

ESTIMACION DEL DAÑO INDUCIDO POR EL COBRE DE LA POLLINAZA EMPLEADA EN LA ALIMENTACION DE OVINOS ^a.

Javier G. Cantón Castillo ^b

Yolanda Moguel Ordóñez ^b

Octavio Rojas Rodríguez ^b

Enrique Sauri Duch ^c

José Miranda Soberanis ^d

Arturo F. Castellanos Ruelas ^b

RESUMEN

Se condujo un experimento con el objeto de detectar el potencial tóxico del cobre (Cu) contenido en la pollinaza suministrada a ovinos. Se utilizaron 21 borregos Pelibuey durante 91 días, asignados a tres tratamientos consistentes en la incorporación de pollinaza en la dieta, aportando tres niveles de Cu; control, alto y muy alto. La pollinaza contenía 218 ppm de Cu y las dietas 27, 76 y 115 ppm de Cu. Se tomaron muestras sanguíneas de todos los animales los días 32, 56 y 91. Al finalizar se tomaron muestras de hígado y riñón para cuantificar el contenido de Cu y realizar una revisión histopatológica. El hematocrito y el contenido de Cu sérico estuvieron en todos los casos dentro de un rango normal. La ganancia de peso promedio fué de 0.180 g/d. No se detectó efecto del tratamiento sobre estas variables. El contenido de Cu en el hígado fue de 783, 1161 y 1119 ppm para los tratamientos control, alto y muy alto en Cu respectivamente. Estos contenidos son muy elevados en relación a los considerados normales. Todos los niveles de Cu indujeron daños histopatológicos tanto en hígado como en riñón. La severidad de la lesión aumentó conforme se incrementó en contenido de Cu en el alimento. Se concluye que el Cu de la pollinaza es potencialmente tóxico para ovinos.

Palabras Clave: Cobre, Toxicidad, Borrego Pelibuey, Pollinaza.

Tec. Pecu. Mex. Vol. 32 No. 2 (1994)

INTRODUCCION

La pollinaza es un subproducto de la industria avícola que ha cobrado gran importancia en la alimentación de rumiantes. Además de ser una fuente de nitrógeno y energía, la pollinaza posee un alto contenido de

minerales (1,2). De ellos el más importante es el fósforo. Se ha informado que el fósforo de las deyecciones avícolas es disponible para los rumiantes (3,4).

El cobre (Cu) es utilizado en la alimentación de aves y cerdos como promotor del crecimiento, empleándose también como aditivo para conservar granos. Es por ello que se puede encontrar en niveles elevados en las deyecciones. Se han detectado niveles de 150 y 63 ppm de Cu en pollinazas y gallinazas respectivamente, muestreadas en los estados de Morelos y Veracruz (5). En Oaxaca y Sonora se detectaron niveles

a Recibido para su publicación el 16 de diciembre de 1993.

b Campo Experimental (C.E.) Mocochá. INIFAP-SARH. Apartado postal 100. Sucursal D. Mérida, Yuc.

c Instituto Tecnológico de Mérida, Prolongación calle 60, Mérida, Yuc.

d Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad de Yucatán. Xmatkuil, Yuc.

promedio de 86 ppm (6). Esta concentración es comparable a la informada en otros países (7).

Los ovinos son los rumiantes más sensibles a intoxicación por Cu; su requerimiento oscila entre 7-11 ppm, siendo el nivel máximo tolerable de 25 ppm (8). Por lo tanto, el nivel de Cu de las deyecciones podría ser potencialmente tóxico para ovinos. En México existen muy pocos trabajos publicados sobre intoxicación de Cu en ovinos, no obstante ser un problema importante en el mundo. Recientemente se realizó un estudio recapitulativo al respecto (9).

Cuando se presenta un exceso de Cu en la dieta, se almacena en el hígado. En un momento de estrés, es liberado produciendo un estado de ictericia y debilidad; la orina adquiere un tono café, debido a la hemoglobina liberada por la destrucción de los eritrocitos. La muerte sobreviene de uno a cuatro días después de haberse presentado los primeros signos (10).

