição mineral além da palatabilidade geral.

Delineamentos de Pesquisa Confusos. Pesquisas avaliando a influência da nutrição mineral sobre a saúde e desempenho dos animais foram muitas vezes realizadas utilizando-se arraçoamentos experimentais com um ou mais antagonistas para induzir a carência mineral. Esse método cria confusões no delineamento experimental causando dificuldades para o pesquisador na separação dos resultados entre a carência mineral e os potenciais efeitos diretos do antagonista. Um exemplo desse procedimento se refere a uma técnica comum usada em nosso e em outros laboratórios na qual molibdênio e enxofre são suplementados nas dietas de bovinos para induzir uma carência secundária de cobre ou de selênio. É difícil separar nos resultados desse delineamento entre complicações associadas com a carência induzida de cobre e selênio e o efeito direto do fornecimento de níveis elevados do antagonista.

ANTAGONISMOS DO ENXOFRE EM SUPLEMENTOS COM ALTO TEOR DE ENXOFRE

Em algumas regiões do mundo, é comum a utilização de suplementos à base de melaço. No passado, avaliamos a eficiência de absorção do cobre fornecido em suplementos à base de milho versus melaço. (Arthington and Pate, 2002). Nossos resultados indicaram que a concentração de enxofre no melaço de cana pode interferir com a absorção normal do cobre em bovinos. Nesses estudos, novilhas recebendo suplemento de cobre através de milho apresentaram aumento de 46% na concentração de cobre no fígado comparado a 9% de redução em novilhas recebendo suplemento de cobre com base em melaço (Figura 5). Em um experimento seguinte, um terceiro tratamento foi incluído, no qual se usou um suplemento de cobre baseado em milho fortificado com enxofre em níveis equivalentes aos do suplemento de melaço. Os aumentos nas concentrações hepáticas de cobre foram diferentes para cada tratamento (155, 87 e 13 ppm) de suplementos de milho, milho + enxofre e melaço, respectivamente (Figure 6).

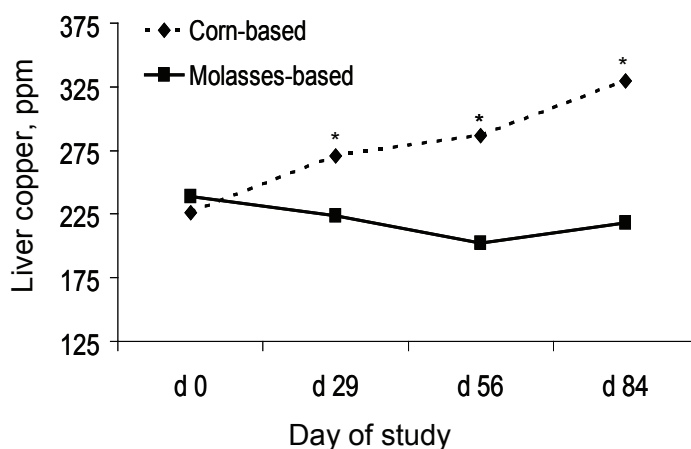


Figura 5. Efeito de suplementos à base de milho vs melaço sobre o acúmulo de cobre no fígado de novilhas em crescimento. Valores fornecidos com base na MS. EPM = 38,0. * = $P < 0,05$.

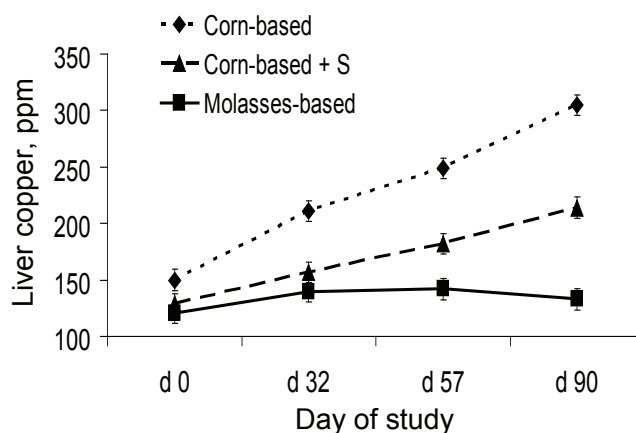


Figura 6. Efeito de suplementos à base de milho, milho + enxofre e melaço sobre o acúmulo de cobre no fígado de novilhas em crescimento. Valores fornecidos com base na MS. Contrastes com um grau de liberdade; suplementos à base de milho vs melaço ($P = 0,01$), e suplementos à base de milho vs melaço, e suplementos à base de milho + enxofre ($P < 0,01$).

