

# ASPECTOS HISTOLÓGICOS DA OSTEOPOROSE EM BUBALINOS E A CONDIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA ÓSSEA E DO COBRE HEPÁTICO<sup>1</sup>

Washington Luiz Assunção PEREIRA<sup>2</sup>

Elyzabeth da Cruz CARDOSO<sup>3</sup>

**RESUMO:** Objetivou-se estudar os aspectos morfo-histológicos da osteoporose e os valores médios de cálcio, fósforo, cinzas e densidade óssea e do cobre hepático de bubalinos criados na Ilha de Marajó e abatidos para consumo. Foram utilizados 110 animais: 39 jovens e 71 adultos, apresentando Índice de Condição Corporal entre 1 e 2. Avaliou-se um grupo composto por animais jovens e outro por animais adultos. A avaliação da porosidade óssea foi primeiramente realizada no matadouro e, posteriormente, em secções de metacarpo e costela já fixadas (de cada caso) foram reavaliados e classificados pelo grau de porosidade, utilizando-se um esteromicroscópico. Respectivamente, 98,44% dos animais jovens e 96,16 dos adultos apresentavam algum grau de osteoporose. Nos bubalinos jovens e adultos estavam baixos os valores médios do fósforo (10,69%), das cinzas (60,24%) e da densidade óssea (1,46 g/ml), assim como do cobre hepático (19,51 mg/kg). Histologicamente, os casos de osteoporose mostraram que os animais jovens, na maioria das vezes, apresentavam as trabéculas da metáfise delgadas e alongadas e mais separadas umas das outras. Algumas trabéculas apresentavam-se curtas e, na diáfise, estavam menos delgadas e espaçadas do que na metáfise. Nos animais adultos, as trabéculas na metáfise e diáfise estavam igualmente delgadas e/ou espaçadas. Respectivamente, 10,94% e 3,85% dos animais jovens e adultos apresentavam o osso cortical bastante delgado, com descontinuidade em alguns segmentos.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Bubalino, Osteoporose, Osteopatia, Histologia, Deficiência Mineral.

---

<sup>1</sup> Aprovado para publicação em 22.04.09

<sup>2</sup> Médico Veterinário, Dr., Professor da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA. Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA). Caixa Postal, 917. 66.077-530. Belém (PA).

<sup>3</sup> Médica Veterinária, Dra., Professora da Universidade Federal Fluminense - UFF (RJ)

## HISTOLOGICAL ASPECTS OF OSTEOPOROSIS IN WATER BUFFALO AND BONE PHYSICAL-CHEMICAL AND HEPATIC COPPER STATUS

**ABSTRACT:** The purpose of this study was to examine the morpho-histological aspects of osteoporosis and the average values for calcium, phosphorus, as and bone density and for hepatic copper in water buffalo raised on Marajó island and slaughtered for human consumption. 110 animals were utilized: 39 young and 71 adults, presenting a Body Condition Index between 1 and 2. One group made up of young animals and another of old animals were evaluated. Evaluation of bone porosity was done first at the slaughterhouse, and later on, previously fixed sections of metacarpus and rib (for each case) were reassessed and classified according to degree of porosity using a stereomicroscope. Respectively, 98.44 of young animals and 96.16 of adults presented some degree of osteoporosis. In the young and adult buffalo, low average values were found for phosphorus (10.69%), ashes (60.24%) and bone density (1.46 g/ml), as well as hepatic copper (19.51 mg/kg). Histologically, the osteoporosis cases showed that the young animals most of the time presented trabecules in the metaphysis that were thin and elongated and more separated from each other. Some trabecules were short and were less thin and spaced at the diaphysis than the metaphysis. In the adult animals, the trabecules in the metaphysis and diaphysis were equally thin and/or spaced. Respectively, 10.94% and 3.85% of young and adult animals presented a quite thin cortical bone, with discontinuity in some segments.