En caso de intoxicación se recomienda retirar la dieta con exceso de Cu y suministrar fluidos a los animales. Existe una interacción entre el Cu y el molibdeno alimenticio; la presencia del segundo inhibe la absorción del primero, ya que ambos forman complejos insolubles en el intestino. Es por ello que en dietas con elevado contenido de Cu, es necesaria la presencia de 1 ppm de molibdeno con el fin de evitar intoxicaciones (8).

La prevención consiste en aportar de 50 a 100 mg de molibdato de amonio y 0.5 a 1.0 g de sulfato de sodio por animal, mezclados con agua.

Los informes de la disponibilidad del Cu de las deyecciones animales son contradictorios. Algunos autores (11) trabajando con ovinos alimentados con deyecciones porcinas señalaron que el Cu de la cerdaza es poco absorbible, debido a que probablemente se encuentra en forma de óxido. En cambio otros (12) cuantificaron el

porcentaje de absorción del Cu de la cerdaza y la pollinaza por los ovinos en 43.4 y 45% respectivamente.

Recientemente se detectó un problema de intoxicación alimenticia en un grupo de ovinos pertenecientes al Centro Experimental Mocochoá. Los animales consumían una elevada cantidad de pollinaza y presentaron la signología de una intoxicación por Cu. Desafortunadamente, el diagnóstico no pudo ser confirmado mediante el análisis de los tejidos de los animales enfermos. La pollinaza fue analizada y se encontró un contenido muy elevado de Cu de 218 ppm. Esa pollinaza se conservó y fue utilizada en este experimento.

Al caso anteriormente citado debe adicionarse otro previo, informado en un rancho particular, ubicado en el municipio de Baca, Yuc., donde los antecedentes y la patología de los ovinos fue similar al del C. E. Mocochoá.

Con base en lo anterior, se planteó este experimento con el objeto de desafiar ovinos mediante la utilización en su alimentación de una pollinaza con alto contenido de Cu, con el fin de detectar su potencial tóxico.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 21 borregos Pelibuey 12 machos y 9 hembras. Los animales fueron desparasitados internamente y recibieron una inyección intramuscular de vitaminas ADE. Durante 21 días previos al inicio del experimento, los animales se adaptaron al tipo de dietas y a las instalaciones; el alimento utilizado durante el período de adaptación, se adicionó con 5 mg de molibdeno/kg de materia seca, con el fin de disminuir la absorción del Cu de la dieta y así reducir las reservas hepáticas de este mineral en los animales experimentales (Cuadro 1).

Posteriormente, los animales se asignaron dependiendo de su sexo y peso a tres tratamientos, consistentes en la incorporación de pollinaza en la dieta, aportando los

CUADRO 1
COMPOSICION DE LA DIETA DE ADAPTACION
(% BASE SECA)

Heno de Estrella	37.95
Maíz	31.40
Melaza	13.60
Pasta de Soya	12.00
Carbonato de Ca	2.20
Urea	1.30
Ac. Fosfórico	0.44
Sulfato de Na	0.62
Sal Común	0.44
Molibdato de amonio	0.05
Contenido hipotético: (Base seca)	
Proteína cruda	14.5%
Energía Metabolizable	2.45 Mcal/kg
Fibra cruda	18.9 %
Calcio	1.27%
Fósforo	0.52%
Cobre	20 ppm

siguientes niveles hipotéticos de Cu: 30 ppm (control), 60 ppm (alto en Cu) y 90 ppm (muy alto en Cu). Cada tratamiento contó con tres repeticiones, dos de ellas con 2 machos y una con tres hembras. Los animales estuvieron instalados en corraletas con piso de cemento provistas de techos, comederos y bebederos.