SUPLEMENTAÇÃO DE NÍVEIS ELEVADOS DE COBRE

Desde os primeiros relatos de nossos resultados, uma questão sempre surgia: considerando que a disponibilidade de cobre aparentemente é reduzida quando bovinos recebem suplementos com alto teor de enxofre, será que é possível simplesmente aumentar a quantidade de cobre suplementada para superar o antagonismo e ainda assim fornecer cobre suficiente para a absorção?

O conceito de fornecer níveis relativamente altos de micro minerais, principalmente na presença de antagonistas, não é novo. É comum encontrarmos suplementos minerais que oferecem várias vezes os requerimentos de cobre dos animais. Considerando as características antimicrobianas do cobre, uma preocupação dessa suplementação excessiva é o potencial impacto que ela pode ter sobre o ambiente microbiano ruminal. Hubert et al. (1958) sugeriram que concentrações relativamente baixas de cobre seriam tóxicas para uma cultura de microorganismos ruminais. Por outro lado, um estudo conduzido por Lopez-Guisa and Satter (1992) sugeriu que a suplementação de cobre e de cobalto acima das recomendações do NRC poderia melhorar a digestão de forragens de baixa qualidade.

Para responder à questão sobre a suplementação de níveis elevados de cobre para bovinos consumindo uma dieta basal com níveis elevados de enxofre, conduzimos um estudo utilizando vinte e quatro novilhas cruza Brahman x British, de um ano e prenhes. Quatro tratamentos consistindo de um suplemento mineral completo fortificado com níveis diferentes de cobre foram aleatoriamente distribuídos em quatro baias. Os tratamentos forneciam 0, 15, 60 e 120 ppm de cobre suplementado sob a forma de sulfato de cobre. Os suplementos foram oferecidos 3 vezes por semana em um xarope à base de melaço/farelo de algodão formulado de maneira fornecer 1,5 kg de NDT e 0,3 kg de PB por novilha por dia. Todas as novilhas tiveram acesso de livre escolha a feno de capim estrela moído.

As novilhas recebendo suplemento com a taxa mais alta de cobre (120 mg/kg) tenderam ($P = 0,13$) a ter um menor ganho de peso comparadas com aquelas suplementadas com 15 mg/kg de cobre (0,17, 0,18, 0,20 e 0,05 kg/dia para novilhas recebendo 0, 15, 60 e 120 mg cobre/kg MS). Não houve interação significativa dia de amostragem x tratamento para a acumulação hepática de cobre (Figura 7), mas a concentração hepática média de cobre diminuiu ($P < 0,05$) ao longo do tempo para todos os tratamentos combinados; por esse motivo, os dados também foram analisados juntando os tratamentos que forneciam 60 e 120 mg/kg de cobre no suplemento em um único tratamento (Cobre Elevado). Nessa análise, novilhas suplementadas com 15 mg/kg de cobre apresentaram concentrações hepáticas desse elemento mais altas no final do estudo (dia 84) do que aquelas que não receberam suplementação de cobre (Figura 8). As novilhas que receberam suplemento com cobre elevado ficaram entre os demais tratamentos. Adicionalmente, o CMS das forragens foi mais baixo ($P = 0,07$) para animais que não receberam suplementação de cobre, quando comparados com os demais tratamentos.

