

# TRABAJOS DE COLABORACION

SECCION DE FISILOGIA ANIMAL  
ESTACION EXPERIMENTAL DEL ZAIDIN DEL C. S. I. C.  
GRANADA

## "INFLUENCIA DE LA ADICION DE MOLIBDENO EN LA DIGESTIBILIDAD DE UNA DIETA EN OVIDOS" (\*)

por  
J. J. ESCRIVA

Ars. Pharm. X, 369 (1969)

### OBJETO

La bibliografía relacionada con el papel del molibdeno en la alimentación animal, se refiere en general, a su efecto tóxico por la ingestión de pastos procedentes de zonas delimitadas de alto contenido en este elemento, dando lugar a diversas publicaciones (FERGUSON y cols., 1938 y 1943; ROBINSON y EDINGTON, 1948; BARSHAL, 1948; CUNNINGHAM, 1953 y HENDERSON, 1957), que orientaron a los diferentes tratadistas en Nutrición a considerarlo como un elemento tóxico, opinión que ha perdurado hasta nuestros días por la mayoría de los autores.

Se conoce que el molibdeno es requerido por todos los organismos fijadores de nitrógeno, e incluso por las plantas superiores, y en el animal, es necesaria su presencia en la enzima flavoproteica, xantina-oxidasa, dependiendo su actividad del contenido en este elemento. Más recientemente se ha observado en los óvidos, su papel en la reducción de nitratos y nitritos por la microflora del rumen.

Desde hace algún tiempo, se conocía que el molibdeno incorporado al medio, aumentaba el ataque de la celulosa por los microorganismos del rumen, en estudios realizados "in vitro", y posteriormente se confirmó su actuación sobre la celulosa en estudios "in vivo".

Por lo expuesto hasta aquí, pensamos sería interesante estudiar el efecto del molibdeno sobre la digestibilidad y valor nutritivo de una dieta típica para rumiantes, o sea, con un alto contenido en fibra, y constituida por un cereal y un subproducto de ellos, alimentos con bajos niveles en este elemento, como sucede en la mayoría de los piensos y forrajes que reciben los animales. Para ello, suplementamos la ración experimental, con diferentes dosis de molibdeno en cantidades que no encierren el menor peligro de toxicidad.

### SITUACION BIBLIOGRAFICA

#### 2.1.—ESTUDIO DEL MOLIBDENO EN NUTRICION ANIMAL

La mayoría de los tratadistas sobre nutrición animal como MAYNARD (1955), CHARTON y LESBOUYRIES (1957), FERRANDO (1959), CRAMPTON (1962) y ABRAMS (1965), consideran el molibdeno como un elemento tóxico para los animales. MORRISON (1951), CRAPLET (1955) y LEROY (1956), no citan en sus trabajos el molibdeno ya que lo consideran como un mineral no esencial.

(\*) Extracto de la tesis doctoral dirigida por el Prof. G. Varela, Granada 1969.

HAMOND (1959) y SHERIHA (1962) nos hablan de la presencia de este elemento en todos los tejidos animales y vegetales, desempeñando un papel esencial en las plantas superiores y en ciertos microorganismos, siendo necesario para los animales como constituyente de la xantina-oxidasa.

WHITESIDE y cols. (1961) y el Agricultural Research Council (1968), consideran al molibdeno como esencial para pollos y ratas, y este último y SPEDDING (1968) aconsejan que este elemento debe tenerse en cuenta en la alimentación de los óvidos; y por último, Mc DONALD (1968), clasifica al molibdeno como elemento preciso, por ser componente de diversas enzimas.

Desde hace algún tiempo, se conocía al molibdeno como un nutriente esencial para el crecimiento del *Azotobacter* (BOND y HEWITT, 1961; MAHENDRASIN, 1962; KARASEVICH, 1963; KLINCARE y KRESLINA, 1963; KRYLOVA, 1963, y KURDINA, 1968), y más tarde se observó que era requerido por todos los organismos fijadores de nitrógeno (GRADOVA-KRYLOVA, 1967 e IL'INA, 1968), y por las plantas superiores KOVAL'SKII y cols. (1967), observaron que al adicionar molibdeno a un suelo aumentaba notoriamente la fijación del nitrógeno por el *Azotobacter*.

Esto dió lugar según nos refiere UNDERWOOD, a una investigación del contenido en molibdeno del suelo cultivable, encontrándose áreas deficientes en este elemento que como respuesta a abonados con minerales o sales de molibdeno, producen cosechas sorprendentes sobre todo al tratarse de leguminosas. KLINCARE (1964), confirma lo anterior en trabajos de bacterización de semillas y leguminosas forrajeras y abonado simultáneo con sales de molibdeno.

Este elemento en el suelo ejerce un doble papel beneficioso para las plantas; se adhiere a las bacterias de los nódulos de las raíces en su papel de fijadores de nitrógeno y actúa sobre el fósforo del suelo haciéndolo más asimilable (VIRTANEN, 1955).

Asimismo se ha observado (AUGUSTAITIENE, 1966) que al adicionar molibdeno a los cultivos de levadura para pan, aumenta el contenido de nitrógeno.

Por el contrario, el molibdeno es conocido en nutrición animal por los trabajos de FERGUSON y cols. (1943) como un elemento tóxico. ROBINSON y EDINGTON (1948), citan igualmente zonas tóxicas en Arizona y en regiones pantanosas de Colombia. BARSHAL (1948), describe intoxicaciones de ganado vacuno causadas por pastoreo en zonas de suelos ricos en molibdeno en la cuenca del San Joaquín en California. CUNNINGHAM (1953a y 1953b) nos habla de los suelos tóxicos de Nueva Zelanda, y es el primero que denomina a esta enfermedad "molibdenosis de los rumiantes". Posteriormente en 1957 HENDERSON observa dicha intoxicación en regiones de Ontario y Manitoba.

Por todo ello, la atención de los especialistas en nutrición animal se dirigió primero hacia el significado tóxico del molibdeno, actualmente se está cambiando de criterio debido al descubrimiento de que las enzimas flavoproteicas, contienen este metal.

En 1954, DE RENZO y cols., muestran que el molibdeno activa la xantina-oxidasa del intestino, y ASKEV en 1958 señala que en las regiones pobres en molibdeno se forman cálculos de xantina al estado puro en los óvidos de dichas zonas.

Mc DONALD (1968), revisa todos los problemas referentes al molibdeno como posible elemento integrante de las dietas de los animales discutiendo las publicaciones de DICK (1953 y 1956), MILLS (1960), GALLAGER (1964) y UNDERWOOD (1966), e indican la necesidad de trabajos experimentales, para poder establecer conclusiones definitivas sobre el efecto de este oligoelemento en la alimentación animal.

### 2.1.1.—Absorción y excreción de molibdeno

FERGUSON y cols. (1938), trabajando con molibdeno estable, y COMAR y cols. (1949) y SHIRLEY y cols. (1954), usando este elemento radiactivo, han demostrado que bajo condiciones normales es rápidamente absorbido en el tracto intestinal, particularmente las sales solubles en agua. Asimismo, FAIRHALL y cols. (1945), encontraron que compuestos insolubles como el  $\text{MoO}_3$  y  $\text{MoO}_3\text{Ca}$ , pero no el sulfuro de molibdeno, son bien absorbidos por conejos y cobayas cuando se les suministraron en dosis elevadas.

COMAR y cols. (1949), en novillos, y SHIRLEY y cols. (1954), observan que la mayor parte de una dosis de molibdato sódico suministrada, aparecía en orina; y AMON y cols. (1967) suministrando a ratas  $\text{MoO}_3$  radiactivo encuentran también que el mayor porcentaje de este elemento se elimina por orina.

SCAIFE (1956), vió en corderos que el molibdeno se excreta principalmente en un complejo de forma aniónica, probablemente como molibdato. HOGAN y HUTCHINSON (1965) y TOLGYESI y ELMONTY (1967), han estudiado la excreción del molibdeno y niveles en sangre y en leche en rumiantes en lactación.

DICK (1952 y 1954) demostró la influencia que el sulfato inorgánico de la dieta, tiene sobre la absorción y retención de molibdeno al observar en ovejas con una ración que contenía 10 mg. de molibdeno por día y distintos niveles de sulfato, el mayor nivel de éste indujo a un rápido aumento en la excreción de molibdeno en orina.

MILLER y cols. (1956) en ratas, y CUNNINGHAM y cols. (1959) en bóvidos, observaron que el sulfato reduce la retención del molibdeno en los tejidos, y BARKER (1961), encuentra en marsupiales que aquel anión aumenta la excreción de este elemento.

DICK (1956) y SCAIFE (1956), muestran que el aumento de la excreción urinaria de molibdeno no es debida a la acción diurética del sulfato, ya que al ensayar otros diuréticos, aumentaba la orina excretada pero sin incrementar la eliminación de molibdeno.

Esta influencia del sulfato, intenta explicarla DICK (1956), indicando que si la concentración de este ión es bastante alta impide o bloquea la reabsorción del molibdeno a través del túbulo renal.

#### 2.1.2.—Relaciones del molibdeno con otros componentes de la dieta

FERGUSON y cols. (1938) ponen de manifiesto la interacción existente entre el cobre y el molibdeno en los animales al observar que una enfermedad de las terneras (scouring) causada por ingestas excesivas de molibdeno, podía ser prevenida terapéuticamente con sulfato de cobre. Más tarde DICK y BULL (1945), muestran que la retención de cobre en ovejas y terneras, puede estar limitada por el molibdeno.