Las dietas experimentales se presentan en el cuadro 2. Los insumos fueron analizados (13) para conocer su contenido en proteína

CUADRO 2
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES
(% BASE SECA)

	Nivel de Cobre		
	Control	Alto	Muy Alto
Heno de Estrella	35.35	30.9	20.5
Maíz	31.50	18.7	18.6
Melaza	12.00	12.0	12.0
Pasta de Soya	10.00	14.7	8.6
Pollinaza	5.50	21.1	38.6
Carbonato de Ca	2.20	1.1	----
Urea	1.50	----	----
Sulfato de Na	0.95	1.0	1.2
Ac. Fosfórico	0.50	----	----
Sal Común	0.50	0.5	0.5

Composición teórica (Base Seca):
Todas las dietas contienen 16% de proteína cruda y 2.39 Mcal de E.M. y 0.25% de Azufre.

Calcio %	1.27	1.27	1.22
Fósforo %	0.48	0.56	0.77
Fibra Cruda %	12.3	13.6	13.1
Cobre ppm (hipotético)	30	60	90
Cobre ppm (analizado)	27	76	115

cruda, calcio y fósforo. El Cu en alimentos y tejidos animales se analizó mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica (14).

Se llevó un registro del consumo de alimento, midiendo diariamente la cantidad ofrecida y rechazada; se tomaron alicuotas del alimento rechazado con el fin de analizar su contenido de Cu y así estimar el consumo real de este micromineral.

El período experimental tuvo una duración de 91 días; se llevó el registro del peso de los animales, al inicio del período de adaptación, al inicio del período experimental y posteriormente cada 14 días hasta el final del experimento. A los 28 días de haber iniciado la fase experimental se tomo una muestra de suero de todos los animales para determinar Cu y hematocrito; este muestreo se repitió a los días 57 y 91.

Al final del experimento los animales se sacrificaron, se midió el rendimiento en canal caliente (peso de la canal dividido entre el peso vivo x 100), se pesó el hígado y se tomo una muestra del lóbulo derecho, además se muestreo riñón. Todas las muestras se almacenaron en congelación hasta el momento de su análisis. Se cuantificó el contenido de Cu en el hígado. También se realizaron cortes histopatológicos de los órganos muestreados. Se utilizó la tinción de Pearl para identificar mediante su color rojo los depósitos de Cu (15); otras muestras fueron teñidas con hematoxilina y eosina (16) para fotografiarlas.

Los resultados del consumo de alimento, la ganancia de peso y el contenido de Cu del suero, fueron analizados mediante modelos lineales con el fin de detectar el efecto del nivel de Cu en la dieta. Se utilizó el peso inicial y el sexo como covariables. El peso del hígado se calculó como un porcentaje en relación al peso vivo y junto con el hematocrito y el rendimiento en canal, se analizaron mediante un análisis de varianza para conocer el efecto del nivel de Cu en la dieta (17).

RESULTADOS

El día 50 de experimentación se produjo la muerte de un macho del tratamiento con muy alto contenido de Cu; los signos fueron los de una intoxicación aguda por Cu, con ictericia y orina de color café; sin embargo, no pudieron ser analizados los tejidos para poder confirmar el diagnóstico.

COMPOSICION DEL ALIMENTO CONSUMIDO

El análisis de Cu de las dietas control, alta y muy alta en Cu reveló que contenían 27, 76 y 115 ppm de Cu respectivamente.

El alimento rechazado en los mismos tratamientos se analizó encontrándose un contenido de Cu de 163, 216 y 456 ppm. El elevado contenido de Cu en el alimento no consumido, indica que los animales tuvieron un consumo selectivo, rechazando principalmente la pollinaza. Conociendo el contenido de Cu del alimento ofrecido y del rechazado, así como el consumo de materia seca, fue posible estimar el contenido real de Cu del alimento consumido. Este valor se calculó en 16, 66 y 87 ppm para las dietas control, alta y muy alta en Cu respectivamente.

El consumo de la dieta control aportó una cantidad de Cu apropiada ya que fue inferior al nivel máximo tolerable de 25 ppm (8). En cambio el consumo de las dietas alta y muy alta en Cu proporcionaron a los animales un aporte de Cu notablemente mayor al máximo tolerable (8).