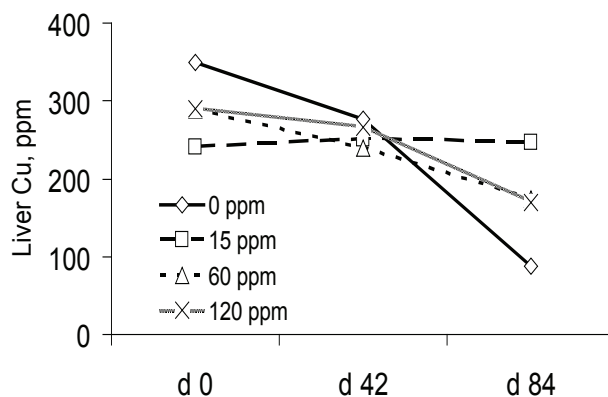


Figura 7. Efeito do nível de cobre suplementado sobre o acúmulo de cobre no fígado de novilhas em crescimento. EPM do pool = 61,3. Interação tempo x tratamento; $P = 0,30$.

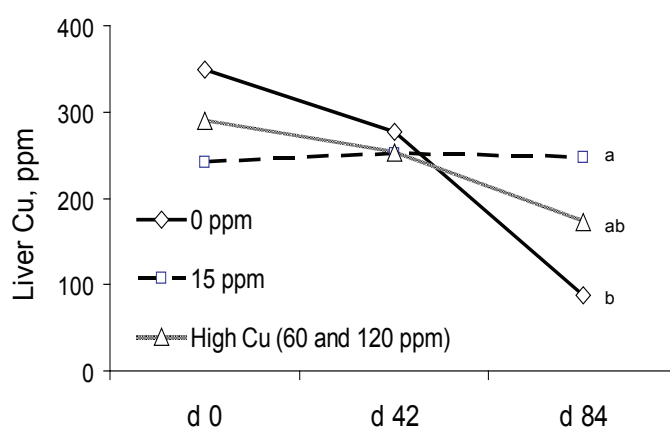


Figura 8. Efeito do nível de cobre suplementado sobre o acúmulo de cobre no fígado de novilhas em crescimento; taxas altas de cobre em pool. EPM = 58,1, 41,1 e 31,5 para dias 0, 42 e 84, respectivamente. Interação tempo x tratamento; $P < 0,13$. ab = médias diferem, $P < 0,05$.

SELÊNIO E O ANTAGONISMO DO ENXOFRE

Pesquisas conduzidas por Ivancic and Weiss (2001) sugeriram que elevações no enxofre na dieta levam a uma redução no balanço de selênio em vacas leiteiras. Resultados semelhantes foram relatados em ovinos (Hintz and Hogue, 1964; van Ryssen et al., 1998). Em cada um desses estudos, foi fornecido enxofre inorgânico como suplemento às dietas. Em muitos ambientes de pastejo, fontes naturais de enxofre podem contribuir de maneira significativa ao valor total desse elemento na dieta. Por exemplo, o nível dietético total de enxofre consumido por vacas em pastos de grama batatais (~ 0,20% enxofre) e recebendo suplemento líquido de melaço (~0,79% enxofre) seria de aproximadamente 0,30%.

Para atender a essa questão do gado de corte alimentado com forragens, avaliamos o impacto da fonte do suplemento (melaço ou milho) sobre o status de selênio em garrotes em crescimento. Nesse estudo, houve uma interação significativa ($P < 0,01$) entre dia de amostragem x fonte do suplemento sobre a concentração hepática de selênio. Garrotes recebendo suplementos à base de milho apresentaram aumento total superior na acumulação hepática de selênio o que levou a concentrações finais de selênio no fígado mais altas quando comparados com garrotes recebendo suplemento à base de melaço no dia 90 (1,47 e 0,50 ppm; EPM = 0,18; Tabela 5, Experimento 1). As concentrações plasmáticas de selênio não diferiram entre os tratamentos em qualquer dos dias de amostragem. Embora o consumo de NDT tenha sido semelhante entre os tratamentos, garrotes recebendo suplementos à base de milho tenderam ($P = 0,07$) a ter um maior ganho de peso quando comparados com aqueles recebendo suplemento de melaço (0,24 vs. 0,10 kg/dia).

