

ESTIMACIÓN DE COBRE EN HECES DE POLLO EN RESPUESTA A NIVELES DIETÉTICOS DE COBRE EN LEVADURA

M. S. Balbuena Mascada¹; M. J. González Alcorta²; M. Huerta Bravo²

RESUMEN

Se midió la concentración de cobre en heces de pollos de engorda alimentados con 0, 100 y 200 mg Cu⁺² kg⁻¹ de alimento. El cobre fue proporcionado como cobre en levadura (Cu⁺²-levadura). Se utilizaron 1296 pollitos (línea Ross 308) de un día de nacidos manejados por sexos separados, se alojaron en piso del día 1 al 28; se sacó un ave por corral y se instaló en una jaula individual del día 29 al 42, se utilizaron 24 pollos machos y 24 hembras alimentados con dieta de finalización. Las heces se recolectaron en cada jaula. Las aves fueron distribuidas en seis tratamientos con ocho repeticiones cada uno. Se aplicó un modelo completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos. Las medias se compararon con la prueba de Tukey. Se usó regresión lineal para estimar el cobre en heces. Se determinó la concentración de cobre en heces por espectrofotometría de absorción atómica. Se encontró que la concentración de Cu⁺² en las heces de las aves (208c, 695b, 1517a mg Cu⁺² kg⁻¹) se incrementó ($P \leq 0.05$) en función del nivel de Cu⁺²-levadura en la dieta. Así mismo, la concentración de Cu⁺² fue mayor en heces provenientes de hembras ($P \leq 0.05$) cuando fueron alimentadas con dietas con 100 ó 200 mg Cu⁺² kg⁻¹ de alimento.

Palabras clave: pollo de engorda, cobre, levadura, pollinaza

ESTIMATION OF COPPER IN CHICKEN FECES IN RESPONSE TO DIETARY LEVELS OF COPPER IN YEAST

M. S. Balbuena Mascada¹; M. J. González Alcorta²; M. Huerta Bravo²

SUMMARY

This research measured copper concentration in poultry manure of broilers fed 0, 100 and 200 mg Cu⁺² kg⁻¹ food. Copper was provided as copper yeast (Cu⁺²- yeast). 1296 one day old Ross 308 chicks (648 females and 648 males), handled by separate sexes, were used on this experiment. The birds were housed in floor from day 1 to day 28, it was taken a bird per pen and it was settled in an individual cage from the day 29 to day 42. In this second phase it were used 24 males and 24 females broilers fed a finishing diet. Poultry manure was collected from each cage.

¹ Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México. (Balbuena_ms25@hotmail.com).

² Producción Animal. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México. (marianojga@hotmail.com) (mhuertab@taurus.chapingo.mx).

Birds were allocated into six treatments, which resulted from three dietary copper levels in combination with two sex, with eight replicates each. It was applied a completely randomized model with a factorial arrangement of treatments. Means were compared with the Tukey test. Linear regression was used to estimate copper in poultry manure. Copper in poultry manure was determined by atomic absorption spectrophotometry. Concentration of Cu^{+2} in poultry manure (208c, 695b, 1517a $\text{mg Cu}^{+2} \text{ kg}^{-1}$) increased ($P \leq 0.05$) according to the dietary Cu^{+2} -yeast level (0, 100, 200 $\text{mg Cu}^{+2} \text{ kg}^{-1}$). Also, concentration of Cu^{+2} in poultry manure was higher in females ($P \leq 0.05$) when they were fed diets with 100 or 200 $\text{mg Cu}^{+2} \text{ kg}^{-1}$ food.

Keywords: broilers, copper, yeast, poultry manure

INTRODUCCION

Los minerales traza son fundamentales para las funciones enzimáticas y tienen impacto en el desempeño productivo de los animales, el cobre (Cu) se encuentra dentro de este grupo (Johnson *et al.*, 2010).

La ingestión prolongada de cobre en cantidades superiores a las necesidades nutritivas, determina la acumulación del elemento en los tejidos, especialmente en el hígado. Puede considerarse que el nivel de adición de este mineral a la dieta es muy importante, para que no resulte tóxico a los animales que lo consumen (Gómez y Reyes, 2007).