En los pastos "teart" con niveles elevados de molibdeno, se origina en terneras una enfermedad a pesar del contenido normal en cobre en estos pastos. En Nueva Zelanda, en regiones con bajos niveles de cobre en los forrajes y cantidades de molibdeno ligeramente superiores a las existentes en plantas normales se producen trastornos en terneras y vacas, dando lugar a una enfermedad conocida con el nombre de "peat scours".

Estas observaciones en ovejas y en animales de laboratorio, han puesto de manifiesto que la relación Cu/Mo de la dieta, puede ser un factor de importancia primordial para determinar la toxicidad de cualquier nivel de ingesta de molibdeno. Asimismo otros factores de la ración, principalmente el nivel de sulfato inorgánico, pueden ejercer una gran influencia sobre el metabolismo del molibdeno.

UNDERWOOD (1962), nos dice que la toxicidad crónica por cobre, se ha observado bajo condiciones de ingestas moderadas de cobre, junto con niveles dietéticos muy bajos de molibdeno y sulfato. Inversamente WYNE y McClymont (1956), citan agotamiento de las reservas de cobre en animales después de varios meses de ingesta normal de cobre y altas de molibdeno y sulfato. EVANS y DAVIS (1966), observan una marcada acción del molibdeno sobre el contenido en cobre del rumen.

DICK (1953), observó lesiones por deficiencia de cobre, en la lana de las ovejas, después de administrar dosis elevadas de molibdeno y sulfato, a pesar de que no se agotó el cobre del hígado y los niveles sanguíneos de este elemento se elevaron por encima de lo normal. Este mismo autor en 1956 explica estos hechos con la hipótesis de que una membrana cuya permeabilidad al molibdeno es bloqueada por el sulfato impide el transporte de cobre.

MILLS (1960) GOODRICH y TILLMAN (1965) y MARCILESE y cols. (1966), sugieren que el molibdeno y el sulfato restringen la utilización de cobre en esta especie al disminuir su solubilidad en el tracto digestivo por la precipitación de sulfuro cúprico insoluble, y UNDERWOOD no excluye la posibilidad de que la interacción cobre-molibdeno se deba, a una inhibición de la actividad de las enzimas que contienen cobre o a la fijación del cobre en una forma inutilizable en los tejidos.

Recientemente, DOWDY y MATRONE (1968 a y b) estudian en óvidos la interacción Cu-Mo y observan que presentaron anemia los grupos de animales que recibieron mayores dosis de molibdeno, y que el cobre administrado en forma de complejo cobre-molibdeno, es biológicamente inactivo.

DICK (1956) mostró que ingestas altas de manganeso, pueden bloquear o antagonizar el efecto limitante del molibdeno sobre la retención del cobre en ovejas, sin embargo, MYLREA (1958), no observó ningún efecto semejante en novillos.

STOOKEY y MUHLER (1959 y 1962), observan en ratas que la adición de molibdeno a la dieta aumenta la retención de fluor. CHAPMAN y KIDDER (1963) y SPALS y cols. (1966), muestran en terneros y ovejas, respectivamente, la influencia del molibdeno y ciertos iones sobre la acumulación de cobalto en el hígado.

SUTTLE y FIELD (1968 a y b), estudian el efecto de ingestas de cobre, molibdeno y sulfato sobre el metabolismo del cobre en ovejas preñadas y en corderos recién nacidos, y HOGAN y cols. (1968), observan un aumento de la concentración de cobre en hígado en grupos de ovejas con una dieta base semejante y suplementada con distintos correctores, siendo la acumulación de cobre en hígado menor en el grupo al que se suplementó la dieta con molibdato sódico y sulfato cálcico.

### 2.1.3.—Toxicidad del molibdeno

La tolerancia al molibdeno es afectada por la forma química en que el elemento es administrado (FAIRHALL y cols., 1945); por el estado del cobre en la dieta y su ingesta por el animal; por el contenido de la ración en sulfato inorgánico y otras sustancias como metionina, cistina y proteína, capaces de oxidación a sulfato en el cuerpo (UNDERWOOD, 1962); e incluso por el nivel de ingesta de otros metales como el zinc y el plomo (GRAY y ELLIS, 1950). A pesar de esto hay muchas diferencias en el comportamiento de las distintas especies en la tolerancia al molibdeno (UNDERWOOD, 1962).

Los bóvidos y dentro de ellos los animales jóvenes y las vacas gestantes y en lactación son los más afectados, siendo las ovejas más resistentes a la intoxicación, mientras que los équidos y cerdos presentan una mayor tolerancia (BOZA, 1961 b).

BOZA (1961 b), describe la sintomatología de la intoxicación por molibdeno en los bóvidos: los primeros trastornos son diarreas agudas de heces muy fluidas de color verde amarillento y de olor fétido, esto produce un adelgazamiento progresivo y pérdidas en las producciones.

Los animales muestran el pelo erizado y cambios de color de la capa. Estas despigmentaciones han sido también observadas por Vanderveen y KEENER (1964) y BINGLEY y CARRILLO (1966). COOK y cols. (1966), describen intoxicaciones experimentales por el molibdeno en novillos a los que se administraba 1,5 y 3 mg. de este elemento por kilogramo de peso, observando una disminución en el crecimiento, acromotricia y diarreas.

LEWIS (1943), en estudios químicos detallados de los pastos de zonas tóxicas, observó niveles de molibdeno de 20 a 100 ppm. A esta misma conclusión llega DREYFUS (1967), fijando que niveles de molibdeno de 20 a 100 ppm. en forrajes son capaces de producir la intoxicación letal en terneras.

MUSH y SCHOBEL (1961) observan disturbios en el ganado vacuno, encontrando en los pastos de la región niveles de molibdeno de 19,2 ppm.

THOMAS y MOSS (1951) y SHIRLEY y cols. (1954) vieron que al ingerir dosis tóxicas de este elemento, se producían trastornos en el metabolismo del fósforo, provocando trastornos en el esqueleto.

También se ha observado con ingestas altas de molibdeno, lesiones en los testículos (COLEAU, 1958) y procesos degenerativos a nivel del riñón (AKOPYAN, 1963).

BOZA (1961 b), nos dice que en la oveja adulta la sintomatología de la intoxicación accidental por molibdeno, queda reducida a deyecciones blandas sin llegar a heces diarreicas, presentación de vellones sucios, y pérdida de la tonalidad y brillo de la lana. Mc DONALD nos habla de que puede llegarse a una queratinización de la lana con dosis elevadas de este oligoelemento.

BUTLER (1964) y MILLS y FELL (1960) provocan intoxicaciones experimentales con niveles de molibdeno de 250 y 50 ppm, respectivamente, y KOWALCZYC y cols. (1964) estudian la toxicidad crónica en las ovejas por molibdeno adicionado a la dieta 1 por ciento de una sal del mencionado elemento.

Otra forma de intoxicación por el referido elemento se conoce con los nombres de "ataxia enzootica", "swingback" o "swayback". Esta enfermedad ha sido ampliamente estudiada por EYUBOV (1967) y afecta a los corderos de uno a tres meses, y según CUNNINGHAM y cols. (1959) puede estar inducida por una carencia en cobre de los pastos, que exalte el efecto tóxico del molibdeno contenido en ellos.

La mayor tolerancia de los équidos, se demostró por la ausencia de intoxicación en los pastos ricos en molibdeno, y DAVIS (1950) en cerdos, comprobó que niveles de 1.000 ppm, de este elemento traza, administrados durante tres meses no producían en estos animales ningún efecto desfavorable.

Se ha estudiado también el efecto de niveles altos de molibdeno en la dieta de conejos, cobayas, ratas y aves, y se ha observado en todas las especies, un retraso de crecimiento y una pérdida de peso.

NIELANDS y cols. (1948), BRINKAN y MILLER en 1961; ARRINGTON y cols. en 1956; LALICH y otros en 1965 y SASMAL y cols. en 1968, han observado que administrando molibdeno a ratas en dietas purificadas se retrasaba el crecimiento, y RUSSELL y cols. (1956) vieron que el sulfato de la dieta tiene un efecto evidente en la detención del crecimiento de las ratas en dietas con alto contenido en molibdeno.

KRATZER (1952) y MILLER y DENTON (1959), administrando a pollos dosis de 300 ppm, y menos de 500 ppm, de molibdeno sin observar síntomas de toxicidad, demostrando que esta especie animal es más resistente a la intoxicación por este oligoelemento.

ARTHUR y cols. (1958) y DAVIES y cols. (1960), con niveles altos de molibdeno (2.000 a 4.000 ppm.) vieron en pollos un notable efecto depresor del crecimiento y con las dosis mayores algunos casos de anemia; LEPORE y MILLER (1965), observaron en gallinas detención del crecimiento, con dietas conteniendo 500 y 2.000 ppm, y con la dosis más alta una disminución del número de huevos.

ARRINGTON y DAVIS (1953), administraron a lotes de conejos dietas con distintos porcentajes de molibdeno en la ración. En los lotes que recibieron más de 0,10 por ciento de molibdeno, aparecieron síntomas de envenenamiento, anorexia, pérdida de peso, dermatosis, alopecia y anemia.

ARTHUR (1965) en cobayas, encuentra como respuesta a dosis de 2.000 ppm, de molibdeno, una detención del crecimiento y pérdida del color del pelo.

El efecto protector del cobre contra la toxicidad del molibdeno ha sido puesto de manifiesto por NIELANDS y cols. (1948) y COMAR y cols. (1949) en ratas; por ARRINGTON y DAVIS (1953) y COOK y cols. (1966) en conejos, y por KRATZER (1952) y ARTHUR y cols. (1958) en pollos.