**INDEX TERMS:** Buffaloes, Osteoporosis, Osteopathy, Histology, Mineral Deficiency

### 1 INTRODUÇÃO

As deficiências de fósforo (P) e cobre (Cu) são, certamente, as principais deficiências minerais de bovinos criados em sistema de pastejo no Brasil, muito embora, na maioria das vezes, as evidências de tais deficiências minerais não possam ser levantadas através de históricos e dados clínicos. Quanto à deficiência de Cu, esta, eventualmente, ocorre associada a outras deficiências que obscurecem seu quadro clínico e patológico (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1973; McDOWELL, 1999).

Pereira et al. (2003b) avaliaram aspectos clínicos em sete propriedades de vários municípios da Ilha de Marajó, e, de maneira geral, os animais jovens demonstravam a pele com aspecto mais fino e pelos ásperos, secos e/ou arrepiados. Já os animais adultos tinham com frequência alopecia, com rarefação de pelos ocorrendo, sobretudo, nas áreas dorsal e lombar. Em todas as propriedades estudadas, foram descritos históricos de parorexia. Em algumas, observaram que determinados animais roíam ossos e madeira. A redução no apetite foi notada, principalmente naqueles com

grave depauperação e mais acentuada nos animais jovens.

Considerando os aspectos patológicos do tecido ósseo nas osteopatias por deficiência de P e Cu, podem-se relacioná-los com osteoporose, doença em que o osso mostra rarefação das trabéculas da esponjosa, conferindo-lhe um aspecto menos denso e mais poroso. O osso cortical apresenta adelgaçamento, tornando-o assim mais leve e frágil (PALMER, 1993; STEVENS; LOWE, 1998; MONNIER; TUBIANA; LEDERMAN, 1999).

Microscopicamente, na osteoporose, Krook (1988) observou que os osteoblastos estão reduzidos em número, os remanescentes atrofiados, as trabéculas ósseas delgadas, o osso cortical mais fino e os canais de Havers mais largos. Doige e Weisbrode (1998) descreveram na osteoporose redução na massa óssea, com mineralização normal dos ossos. As trabéculas mostram-se mais delgadas e menos numerosas devido à reabsorção endosteal e à remoção do osso esponjoso metafisário. Com o tempo, as trabéculas desaparecem, devido ao desequilíbrio entre a formação e a reabsorção. Quanto ao osso cortical, os autores referem a presença de maior porosidade e redução na espessura. A reabsorção endosteal

determina o alargamento da cavidade medular (PALMER, 1993; DOIGE; WEISBRODE, 1998).

Mills, Dalgarno e Wenham (1976), em pesquisa de deficiência de Cu em bovinos jovens, afirmam que as alterações ósseas de osteoporose apresentaram-se em todo o esqueleto, com diminuição na densidade dos ossos pela rarefação das trabéculas e redução da espessura do osso cortical.

Esse estudo tem por objetivo avaliar os aspectos histológicos da osteoporose de bubalinos e a participação do P, Ca e Cu, importantes elementos minerais no metabolismo ósseo, uma vez que existem, nessa espécie, poucos estudos sobre o tema em questão.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 SELEÇÃO DOS ANIMAIS**

Foram utilizados 110 animais da espécie bubalina (71 jovens e 39 adultos), criados extensivamente nos campos da Ilha de Marajó e abatidos para consumo em um matadouro do município de Belém, Pará. Durante a reclusão pré-abate, os animais foram selecionados; e na seleção, foram considerados animais sem distinção de sexo ou raça. Animais que apresentavam um baixo

“Índice de Condição Corporal” (ICC), de 1 a 2, num critério de 1 a 5, segundo Ribeiro (1996).

De acordo com o estágio de desenvolvimento ósseo, foram estabelecidos dois grupos de estudo: um de animais jovens e outro de animais adultos. O estabelecimento da faixa etária, nos animais de estudo, foi obtido pelo exame da arcada dentária, segundo orientação de Seixas et al. (2007), e pela análise macroscópica de ossos durante o abate, considerando a presença, ou não, de placa epifisária de crescimento (PEC). O estágio de crescimento ósseo foi confirmado, posteriormente, pela análise histológica da junção costochondral e metáfise distal do metacarpo de cada animal, pela observação do estado de atividade da PEC.