Esses dados sugerem que, como no caso do cobre, suplementos à base de melaço também antagonizam a acumulação de selênio no fígado de bovinos em crescimento. Eram necessários então estudos adicionais investigando a influência da fonte de selênio sobre o status desse elemento em gado consumindo dietas com melaço; sendo assim, delineamos um estudo para determinar os efeitos de uma levedura orgânica de selênio versus selenito de sódio sobre medidas do status de selênio em garrotes em crescimento consumindo suplementos à base de melaço. Nesse estudo, vinte e quatro garrotes cruzados foram estratificados por peso e aleatoriamente distribuídos em três tratamentos de selênio (4 baias/tratamento) fornecidos em um xarope à base de melaço e farelo de algodão. Cada suplemento foi formulado de maneira fornecer 1,5 kg de NDT e 0,3 kg de PB por cabeça por dia. Os garrotes tiveram acesso de livre escolha a feno de capim estrela inteiro. Os tratamentos de selênio consistiram de 1) 0 selênio (controle negativo), 2) selenito de sódio e 3) levedura de selênio (Sel-Plex). Os tratamentos forneceram 2,5 mg de selênio por cabeça por dia.

Nesse estudo, as concentrações hepáticas de selênio foram mais altas ($P < 0,03$) nos garrotes suplementados com selênio nos dias 30, 60 e 90, independentemente da fonte (Tabela 5; Experimento 2). Da mesma forma que as medidas de selênio hepático, as concentrações plasmáticas de selênio e a atividade da glutathione peroxidase plasmática também foram superiores nos garrotes que receberam suplementação de selênio, nos dias 30 (apenas selênio plasmático), 60 e 90, independentemente da fonte.

IMPLICAÇÕES

Coletivamente, esses dados indicam que o gado criado com forragens e recebendo suplementos com níveis elevados de enxofre (como melaço de cana) tem a utilização do cobre prejudicada. A suplementação que quantidades superiores de cobre não parece ser uma solução eficiente para o antagonismo. Adicionalmente, como o cobre, a utilização de selênio também parece ser antagonizada pelo enxofre. Esse antagonismo parece ter um impacto semelhante sobre o status de selênio se o gado é suplementado com selênio orgânico ou inorgânico.

Tabela 5. Efeito de suplementos à base de milho vs melado e a fonte de selênio sobre as concentrações hepáticas de Se em garrotes em crescimento (médias dos mínimos quadrados; Experimento 1 e 2).

Exp. 1	Tratamento		EPM	P =
	Milho	Melado		
	----- ppm -----			
0	0,86	1,25	0,12	-----
30	1,47	1,28	0,07	0,11
60	1,91	1,89	0,18	0,94
90	2,23	1,75	0,12	0,02

Exp. 2	Tratamento			EPM	Contrastes ^b	
	Controle	SelPlex ^a	Selenito		1	2
	----- ppm -----					
0	1,77	2,62	2,30	0,25	-----	-----
30	1,11	2,09	2,10	0,28	0,02	0,98
60	0,80	2,24	2,19	0,18	< 0,01	0,85
90	0,97	2,30	1,97	0,23	< 0,01	0,31

^aSelPlex = selênio orgânico de levedura (Alltech, Inc).

^bContrastes: 1 = Controle versus (SelPlex e selênio de selenito)

2 = SelPlex versus selênio de selenito

REFERÊNCIAS

- Ammerman, C. B. 1969. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: A review. *J. Dairy Sci.* 53:1097-1107.
- Arthington, J. D., A. R. Spell, L. R. Corah, and F. Blecha. 1996a. Effect of molybdenum-induced copper deficiency on in vivo and in vitro measures of neutrophil chemotaxis both before and following an inflammatory stressor. *J. Anim. Sci.* 74:2759.