EFICIENCIA ANIMAL

En el cuadro 3 se presentan los resultados del consumo de alimento y la ganancia de peso de los animales. No se encontró efecto del nivel de Cu sobre las variables estudiadas. El peso inicial y el sexo tuvieron un efecto significativo sobre ambas variables. Los animales más chicos al inicio del experimento y las hembras, consumieron menos alimento

y ganaron menos peso en comparación con los más grandes y los machos respectivamente. El rendimiento en canal no se vió afectado ($P > .05$) por las variables estudiadas (cuadro 3). No se encontraron diferencias estadísticas atribuibles al tipo de dieta sobre el peso del hígado (cuadro 3).

CUADRO 3

INFLUENCIA DEL NIVEL DE COBRE CONTENIDO EN LA POLLINAZA DE LA DIETA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE OVINOS PELIBUEY
(Media + Desviación estandar)

	Nivel de Cobre		
	Control	Alto	Muy Alto
Consumo de alimento (kg/anim/día. Base Seca)	1.269	1.446	1.312
Ganancia diaria de peso (kg/anim/día)	0.183 +0.042	0.199 +0.038	0.163 +0.039
Rendimiento en canal (%)	43.1 +2.0	44.9 +3.4	43.8 +43.8
Hígado (% de su peso en relación al peso vivo)	2.02 +0.22	2.04 +0.18	2.17 +0.27

En todas las variables $P > .05$

ANALISIS DE TEJIDOS

Los resultados del hematocrito están indicados en el cuadro 4. No se encontró efecto del nivel de Cu sobre esta variable. Los resultados del contenido de Cu en suero están señalados en el cuadro 5. No se detectó efecto de los tratamientos ni de las covariables sobre esta variable. El contenido de Cu en el hígado fue de (ppm.) 783, 1161 y 1119 para las dietas control, alta y muy alta en Cu respectivamente.

EXAMEN HISTOPATOLOGICO

La revisión histopatológica de los tejidos reveló un diverso grado de daño, dependiendo del nivel de Cu consumido. Las lesiones observadas en el tratamiento control fueron las siguientes. En el riñón: discretos a moderados focos de depósito de Cu en los túbulos distales medulares; estos depósitos se observaron como focos difusos

CUADRO 4

INFLUENCIA DEL NIVEL DE COBRE CONTENIDO EN LA POLLINAZA DE LA DIETA Y DEL TIEMPO, SOBRE EL HEMATOCRITO DE OVINOS PELIBUEY (Media + Desviación estandar)

Nivel de Cobre	Días después del inicio del experimento		
	32	56	91
Control	37.4 + 3.16	34.6 + 1.65	36.3 + 3.11
Alto	36.6 + 2.99	35.5 + 2.99	34.4 + 6.63
Muy Alto	36.2 + 5.88	34.6 + 3.40	38.2 + 4.32

CUADRO 5

INFLUENCIA DEL NIVEL DE COBRE CONTENIDO EN LA POLLINAZA DE LA DIETA Y DEL TIEMPO, SOBRE EL CONTENIDO DE COBRE EN EL SUERO DE OVINOS PELIBUEY (Media + Desviación estandar)

Nivel de Cobre	Días después del inicio del experimento		
	32	56	91
Control	0.88 + .02	0.83 + .18	0.75 + .18
Alto	0.94 + .11	0.97 + .24	0.74 + .16
Muy Alto	0.88 + .34	0.82 + .10	0.55 + .09

de tejido de estructura amorfa muy basofílicos, también se encontró infiltración no supurativa difusa en pelvicilla y médula, congestión y degeneración tubular proximal cortical. En hígado: infiltración no supurativa en espacio portal con algunos polimorfonucleares, además, focos de infiltración no supurativa con algunos polimorfonucleares en parénquima y cambio graso centrolobulillar discreto.

En el tratamiento alto en Cu se encontraron las siguientes lesiones. En riñón: leves a severos focos de depósito de Cu en túbulos distales medulares, infiltración linfocitaria discreta en pelvicilla, médula y algunos focos en corteza, zonas de congestión. En hígado: cambio graso centrolobulillar de discreto a moderado, infiltración no supurativa portal de discreta a moderada, algunos focos de infiltración no supurativa en parénquima.