SIRVAMA y cols. (1958) estudian el efecto de varios compuestos azufrados como inhibidores de la intoxicación por molibdeno, viendo que el más efectivo era la metionina. JOHNSON y MILLER (1963) sugieren que el molibdeno en altas dosis interfiere en el proceso de la síntesis de proteínas.

La suplementación de metionina puede ser tan efectiva como el cobre para atenuar la toxicidad del molibdeno en ratas (GRAY y DANIEL, 1964, y VANREEN, 1959), y en ovejas (SCAIFE, 1956), pero aparentemente no sucede lo mismo en pollos (DAVIES y cols., 1959). Otros autores han observado que además de la metio-

nina, tienen efecto protector frente a la toxicidad del molibdeno la cistina y el tiosulfato.

También en animales inferiores y en microorganismos se ha estudiado el efecto tóxico del molibdeno (RAMAIAH y SHANMUGASUNDRAM, 1962, y RAMAN y cols., 1962).

## 2.2.—DIGESTIBILIDAD

El Consejo Británico de Investigación Agrícola (1968) define la digestibilidad aparente, como la cantidad ingerida de sustancia seca o de un nutriente, menos la cantidad excretada en heces, sea residuo de la dieta o de origen endógeno, expresado como porcentaje de lo ingerido.

Esta medida biológica depende de cierto número de atributos del animal y de las características del alimento que se le suministra, existiendo numerosos trabajos en los que se estudian los factores que tienen efecto sobre la digestibilidad (BOZA 1961a; VARELA, FERRER y BOZA, 1961; LOPEZ AFAN DE RIVERA, 1964; BRUGGER y VARELA, 1965; ROJAS y cols., 1965; FONOLLA, 1967; BOZA, 1967, y ARAGON, 1969).

Para la determinación de los coeficientes de digestibilidad, la Federación Europea de Zootecnia en su documento 1.068 (1963), recomienda el empleo del método directo, que se basa en suministrar un solo alimento o dieta y expresar el porcentaje de lo absorbido, mediante el conocimiento de la composición química de alimentos y heces.

### 2.2.1.—Digestibilidad en óvidos

La digestibilidad en los rumiantes se caracteriza por una elevada digestión de la fibra de la dieta, y dentro de los rumiantes son los óvidos y cápridos, las especies que tienen coeficientes más elevados en la digestibilidad de este nutriente, aunque esta suele variar entre límites muy amplios, del 30 al 80 por ciento, lo que nos demuestra que está afectada por muchos factores; de ellos probablemente el más importante sea el grado de lignificación de la celulosa.

Otros factores que afectan la digestibilidad en los óvidos, son el contenido en almidón y proteína de la dieta, y sobre todo el aporte de minerales, vitales para que los microorganismos del rumen actúen eficazmente sobre esta fracción económica de la ración.

Es conocida la influencia favorable del fósforo y del hierro sobre el crecimiento de los organismos celulolíticos de la panza de los rumiantes (BURROUGHS y cols., 1951; HUBBERT y cols., 1956, y SALSURY y cols., 1956); por el contrario, el cloruro sódico en niveles altos afecta perjudicialmente a esta microflora (CARBON, 1953). También tiene influencia favorable el molibdeno sobre el desarrollo de los microorganismos de este reservorio gástrico, lo que ocasiona un aumento en la degradación de la celulosa, según las experiencias "in vitro" de ELLIS y cols. (1958).

### 2.2.2.—Influencia del molibdeno en la digestibilidad

ELLIS y cols. (1958), observaron que administrando a microorganismos del rumen de corderos "in vitro", dosis pequeñas de molibdeno, éstos aumentaban el ataque de la celulosa procedente de harina de alfalfa deshidratada.

Estos autores realizan experiencias en óvidos a los que suplementan con dicho elemento hasta alcanzar 2,36 ppm, existiendo otro grupo de corderos testigo que consumían la misma ración sin aditivo con un contenido en molibdeno de 0,36 ppm. Encuentran que por la suplementación se aumenta significativamente la digestibilidad de la celulosa, sin alterarse la de los otros nutrientes.

ELLIS y PFANDER (1960), observan en corderos una estimulación de la digestibilidad de la celulosa como respuesta a la adición de molibdato sódico. UESAKA y cols. (1965), encuentran que la degradación de la celulosa por las bacterias de

rumen es acelerada por la adición de molibdeno. Estos mismos autores (1966 a y b), en ensayos en rumen artificial muestran que una sal de molibdeno incrementa la producción de ácidos grasos volátiles, obtenidos a partir de la celulosa de la dieta.

En ratas y conejos, ARRINGTON y cols. (1964 y 1965), demuestran que la adición de molibdeno a sus dietas en niveles muy altos (de 500 a 1.000 ppm), no afecta la digestibilidad de la sustancia seca, proteína y energía.

TILLMAN y cols. (1965) demuestran en óvidos la necesidad del molibdeno para la reducción de los nitratos y nitritos por la microflora del rumen.

EVANS y DAVIS (1961 y 1966), estudian el efecto del azufre, molibdeno, fósforo y cobre, sobre la actividad de la flora microbiana del rumen, en ensayos realizados "in vitro" e "in vivo", y encuentran que la asociación molibdeno-azufre, es la que produce el mejor resultado aumentando la digestibilidad de la celulosa.

El papel del molibdeno en los procesos metabólicos de los animales ha sido tratado ampliamente por TAVLITSKI (1965), en una revisión bibliográfica referente a la importancia biológica de este elemento.

## METODOLOGIA

### 3.1.—DISEÑO EXPERIMENTAL

Para conocer el efecto del molibdeno sobre la digestibilidad de una dieta, se han realizado seis experiencias de digestibilidad en corderos de raza "manchega" siguiendo el método directo y utilizando una ración suplementada con cinco niveles de molibdeno.

- Dieta A.—Con un contenido en Mo de 0,27 ppm  
(Dieta base)  
Dieta B.—Con un contenido en Mo de 2,27 ppm (1)  
Dieta C.—Con un contenido en Mo de 4,27 ppm "  
Dieta D.—Con un contenido en Mo de 6,27 ppm "  
Dieta E.—Con un contenido en Mo de 8,27 ppm  
Dieta F.—Con un contenido en Mo de 10,27 ppm

El diseño de este plan de experiencias, se ha realizado en "cuadrado latino" y según se indica a continuación:

Experiencias	Animales					
	1	2	3	4	5	6
1. <sup>a</sup>	A	B	C	D	E	F
2. <sup>a</sup>	F	A	B	C	D	E
3. <sup>a</sup>	E	F	A	B	C	D
4. <sup>a</sup>	D	E	F	A	B	C
5. <sup>a</sup>	C	D	E	F	A	B
6. <sup>a</sup>	B	C	D	E	F	A

### 3.2.—METODICA DE LAS EXPERIENCIAS

Se han utilizado seis corderos, machos castrados, de raza "manchega". Se les administró una dieta única en todas las experiencias, formada por paja de cereales como fuente de celulosa y cebada molida en forma de harina, por ser alimentos

(1) Suplementada hasta las ppm indicadas y en la forma de molibdato sódico

frecuentemente utilizados en la alimentación de esta especie animal, y con escaso contenido en molibdeno. A esta dieta patrón se le calculó el contenido en molibdeno resultando ser de 0,27 ppm.

Dicha dieta se complementó con cloruro sódico y carbonato cálcico como correctores minerales, ambos totalmente exentos de molibdeno; estando la dieta formada por las siguientes cantidades:

Cebada molida ... ..	600 g
Paja de trigo molida ... ..	120 g
Carbonato cálcico ... ..	8 g
Cloruro sódico ... ..	3 g

Para la realización de este trabajo hemos empleado una batería de seis células de metabolismo especial para óvidos, dotadas de un excluidor de heces, sistema de recogida de orina, y de un dispositivo para el suministro de agua y alimento, que impedían la posible mezcla de estos con las excretas.

La suplementación de molibdeno a las dietas B, C, D, E y F, hasta las partes por millón indicadas, la hemos hecho incorporando molibdato sódico al carbonato cálcico usado como corrector mineral, y homogenizado perfectamente con él, con ayuda de un colorante inócuo y exento de molibdeno.

### 3.3.—TECNICAS ANALITICAS

#### Preparación y análisis de las muestras:

a) Alimentos.—Se tomaron muestras de cada uno de los componentes de las dietas que se suministraron a lo largo de las experiencias y se homogenizaron en molino de laboratorio (WILEY), determinando su contenido en molibdeno, y su composición química por triplicado.

b) Heces.—Las heces desecadas a  $60 \pm 2^\circ\text{C}$  se molieron groseramente, se separaron tres muestras y cada una de ellas se homogenizó con el molino Wiley, hasta un grano fino que pasó por una malla de un milímetro de luz.

Preparadas las muestras como hemos indicado, se someten a las siguientes determinaciones:

Humedad.—Por pérdida en estufa a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ , hasta peso constante.

Proteína bruta.—Determinando nitrógeno por el método de KJELDAHL, y multiplicando por el factor 6,25.

Grasa total.—Por el método de SOXHLET.

Fibra bruta.—Por el método de WENDER.

Materias minerales.—Por calcificación en mufla a  $500^\circ\text{C}$  hasta peso constante.

M.E.L.N.—Por diferencia.

Sustancia orgánica.—Por diferencia.

