

ÉTIOPATHOGÉNIE DES CARENCES EN OLIGOÉLÉMENTS DANS LES ENSILAGES DE MAÏS ENRICHIS EN URÉE ET EN SOUFRE

M. LAMAND

avec la collaboration technique de Claudine LAB

*Station de Physiopathologie de la Nutrition
Centre de Recherches zootechniques et vétérinaires, I. N. R. A.,
Theix, 63110 Beaumont*

RÉSUMÉ

L'influence de l'urée, du soufre, du niveau énergétique a été étudiée au cours de 5 expériences de bilan permettant le calcul de la digestibilité et de la rétention apparentes du cuivre, du zinc et du manganèse.

L'urée comparée à la caséine ne modifie pas le métabolisme des oligoéléments. A des ensilages renfermant de 0,9 à 1,1 g de soufre/kg MS, l'addition de 0,6 ou 2,9 g de soufre/kg MS diminue la digestibilité ou la rétention du zinc et du manganèse et parfois du cuivre.

Une faible qualité énergétique de l'ensilage aggrave l'interférence du soufre.

Les supplémentations en oligoéléments habituellement utilisées risquent d'être insuffisantes avec les ensilages de maïs enrichis en urée et en soufre.

INTRODUCTION

Il est relativement fréquent de rencontrer des accidents de carences en oligoéléments chez des bovins recevant un ensilage de maïs enrichi en urée et minéraux. L'ensilage est fréquemment complétement en soufre, pour améliorer l'utilisation de l'azote, en minéraux majeurs et en oligoéléments pour l'amener aux teneurs minérales recommandées. Or, certaines carences surviennent malgré une supplémentation correctement ajustée : il y a donc lieu de suspecter une interférence de certains additifs avec la digestibilité des oligoéléments.

Nous avons voulu tester l'influence de l'urée, puis du soufre sur la digestibilité et la rétention du cuivre, du zinc et du manganèse. L'évolution du soufre vers la synthèse des acides aminés et non vers la forme sulfure étant dépendante du niveau énergétique de la ration, nous avons aussi étudié l'influence du niveau énergétique de la ration sur la digestibilité et la rétention des oligoéléments.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude présentée ici a été obtenue par la méthode des bilans. Nous avons calculé la digestibilité et la rétention apparentes sans tenir compte de l'excrétion urinaire.

Dans chacune des expériences, 6 agneaux mâles d'un poids moyen de 20 kg ont été répartis au hasard en deux lots de trois, à l'exception de la dernière expérience où 12 agneaux ont été utilisés selon le même dispositif. L'accoutumance au régime a été de 3 semaines, le bilan a été fait la 4^e semaine et sur 5 jours. A la fin de cette première période le dispositif expérimental a été inversé, les animaux changeant de régime, et un deuxième bilan a été effectué à la 8^e semaine et sur 5 jours. Les animaux étaient placés en cage plastique, à plancher en bois ou en aluminium. Une semaine avant le bilan, ils étaient équipés de harnais et de sacs plastiques pour recueillir les fèces quantitativement et sans contamination. Les mangeoires et les abreuvoirs étaient en plastique.

Le soufre des ensilages a été dosé par la méthode de BIRD et FOUNTAIN (1970). Les oligo-éléments ont été dosés dans l'eau et les échantillons d'aliments, de refus et dans les fèces par spectrométrie d'absorption atomique après minéralisation nitroperchlorique (BELLANGER, 1971). Les ensilages étudiés avaient une teneur comprise entre 0,9 et 1,1 g S/kg MS. L'eau du robinet a été utilisée pour l'abreuvement, elle renfermait 0,008 mg Cu/l, 0,13 mg Zn/l, 0,007 mg Mn/l.

Les rations ont été distribuées *ad libitum* (10 p. 100 de refus environ).

1^{re} expérience

L'ensilage de maïs a été supplémenté par la même quantité de matière azotée : soit avec une forme d'azote soluble (15 g d'urée à 44 p. 100 d'azote/kg MS), soit avec une protéine (40 g de caséine/kg MS pour le lot témoin).