- Arthington, J. D., and F. M. Pate. 2002. Effect of corn- vs molasses-based supplements on trace mineral status in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 80:2787-2791.
- Arthington, J. D., L. R. Corah, F. Blecha, and D. Hill. 1995. Effect of copper depletion and repletion on lymphocyte blastogenesis and neutrophil bactericidal function in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 73:2079.
- Arthington, J.D., L.R. Corah, and F. Blecha. 1996b. The effect of molybdenum-induced copper deficiency on acute-phase protein concentration, superoxide dismutase activity, leukocyte numbers, and lymphocyte proliferation in beef heifers inoculated with bovine herpesvirus-1. *J. Anim. Sci.* 74:211.
- Baumann, H., and J. Gauldie. 1994. The acute phase response. *Immunol. Today.* 15:74.
- Boyne, R. and J. R. Arthur. 1981. Effects of selenium and copper deficiency on neutrophil function in cattle. *J. Comp. Path.* 91:271.
- Campbell, A. G., M. R. Coup, W. H. Bishop, and D. E. Wright. 1974. Effect of elevated iron intake on the copper status of grazing cattle. *J. Agric. Res.* 17:393-399.
- Demetriou, J. A., P. A. Drewes, and J. B. Gin. 1974. Ceruloplasmin. In: Cannon, D. C. and J. W. Winkelman (Ed.) *Clinical Chemistry*. pp. 857-864. Harper and Row. Hagerstown, MD.
- Fassel, V. A. 1978. Quantitative elemental analyses by plasma emission spectrophotometry. *Science* 202, 183-188.
- Gengelbach, G. P., J. D. Ward, and J. W. Spears. 1997. Effect of dietary copper, iron, and molybdenum on growth and copper status of beef cows and calves. *J. Anim. Sci.* 72:2722-2727.
- Grasso, P. J., R. W. Scholz, R. J. Erskine, and R. J. Eberhart. 1990. Phagocytosis, bactericidal activity, and oxidative metabolism of mammary neutrophils from dairy cows fed selenium-adequate and selenium-deficient diets. *Am. J. Vet. Res.* 51:269.
- Harrison, J. H., D. D. Hancock, N. St. Pierre, H. R. Conrad, and W. R. Harvey. 1986. Effect of prepartum selenium treatment on uterine involution in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 69:1421.
- Hintz, H. F., and D. E. Hogue. 1964. Effect of selenium, sulfur, and sulfur amino acids on nutritional muscular dystrophy in the lamb. *J. Nutr.* 82:495-502.
- Hogan, J. S., K. L. Smith, W. P. Weiss, D. A. Todhunter, and W. L. Schockey. 1990. Relationships among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophils. *J. Dairy Sci.* 73:2372.
- Hubbert, F., Jr., E. Cheng, and W. Burroughs. 1958. Mineral requirement of rumen microorganisms for cellulose digestion in vitro. *J. Anim. Sci.* 178:559-568.
- Ivancic, J., Jr., and W. P. Weiss. 2001. Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 84:225-232.
- Jeffrey, M., J. P. Duff, R. J. Higgins, V. R. Simpson, R. Jackman, T. O. Jones, S. C. Mechie, and C. T. Livesey. 1994. Polioencephalomalacia associated with ingestion of ammonium sulphate by sheep and cattle. *Vet. Rec.* 134:343-348.
- Johnson, R. W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view. *J. Anim. Sci.* 75:1244.
- Julien, W. E., H. R. Conrad, and A. L. Moxon. 1976a. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. II. Prevention in commercial herds with prepartum treatment. *J. Dairy. Sci.* 59:1960.