#### Determinación de molibdeno.

Para la determinación de molibdeno hemos usado la técnica espectrofotométrica, por el color anaranjado-rojizo con tiocianato, basado en que en una solución ácida en presencia de un agente reductor adecuado, como el cloruro estannoso, y tiocianato se produce un color entre ambarino y anaranjado-rojizo con el molibdeno. El compuesto coloreado es un tiocianato complejo de molibdeno pentavalente, que se puede extraer por medio de disolventes orgánicos como el éter isopropílico, éter etílico, butil-acetato, o ciclohexanol. Hemos empleado éter isopropílico, porque se ha encontrado que el complejo de molibdenocoloreado, es más estable en éter isopropílico que en éter etílico.



## RESULTADOS EXPERIMENTALES

*Resumen de los coeficientes de digestibilidad para los distintos niveles de molibdeno*

Coefficientes de digestibilidad obtenidos para 0,27 ppm de molibdeno

Animales	N.º 1-856	N.º 2-889	N.º 3-841	N.º 4-810	N.º 5-861	N.º 6-894	Media
S. seca	69,12	70,57	69,14	68,31	69,03	70,11	69,38
S. Orgánica	71,09	72,88	71,87	70,98	71,18	72,78	71,80
Proteína	62,83	55,83	59,67	55,21	61,38	55,83	58,46
Grasa	76,29	78,48	75,78	72,47	74,08	71,21	74,72
Fibra	36,38	35,23	36,01	36,34	33,05	37,58	35,76
M.E.L.N.	78,97	82,33	80,46	79,78	79,99	81,90	80,57
Minerales	45,13	42,94	36,43	36,23	43,16	38,17	40,34

Coefficientes de digestibilidad obtenidos para 2,27 ppm de Molibdeno

Animales	N.º 1-856	N.º 2-889	N.º 3-841	N.º 4-810	N.º 5-861	N.º 6-894	Media
S. Seca	71,46	64,66	66,59	71,57	68,33	72,56	69,19
S. Orgánica	73,83	66,72	68,78	74,56	70,84	74,62	71,56
Proteína	58,22	52,68	60,06	60,25	61,95	60,10	58,88
Grasa	77,69	72,29	73,00	77,49	76,86	66,64	74,00
Fibra	35,95	32,56	33,65	41,68	36,26	37,45	36,26
M.E.L.N.	83,23	75,13	76,82	82,80	78,74	84,03	80,12
Minerales	42,80	39,92	40,28	35,74	38,27	47,94	40,82

Coefficientes de digestibilidad obtenidos para 4,27 ppm de molibdeno

Animales	N.º 1-856	N.º 2-889	N.º 3-841	N.º 4-810	N.º 5-861	N.º 6-894	Media
S. Seca	69,95	69,00	66,67	69,08	66,36	68,80	68,31
S. orgánica	72,38	71,53	68,59	71,31	68,85	71,79	70,74
Proteína	61,50	55,07	61,38	58,17	58,79	58,54	58,91
Grasa	77,49	69,60	67,71	73,18	71,03	78,65	72,94
Fibra	33,38	38,24	32,83	38,56	35,04	38,93	36,16
M.E.L.N.	81,42	80,22	76,70	79,43	76,81	79,81	79,06
Minerales	40,87	38,68	43,67	42,35	36,51	32,98	39,18

Coefficientes de digestibilidad obtenidos para 6,27 ppm de malibdeno

Animales	N.º 1-856	N.º 2-889	N.º 3-841	N.º 4-810	N.º 5-861	N.º 6-894	Media
S. seca	65,53	67,48	69,03	70,08	67,31	70,33	68,29
S. orgánica	67,79	69,61	71,08	71,99	69,30	73,01	70,46
Proteína	55,72	54,88	59,40	62,65	60,66	62,47	59,30
Grasa	66,42	70,67	74,43	70,13	73,00	73,36	71,33
Fibra	34,21	33,41	36,73	39,42	33,82	41,35	36,49
M.E.L.N.	76,06	78,63	79,32	79,72	77,41	80,64	78,63
Minerales	38,27	41,94	44,40	47,11	43,40	38,15	42,21

## Coeficientes de digestibilidad obtenidos para 8,27 ppm de molibdeno

Animales	N.º 1-856	N.º 2-889	N.º 3-341	N.º 4-810	N.º 5-861	N.º 6-894	Media
S. seca	70,37	69,15	67,85	74,06	67,97	69,67	69,84
S. orgánica	73,00	71,95	70,68	76,56	69,80	72,26	72,33
Proteína	59,98	55,65	60,45	61,40	62,28	60,00	59,96
Grasa	73,81	76,50	69,42	76,54	72,38	77,04	74,28
Fibra	45,84	37,30	36,11	48,37	36,64	40,54	40,80
M.E.L.N.	79,99	80,74	78,91	84,32	77,34	79,99	80,21
Minerales	38,86	35,43	33,91	43,50	46,04	38,54	39,38

## Coeficientes de digestibilidad obtenidos para 10,27 ppm de molibdeno

Animales	N.º 1-856	N.º 2-889	N.º 3-841	N.º 4-810	N.º 5-861	N.º 6-894	Media
S. seca	67,46	69,79	68,41	74,19	71,96	73,21	70,84
S. orgánica	69,71	72,81	71,15	76,76	74,26	75,24	73,32
Proteína	56,01	58,85	54,93	61,34	59,14	61,30	58,59
Grasa	75,78	75,61	73,00	76,41	72,20	69,51	73,75
Fibra	37,52	44,90	38,85	48,89	42,49	49,86	43,75
M.E.L.N.	77,67	80,01	79,52	84,19	82,49	82,13	81,00
Minerales	40,46	33,57	35,50	43,36	44,35	48,88	41,02

## RESUMEN DE LOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD OBTENIDOS

Dietas	A.-0,27	B.-2,27	C.-4,27	D.-6,27	E.-8,27	F.-10,27
	ppm Mo	ppm Mo	ppm Mo	ppm Mo	ppm Mo	ppm Mo
S. seca	69,38	69,19	68,31	68,29	69,84	70,84
S. orgánica	71,80	71,56	70,74	70,46	72,38	73,32
Proteína	58,46	58,88	58,91	59,30	59,96	58,59
Grasa	74,72	74,00	72,94	71,33	74,28	73,75
Fibra	35,76	36,26	36,16	36,49	40,80	43,75
M.E.L.N.	80,57	80,13	79,06	78,63	80,21	81,00
Minerales	40,34	40,82	39,18	42,21	39,38	41,02

## VALOR NUTRITIVO DE LAS DIETAS

Dietas	TND	E. metabolizable Cal/100 g.	E. neta Cal/Kg.	U.A./Kg.
A.— 0,27 ppm	67,84	244,77	1.447,7	0,88
B.— 2,27 ppm	67,61	243,41	1.434,1	0,87
C.— 4,27 ppm	66,83	240,59	1.405,9	0,85
D.— 6,27 ppm	66,65	239,59	1.395,9	0,85
E.— 8,27 ppm	68,41	246,27	1.462,7	0,89
F.— 10,27 ppm	69,23	294,24	1.492,4	0,90

## TRATAMIENTO ESTADISTICO

Los resultados obtenidos en las seis experiencias de digestibilidad, se han sometido al análisis estadístico, al objeto de conocer el grado de significación de las diferencias encontradas debidas a la adición de molibdeno.

Los coeficientes de digestibilidad de los diversos nutrientes, y los valores de los principios digestibles totales (TDT), se han tratado mediante el análisis de la varianza aplicado a diseños en "cuadro latino", obteniéndose a continuación la mínima diferencia significativa, que nos sirve para comparar los valores medios de los tratamientos, o sea, de los distintos niveles de molibdeno ensayados.

	Valor F calculada	Valor F real	Mínima diferencia significativa al 0,05	Nivel de significación
S. seca	2,17	2,16	2,28	10 %
S. orgánica	2,72	2,71	2,23	5 %
Proteína	0,37	2,16	3,11	No
Grasa	0,67	2,16	5,14	No
Fibra	11,97	6,46	4,97	0,1 %
M.E.L.N.	1,80	2,16	2,35	No
Minerales	0,96	2,16	3,99	No
T D N	2,64	2,16	2,12	10 %

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

*Influencia del molibdeno en la digestibilidad*

Los trabajos de ELLIS y cols. (1958), Ellis y PFANDER (1960) y UESAKA y otros (1965 y 1966), nos ponen de manifiesto que el molibdeno acelera la descomposición de la celulosa por las bacterias del rumen; nosotros, empleando una dieta base con 0,27 ppm de molibdeno, y suplementada ésta con 2, 4, 6, 8 y 10 ppm de este elemento, encontramos un incremento significativo (0,1 por ciento) de la digestibilidad de la fibra, debido a la acción del mencionado aditivo, siendo el efecto más acusado en los niveles superiores; hecho que está de acuerdo con las experiencias de los autores citados.

En cuanto a la digestibilidad de la sustancia seca, proteína y energía, ARRINGTON y cols. (1964 y 1965), observan en ratas que no es afectada por la adición de molibdeno a una dieta standard para estos animales, con un contenido bajo de fibra bruta. Nosotros observamos en óvidos que la digestibilidad de la proteína no se altera significativamente, pese a que los valores encontrados eran siempre más altos, que el mostrado por los animales cuando consumían la ración base.