Para el tratamiento muy alto en Cu las lesiones encontradas en riñón fueron: degeneración tubular proximal cortical generalizada, severos y numerosos focos de depósito de Cu en túbulos distales medulares (figuras 1 y 2), infiltración no supurativa moderada en estroma de médula y difusa en pelvicilla, congestión. En hígado, infiltración no supurativa portal moderada a severa (figura 3), infiltración no supurativa en estroma severa, cambio graso centrolobulillar discreto a moderado, focos linfocitarios en parénquima, algunos polimorfonucleares.

Figura 1. Tejido renal con depósito de cobre severo. Objetivo de lupa. Tinción de hematoxilina y eosina.

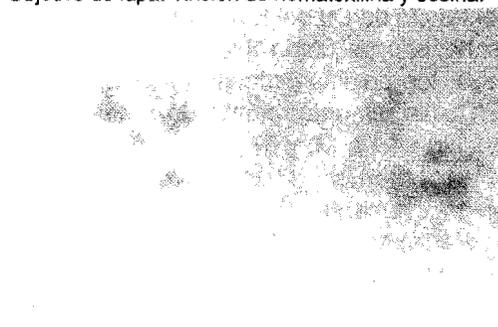


Figura 2. Infiltración muy importante de cobre en tejido renal. Objetivo de 40x. Tinción de hematoxilina y eosina.

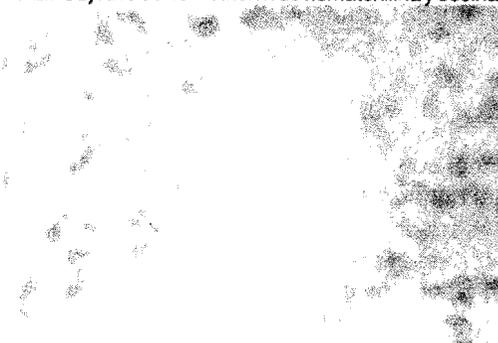


Figura 3. Infiltración linfocitaria en hígado. Objetivo de 40x. Tinción de hematoxilina y eosina.

DISCUSION

El consumo de alimento y la ganancia de peso promedios obtenidos fueron los esperados, en comparación con lo sugerido por las tablas de alimentación de ovinos de pelo (18); los valores encontrados son similares a los indicados por otros autores que también han trabajado con ovinos de pelo (19,20).

Los datos obtenidos del comportamiento de los animales, indican que el nivel de Cu consumido no tuvo efecto detrimental sobre la eficiencia productiva de los ovinos.

No se encontraron diferencias en el peso del hígado probablemente debido a que, se ha documentado (21) que la hepatomegalia se presenta en animales intoxicados, después del cuadro hemolítico.

En todos los casos, el hematocrito se encontró dentro del rango de 24 a 50 considerado normal. El 79.6% de todas las muestras tomadas se encontraron dentro de un estrecho rango comprendido entre 32-40; esto indica que no se detectaron indicios de anemia asociada al inicio de la presentación de un caso clínico de intoxicación. De la misma manera, la concentración de Cu en el suero se encontró dentro del rango normal establecido entre de 0.7 a 1.4 (14). El contenido de Cu en el hígado fue muy elevado, comparado con los considerados normales que oscilan entre 100 y 300 ppm (14).

En el examen histopatológico, ninguno de los tejidos hepáticos examinados se encontraron depósitos de Cu; ello pudo ser debido a que en este órgano el Cu no se hace visible en cortes histológicos, en cambio, en riñón se formaron depósitos visibles, probablemente debido a la fisiología del epitelio de los túbulos, además, por ser el riñón un órgano de excreción, probablemente el Cu se combinó con otros minerales haciéndose más fácilmente identificable.