El uso dietético de fuentes orgánicas o inorgánicas y diferentes niveles de cobre, afectan la concentración de cobre en pollinaza (Miñón, 2004). Las fuentes orgánicas de cobre mantienen una mayor absorción en el organismo en comparación con fuentes inorgánicas, ya que los compuestos orgánicos aparentemente no tienen cargas eléctricas, por lo que atraviesan la pared intestinal con mayor facilidad; por consiguiente, se propicia una mayor eficiencia de absorción de los minerales, y en consecuencia una reducción de su excreción en heces (Gómez y Reyes, 2007).

El empleo de pollinaza, sola o integrada en alimentos balanceados para rumiantes ha alcanzado una relevancia significativa (Pacheco *et al.*, 2003). Las heces llegan a aportar un equivalente de hasta 35% de proteína cruda. Por otro lado, un importante aporte en el perfil mineral está representado por Ca, P, Na, Mg, K, Cu, Zn, Fe, Mn, Co y S (Pereyra y García, 2000). Sin embargo, la presencia de organismos patógenos y residuos minerales en la pollinaza, son algunos de los factores que limitan su uso debido a los efectos negativos sobre el medio ambiente.

Las heces de aves como alimento para rumiantes implica una desventaja por su elevada concentración de cobre, que pudiera propiciar intoxicación a los animales, considerando que el nivel máximo tolerable para bovinos es de 40 ppm y en ovinos de 15 ppm (NRC, 2005).

El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de cobre en levadura, en dietas para pollos de engorda sobre la concentración de cobre residual en las excretas, como respuesta al nivel de cobre adicionado en la dieta a los 42 días de edad y al sexo de los animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en las instalaciones del INIFAP, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, ubicado en Ajuchitlán, Querétaro.

Se utilizaron 1296 pollos de la línea Ross 308 de un día de nacidos, repartidos en seis tratamientos con ocho repeticiones; se adicionó en la dieta levadura enriquecida en cobre (Cu^{+2} -levadura) para alcanzar los niveles de cobre siguientes: 0, 100 y 200

mg kg⁻¹ de alimento. La unidad experimental consistió de 27 aves distribuidas en corrales de 2 m², el agua y el alimento se proporcionaron *ad libitum* durante los 42 días que duró el experimento. El cobre en levadura (Di-Lisina de cobre) que se utilizó como fuente orgánica adicionada, tiene un contenido de cobre de 100 000 ppm, y un contenido de células vivas de 1.0 x10⁴ UFC g⁻¹.

Las dietas basales para la etapa de iniciación (1-14 d), desarrollo (15-28 d) y finalización (29-42 d) se presentan en el Cuadro 1, las cuales se elaboraron con sorgo, soya y gluten de maíz, que cubrió los requerimientos nutrimentales para la línea Ross 308 (Aviagen, 2007). Se utilizó un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3x2; tres niveles de cobre en la dieta y los dos sexos, resultando en seis tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 1. Dietas basales utilizadas durante el experimento en las etapas de iniciación, desarrollo y finalización.

Ingredientes, %	Iniciación	Desarrollo	Finalización
Sorgo	53.371	60.756	65.228
Pasta de soya	33.295	25.819	21.725
Gluten	4.000	5.000	4.000
Aceite de soya	3.954	3.806	4.716
Carbonato de calcio	1.703	1.575	1.575
Ortofosfatos	1.680	1.207	0.981
Treonina	0.163	0.141	0.130
Metionina	0.374	0.247	0.195
Lisina	0.421	0.411	0.413
Premezcla de minerales ⁺	0.100	0.100	0.100
Premezcla de vitaminas [*]	0.100	0.100	0.100
Colina	0.213	0.213	0.213
Arena ^{**}	0.275	0.275	0.275
Sal	0.350	0.350	0.350
Total	100	100	100
Análisis nutrimental calculado			
EM, Mcal kg ⁻¹	3.00	3.10	3.20
Proteína cruda, %	22.00	20.00	18.00
Lisina, %	1.27	1.10	1.00
Metionina, %	0.66	0.52	0.44
Metionina + Cisteína, %	0.94	0.78	0.68

Treonina, %	0.83	0.73	0.65
Calcio, %	1.05	0.90	0.85
Fosforo disponible, %	0.45	0.35	0.30
Colina, %	0.16	0.16	0.16

*La premezcla de minerales aportaba 10 mg kg⁻¹ de Cu, 0.3 mg kg⁻¹ de Se, 0.35 mg kg⁻¹ de I, 8 mg kg⁻¹ de Fe, 50 mg kg⁻¹ de Zn y 60 mg kg⁻¹ de Mn. La premezcla de vitaminas incluyo por tonelada 10,000,000 UI de Vit. A, 3,000,000 UI de Vit. D, 25,000 UI de Vit. E, 2.5 g de Vit K, 2 g de Tiamina, 6 g de Riboflavina, 50 g de Niacina, 4 g de Piridoxina, 0.02 g de Vit B12, 15 g de Pantotenato, 0.15 g de Biotina, 1 g de Ac. Fólico, 50 g de Fitasa y 0.125 g de antioxidante. Los niveles de cobre se incluyeron en sustitución de la arena.