Los coeficientes de digestibilidad obtenidos para las materias seca y orgánica, son más elevados con diferencias que alcanzan validez estadística (10 por ciento y 5 por ciento); pensamos que ello sea debido al alto contenido en fibra de la ración, un 14 por ciento, y al incrementarse la digestibilidad de dicho nutriente, tiene que repercutir en los coeficientes de las sustancias seca y orgánica que lo integran, y esto mismo sucede con los principios digestibles totales (TDN).

Tanto la digestibilidad de la grasa como de las materias extractivas libres de nitrógeno y minerales, no se afecta por la adición de molibdeno a la dieta, hecho que está de acuerdo con lo expuesto por ELLIS y cols. en 1958.

En la revisión bibliográfica encontramos que el molibdeno es requerido por todos los organismos fijadores de nitrógeno, y TILLMAN y cols (1965), demuestran en óvidos la necesidad del molibdeno, para la reducción de los nitratos y nitritos por la microflora del rumen.

### Niveles de molibdeno empleados

Para fijar los niveles de molibdeno a utilizar en nuestras experiencias, se ha consultado la bibliografía referente a la toxicidad de este elemento, preferentemente en la especie ovina, con el fin de ensayar unas cantidades que estuvieran dentro del margen de seguridad existente para el molibdeno.

La cantidad máxima de molibdeno a utilizar en los óvidos la fija ODYNETS (1966), en 11,6 mg. por kilogramo de muestra seca de la ración, sin peligro de que aparezcan síntomas de intoxicación.

Después de estudiar las dosis experimentales empleadas por los diferentes autores de la bibliografía consultada, fijamos como niveles a ensayar sobre las 0,27 ppm de la ración base, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm de molibdeno, que se utilizan durante el tiempo que duró el trabajo experimental en las células de metabolismo, sin observar el menor síntoma de toxicidad.

### RESUMEN Y CONCLUSIONES

Con el fin de conocer el efecto de la adición de molibdeno, en niveles no tóxicos, sobre el valor nutritivo y aceptación de una dieta para óvidos, se han efectuado experiencias de digestibilidad siguiendo las normas establecidas por la Federación Europea de Zootecnia.

Se ha utilizado una ración base típica en la alimentación de los óvidos, con un contenido en molibdeno de 0,27 ppm. A dicha dieta se la suplementa con cinco niveles distintos de molibdeno, en la forma de molibdeno sódico hasta alcanzar las cantidades siguientes: 2,27, 4,27, 6,27, 8,27 y 10,27 ppm.

Se realizan seis experiencias de digestibilidad siguiendo el método directo, y diseñadas en "cuadrado latino", obteniéndose los coeficientes de digestibilidad de la sustancia seca, sustancia orgánica, proteína, grasa, fibra bruta, materias extractivas libres de nitrógeno y materias minerales. Con estos resultados se han calculado para cada uno de los niveles de molibdeno empleados, los principios digestibles totales (TDN), energía metabolizable, energía neta y valor nutritivo en unidades alimenticias.

Estos ensayos se han realizado en una batería de células de metabolismo especiales para óvidos y utilizando seis corderos de raza manchega, machos, castrados, de cinco meses y medio de edad.

En cuanto a la metódica y técnicas analíticas se han seguido las utilizadas en la Estación Experimental del Zaidín, y para la determinación del molibdeno se ha empleado la técnica espectrofotométrica.

Los resultados obtenidos en las experiencias de digestibilidad, se tratan estadísticamente mediante el análisis de la variancia para diseños en "cuadrado latino", obteniéndose a continuación la mínima diferencia significativa.

De nuestros ensayos, se obtienen las siguientes conclusiones:

- 1.ª—Las medias aritméticas con su error, de los coeficientes de digestibilidad, obtenidos para la dieta con los distintos niveles de molibdeno empleados son:

	0,27 ppm	2,27 ppm	4,27 ppm
S. seca	69,38 $\mp$ 0,33	69,19 $\mp$ 1,29	68,31 $\mp$ 0,59
S. orgánica	71,80 $\mp$ 0,35	71,56 $\mp$ 1,35	70,74 $\mp$ 0,65
Proteína	58,46 $\mp$ 1,33	58,88 $\mp$ 1,33	58,91 $\mp$ 0,97
Grasa	74,22 $\mp$ 1,09	74,00 $\mp$ 1,75	72,94 $\mp$ 1,78
Fibra bruta	35,76 $\mp$ 0,62	36,26 $\mp$ 1,31	36,16 $\mp$ 1,12
M.E.L.N.	80,57 $\mp$ 0,53	80,12 $\mp$ 1,53	79,06 $\mp$ 0,78
M. minerales	40,34 $\mp$ 1,58	40,82 $\mp$ 1,71	39,18 $\mp$ 1,62
	6,27 ppm	8,27 ppm	10,27 ppm
S. seca	68,29 $\mp$ 0,75	69,84 $\mp$ 0,93	70,84 $\mp$ 1,10
S. orgánica	70,46 $\mp$ 0,78	72,38 $\mp$ 0,96	73,32 $\mp$ 1,07
Proteína	59,30 $\mp$ 1,36	59,96 $\mp$ 0,93	58,59 $\mp$ 1,08
Grasa	71,33 $\mp$ 1,19	74,28 $\mp$ 1,82	73,75 $\mp$ 1,09
Fibra bruta	36,49 $\mp$ 1,34	40,80 $\mp$ 2,11	43,75 $\mp$ 2,08
M.E.L.N.	78,63 $\mp$ 0,68	80,21 $\mp$ 0,95	81,00 $\mp$ 0,96
M. minerales	42,21 $\mp$ 1,44	39,38 $\mp$ 1,89	41,02 $\mp$ 2,34

2.<sup>a</sup>—Los valores nutritivos encontrados para cada uno de los niveles de molibdeno, expresados en principios digestibles totales (TDN), energía metabolizable, energía neta y unidades alimenticias, son:

ppm de Mo	TDN	E. metabolizable Cal/100 g.	E. neta Cal/Kg.	U. A./Kg.
0,27	67,84 $\mp$ 0,33	244,77	1.447,7	0,88
2,27	67,61 $\mp$ 1,26	243,41	1.434,1	0,87
4,27	66,83 $\mp$ 0,64	240,59	1.405,9	0,85
6,27	66,55 $\mp$ 0,73	239,59	1.395,9	0,85
8,27	68,41 $\mp$ 0,93	246,27	1.462,7	0,89
10,27	69,23 $\mp$ 0,98	249,24	1.492,4	0,90

3.<sup>a</sup>—El tratamiento estadístico pone de manifiesto que: al elevarse el contenido en molibdeno de la dieta, se incrementa significativamente la digestibilidad de la fibra (0,1 por ciento), siendo estas diferencias notablemente acusadas en los niveles de 8,27 y 10,27 ppm.

Como consecuencia de esta mayor digestibilidad de la fibra, los coeficientes de la materia seca, materia orgánica y principios digestibles totales, que integran el mencionado nutriente, se encuentran aumentados estadísticamente (10 por ciento, 5 por ciento y 10 por ciento, respectivamente), obteniéndose valores significativos en las dietas que contienen las mayores dosis de molibdeno.

Sobre la digestibilidad de la proteína, grasa, materias extractivas libres de nitrógeno y materias minerales, la adición de molibdeno no ejerce ningún efecto con significación.

En lo que se refiere a la digestibilidad de la proteína, pese a que las diferencias encontradas no tienen validez estadística, observamos que los coeficientes de las dietas experimentales con molibdeno, son siempre superiores al encontrado en la ración base, y teniendo en cuenta que la dieta empleada

contiene un bajo porcentaje proteico (7.8 por ciento), este aumento no debe ser debido al azar, sino al efecto del elemento mineral en estudio.

4. La adición de molibdeno a dietas para óvidos, con elevado contenido en fibra bruta, aumenta significativamente la digestibilidad de este nutriente, y ello repercute con validez estadística en los coeficientes de las materias seca y orgánica de la ración, y en el valor nutritivo de la misma puesto de manifiesto a partir de los TDN.
5. Por todo lo expuesto en este trabajo, estimamos que el molibdeno debe considerarse como un elemento conveniente en la alimentación de los óvidos, en las cantidades por nosotros ensayadas; y creemos sería interesante fijar definitivamente los niveles tóxicos y circunstancias dietéticas en las que puede producir disturbios patológicos.

### SUMMARY AND CONCLUSIONS

With the object of ascertaining the effect of the addition of molybdenum, at nontoxic levels, on the nutritive value and acceptance of a diet for sheep, digestibility experiments have been carried out following the rules established by the European Federation of Zootechnia.

A typical basic ration has been used in the feeding of the sheep, with a molybdenum content of 0.27 ppm. Five different levels of molybdenum, in the form of sodium molybdate, were added to this diet bringing the respective levels up to 2.27, 4.27, 6.27, 8.27 and 10.27 ppm.

Six digestibility experiments were carried out following the direct method, based on a "latin square", on the following coefficients of digestibility were obtained: dry matter, organic matter, protein, fat, fibre, N.F.P., and mineral matter. With these results, the total digestible nutrients (TDN), metabolizable energy, net energy and nutritive value in alimentary units for each of the levels of molybdenum used.

These tests have been carried out in a battery of metabolism cells especially designed for sheep, using six Manchego breed castrated sheep, five and a half months old.

As regards methodology and analytical techniques, those used in the Experimental Station of Zaidin have been employed, and the spectro photometric technique has been used for the determination of molybdenum.

The results obtained in the digestibility experiments have been treated statistically by means of variance analysis for designs in a "latin square", and the minimum significant difference subsequently obtained.