## 2.2 ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA DA POROSIDADE ÓSSEA

A avaliação do grau de porosidade óssea foi, primeiramente, feita no matadouro, através da análise da densidade do osso trabecular, na superfície seccionada das vértebras e do esterno. Posteriormente, em cada caso, secções de metacarpo e costela já fixadas foram reavaliadas com auxílio de um estereomicroscópio. O principal critério adotado na avaliação da porosidade óssea foi o dimensionamento do espaço intertrabecular, assim foram determinados diferentes graus

de porosidade: levemente aumentada (+), moderadamente aumentada(++) e acentuadamente aumentada (+++), conforme orientação de Pereira et al. (2003a).

## 2.3 ANÁLISE DO P, CA E DENSIDADE ÓSSEA E DO COBRE HEPÁTICO

Foram coletadas amostras ósseas do terço médio da 11<sup>a</sup> costela, para as análises do Ca e P, conforme descrição de Fick et al. (1979). Para a determinação do Ca, foi utilizada a espectrofotometria de absorção atômica de chama; e para o P, a determinação colorimétrica, segundo Fiske e Subarrow (1925). O percentual de cinzas ósseas foi determinado de acordo com as recomendações de Mendes (1977). Todos os resultados foram expressos em percentagem, tendo como base a matéria seca livre de gordura. O cálculo da densidade óssea foi efetuado em osso fresco a partir da pesagem das amostras ao ar (aproximadamente 1 g) com posterior aferição do volume em proveta contendo 10 ml de água deionizada, sendo considerado:  $d = m/v$ , onde  $d$  ( $g/cm^3$ ) representa a densidade,  $m$  a massa (g); e  $v$  ( $cm^3$ ) a diferença entre o volume (ml) final e inicial, segundo descrição de Fick et al. (1979).

A determinação do Cu nas amostras de fígado seguiu a técnica descrita por Fick et al. (1979).

## 2.4 PROCESSAMENTO HISTOPATOLÓGICO ÓSSEO

Para o processamento histopatológico, fragmentos de costela e metacarpo foram serrados com cerca de 0,5 cm de espessura, fixados em solução de formol neutro tamponado a 10%, por cerca de duas semanas. Em seguida, foram descalcificados por 10 a 25 dias (segundo a dureza de cada osso/caso) em ácido fórmico a 10%, tamponado com acetato de sódio, pH 4,5.

Posteriormente, foram desidratados, incluídos em parafina e cortados com cerca de 5 a 7 micrômetros de espessura. Para a orientação geral, foi empregada a coloração de rotina pela H.E.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são demonstrados os resultados do Ca, P, cinzas e densidade óssea e do cobre hepático.

**Tabela 1** – Valores mínimos e máximos, médias e coeficientes de variação do Ca, P, cinzas e densidade óssea e do cobre hepático de bubalinos jovens e adultos, criados extensivamente na Ilha de Marajó.

Variáveis	Valor mínimo	Valor máximo	Média	Coefficiente de variação (%)
<b>Cálcio (%)</b>	<b>9,39</b>	<b>43,94</b>	<b>26,54</b>	<b>22,51</b>
<b>Fósforo (%)</b>	<b>1,05</b>	<b>13,45</b>	<b>10,69</b>	<b>20,07</b>
<b>Cinzas (%)</b>	<b>46,62</b>	<b>68,79</b>	<b>60,24</b>	<b>5,18</b>
<b>Densidade (g/ml)</b>	<b>0,72</b>	<b>2,37</b>	<b>1,46</b>	<b>22,03</b>
<b>Cobre (mg/kg)</b>	<b>3,00</b>	<b>72,12</b>	<b>19,51</b>	<b>3,00</b>

Os valores mínimos encontrados para o P apresentaram níveis de gravidade (1,05%). Na média, esse macroelemento mostrou-se baixo (10,69), considerando o nível crítico de 11,5 para bovino de corte (McDOWELL, 1999). Já o valor máximo (13,45%) mostrou-se bem acima do nível crítico, que na média coincide com os verificados por Souza et al. (1986), com a concentração máxima de 13% e 14%, em bovinos jovens e adultos, respectivamente.