Cuadro 2. Tratamientos en machos y hembras usados en el experimento.

Tratamiento	Factores	
	Nivel de Cobre en dieta (mg kg ⁻¹)	Sexo
1	0	Hembra
2	0	Macho
3	100	Hembra
4	100	Macho
5	200	Hembra
6	200	Macho

En el día 29 del experimento se sacó un ave de cada corral para instalarla en una jaula individual (unidad experimental). En total se usaron 48 aves (24 pollos machos y 24 hembras) distribuidas en seis tratamientos con ocho repeticiones cada uno; cada repetición era un ave representativa de todo el corral. La dieta utilizada fue la de finalización (día 29 al 42 de la engorda). Los animales instalados en jaulas se mantuvieron durante una semana (día 29 a 35) en adaptación, y se les proporcionó alimento y agua *ad libitum*. A partir del día 36 al 42 el consumo se mantuvo de manera normal y diariamente se recolectaron las excretas, finalizándose el día 42.

Análisis de heces en laboratorio

Las heces recolectadas de cada jaula individual se refrigeraron, se liofilizaron (eliminación el agua desde el estado sólido al gaseoso del ambiente sin pasar por estado líquido) y se prepararon para ser analizadas.

Las muestras de excretas se pusieron a secar a 100 °C durante 24 h, para eliminar el exceso de humedad. Se pesaron 2 g de muestra, en tres repeticiones de cada muestra, y se colocaron en matraces. A cada matraz se le adicionaron 10 mL de ácido nítrico (HNO_3), se dejó en reposo durante una hora, y después se agregaron 5 mL de ácido perclórico (HClO_4), y se dejaron en reposo 24 h para la digestión. La digestión completa se realizó colocando los matraces a fuego lento durante 20 minutos, se sacaron y dejaron enfriar. Cada matraz se aforó añadiéndole 30 mL de agua desionizada. La solución se pasó por papel filtro, se depositó en frascos de plástico y se guardó la solución en un lugar seco y oscuro para su posterior análisis. Los análisis de laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Nutrición de Rumiantes del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

Posteriormente se procedió a llevar a cabo la determinación de la concentración de cobre en las muestras obtenidas del laboratorio, esta se realizó mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica.

Análisis estadísticos

El análisis de la concentración de cobre en las heces de pollo consideró un diseño completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos. Se realizó una prueba

de comparación de medias de Tukey, mediante el procedimiento GLM del programa Statistical Analysis System (SAS, 2002).

El modelo utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + NCu_i + S_j + (NCu*S)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor de la variable respuesta.

μ = Media general.

NCu_i = Nivel dietético de cobre.

S_j = Sexo (macho o hembra).

$(NCu*S)_{ij}$ = Interacción entre sexo del ave por nivel dietético de cobre.

E_{ijk} = Error experimental.

Con el propósito de probar la interacción entre los niveles de cobre adicionado y el sexo de las aves, se compararon las medias de los seis tratamientos por medio de contrastes, en cada uno de los contrastes se comparó la media de la concentración de cobre en excretas de la hembra contra la media del macho, en cada uno de los niveles de cobre en la dieta.

Para determinar y predecir la respuesta de las variables estudiadas en función de la adición de cobre, se realizó un análisis de regresión para predecir el efecto lineal y cuadrático de los niveles de cobre evaluados, el efecto del sexo, así como una posible interacción entre ellos.

El modelo de regresión fue:

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 * (NCu_i) + \beta_2 * (NCu_i)^2 + \beta_3 * S_j + \beta_4 * (NCu * S)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor de la variable respuesta.

β_0 a β_4 = Coeficientes de regresión.

(NCu_i) = Nivel de cobre en la dieta, como efecto lineal.

$(NCu_i)^2$ = Nivel de cobre en la dieta, como efecto cuadrático.