- Julien, W. E., H. R. Conrad, J. E. Jones, and A. L. Moxon. 1976b. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 59:1954.
- Kandylis, K. 1984. Toxicology of sulfur in ruminants: A review. *J. Dairy Sci.* 67:2179-2187.
- Karimbakas, J., B. Langkamp-Henken, and S. S. Percival. 1998. Arrested maturation of granulocytes in copper deficient mice. *J. Nutr.* 128:1855.
- Klasing, K. C., and D. R. Korver. 1997. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. *J. Anim. Sci.* 75(Suppl. 2):58.
- Lannon, B., and J. Mason. 1986. The inhibition of bovine ceruloplasmin oxidase activity by thiomolybdates in vivo and in vitro: a reversible interaction. *J. Inorg. Biochem.* 26:107-115.
- Lopez-Guisa, J. M., and L. D. Satter. 1992. Effect of copper and cobalt addition on digestion and growth in heifers fed diets containing alfalfa silage or corn crop residues. *J. Dairy Sci.* 75:247-256.
- Mason, J. 1981. Molybdenum-copper antagonism in ruminants: A review of the biochemical basis. *Irish Vet. J.* 35:221-229.
- Mason, J. 1986. Thiomolybdates: Mediators of molybdenum toxicity and enzyme inhibitors. *Toxicol.* 42:99-109.
- Mason, J. 1990. The biochemical pathogenesis of molybdenum-induced copper deficiency syndromes in ruminants: Towards the final chapter. *Irish Vet. J.* 43:18-22.
- McAllister, M. M., D. H. Gould, M. F. Raisbeck, B. A. Cummings. 1997. Evaluation of ruminal sulfide concentrations and seasonal outbreaks of polioencephalomalacia in beef cattle in a feedlot. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211:1275-1279.
- McDowell, L. R., and J. D. Arthington. 2005. Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions. 4th Edition Bulletin. Mineral Research Project. University of Florida – Institute of Food and Agricultural Sciences, Department of Animal Sciences, Gainesville (*available in English and Spanish*).
- Moore, J. E., and G. O. Mott. 1974. Recovery of residual organic matter from in vitro digestion of forages. *J. Dairy Sci.* 57:1258-1259.
- Percival, S. S. 1995. Neutropenia caused by copper deficiency: possible mechanism of action. *Nutr. Rev.* 53:59.
- Phillippo, M., W. R. Humphries, and P. H. Garthwaite. 1987a. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status and growth in cattle. *J. Agric. Sci. Camb.* 109:315-320.
- Phillippo, M., W. R. Humphries, T. Atkinson, G. D. Henderson, and P. H. Garthwaite. 1987b. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrous cycles in cattle. *J. Agric. Sci. Camb.* 109:321-336.
- Prohaska, J. R. 1990. Effects of copper deficiency on the immune system. In: A. Bendich, M. Phillips, and R. P. Tengerdy (Eds.) *Antioxidant Nutrients and Immune Functions*. Plenum Press, New York. p. 123.
- Smith, K. L., J. S. Hogan, and W. P. Weiss. 1997. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J. Anim. Sci.* 75:1659.
- Stable, J. R., J. W. Spears, and T. T. Brown, Jr. 1993. Effect of copper deficiency on tissue, blood characteristics, and immune function of calves challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus and *Pasteurella hemolytic*. *J. Anim. Sci.* 71:1247.
- Suttle, N. F. 1974. Effects of organic and inorganic sulphur on the availability of dietary copper to sheep. *Br. J. Nutr.* 32:559-568.

- Suttle, N. F., P. Abrahams, I. Thornton. 1984. The role of a soil x dietary sulphur interaction in the impairment of copper absorption by ingested soil in sheep. *J. Agric. Sci.* 103:81-86.
- Tilley, J. A., and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Brit. Grassl. Soc.* 18:104-111.
- Torre, P. M., R. J. Harmon, D. S. Trammell, and T. W. Clark. 1994. Effects of dietary copper insufficiency on bovine blood mononuclear cell proliferation. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. 1):107(Abstr.).
- Van Ryssen, J. B. J., P. S. M. van Malsen, and F. Hartmann. 1998. Contribution of dietary sulphur to interaction between selenium and copper in sheep. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 130:107-114.
- Ward, J. D., and J. W. Spears. 1999. The effects of low-copper diets with or without supplemental molybdenum on specific immune responses of stressed cattle. *J. Anim. Sci.* 77:230.
- Ward, J. D., G. P. Gengelback, and J. W. Spears. 1997. The effects of copper deficiency with or without high dietary iron or molybdenum on immune function of cattle. *J. Anim. Sci.* 75:1400.
- Weeth, H. J., and J. E. Hunter. 1971. Drinking of sulfate-water by cattle. *J. Anim. Sci.* 32:277-281.
- Weiss, W. P., J. S. Hogan, K. L. Smith, and K. H. Hoblet. 1990. Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 73:381.
- Xin, Z., D. F. Waterman, R. W. Hemken, and R. J. Harmon. 1991. Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase, and copper distribution in steers. *J. Dairy Sci.* 74:3078.