2^e expérience

L'ensilage a été enrichi en maïs grain broyé (30 p. 100 de la MS) et en azote à raison de 41 g MAT/kg MS sous forme d'urée + 37 g MAT/kg MS sous forme de caséine pour satisfaire les besoins énergétiques et azotés des agneaux en croissance. Un des lots a reçu un régime enrichi à raison de 0,4 g de soufre en fleur/kg MS et 2 g de sulfate de sodium hydraté, soit au total 0,6 g S/kg MS.

3^e expérience

La même ration que dans la 2^e expérience (même ensilage et mêmes supplémentations) a été enrichie en oligoéléments pour le lot recevant du soufre, de telle sorte que l'augmentation de teneur compense les diminutions de digestibilité, observées dans la 2^e expérience.

4^e expérience

L'ensilage a été enrichi en énergie et en azote comme dans la 2^e expérience. Un des lots a été supplémenté en soufre. L'addition correspondait à 2,9 g S/kg MS, soit 2 g de sulfate de sodium hydraté et 2,7 g de soufre en fleur.

5^e expérience

Un ensilage relativement pauvre en énergie (27 p. 100 MS et 28 p. 100 de grain/MS de la plante entière) a été enrichi en azote et en soufre comme dans la quatrième expérience. Un des lots a reçu cet ensilage distribué seul, l'autre l'a reçu avec 30 p. 100 de maïs grain broyé.

L'analyse statistique, adaptée au dispositif expérimental factoriel, a porté sur la variance due au traitement, aux animaux et à la période. Dans l'expérience 5, en raison de l'hétérogénéité de comportement des animaux vis-à-vis du manganèse, les données ont été analysées par le test *t* par couples, chaque animal étant comparé à lui-même pour les deux traitements.

TABLEAU 1

Influence de l'urée sur la digestibilité et la rétention des oligoéléments (expérience n° 1)
Urea influence on trace elements digestibility and retention (first experiment)

Régime <i>Diet</i>	Cuivre <i>Copper</i>			Zinc <i>Zinc</i>			Manganèse <i>Manganese</i>		
	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)
Urée <i>Urea</i>	7,8	21	4,6	27,5	18	13,8	37,5	12	12,5
Caséine <i>Casein</i>	7,7	17,6	4	27,3	18,6	14,9	36,6	9,8	10,4
Différence statistique <i>Statistical analysis</i>		NS	NS		NS	NS		NS	NS
	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)

TABLEAU 2

Influence du soufre sur la digestibilité et la rétention des oligoéléments (expérience n° 2)
Sulfur influence on trace elements digestibility and retention (second experiment)

Régime <i>Diet</i>	Soufre ajouté (g/kg MS)	Cuivre <i>Copper</i>			Zinc <i>Zinc</i>			Manganèse <i>Manganese</i>			Molybdène <i>Molybdenum</i>
		Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)
Urée, caséine + soufre <i>Urea, casein + sulfur</i>	0,6	5,5	22,3	3	24	24,9	16,5	33,4	8	6	0,8
Urée + caséine <i>Urea + casein</i>	0	5,7	27,1	4,2	23	22,3	14,9	34,8	16,6	16	0,8
Différence statistique <i>Statistical analysis</i>			NS	S		NS	NS		S	S	
Proportion/témoins % <i>Control ratio %</i>				71					48,2	37,5	
	<i>Added sulfur</i> (g/kg DM)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)

RÉSULTATS

Les consommations des animaux n'ont pas différé d'une expérience à l'autre, ni d'un lot à l'autre dans les expériences 1 à 4. La consommation moyenne a été de 61,8 g par unité de poids métabolique ($P^{0,75}$) et par jour. Dans la cinquième expérience, les animaux ayant reçu l'ensilage enrichi en maïs grain ont ingéré 74,8 g/kg^{0,75}/jour pour 61,3 g chez les témoins ($P < 0,01$).