S_j = Sexo (macho o hembra).

$(NCu * S)_{ij}$ = Interacción entre sexo del ave por nivel dietético de cobre.

E_{ijk} = Error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza factorial

La comparación de medias por la prueba de Tukey detectó ($P \leq 0.05$) un efecto del nivel de cobre adicionado sobre la concentración de cobre en excretas (Cuadro 3).

La probabilidad del análisis de varianza para la interacción nivel de cobre (NCU) con sexo (SEXO) resultó significativa ($P \leq 0.05$). Lo anterior significa que, si bien la prueba de Tukey no detectó efecto de sexo en forma independiente, el sexo sí interacciona con el nivel de cobre dietético. Lo anterior significa que la respuesta en machos es diferente a la de las hembras.

Cuadro 3. Efecto del Nivel de cobre (NCU) y del Sexo (SEXO) sobre la concentración de cobre en las excretas.

Factores	Concentración de Cu en excretas (ppm)	Error Estándar
NCU		
0	208.72 ^{c*}	23.626
100	695.94 ^b	36.709
200	1517.66 ^a	25.360
SEXO		
Hembra	843.16 ^a	71.590
Macho	800.75 ^a	67.991

*^{a,b,c} Medias en la misma columna sin una letra en común son diferentes (P < .05)

Entre los tratamientos se muestra la interacción que existe entre el nivel de cobre adicionado con el sexo de las aves (Cuadro 4 y Figura 1). Los niveles de cobre adicionado afectaron ($P \leq 0.05$) la concentración de cobre en heces. La concentración de cobre en las heces se incrementa ($P \leq 0.05$) con el nivel agregado de este mineral en la dieta. Sin embargo, si se estudia el efecto del sexo dentro de cada nivel de cobre adicionado, se observa que existe efecto de sexo en los niveles de adición a partir de 100 mg Cu kg⁻¹. En otras palabras, las hembras no siempre excretan mayor concentración de cobre en las heces, como sucede a partir del nivel 100 de adición.

Cuadro 4. Comparación de la concentración de cobre en excretas de las hembras contra la de los machos, dentro de cada nivel de adición con cobre.

Sexo	Nivel de Cobre en dieta (mg kg ⁻¹)		
	0	100	200
Hembra (Sexo 0)	170.79 ^{e*}	775.57 ^c	1583.13 ^a
Macho (Sexo 1)	252.06 ^e	604.93 ^d	1452.19 ^b

Las unidades de los valores son mg kg⁻¹

*^{a,b,c} Medias en la misma columna sin una letra en común son diferentes (P < .05)

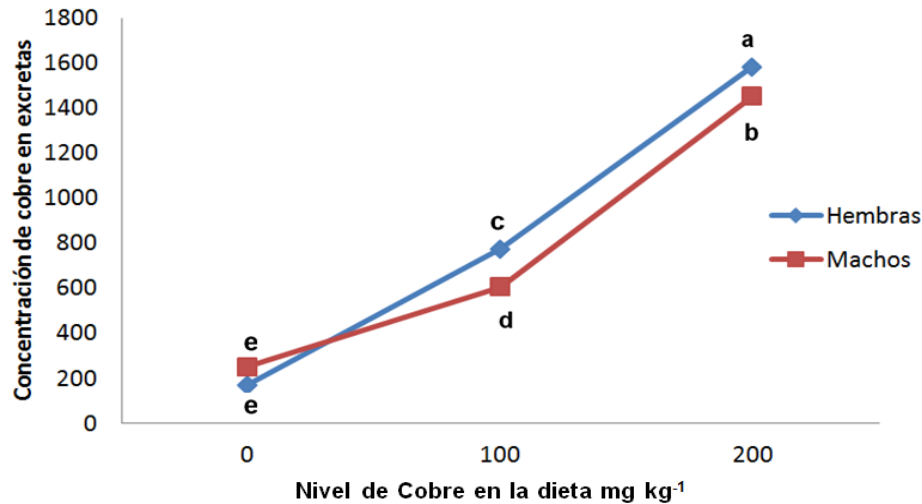


Figura 1. Comparación de la concentración de cobre en excretas de las hembras contra la de los machos, dentro de cada nivel de adición con cobre.

Análisis de regresión con interacción de Sexo y Niveles de cobre adicionados.