A densidade óssea nos bubalinos apresentou uma média muito baixa (1,46 g/ml), sendo o nível muito inferior ao valor crítico para bovinos de corte, de 1,69 g/ml (VALDES; MCDOWELL; KOGER, 1988). Nicodemo et al. (2005), em experimento com vacas nelores jovens, utilizando mistura mineral completa, registraram, em três anos de tratamento, valores médios de 1,89, 1,82 e 1,83 de densidade óssea específica. Esses resultados demonstram os efeitos positivos da mineralização

na manutenção do padrão fisiológico da massa óssea de bovinos. Pereira et al. (2003a) ressaltam a diminuição da densidade óssea em bubalinos, nas deficiências de P e Cu. Shupe et al. (1988) fazem referência a bovinos nas deficiências de P; e Mills, Dalgarno e Wenham (1976), Suttle e Angus (1978) relatam em bovinos nas deficiências de Cu.

A média verificada para bubalinos no percentual das cinzas, de 60,24%, mostrou que os resultados do presente estudo ficaram abaixo do nível crítico para bovinos, de 66,8% (LITTLE, 1972) e daqueles obtidos por Nicodemo et al. (2005) em experimento de três anos com vacas nelores mineralizadas, de 64,25, 65,58 e 65,12, respectivamente, nos valores de cinzas ósseas.

O valor médio encontrado, em jovens e adultos, para o cobre hepático foi de 19,51 mg/kg (Tabela 1), abaixo do nível crítico apresentado para bovinos, que foi de 25 mg/kg (McDOWELL, 1999). Esse valor comprovou baixas reservas de Cu no fígado em bubalinos criados na Ilha de Marajó, que, portanto, são deficientes para esse microelemento.

A avaliação anátomo-clínica mostrou que 98,44% dos animais jovens e 96,16% dos animais adultos apresentavam algum grau de osteoporose (Tabela 2). Esses resultados demonstraram ocorrer uma elevada frequência de osteoporose em bubalinos procedentes da Ilha de Marajó.

**Tabela 2** – Frequência de grau de porosidade óssea em bubalinos jovens e adultos criados extensivamente na Ilha de Marajó.

Faixa etária	Graus de porosidade óssea (%)			
	Normal	+ <sup>1</sup>	++ <sup>2</sup>	+++ <sup>3</sup>
Jovens (n = 39)	1,56	39,06	21,88	37,50
Adultos (n = 71)	3,84	50,00	34,62	11,54

<sup>1</sup> Leve aumento, <sup>2</sup> Moderado aumento e <sup>3</sup> Acentuado aumento de porosidade.

Na avaliação histológica óssea dos animais jovens, observou-se que, na metáfise, as trabéculas apresentavam-se, na maioria dos casos, delgadas e alongadas e mais separadas umas das outras (Figura 1); e, em alguns casos, estavam delgadas e curtas. Já na diáfise, as trabéculas foram menos delgadas e espaçadas do que na metáfise. Esse aspecto de trabéculas da esponjosa primária mais delgadas e/ou escassas do que as da diáfise podem significar que o processo de formação estava diminuído. A questão pode ser justificada pela ocorrência de problemas de invasão vascular, com espaços dilatados pela diminuição no número das espículas da matriz degenerada, alteração igualmente descrita por Irwin et al. (1974) em bovinos jovens com deficiência de Cu. Por outro lado, também houve a reabsorção prematura da esponjosa primária, como referem Hill, Thompson e Grace (1994), condição na qual as trabéculas ficam mais delgadas e podem até desaparecer (DOIGE; WEISBRODE, 1998).

Nos animais adultos, as trabéculas na metáfise e diáfise estavam igualmente delgadas e/ou espaçadas. Esses aspectos, com relação à presença de trabéculas delgadas e espaçadas, são descrições feitas na osteoporose por Shupe et al. (1988), Krook (1988) e Palmer (1993).