TABLEAU 3

Influence de la supplémentation en oligoéléments sur l'interférence due au soufre
(Expérience n° 3)

Trace elements supplementation influence on sulfur interference
(Third experiment)

Régime <i>Diet</i>	Soufre ajouté (g/kg MS)	Cuivre <i>Copper</i>			Zinc <i>Zinc</i>			Manganèse <i>Manganese</i>			Molybdène <i>Molybdenum</i>
		Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg MS)	Teneur (mg/kg MS)
Urée + caséine + soufre + oligoéléments <i>Urea + casein + sul- fur + trace elements</i>	0,6	6,9	6,5	1,3	26,9	18,3	14	65,2	5	10,2	0,7
Urée + caséine <i>Urea + casein</i>	0	5,4	8,9	1,3	23,9	20,3	14	58,2	3	3,2	0,7
Différence statistique <i>Statistical analysis</i>			NS	NS		NS	NS		NS	NS	
Autre variance significative <i>Other significant variance</i>			Animaux	Animaux + période		Période	Période			Animaux + période	
	<i>Added sulfur (g/kg DM)</i>	<i>Content (mg/kg DM)</i>	<i>Digestibility (%)</i>	<i>Retention (mg/100 kg BW)</i>	<i>Content (mg/kg DM)</i>	<i>Digestibility (%)</i>	<i>Retention (mg/100 kg BW)</i>	<i>Content (mg/kg DM)</i>	<i>Digestibility (%)</i>	<i>Retention (mg/100 kg BW)</i>	<i>Content (mg/kg DM)</i>

Dans la première expérience, comparée à une forme d'azote protéique, l'urée n'a eu aucune influence sur la digestibilité et la rétention des oligoéléments étudiés (tabl. 1).

Dans les expériences 2 et 4 (tabl. 2 et 4), on voit que le soufre interfère avec la digestibilité et la rétention des oligoéléments. Dans la deuxième expérience, la diminution de la digestibilité du cuivre est un peu inférieure à la limite de signification et la rétention de cet élément, pour le lot avec soufre, est de 29 p. 100 inférieure à celle des témoins. La digestibilité du zinc n'est pas modifiée dans cette expérience alors que celle du manganèse a été assez fortement diminuée (48 p. 100 de celle des témoins). La rétention est donc passée pour le lot avec soufre à 6 mg Mn/100 kg vif, alors qu'elle a été de 16 chez les témoins.

TABLEAU 4

Influence d'une supplémentation relativement élevée de soufre sur la digestibilité et la rétention des oligoéléments

(expérience n° 4)

High sulfur supplementation effect on trace elements digestibility and retention (fourth experiment)

Régime <i>Diet</i>	Soufre ajouté (g/kg MS)	Cuivre <i>Copper</i>			Zinc <i>Zinc</i>			Manganèse <i>Manganese</i>			Molybdène <i>Molybdenum</i>
		Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)
Urée + cas. + soufre <i>Urea + cas. + sulfur</i>	2,9	4,7	12,9	1,6	24	17,4	11,2	28	7,2	5,6	0,5
Urée + caséine <i>Urea + casein</i>	0	4,6	12,8	1,4	25	28	16,8	28	17	9,7	0,5
Différence statistique <i>Statistical analysis</i>			NS	NS		HS	S		NS	S	
Proportion/témoins <i>Control ratio</i>						62,1	66,6		42,3	57,7	
Autre variance signif. <i>Other significant var.</i>			Ani- maux	Ani- maux							
	<i>Added sulfur</i> (g/kg DM)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)

Dans la troisième expérience (tabl. 3), la supplémentation en oligoéléments du régime enrichi en soufre s'est avérée efficace et a permis de pallier la diminution de rétention du cuivre et du manganèse. Les digestibilités obtenues sont variables avec les animaux et dans le temps.

Dans la quatrième expérience, nous ne retrouvons plus d'interférence du soufre avec la rétention du cuivre. En revanche, l'addition de 2,9 g S/kg MS a pro-

voqué une chute de la digestibilité du zinc (62,1 p. 100 du témoin pour le lot avec soufre). La rétention du zinc a également été réduite d'un tiers et de près de la moitié pour le manganèse.