El análisis de regresión mostró un comportamiento lineal y cuadrático ($P \leq 0.05$) en la concentración de cobre en las excretas como respuesta a la concentración de este mineral en el alimento (Figura 2, Cuadro 5), esto puede deberse al bajo nivel de absorción del cobre conjuntamente con el cobre eliminado a través de la bilis tal como lo señalan Rosa y Mattioli (2002), quienes indican que los monogástricos absorben del 30 al 50% del cobre presente en la dieta. De igual forma Quiroz y Bouda (2001), mencionan que la capacidad máxima de absorción intestinal es de aproximadamente 30 a 60%; sin embargo, gran cantidad de cobre se secreta nuevamente dando una tasa final de absorción aproximadamente de 5 a 10%. Dichas referencias justifican la elevada concentración de cobre en heces, por lo que los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman lo anterior. La concentración de cobre en la pollinaza es mayor en comparación a la suministrada

en la dieta, lo cual responde a un efecto acumulativo de este mineral en la fase de engorda.

En lo que respecta al efecto del sexo sobre la concentración de cobre en las excretas, el análisis de regresión no detectó un efecto independiente del sexo, sino más bien una interacción entre el sexo de las aves con los niveles suministrados de cobre en la dieta (Figura 2, Cuadro 5). Existe una concentración acumulativa de cobre en las excretas que se ve incrementada en respuesta al nivel de cobre adicionado.

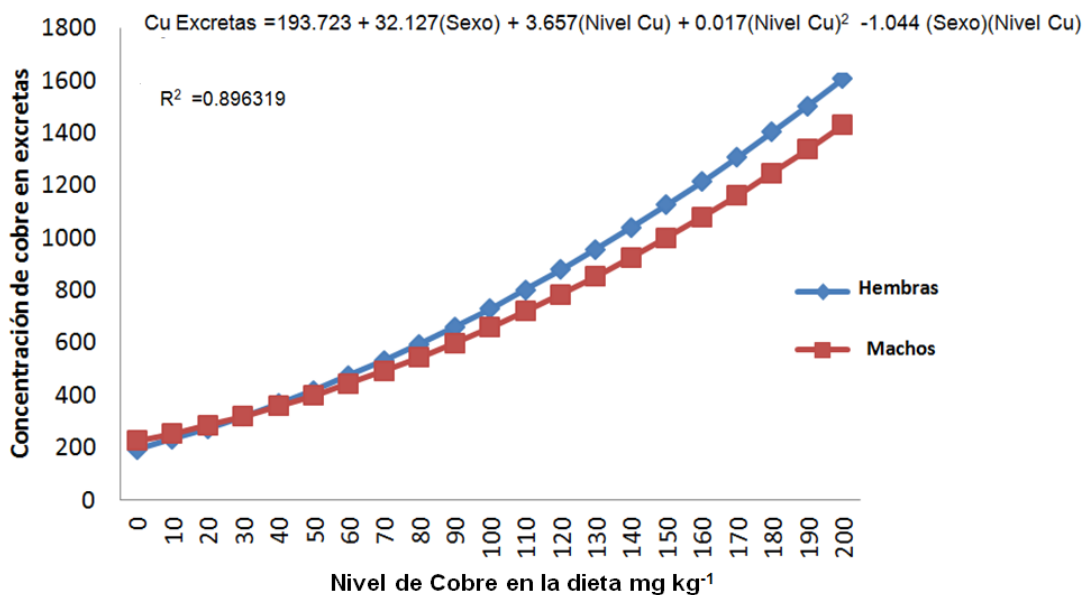


Figura 2. Interacción entre las concentraciones de cobre en excretas de aves machos y hembras a distintos niveles de cobre adicionado en la dieta.

En el Cuadro 5 se indican los parámetros de la regresión del SEXO y NCU, así como la interacción entre éstos.

Cuadro 5. Parámetros de regresión de las variables estudiadas con regresión lineal y efecto cuadrático de NCU.

Parámetro	Estimador	Error estándar	Pr > t
Intercepto	193.7238764	37.14072450	<.0001
SEXO	32.1274077	51.64828610	0.5350
NCU	3.6577549	0.74111403	<.0001
NCU*NCU	0.0170197	0.00344380	<.0001
NCU*SEXO	-1.0446883	0.39370804	0.0089

Coefficiente de Determinación = 0.89

La ecuación de regresión para predecir y/o explicar la concentración de cobre en las heces sería la siguiente:

$$\text{Cu Excretas} = 193.723 + 32.127 (\text{Sexo}) + 3.657 (\text{Nivel Cu}) + 0.017 (\text{Nivel Cu})^2 - 1.044 (\text{Sexo}) (\text{Nivel Cu}) \quad R^2=0.89$$

En donde la concentración de cobre en heces sería igual en la ecuación presentada, en donde el Sexo es igual a 0 si es hembra y a 1 si es macho, y la concentración de cobre en dietas (Nivel Cu) sería igual a un rango que va desde 0 hasta 200 mg Cu kg⁻¹.