Los datos obtenidos de los análisis

sanguíneos sugieren que los animales, al momento de los muestreos mantenían un estado de salud satisfactorio, que les permitía crecer en forma normal; sin embargo, es evidente que los animales alimentados con las dietas alta y muy alta en Cu, tanto el hígado como los riñones presentaban daños importantes, probablemente los animales habrían muerto intoxicados de haberse prolongado el experimento unos días más. Según trabajos publicados, el tiempo necesario para ocasionar intoxicación en ovinos consumiendo dietas con un elevado contenido en Cu, es variable. Unos autores constataron muerte de animales después de 30 días consumiendo un alimento con 60 ppm (22), otros informan mayor tolerancia, disminuyendo la ganancia de peso 84 días después de iniciada la alimentación (23); o bien mortalidad después de consumir durante 67 a 91 días alimentos con un contenido entre 33 a 67 ppm de Cu (24). En este trabajo los animales consumieron hasta 87 ppm de Cu durante 91 días sin morir, pero ocasionando severos daños hepáticos y renales, detectados después del sacrificio de los animales, al hacer el análisis histopatológico.

En condiciones de campo, la incidencia de toxicidad por el Cu de la pollinaza en bovinos en pastoreo en la Península de Yucatán es remota, debido a que este mineral se encuentra en un nivel marginal en los forrajes (25), siendo por lo tanto necesario suplementarlo; además, los bovinos toleran niveles elevados de Cu en su dieta (115 ppm) (26) debido al sistema de control a partir de la síntesis de la metalotioneína secretada por las células epiteliales del intestino delgado, la cual se conjuga con los iones de Cu intracelulares, para después provocar el desprendimiento de la célula epitelial dentro de la luz intestinal (27). Sin embargo, exposiciones extremas de bovinos al Cu pueden desencadenar toxicidad, habiéndose encontrado mortalidad en Sudáfrica, debido a la polución del aire (28)

y en Estados Unidos atribuible al consumo de pollinaza conteniendo 620 ppm de Cu (29). De la información anterior, se concluye que el Cu de la pollinaza es potencialmente tóxico para los ovinos cuando aporta en la dieta 66 ppm o más y se ofrece durante más de 91 días.

SUMMARY

This experiment was carried out to estimate the toxicity of copper (Cu) in sheepfed an poultry litter. 21 Pelibuey sheep were assigned to 3 treatments where poultry litter in the diet provided 3 levels of Cu: control, high and very high. Cu content in poultry litter was 218 ppm and each diet contained 27, 76 y 115 ppm of Cu respectively. Blood samples were taken from the animals on days 32, 56 and 91. Cu quantitation was carried out in the liver. Liver and kidney samples were taken for histopathology. Hematocrit and Cu serum level were normal in all the animals. Average daily weight gain was 0.180 kg. No effect of treatment was detected in these variables. Cu content in liver was 783, 1161 and 1119 ppm for the treatments of low, medium and high content of poultry litter respectively. This concentration is considered to be very high. Animals in all treatments showed liver and kidney damage at histopathology. It is concluded that Cu in poultry litter is potentially toxic for sheep.

Key words: Copper toxicity, Pelibuey sheep, Poultry litter.

REFERENCIAS

1. Crouch JR. Evaluation of poultry manure as a feed ingredient. *Feedstuffs*. 1974; March No. 39.
2. Bhattacharva AN, Taylor JC. Recycling animal waste as a feedstuff: A review. *J. Anim. Sci.* 1975; 41 (5): 1438.
3. Ben-Ghedalia DH, Tagari H, Geva A. Absorption by sheep of calcium, phosphorus and magnesium from poultry litter supplemented diet. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 1982; 98:85.
4. G Cantón CJ, Moguel OY, Castellanos RA. Biodisponibilidad del fósforo de las deyecciones avícolas. En: Memoria de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIFAP-SARH. Villahermosa, Tab. 1990; p. 307.
5. Aguilar AJ, Rosiles MR, López LR, Quintero MT. Algunos macro y micro minerales en pollinaza y gallinaza en los estados de Morelos y Veracruz. *Vet. Méx.* 1987; 18:17.
6. Cruz GP. Algunos macro y micro minerales en gallinazas y pollinazas en los estados de Oaxaca y Sonora. Tesis Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F. 1991.