L'addition de maïs grain broyé à l'ensilage enrichi en soufre, dans la cinquième expérience, a significativement amélioré la digestibilité et la rétention du zinc et du manganèse (tabl. 5). Le lot sans grain a eu une digestibilité du zinc de 65,4 p. 100 par rapport au lot témoin (avec grain) et pour le manganèse, 41,5 p. 100 par rapport au lot témoin. De même, les rétentions ont été respectivement pour le zinc et le manganèse : 55, 1 p. 100 et 32,2 p. 100 par rapport à celles des témoins.

TABLEAU 5

Influence du niveau énergétique sur l'interférence du soufre avec les oligoéléments
(expérience n° 5)
Energy level influence on sulfur interference with trace elements
(fifth experiment)

Régime Diet	Soufre ajouté (g/kg MS)	Cuivre Copper			Zinc Zinc			Manganèse Manganese			Molybdène Molybdenum
		Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	Teneur (mg/kg MS)	Digestibilité (%)	Rétention (mg/100 kg vif)	teneur (mg/kg MS)
Urée + cas. + soufre <i>Urea + cas. + sulfur</i>	2,9	8,4	24,4	5,7	31,7	21,9	20,9	2,2	5,9	3	0,8
Urée + cas. + soufre + maïs grain <i>Urea + cas. + sulfur</i> <i>+ maize grain</i>	2,9	6,8	25,3	6	31,8	33,5	37,9	19	14,2	9,3	0,7
Différence statistique <i>Statistical analysis</i>			NS	NS		S	HS		S (< 0,05)	S (< 0,025)	
Autre variance signifi. <i>Other significant var.</i>			Ani- maux	Ani- maux		Pé- riode	Pé- riode		Ani- maux	Ani- maux	
Proportion/témoins % <i>Control ratio %</i>						65,4	55,1		41,5	32,2	
	<i>Added sulfur</i> (g/kg DM)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> (mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)	<i>Digestibility</i> (%)	<i>Retention</i> mg/100 kg BW)	<i>Content</i> (mg/kg DM)

DISCUSSION

Les teneurs en soufre des rations étudiées n'ont pas été suffisamment élevées pour perturber les ingestions des animaux.

L'étude de la digestibilité et de la rétention des oligoéléments par la méthode

des bilans est limitée par la précision (MILLS et WILLIAMS, 1971 ; ROBINSON *et al.*, 1973). Nous n'avons pas tenu compte de l'excrétion urinaire, celle-ci étant faible pour le cuivre, le zinc et le manganèse et inférieure à l'erreur inhérente à la méthode (MILLS et WILLIAMS, 1971 ; UNDERWOOD, 1972).

Nous avons pris des agneaux en croissance pour obtenir des bilans aussi positifs que possible, l'erreur sur un bilan est en effet d'autant plus grande que celui-ci est proche de zéro.

Les contaminations sont une des causes d'imprécision. Nous avons essayé de supprimer ces contaminations en mettant hors de portée des animaux tout objet métallique ou peint et en laissant dans la mesure du possible les animaux à l'abri de la poussière. Les aliments ont été offerts dans des récipients en plastique. Par ailleurs, la récolte des fèces dans un sac, doublé de plastique, maintenu par un harnais, a l'avantage d'être quantitative et non contaminante. Ce harnais a été placé au minimum 7 jours avant les mesures pour ne pas perturber l'appétit. Les analyses des échantillons, faites en double, ont été recommencées si elles différaient de plus de 5 à 6 p. 100.

Le paramètre « digestibilité apparente » s'est avéré plus hétérogène d'un animal à l'autre que la rétention apparente ce qui explique que nous ayons parfois trouvé dans telle ou telle expérience une différence significative sur la rétention et non sur la digestibilité.

Dans toutes les expériences, les digestibilités et rétentions obtenues pour le cuivre sont de l'ordre de grandeur de celles précédemment obtenues par SUTTLE (1973) pour des agneaux après sevrage.