El coeficiente de determinación (R²) es la proporción que existe entre la suma de cuadrados del modelo y la suma de cuadrados total, por lo que una R² de 0.89 significa que el modelo de regresión explica un 89 por ciento de la variación total.

Los resultados obtenidos demuestran que una alta adición de cobre en la dieta de las aves podría representar una desventaja, ya que la excreción en las heces del cobre no absorbido es una causante de contaminación ambiental. Por lo anterior, si se utiliza la pollinaza con una alta concentración de cobre, como parte de la dieta de otros animales, es importante revisar primero que los animales que van a consumirla soporten dichas concentraciones de cobre sin intoxicarse.

Los resultados del presente estudio muestran que hubo una mayor acumulación de cobre en excretas con los niveles más altos de cobre en la dieta, que con los niveles más bajos. Debido a que existe una tasa de absorción de cobre muy baja, el organismo elimina la mayor cantidad de cobre a través de las heces, por ello estas contienen grandes cantidades de cobre. En futuras investigaciones sería recomendable que se evaluara el efecto del cobre en la concentración en los tejidos y la posible relación de éstos con el cobre en heces, dado que Gómez y Reyes (2007) explican que conforme se enriquecen las dietas con cobre se muestra una mayor acumulación del mismo en los tejidos. Esto da una idea de que a mayor nivel de cobre adicionado en la dieta, mayor es la cantidad de cobre resultante en las excretas de pollos.

En cuanto a los resultados encontrados en este estudio con relación a la influencia del sexo sobre la acumulación de cobre en las heces, cabe aclarar que no existe información suficiente que aborde dicho tema, aunque por otra parte, se han hecho diversos estudios relacionados con la influencia del sexo sobre la acumulación orgánica de cobre en tejidos y plasma sanguíneo.

Es bien conocido que el metabolismo del cobre en los animales está influenciado por una variedad de factores hormonales. Se ha prestado especial atención a sus efectos sobre las concentraciones plasmáticas de cobre y se ha demostrado que en humanos son mayores en mujeres que en hombres (Bremner *et al*, 1981).

Las diferencias entre estudios indican posiblemente que junto con el sexo pueden existir otros factores que hacen variar los niveles de cobre, como puede ser el nivel de exposición al mineral o la edad de los animales (Gutiérrez, 2007).

Estudios llevados a cabo tanto en animales de laboratorio como en humanos ponen de manifiesto una influencia hormonal ligada a los niveles de estrógenos en el metabolismo de cobre (Piscator, 1979; Terrés-Martos *et al.*, 1997). Así, está bien establecido que las hembras presentan concentraciones superiores de cobre en suero o sangre que los machos debido a una mejor eficacia en la absorción de cobre a nivel intestinal, eficacia que aumenta con la gestación, y también a que las hembras presentan niveles de ceruloplasmina (principal transportador de cobre hepático hacia los tejidos) superiores a los machos (Ruslanov *et al.*, 1981).

En lo que concierne a la relación entre zinc y cobre dietéticos, hay varios informes científicos que demuestran efectos negativos de la adición de zinc en la dieta sobre el balance de cobre en los rumiantes. Lo anterior es debido a que altos niveles de zinc dietético inducen la síntesis de metalotioneína en la mucosa intestinal. Se ha pensado que la metalotioneína inducida por el zinc se une al cobre y previene su movilización desde la mucosa intestinal hacia el cuerpo (Huerta, 2000).

Con base a los argumentos anteriores se plantea el supuesto de que la hembra tiene un control más eficiente que los machos en la absorción, transporte en sangre, metabolismo y excreción de cobre.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo el experimento se concluye que:

- Los niveles de cobre adicionado incrementaron ($P \leq 0.05$) la concentración de cobre en heces de pollos de engorda de 29 a 42 días de edad.
- Las hembras produjeron excretas con mayor concentración de cobre que los machos a partir de $100 \text{ mg Cu}^{+2} \text{ kg}^{-1}$ de alimento adicionado en la dieta en el periodo de 29 a 42 días de edad.