We have obtained the following conclusions from our tests:

1. The arithmetic averages with their error of the coefficients of digestibility obtained for the diet with the different levels of molybdenum used are:

	0.27 ppm	2.27 ppm	4.27 ppm
Dry matter	69.38 ± 0.33	69.19 ± 1.29	68.31 ± 0.59
Organic matter	71.80 ± 0.35	71.56 ± 1.35	70.74 ± 0.65
Protein	58.46 ± 1.33	58.88 ± 1.33	58.91 ± 0.97
Fat	74.72 ± 1.09	74.00 ± 1.75	72.94 ± 1.78
Fibre	36.76 ± 0.62	36.26 ± 1.31	36.16 ± 1.12
N.F.P.	80.57 ± 0.53	80.12 ± 1.53	79.06 ± 0.78
Mineral matter	40.34 ± 1.58	40.82 ± 1.71	39.18 ± 1.62
	6.27 ppm	8.27 ppm	10.27 ppm
Dry matter	68.29 ± 0.75	69.84 ± 0.93	70.84 ± 1.10
Organic matter	70.46 ± 0.78	72.38 ± 0.96	73.32 ± 1.07
Protein	59.30 ± 1.36	59.96 ± 0.93	58.59 ± 1.08
Fat	71.33 ± 1.19	74.28 ± 1.82	73.75 ± 1.09
Fibre	36.45 ± 1.34	40.80 ± 2.11	43.75 ± 2.08
N.F.P.	78.63 ± 0.68	80.21 ± 0.95	81.00 ± 0.96
Mineral matter	42.21 ± 1.44	39.38 ± 1.89	41.02 ± 2.34

2. The nutritive values found for each of the levels of molybdenum, expressed in total digestible nutrients (TDN), metabolizable energy, net energy and alimentary units, are:

ppm of Mo	TDN	Metabol. E. Cal/100 g.	Net E. Cal/Kg.	U. A./Kg.
0.27	67.84 $\mp$ 0.33	244.77	1,447.7	0.88
2.27	67.61 $\mp$ 1.26	243.41	1,434.1	0.87
4.27	66.83 $\mp$ 0.64	240.59	1,405.9	0.85
6.27	66.55 $\mp$ 0.73	239.59	1,395.9	0.85
8.27	68.41 $\mp$ 0.93	246.27	1,462.7	0.89
10.27	69.23 $\mp$ 0.98	249.24	1,492.4	0.90

3. The statistical treatment shows that: on raising the molybdenum content of the diet, the digestibility of the fibre (0.1%), increases significantly, these differences being particularly marked in the levels of 8.27 and 10.27 ppm.

As a result of this greater digestibility of the fibre, the coefficients of the dry matter, organic matter and total digestible nutrients, which make up this nutrient, increase statistically (10%, 5% and 10% respectively), significant values being obtained in those diets containing the higher levels of molybdenum.

The addition of molybdenum does not have any significant effect on the digestibility of the protein, fat, N.T.P. or mineral matter.

With regard to the digestibility of the protein, in spite of the differences found not having any statistical validity, we can see that the coefficients of the experimental diets with molybdenum are always higher than that found in the basic ration, and taking into account the fact that the diet employed has a low protein content (7.8%), this increase cannot be by chance, but due to the effect of the mineral element studied.

4. The addition of molybdenum to diets for sheep, with a high fibre content, significantly increases the digestibility of this nutrient, and this causes repercussion with statistical validity on the coefficients of the dry and organic matter of the diet, and on its nutritive value, as shown by the TDN.
5. From all that has been put forward in this paper, we consider that molybdenum can be considered as a suitable element in the food for sheep, in the quantities tested by us; and we believe that it would be interesting to fix definitely the toxic levels and dietetic circumstances in which it can produce pathological disturbances.

#### BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS, J. T., 1965.—*Nutrición Animal y Dietética Veterinaria*.—Editorial Acribia. Zaragoza.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, 1963.—*Necesidades nutritivas de los animales domésticos*. N.º 2, Rumiantes, Editorial Academia. León.
- AKOPYAN, O. A., 1963.—Disorder of purine metabolism in rats due to a molybdenum concentrate (molybdenite).—*Materialy 2-oi (Vtoroi) Itog. Nauchn. Konf. Inst. Gigieny. Truda i Profzabolevanii, Posvyasch.*: 103.
- AMON, I., SCHELER, W. y PETERS, R., 1967.—Effect of 5 on intestinal excretion of Mo.—*Acta Biol. Med.*, 19: 985.

- ARAGON, Teresa, 1969.—Experiencias de digestibilidad y rendimiento energético en conejos alimentados con distintos niveles grasos y a dos temperaturas. Estudio comparativo por las técnicas calorimétricas y de los coeficientes de digestibilidad.—Tesis doctoral. Facultad de Farmacia.—Universidad de Granada.
- ARRINGTON, L. R. y DAVIS, G. K., 1953.—Molybdenum toxicity in the rabbit.—*J. Nutrition*, 51: 295.
- ARRINGTON, L. R. y AMMERMAN, C. B., 1964.—Effect of Mo in diet on utilisation, growth and digestibility (rabbit, rat).—Federation of American Societies for Experimental Biology, 48<sup>a</sup> Conferencial Anual de Chicago, 1964. 23: 91.
- ARRINGTON, L. R., AMMERMAN, C. B. y MOORE, J. E., 1965.—Molibdenum toxicity in rats and rabbits.—*Quart. J. Florida Acad. Sci.*, 28: 129.
- ARTHUR, D., MOTZOK, I. y BRANION, H. D., 1958.—Availability of P supplements for chicks.—*Poultry Sci.*, 37: 1181.
- ARTHUR, D., 1965.—Interrelationships of molybdenum and copper in the diet of the guinea pig.—*J. Nutrition*, 87: 69.
- ASKEV, H. O., 1958.—Molybdenum in relation to the occurrence of xantin calculi in sheep.—*New Zealand J. Agric. Res.*, 1: 447.
- AUGUSTATIENE, E., 1966.—Effect of traces of manganese, molybdenum, and zinc on content of nitrogen and amino acids in bakers' yeast.—*Liet TRS, Mokslu Akad. Darb. Ser.*, 3.
- BARKER, S., 1961.—Studies on marsupial nutrition. III. The copper-molybdenum-inorganic sulfate interaction in the rotnest quokka, *Setonix brachyurus*.—*Austral J. Biol. Sci.*, 14: 646.
- BARSHAL, I., 1948.—Molybdenum content of pasture plants in relation to toxicity to cattle.—*Soil Sci.*, 66: 187.
- BINGLEY, J. B. y CARRILLO, B. J., 1966.—Hypocuprosis of cattle in the Argentine.—*Nature*, 209: 834.
- BOND, G. y HEWITT, E. J., 1961.—Molybdenum and the fixation of nitrogen in *Myrica* root nodules.—*Nature*, 190: 1033.
- BOZA, J., 1961a).—Experiencias de digestibilidad en cerdos retintos de tipo ibérico.—*Anales de Edafología y Agrobiología*, 20: 337.
- BOZA, J., 1961b).—El molibdeno en la alimentación animal.—*Avances en Alimentación Animal*, 2: 517.
- BOZA, J., 1967.—Experiencias de digestibilidad y de valor energético del fruto de la "Opuntia ficus-indica" en óvidos.—*Avances en Alimentación y Mejora Animal*, 8: 851.
- BRINKMAN, G. L. y MILLER, R. F., 1961.—Influence of cage type and dietary zinc oxide upon molybdenum toxicity.—*Science*, 134: 1531.
- BRUGGER, F. G. y VARELA, G., 1965.—Influencia de la raza sobre la digestibilidad.—*Avances en Alimentación y Mejora Animal*, 6: 509.
- BURROUGHS, W., LATONA, A., DE PAUL, P., GERLAUGH, P., 1951.—Mineral influences on urea utilisation and cellulose digestion by rumen microorganisms.—*J. Animal Sci.*, 10: 693.
- BUTLER, E. J., BARLOW, R. M. y SMITH, B. S. W., 1964.—Copper deficiency in relation to swaybarck in sheep. 2 Effect of dosing young lambs with molybdate and sulphate.—*J. Comp. Pathol.*, 74: 419.
- CARDON, B. P., 1953.—Influence of high-salt intake on cellulose digestion.—*J. Animal Sci.*, 12: 536.
- COLEAU, J.,—Minéraux et vitamines.—A.F.C.A. Paris.