Dans la première expérience, l'urée n'a provoqué aucun changement de digestibilité ou de rétention des oligoéléments ; on peut donc considérer que l'azote soluble, du moins sous cette forme, ne modifie pas l'assimilabilité apparente de ces éléments.

La ration de la deuxième expérience n'était pas anormalement riche en soufre. La plupart des auteurs (WHANGER, 1972 ; CONRAD et BOUCHARD, 1973) considèrent que 2 g S/kg MS constitue à peu près une teneur optimum.

L'interférence du soufre inorganique avec la rétention du cuivre, retrouvée dans cette expérience, est classique (SPAIS *et al.*, 1968). Cependant, elle n'intervient qu'en présence de molybdène (MARCILESE *et al.*, 1969, 1970). Or, la teneur en molybdène des ensilages étudiés était faible, ce qui explique que nous ayons observé une diminution de la digestibilité et surtout de la rétention du cuivre relativement limitée et seulement dans la deuxième expérience.

Le métabolisme du manganèse a été plus sérieusement perturbé.

Avec une certaine approximation, on peut considérer que, d'après la deuxième expérience, pour ramener la rétention du cuivre et du manganèse des animaux ayant reçu du soufre au niveau des témoins, il fallait augmenter les apports pour compenser la diminution de la digestibilité. L'augmentation, respectivement de 20 p. 100 pour le cuivre et 100 p. 100 pour le manganèse, s'est avérée efficace dans la troisième expérience.

Dans la quatrième expérience, l'addition de 2,9 g S/kg MS, taux nettement supérieur à l'optimum, a fait apparaître une diminution de la digestibilité et de la rétention du zinc et du manganèse. Pour ce dernier élément, on ne remarque pas d'aggravation de l'interférence liée à la dose de soufre. Pour ramener la rétention

du zinc et du manganèse au niveau des témoins, il aurait fallu remonter les teneurs respectivement de 50 à 136 p. 100.

Dans la cinquième expérience, une ration limitée en énergie a aggravé l'interférence du soufre sur la digestibilité et la rétention du zinc et du manganèse. On sait en effet que l'incorporation du soufre dans des composés organiques est d'autant meilleure que la ration est riche en concentré (EMERY *et al.*, 1957). Le soufre en excès (sous forme de soufre en fleur ou de sulfate) risque d'être transformé dans le rumen en sulfures (BIRD, 1972).

En conclusion, dans le cas de l'utilisation d'ensilage de maïs, supplémenté en soufre, il est nécessaire d'augmenter les apports en oligoéléments. Les teneurs recommandées par l'*Agricultural Research Council* (1965) pour satisfaire les besoins en oligoéléments des ruminants risquent d'être insuffisantes. L'équilibre énergétique d'une telle ration est à surveiller, tant pour maintenir le niveau d'ingestion de la ration et les performances des animaux que pour ne pas aggraver la diminution de digestibilité du zinc et du manganèse.

Reçu pour publication en avril 1974.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier la Société Commerciale des Potasses et de l'Azote pour l'aide matérielle qu'elle a apportée à ces expérimentations.

SUMMARY

AETIOPATHOGENESIS OF TRACE ELEMENT DEFICIENCIES WITH MAIZE SILAGE SUPPLEMENTED BY UREA AND SULPHUR

The influence of urea, sulphur and the energy level on the apparent availability and retention of copper, zinc and manganese were studied in five balance trials.

Six male lambs of about 20 kg were used in the first four trials and 12 in the fifth trial. After a first balance on the fourth week the experimental design was reversed, the control animals receiving the sulphur diet. A second balance was measured during the 8th week.

The maize silage studied contained 0.9 to 1.1 g S/kg DM. In the first trial, the influence of 40 g casein/kg DM was tested against 15 g urea/kg DM. No difference as to the trace elements absorption was found between the two diets.