7. Flachowsky G, Henning A. Composition and digestibility of untreated and chemically treated animal excreta for ruminants. A review. *Biol. Wastes*. 1990; 31:17.
8. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Sheep. Sixth Revised Edition. Ed. National Academy of Sciences. 1985; Washington, D.C. U.S.A.
9. Pérez MMA. Deficiencia e intoxicación por cobre en ovinos. Estudio recapitulativo. Tesis Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F. 1993.
10. Blood DC, Radosiits OM, Henderson JA. Enfermedades Causadas por Agentes Químicos. En: Medicina Veterinaria. Ed. Interamericana. Sexta edición, México, D.F. 1987. 1224-1229.
11. Guerrero AF, Cuarón J. Utilización del nitrógeno y disponibilidad del cobre en heces deshidratadas de cerdo. *Tec. Pecu. Méx.* 1987; 25 (3):315.
12. Cooke JA, Fontenot JP. Utilization of phosphorus and certain other minerals from swine waste and broiler litter. *J. Anim. Sci.* 1990; 68:2852.
13. Tejada de Hernández I. Manual de Laboratorio para Análisis de Ingredientes utilizados en Alimentación Animal. México, D.F. Ed. Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México, 1983.
14. Fick KR, McDowell LR, Miles PH, Wilkinson NS, Kunk JD, Conrad JH. Métodos de Análisis de Minerales para Tejidos de Plantas y Animales. Gainesville. Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Florida. Gainesville, Fla. U.S.A. 1979. 701-703.
15. Luna LG. Manual of Histologic Staining. Methods of the Armed Forces Institut of Pathology. Mc Graw and Hill Book Co. New York. U.S.A. 1968. 174-188.
16. Estrada FE, Peralta ZL, Rivas MP. Métodos o Técnicas de Tinción e Impregnación. En: Manual de Técnicas Histológicas. AGT Editor S.A. México, D.F. 1982. 57-112.
17. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. U.S.A. 1980.
18. Solís RG, Castellanos RA, Velázquez MA, Rodríguez GF. Determination of nutritional requirements of growing hair sheep. *Small Rum. Res.* 1991. 4:115.
19. Martínez AA, Bores QR, Velázquez MA, Castellanos RA. Influencia de la castración y del nivel energético de la dieta sobre el crecimiento y la composición corporal del borrego Pelibuey. *Tec. Pecu. Méx.* 1990. 18 (3):125.
20. G Cantón CJ, Velázquez MA, Castellanos Ra. Body composition of pure and cross bred Blackbelly sheep. *Small Rum. Res.* 1990. 7:61.
21. Gopinath C, Hall GA, Howell J McC. The effect of chronic Cu poisoning on the kidneys of sheep. 1974. *Res. Vet. Sci.* 16:57.
22. Bostwick JL. Copper toxicosis in sheep. *J. Am. Vet. Assoc.* 1982; 108:386.
23. MacPherson A, Hemingway RG. Effects of protein intake on the storage of copper in the liver of sheep. *J. Sci. Food Agric.* 1965. 16:220.
24. Zervas G, Nikolaou E, Mantzios A. Comparative study of chronic copper poisoning in lambs and young goats. *Anim. Prod.* 1990. 50:497.
25. Millán CH, Aguirre GMA, Escamilla I, Castellanos Ra. Perfil mineral del pasto Guinea en el oriente de Yucatán. *Vet. Méx.* 1990. 21(4) 399.

26. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Sixth Revised Edition. Ed. National Academy of Sciences. 1984; Washington, D.C. U.S.A.
27. Hidiroglou M, Ivan M, McDowell LR. Metabolismo y estado del cobre en el ganado bovino. En: Memoria del XVI Congreso Mundial de Buiatría. Salvador de Bahía, Brasil. 1990. 21-32.
28. Gummow B, Botha CJ, Basson AT, Bastianello SS. Copper toxicity in ruminants: air pollution as a possible cause. Onderstepoort J. Vet. Res. 1991; 58:1-33.
29. Banton MI, Nicholson SS, Jowett PLH, Brantley MB, Boudreaux CL. Copper toxicosis in cattle fed chicken litter. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1987. 191 (7):827.