- COMAR, C. L., SINGER, L. y DAVIS, G. K., 1949.—Molybdenum metabolism and interrelationships with copper and phosphorus.—*J. Biol. Chem.* 180: 913.
- COOK, G. A., LESPERANCE, A. L., BOHMAN, V. R. y JENSE, E. H., 1966.—Interrelationships of molybdenum and certain factors to the development of the molybdenum toxicity syndrome.—*J. Animal Sci.*, 25: 96.
- CRAMPTON, E. W., 1962.—*Nutrición Animal Aplicada*.—Editorial Acribia. Zaragoza.
- CRAPLET, C., 1955.—*Aliments et Alimentation des Animaux Domestiques*.—12<sup>a</sup> Edición. Vigot Frères. Editeurs. Paris.
- CUNNINGHAM, I. J., 1953a.—Molybdenum and animal health in New Zealand.—*New Zealand Soil. (Molybdenum Symposium)*. 3: 31.
- CUNNINGHAM, I. J., 1953b.—Molybdenum poisoning of cattle in the Swan River Valley of Manitoba.—*New Zealand J. Agric.* 4: 811.
- CUNNINGHAM, I. J., HOGAN, K. G. y LAWSON, B. M., 1959.—The effect of sulfate and molybdenum on copper metabolism in cattle.—*New Zealand J. Agric. Res.*, 5: 145.
- CHAMPMAN, H. L. (Jr.) y KIDDER, R. W., 1963.—Oral administration of molybdenum and cobalt to Brahman-Agnus heifers.—*J. Animal Sci.* 22: 985.
- CHARTON y LESBOUYRIES, G., 1957.—*Nutrition des Mammifères Domestiques*.—Vigot Frères, Editeurs. Paris.
- DAVIES, R. E., REID, B. R. y COUCH, J. L., 1959.—Molybdenum and copper in livers of chicks. Libro de la 23 Conferencia Anual del Instituto Americano de Nutrición. Atlantic, N. J. Federation Proc. 18: 515.
- DAVIES, R. E., REID, B. R., KURNICK, A. A. y COUCH, J. R., 1960.—The effect of sulfate on molybdenum toxicity in the chick.—*J. Nutrition*, 70: 193.
- DAVIS, G. K., 1950.—The influence of copper on the metabolism of phosphorus and molybdenum. Johns Hopkins Press, Baltimore (Maryland N.º 216).
- DICK, A. T. y BULL, L. B., 1945.—Some preliminary observations on the effect of molybdenum on copper metabolism in herbivorous animals.—*Austral Veterinary J.*, 21: 70.
- DICK, A. T., 1952.—Influence of inorganic sulfate on the copper-molybdenum interrelationship in sheep. *Austral. Veterinary J.*, 28: 30.
- DICK, A. T., 1953.—The effect of diet and molybdenum on copper metabolism in sheep. Preliminary observations on the effect of the high intakes of molybdenum and of inorganic sulphate on blood copper on fleece character in crossbred sheep. *Austral. Veterinary J.*, 29: 233.
- DICK, A. T., 1954.—Effects of inorganic sulfate on molybdenum and copper metabolism in sheep.—*Austral. Veterinary J.*, 30: 197.
- DICK, A. T., 1956.—Molybdenum in animal nutrition. *Soil Sci.*, 81: 229.
- DOWDY, R. P. y MATRONE, G., 1963a.—Copper-molybdenum interaction in sheep and chicks.—*J. Nutrition*, 95: 191.
- DOWDY, R. P. y MATRONE, G., 1963b.—A copper-molybdenum complex: its effects and movement in the piglet and sheep.—*J. Nutrition*, 95: 197.
- DREYFUS, J. C., 1967.—Metabolic cycles of elements. VII. Molybdenum. *Traite Biochem. Gen.*, 3: 578.
- ELLIS, W. C., PFANDER, W. H., MUHRER, M. E. y PICKETT, E. E., 1958.—Molybdenum as a dietary essential for lambs.—*J. Animal Sci.*, 17: 180.
- ELLIS, W. C. y PFANDER, W. H., 1960.—Further studies on molybdenum as a possible component of the "alfalfa ash factor" for sheep.—*J. Animal Sci.*, 19: 1260

- EVANS, J. L. y DAVIS, G. K., 1961.—Effects of phosphorus, sulfur, and molybdenum supplementation of a steer ration on cellulose digestion and on the rumen liquid concentrations of phosphorus and sulfur.—*J. Animal Sci.*, 20: 200.
- EVANS, J. L. y DAVIS, G. K., 1966a.—Dietary phosphorus, sulfur and molybdenum and mineral composition of rumen fluid. *J. Animal Sci.*, 25: 1010.
- EVANS, J. L. y DAVIS, G. K., 1966b.—Influence of sulfur, molybdenum, phosphorus and copper interrelationship in cattle upon cellulose digestion in vivo and in vitro.—*J. Animal Sci.*, 25: 1014.
- EYUBOV, I. Z., 1967.—Dependence of sheep morbidity on trace-element content in feeds.—*Veterinariya*, 44: 98.
- FAIRHALL, L. T., DUNN, R. C., SHARPLESS, N. E. y PRITCHARD, E. D., 1945.—Toxicity of molybdenum.—U. S. Public Health Serv. Bull. N.º 293.
- FEDERATION EUROPEENE DE ZOOTECHNIE, 1963.—Documento N.º 1068. I.N.R.A. Paris.
- FERRANDO, R., 1959.—Les bases de l'alimentation.—Vigot Frères, Editeurs. Paris.
- FERGUSON, W. S., LEWIS, A. H. y WATSON, S. J., 1938.—Action of molybdenum in nutrition of milking cattle.—*Nature*, 141: 553.
- FERGUSON, W. S., LEWIS, A. H. y WATSON, S. J., 1943.—The teart pastures of Somerset. I. The cause and cure of teartness.—*J. Agricultural Sci.*, 33: 44.
- FONOLLA, J., 1967.—La edad como factor modificante de la digestibilidad en el cerdo.—*Avances en Alimentación y Mejora Animal*, 8: 399, 507 y 603.
- GALLAGHER, C. H., 1964.—Nutritional factors and enzymological disturbances in animals.—Crosby Lockwood and Son. Londres.
- GOODRICH, R. D. y TILLMAN, A. D., 1965.—Copper, sulphate and molybdenum interrelationship in sheep.—*J. Animal Sci.*, 24: 881.
- GRADOVA-KRILOVA, N. B., 1967.—Influence of molybdenum on the fixation of atmospheric nitrogen of some free-living microorganism.—*Biol. Azot. Ego. Rol. Zembod. SSSR*, 52.
- GRAY, L. F. y ELLIS, G. H., 1950.—Some interrelationsheeps of copper molybdenum, zinc and lead in nutrition of the rat.—*J. Nutrition*, 40: 441.
- GRAY, L. F. y DANIEL, L. J., 1964.—Effect of the copper status of the rat on the copper-molybdenum-sulfate interaction.—*J. Nutrition*, 84: 31.
- HAMMOND, J., 1959.—Avances en Fisiología Zootécnica.—Editorial Acribia. Zaragoza.
- HENDERSON, J. A., 1957.—Conditioned copper deficiency in Canadian cattle.—*Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 21: 332.
- HOGAN, K. G. y HUTCHINSON, A. J., 1965.—Molybdenum and sulphate in the diet and the effect on the molybdenum content of the milk of grazing sheep.—*New Zealand J. Agric. Res.* 8: 625.
- HOGAN, K. G., MONEY, D. F. L. y BLAYNEY, Annette, 1968.—The effect of a molybdate and sulphate supplement on the accumulation of copper in the livers of penned sheep.—*New Zealand J. Agric. Res.*, 11: 435.
- HUBBERT, F., CHENG, E. y BURROUGHS, W., 1956.—Mineral requirement of rumen microorganisms for cellulose digestion. Influence of K, Na, Rb, Li and Cs on cellulose digestion by rumen microorganisms; Na and K influences in lamb fattening rations.—*J. Animal Sci.*, 15: 1246.
- IL'INA, T. K., 1963.—Role of molybdenum in the hydrogen-donor system of nitrogenfixing Mycobacteria.—*Mikrobiologiya*, 37: 217.
- JOHNSON, H. L. y MILLER, R. F., 1963.—Possible mechanism for dietary molybdenum toxicity in the rat.—*J. Nutrition*, 81: 271.

- KARASEVICH, E. K., 1963.—Influence of growth stimulators and trace elements on the productivity of atmospheric N fixation by weakened strains of *Azotobacter*.—Dokl. Mosk. Sel'skokhoz Akad., 84: 274.
- KLINCARE, A. y KRESLINA, D., 1963.—Influencia de trace elements on the development of nitrogen-fixing bacteria in the rizosphere of agricultural plants.—Pochv. i Sel'skokhoz. Mikrobiol. 155.
- KLINCARE, A., 1964.—Influence of trace elements, Cu, Mn, Mo and B on the effectiveness of the symbiosis of nodule bacteria and the fodder bean.—Mikroorganizmy y Rast., 2: 23.
- KOVAL'SKII, V. V., LETUNOVA, S. V. y GIVOVSKAA, I. F., 1967.—Nitrogen fixation and absorption of molybdenum by strains of *Azotobacter chroococcum*.—Verndatsukis VI Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 173: 199.
- KOWALCZYK, T., POPE, A. L., BERGER, K. C., MUGGENBURG, B. A., 1964.—Chronic copper toxicosis in sheep fed dry feed.—J. American Veterinary Med. Assoc., 145: 352.
- KRATZER, F. M., 1952.—Effects of dietary Mo on chicks and poult. —Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 80: 483.
- KRYLOVA, N. B., 1963.—Influence of Mo and V on N fixation.—Dokl. Mosk. Sel'kokhoz Akad., 84: 293.
- KURDINA, R. M., 1968.—Effect of molybdenum on the nitrogen-fixing activity of *Azotobacter* on a background of various sources of nitrogen.—Tr. Inst. Microbiol. Virusol Akad. Nauk Kaz. SSR., 11: 80.
- LALICH, J. J., GROUPNER, K. y JOLIN, J., 1965.—The influence of copper and molybdate salts on the production of bony deformities in rats.—Lab. Invest. 14: 1482.
- LEPORE, P. D. y MILLER, R. F., 1965.—Embryonic viability as influenced by excess molybdenum in chicken breeder diets.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 118: 155.
- LEROY, A., 1956.—Cría racional del ganado.—Ediciones Gea. Barcelona.
- LEWIS, A. H., 1943.—Teart pastures of Somerset. II Relation between soil and teartness. III Reducing the teartness of pasture herbage.—J. Agric. Sci., 33: 52.
- LOPEZ AFAN DE RIVERA, J., 1964.—Digestibilidad y valor nutritivo en óvidos de los ensilados de cabo de caña y cabezas de remolacha azucarera.—Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
- MAHENDRA, S., PATHAK, A. N., 1962.—Effects of trace elements on nitrogen fixation. Agra. Univ. J. Res., 11: 29.
- MARCILESE, N. A., AMMERMAN, C. B. y DAVIS, G. K., 1966.—Effect of Mo and So upon the kinetics of Cu metabolism in sheep.—J. Animal Sci., 25: 906.
- MAYNARD, L. A., 1955.—Nutrición Animal.—U.T.E.H.A. 2.<sup>a</sup> Edición. México.
- Mc DONALD, I. W., 1968.—The nutrition of grazing ruminants.—Nutr. Abst. Rew., 38: 392.
- MILLER, E. C. y DENTON, C. A., 1959.—Molybdenum-sulfate interrelationship in the growing chicks.—Poultry Sci., 38: 910.
- MILLER, R. F., PRICE, N. O. y ENGEL, R. W., 1956.—Added dietary inorganic sulfate on rats fed Mo.—J. Nutrition, 60: 539.
- MILLS, C. F., 1960.—Comparative studies of copper, molybdenum and sulphur metabolites in the ruminant and the rat.—Proc. Nutr. Soc., 19: 162.
- MILLS, C. P. y FELL, B. F., 1960.—Demyelination in lambs born of ewes maintained on high intakes of sulfate and molybdate.—Nature, 185: 20.
- MORRISON, F. B., 1951.—Alimentos y alimentación del ganado.—U.T.E.H.A., México.