Na análise de secções de costelas, verificou-se que 10,94% e 3,85%, respectivamente

dos animais jovens e adultos, com evidência clínica de osteopatias, apresentavam o osso cortical, além de bastante delgado, com descontinuidade em alguns segmentos (Figura 2). Esse quadro patológico representa uma condição grave de osteoporose, e pode ser resultado da excessiva reabsorção óssea, sem a correspondente formação óssea. Tais circunstâncias podem ocorrer na deficiência de Cu em cordeiros (SUTTLE et al., 1972) e bovinos (IRWIN et al., 1974; SMITH et al., 1975; MILLS; DALGARNO; WENHAM, 1976; SUTTLE; ANGUS, 1978) e na deficiência de P em bovinos (TOKARNIA et al., 1970; SHUPE et al., 1988; McDOWELL, 1999).

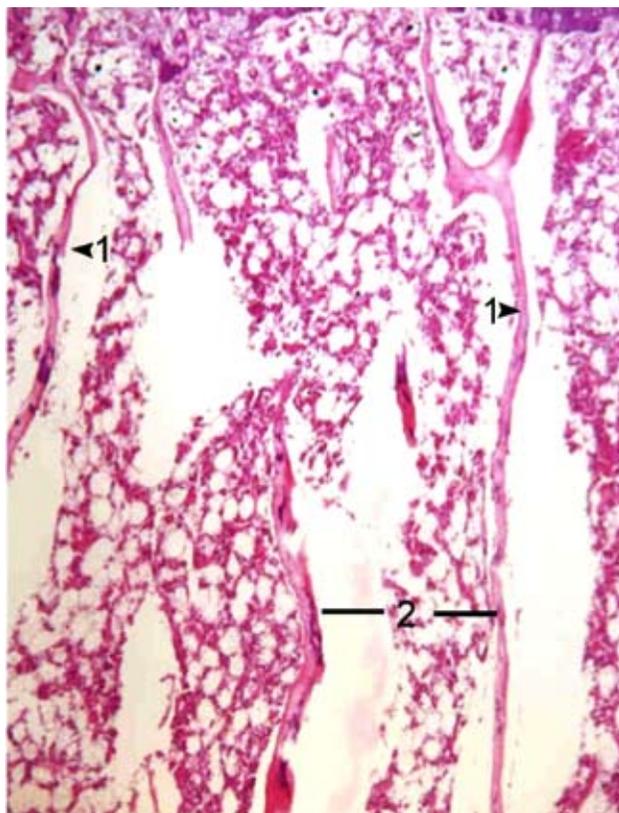
Outro aspecto histológico do osso cortical, além do adelgaçamento, foi a dilatação dos canais de Havers, que complementam o quadro de osteoporose, sendo tais aspectos referidos nessa enfermidade por Krook (1988) e Palmer (1993).

Em referência às células ósseas (osteoblastos e osteoclastos), em alguns animais jovens foi observado uma maior atividade osteoblástica e osteoclástica, ocorrendo, sobretudo, na região metafisária. O aumento na atividade dos osteoblastos é reportado por Irwin et al. (1974) e Smith et al. (1975) em bovinos jovens deficientes em Cu. Adicionalmente, Suttle e Angus (1978) avaliaram secções de costelas de bovinos deficientes em Cu e verificaram que alguns casos