LITERATURA CITADA

- Aviagen. 2007. Ross 308 broiler: Nutrition specification. http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross_308_Broiler_Performance_Objectives.pdf. Consultada el 06 de noviembre de 2011.
- Bremner, I., Williams R. B., and Young B. W. 1981. The effects of age, sex, and zinc status on the accumulation of (Copper, Zinc)- Metallothionein in rat kidneys. *Journal of Inorganic Biochemistry* 14; 135-146.
- Fick, K. A., L. R. McDowell, P. H. Miles, N. S. Wilkinson, J. D. Funk, J. H. Conrad, y R. Valdivia. 1979. Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales. Gainesville, Fla: Universidad de Florida. 92 p.
- García, D. J. A. 1996. Composición química de las excretas avícolas del estado de Chiapas. Tesis de Licenciatura. Dpto. de Zootecnia. UACH. Chapingo, Edo. de México. 72 p.
- Gómez, C. R. C. y J. C. C. Reyes. 2007. Efecto residual de cobre en tejidos y excretas de pollo de engorda suplementados con Sulfato de Cobre y Bioplex. Tesis de Licenciatura. Dpto. de Zootecnia. UACH. Chapingo, Edo. de México. 56 p.
- Gutiérrez, A. B. A. 2007. Efecto de la raza sobre la acumulación de cobre en terneros de cebo. Tesis Doctoral. Departamento de Patología Animal. Universidad de Santiago de Compostela. 267 p.

- Huerta, B. M. 2000. Interaction of dietary zinc and growth implants on weight gain, carcass traits and zinc in tissues of beef cattle. Tesis Doctoral. Department of Animal Sciences. Washington State University. 118 p.
- Johnson, A., B., C. J. Rapp y T. M. Fakler. 2010. Efecto de los minerales traza en la producción animal. <http://amena.mx/>. Consultada el 3 de Noviembre de 2011.
- Miñón, H. E. 2004. Comportamiento productivo, composición lipídica y retención de cobre en pollos de engorda suplementados con cobre dietético. Tesis de Maestría. Departamento de Zootecnia. UACH. Chapingo, Edo. de México. 109 p.
- Miñón, H. E y A. K. Sánchez. 2001. Comportamiento productivo y calidad de huevo de gallinas alimentadas con dietas suplementadas con aceite de atún. Tesis de Licenciatura. Depto. Zootecnia. UACH. Chapingo. Edo. de México. 71 p.
- NRC. 2005. Mineral Tolerance of Animals. Second revised edition. National Research Council. Washington, DC, USA. 496 p.
- Pacheco, A. J. A., G. J. L. Rosciano, C. W. A. Villegas, V. V. M. Alcocer, y R. A. F. Castellanos. 2003. Cuantificación del contenido de cobre y otros minerales en pollinazas producidas en el estado de Yucatán. Técnica Pecuaria México 41: 197-207.
- Pereyra, M. E. y H. J. García. 2000. Niveles crecientes de pollinaza y comportamiento productivo de toretes en engorda intensiva. Tesis de Licenciatura. Departamento de Zootecnia. UACH. Chapingo, México. 33 p.
- Piscator, M. 1979. Copper. En: Handbook on the Toxicology of Metals. Friberg L, Piscator M, Nordberg G, Vouk VB. (eds).. Elsevier, Amsterdam. pp: 411-420.
- Quiroz, G. F. y J. Bouda. 2001. Fisiopatología de las deficiencias de cobre en rumiantes y su diagnóstico. Veterinaria México 32: 289-296.
- Rosa, D. E. y G. A. Mattioli. 2002. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. Universidad Nacional de La Plata. Analecta Veterinaria 22: 7-16.
- Russanov, E., V. Banskalieva. and S. Ljutakova. 1981. Influence of sex hormones on the subcellular distribution of copper in sheep liver. Res. Vet. Sci. 30: 223.
- SAS Institute Inc. 2002. SAS for Windows, Version 9.1.3, service pack 4. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

Terres-Martos, C., M. Navarro-Alarcon, F. Martin-Lagos, H. Lopez de la Serrana and M. C. Lopez Martinez. 1997. Determination of copper levels in serum of healthy subjects by tomic absorption spectrometry. *Sci. Total Environ* 198: 97-103.