- MUSCH, R. y SCHÖBERL, A., 1961.—Zum Problem von Molybdävergiftungen bei weidenden Rindern.—Deutsch. Tierärztl. Wochenscher., 68: 296.
- MYLREA, P. J., 1958.—Copper-molybdenum and sulphur metabolism interaction and the copper status cattle.—Austral. J. Agric. Res., 9: 373.
- NIELANDS, J. B., STRONG, F. M. y ELVEHJEM, C. A., 1948.—Molybdenum in the nutrition of the rat.—J. Biol. Chem., 172: 431.
- ODYNETS, R. N., 1966.—Distribution of molybdenum in sheep and its exange and interrelations with other elements in metabolism.—Mikroelemen. Zhivotnovod. Rastenievod., Akad. Neuk, 3: 20.
- RAMAIAH, A. y SHANMUGASUNDARAM, E. R. B., 1962.—Molybdenum toxicity in rice moth larvae.—Naturwissenschaften, 49: 495.
- RAMAN, N., SIVARAMA SASTRY, K. y SARMA, P. S., 1962.—Influence of sulfur compounds on molybdenum toxicity in *Aspergillus niger*.—Biochem. et Biophys. Acta, 56: 195.
- RENZO DE, E. C., HEYTLER, P. C. y KALEITA, E., 1954.—Further evidence that molybdenum is a copper factor of xantine ovidaxe.—Arch. Biochem. Biophys., 49: 242.
- ROBINSON, W. D. y EDINGTON, G., 1948.—Toxic aspect of molybdenum in vegetation.—Soil. Sci., 66: 197.
- ROJAS, J., VARELA, G., FONOLLA, J., SORIANO, J. y RUANO, J., 1965.—Digestibilidad y valor nutritivo en ovinos del heno de Sanguisorta minor (*Poterium sanguisorta*, L.) de parcelas experimentales de la Sierra de Loja.—Avances en Alimentación y Mejora Animal, 6: 149.
- RUSSELL, F. M., PRICE, N. O. y ENGEL, R. W., 1956.—Added dietary inorganic sulfate its effect upon rats fed molybdenum.—J. Nutrition, 60: 539.
- SALSBURY, R. L., SMITH, C. K. y HUFFMAN, C. F., 1956.—Effect of high levels of Co on the digestion of cellulose by rumen microorganisms.—J. Animal Sci., 15: 863.
- SASMAL, N., KAR, N. C., DIPTI, Mukherjee y CHATTERJEE, C., 1968.—The effect of molybdenum on ascorbic acid metabolism in rats.—Biochem. J. 106: 633.
- SCAIFE, J. F., 1956.—Molybdenum excretion and retention in sheep.—New Zealand J. Sci. Technol., 38: 293.
- SHERIDA, G. M., SIRNY, R. J. y TILLMAN, A. D., 1962.—Molybdenum studies with sheep.—J. Animal Sci., 21: 53.
- SHIRLEY, R. L., JETER, M. A., FEASTER, J. P., Mc CALL, J. T., OUTLER, J. C. y DAVIS, G. K., 1954.—Placental transfer of Mo<sup>99</sup> and Ca<sup>45</sup> in swine.—J. Nutrition, 54: 59.
- SIVARMA, S. K., RAMAIAH, A. y SARMA, P. S., 1958.—Influence of molybdenum toxicity on sulfur aminoacid metabolism in *Neurospora crassa*.—Biochem. Biophys. Acta, 30: 438.
- SPAIS, A., PAPASTERIADIS, A., AGIANNIDIS, A. y LAZARIDIS, T., 1966.—Action of inorganic sulphate, sulphide, cyanide and molybdenum on liver cobalt in lambs.—Aristotelian Univ. Thessaloniki. Report anual de la Facultad de Veterinaria, 7: 167.
- SPEEDING, C. R. W., 1968.—Producción ovina.—Editorial Academia, León.
- STOOKEY, G. K. y MUHLER, J. C., 1959.—I Effect of molybdenum on fluoride retention in the rat.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101: 379.
- SUTTLE, N. F. y FIELD, A. C., 1968a).—Effect of intake of copper, molybdenum, and sulfate on copper metabolism in sheep. I Clinical condition and distribution of copper in blood of the pregnant ewe.—J. Com. Pathol. 78: 351.

- SUTTLE, N. F. y FIELD, A. C. (1968b).—Effect of intake copper, molybdenum, and sulfate on copper metabolism in sheep. II Copper status of the newborn lamb.—*J. Comp. Pathol.* 78: 363.
- TAVLITSKI, J., 1965.—Molybdenum in biology. I. Role of molybdenum in the metabolic process.—*Experientia*, 21: 177.
- THOMAS, J. W. y MOSS, S., 1951.—Effect of orally administered Mo on growth, spermatogenesis and testes histology of young dairy bulls.—*J. Dairy Sci.*, 34: 929.
- TILLMAN, A. D., SHERIHA, G. M. y SIRNY, R. J., 1965.—Nitrate reduction studies with shepp.—*J. Animal Sci.*, 24: 1140.
- TOLGYESI, G. y ELMOTY, I. A., 1967.—Elimination of excess molybdenum by cattle.—*Dep. Intern. Med. Univ. Vet. Sci. Budapest.* 17: 39.
- UESAKA, S., KAWASHIMA, R. y ZEMBAYASHI, M., 1965.—Importance of trace elements in farm animal feeding. XXVI Effects of trace elements on the activities of rumen bacteria with special reference to the differences of the effects appearing in cellulose digestion, protein synthesis, and vitamin B<sub>12</sub> synthesis by rumen bacteria.—*Chemica Abstracts*, 63: 4759.
- UESAKA, S., KAWASHIMA, R. y ZEMBAYASHI, M., 1966a.—Importance of trace elements in farm animal feeding. XXVIII. Effects of several trace elements on the volatile fatty acids production by rumen bacteria.—*Kyoto Daigaku Shokuryo gaku Kenkyusho, Hokoku*, 29: 9.
- UESAKA, S., KAWASHIMA, R. y ZEMBAYASHI, M., 1966b.—Importance of trace elements in farm animal feeding. XXIX. Effects of several mineral elements on the production of volatile fatty acids by rumen protozoa.—*Kyoto Daigaku Shokuryo Kagaku Hokoku*, 29: 21.
- UNDERWOOD, E. J., 1962.—Trace elements in human and animal nutrition.—*Academic Press Inc. Nueva York y Londres.*
- UNDERWOOD, E. J., 1966.—Mineral nutrition of livestock.—*FAO and Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks.*
- VANDERVEEN, J. E. y KEENER, H. A., 1964.—Effects of molybdenum and sulfate sulfur on metabolism of copper in dairy cattle.—*J. Dairy Sci.*, 47: 1224.
- VAN REEN, R., GLASSFORD, K. F. y ZAGROSKY, J. P., 1959.—The specificity of the molybdate-sulfate interrelationship in rats.—*J. Nutrition*, 68: 243.
- VARELA, G., FERRER, J. y BOZA, J., 1961.—Experiences de digestibilité chez les chèvres de race granadine.—*Libro de comunicaciones VIII Congreso Internacional de Zootecnia*: 182.
- VIRTANEN, A. I., 1955.—Importance of some oligoelements in nitrogen fixing organisms. Semaine d'Etudes sur le problème des Oligoelements dans la vie végétale et animale.—*Pontificale Academiae Scientiarum*, 14: 83.
- WHITESIDE, C. H., FERGUSON, T. M., REID, B. L. y COUCH, J. R., 1961.—Molybdenum, zinc, and unidentified factor sources in the diet of caged layers.—*Poultry Sci.*, 40: 313.
- WYNNE, K. N. y Mc CLYMONT, G. L., 1956.—Cu-Mo-Sulfate interaction in induction of ovine hypocupremia and hypocuprosis.—*Austral. J. Agric. Res.*, 7: 45.