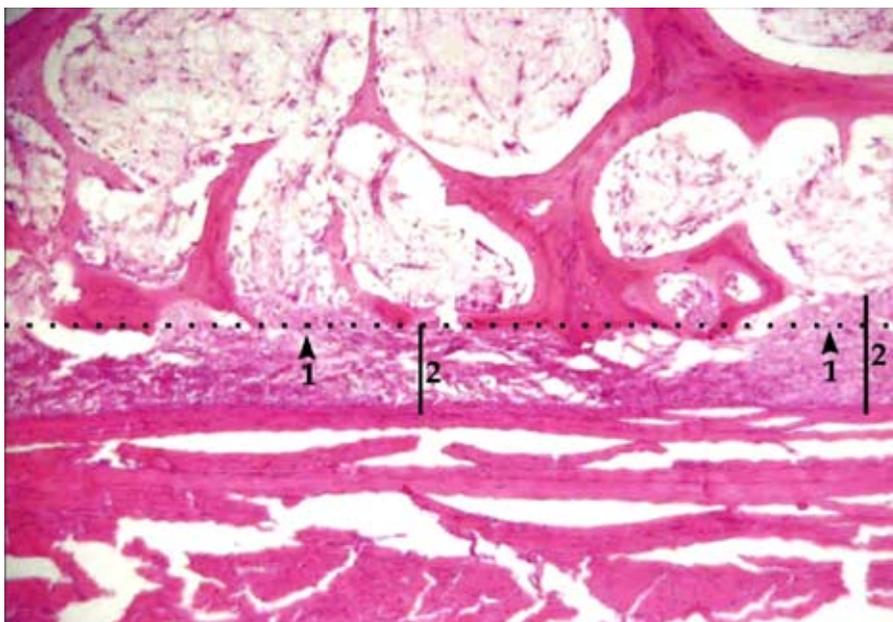
apresentavam intensa atividade osteoblástica e osteoclástica, e nas secções de metacarpo descreveram um número menor de osteoblastos com numerosos osteoclastos, aspecto semelhante ao observado no presente estudo.

Um animal jovem em estado de caquexia apresentava hipoatividade osteoblástica, alteração também descrita por Suttle et al. (1972), em

ovinos deficientes em Cu. Obviamente, o estado de debilidade física do animal caracterizou a existência de deficiência proteico-energética, referida por Doige e Weisbrode (1998). Nos animais adultos, a hipoatividade osteoblástica foi verificada em quatro animais de mais idade, uma condição que poderia ser considerada fisiológica pela senilidade.



**Figura 1** – Fotomicrografia de secção longitudinal da zona metafisária-diafisária de costela. Observe as trabéculas delgadas (1) e espaçadas entre si (2). H.E., 100x.



**Figura 2** – Fotomicrografia de secção longitudinal de costela. Observe o osso cortical descontínuo (1) e o periosteio espessado (2). H.E., 200x.

#### 4 CONCLUSÃO

Nos casos de osteoporose acentuada, houve grande redução no número de trabéculas, normalmente associada ao alargamento dos canais de Havers e à descontinuidade do osso cortical.

A osteoporose apresenta um quadro mais severo nos animais jovens, porém o processo é mais incidente nos animais adultos.

As baixas reservas de fósforo e cobre no organismo podem ter contribuído para o desenvolvimento do processo osteoporótico e da baixa condição corporal dos animais.

#### REFERÊNCIAS

- DOIGE, C.E.; WEISBRODE, S.E. Doenças dos ossos e articulações. In: CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. *Patologia veterinária especial de Thomson*. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1998. p. 448-485.
- FICK, K.R.; McDOWELL, L.R.; MILES, P.H.; WILKINSON, N.S.; FUNK, J.D.; CONRAD, J.H. *Methods of mineral analysis for plants and animal tissues*. 3<sup>th</sup>ed. Gainesville: University of Florida, 1979.

- FISKE, C.H.; SUBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *Journal Biological Chemistry*, v. 66, p. 375-377, 1925.
- HILL, F.I.; THOMPSON, K.G.; GRACE, N.D. Rickets in alpacas (*Lama pacos*) in New Zeland. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 42, p. 229-232, 1994.
- IRWIN, M.R.; POULOS, P.W.; SMITH, J.B.P.; FISHER, G.L. Radiology and histopathology of lameness in yong cattle with secondary cooper deficiency. *Journal of Comparative Pathology*, v. 84, p. 611-621, 1974.
- KROOK, L. Doenças metabólicas do osso. *Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG*, Belo Horizonte, n. 3, 1988.
- LITTLE, D.A. Bone biopsy in cattle in sheep for studies of phosphorus status. *Australian Veterinary Journal*, v. 48, n.12, p. 668-670, 1972.
- McDOWELL, L.R. *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil*. 3<sup>th</sup>ed. Gainesville: University of Florida, 1999. 92 p.
- MENDES M.O. *Mineral status of beef cattle in the northern part of Mato Grosso, Brazil, as indicated by age, season, and sampling technique*. 1977. 236p. Dissertation (Ph.D) – University of Florida, Gainesville, 1977.
- MILLS, C.F.; DALGARNO, A.C.; WENHAM, G. Biochemical and pathological changes in tissues of Friesian cattle during experimental induction of copper deficiency. *British Journal of Nutrition*, v. 35, p. 309 – 333, 1976.
- MONNIER, J.P.; TUBIANA, J.P.; LEDERMAN, H.M. *Manual de diagnóstico radiográfico*. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1999. 478 p.
- NICODEMO, M.L.F.; MORAIS, S.S.; THIAGO, L.R.L.S.; CAXIAS, E.L.; MACEDO, M.C.M.; PIRES, P.P.; MADRUGA, C.R.; VAZ, E.C.; BARROCAS, G.E. Metabolismo ósseo de vacas jovens Nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* suplementadas ou não durante a seca com fósforo/cálcio e concentrado. *R. Bras. Zootec.*, v. 34, n. 1, p. 316-326, 2005.

- PALMER, N. Bones and joints. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. *Pathology of domestic animals*. Orlando: Academic Press, 1993. v. 1.
- PEREIRA, W.L.A.; TÚRY, E.; VALE, W.G.; CARDOSO, E.C. Anatomical-pathological analysis of the bone quality in the diagnosis of osteodystrophy in buffaloes. *Bubalus Bubalis*, v. 2, p. 71-82, 2003a.
- \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Clinical-pathological aspects of osteodystrophies in buffaloes bred on the island of Marajó, state of Pará (Brazil). *Bubalus Bubalis*, v. 1, p. 72-88, 2003b.
- RIBEIRO, H.F.L. *Puerpério na búfala (Bubalus bubalis): aspectos clínicos e histológicos da involução uterina e atividade ovariana*. 1996. 25p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 1996.
- SEIXAS, V.N.C.; CARDOSO, E.C.; ARAÚJO, C.V.; PEREIRA, W.L.A.; VIANA, R.B. Determinação da cronologia dentária de machos bubalinos (*Bubalus bubalis*) criados no estado do Pará. *Ciência Animal Brasileira*, v.8, p.529 - 535, 2007.
- SHUPE, J.L.; BUTCHER, J.E.; CALL, J.W.; OLSON, A.E.; BLAKE, J.T. Clinical signs and bone changes associated with phosphorus deficiency in beef cattle. *American Journal Veterinary Research*, v. 49, n. 9, p. 1629-1636, 1988.
- SMITH, B.P.; FISHER, G.L.; POULOS, P.W.; IRWIN, M.R. Abnormal bone development and lameness associated with secondary copper deficiency in young cattle. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 16, p. 682-688, 1975.
- SOUZA, J.C.; GONÇALVES, E.M.; VIANA, J.A.C.; DARSIE, G. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. III. Cálcio e fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 21, p. 1327-1336, 1986.

- STEVENS, A.; LOWE, J. *Patologia*. São Paulo: Manole, 1998. p. 476-495.
- SUTTLE, N.F.; ANGUS, K.W. Effects of experimental copper deficiency on the skeleton of the calf. *Journal Comparative Pathology*, v. 88, p. 137-148, 1978.
- \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ ; NISBER, D.I.; FIELD, A.C. Osteoporosis in copper-depleted lambs. *Journal of Comparative Pathology*, v. 82, p. 93-97, 1972.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. Disease caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil, a review. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 8, p. 1-6, 1973. Suplemento.
- TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C.F.C.; GUIMARÃES, J.A.; DÖBEREINER, J.; LANGENEGGER, J. Deficiência de fósforo em bovinos no Piauí. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 5, p. 483-494, 1970.
- VALDES, J.L.; McDOWELL, L.R.; KÖGER, M. Mineral status and supplementation of grazing beef cattle under tropical conditions in Guatemala. I. Macroelements. *Journal of Production Agriculture*, v. 1, n. 4, p. 347-350, 1988.