In the second trial, the addition of 0.6 g S/kg DM to maize silage enriched in casein, urea and maize grain decreased the copper and manganese availability. Raising the trace element content of the diet according to the digestibility found in the second trial was sufficient to conceal the sulphur interference (third trial).

In the fourth trial, 2.9 g S/kg DM were added to the diet. The zinc and manganese availability in the sulphur group fell to 62.1 p. 100 and 42.3 p. 100 respectively of the control. The zinc and manganese retention fell to 66.6 p. 100 and 57.7 p. 100 respectively of the control.

With a low energy silage supplemented with 2.9 g S/kg DM, adding ground maize enhanced zinc and manganese digestibility and retention. The differences observed were of the same order as in the fourth trial.

It may be concluded that with a sulphur addition to a maize silage, even at normal level, the apparent availability and retention of trace elements is lowered. The usual trace elements recommendations for mineral nutrition could be, in this case, inadequate.

РЕЗЮМЕ

Этиопатогенез недостатков олигоэлементов в силосах кукурузы, обогащённой мочевиной и серой.

Влияние мочевины, серы и энергетического уровня было изучено в пяти балансовых опытах, которые позволили определить видимую переваримость и задержание меди, цинка и марганца.

В сравнении с казеином, мочевина не изменяет метаболизма олигоэлементов. Когда силос содержит 0,9-1,1г серы/кг сухого вещества, добавка 0,6-2,9г серы/кг сухого вещества уменьшает переваримость или задержание цинка, марганца а, иногда, и меди.

Слабое энергетическое качество силоса увеличивает влияние серы.

Обычно применяемые добавки микроэлементов могут быть недостаточными в случае силоса кукурузы, обогащённой мочевиной и серой.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, 1965. *The nutrient requirements of farm livestock*, n° 2 Ruminants, 264 p., Londres.
- BELLANGER J., 1971. Dosage des oligoéléments dans les fourrages. *Ann. Nutr. Aliment.*, B 25 (5), 59-96.
- BIRD P. R., FOUNTAIN R. D., 1970. A method for the determination of sulphur in some biological materials. *Analyst*, 95, 98-102.
- BIRD P. R., 1972. Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants. X. Sulphide toxicity in sheep. *Austral. J. biol. Sci.*, 25, 1087-1098.
- CONRAD H. R., BOUCHARD R., 1973. Sulfur requirements of dairy cows. *Ohio Report*, 58 (5), 102-103.
- EMERY R. S., SMITH C. K., HUFFMAN C. F., 1957. Utilisation of inorganic-sulfate by rumen micro-organisms. I. Incorporation of inorganic sulfate into amino acids. *Appl. Microbiol.*, 5, 360-362.
- MARCILESE N. A., AMMERMAN C. B., VALSECCHI C. B., DUNAVANT R. M., DAVIS G. K., 1969. Effect of dietary molybdenum and sulfate upon copper metabolism in sheep. *J. Nutr.*, 99, 177-183.
- MARCILESE N. A., AMMERMAN C. B., VALSECCHI C. B., DUNAVANT R. M., DAVIS G. K., 1970. Effect of dietary molybdenum and sulfate upon urinary excretion of copper in sheep. *J. Nutr.*, 100, 1399-1406.
- MILLS C. F., WILLIAMS R. B., 1971. Problems in the determination of the trace elements requirements of animals. *Proc. Nutr. Soc.*, 30, 83-91.
- ROBINSON M. F., MCKENZIE J. M., THOMSON C. D., VAN RIJ A. L., 1973. Metabolic balance of zinc, copper, cadmium, iron, molybdenum and selenium in young New Zealand women. *Brit. J. Nutr.*, 30, 195-205.
- SPAIS A. G., LAZARIDIS T. K., AGIANNIDIS A. K., 1968. Studies on sulphur metabolism in sheep in association with copper deficiency. *Res. veter. Sci.*, 9, 337-344.
- SUTTLE N. F., 1973. Effect of age and weaning on the apparent availability of dietary copper to young lambs. *Proc. Nutr. Soc.*, A 32, 24-25.
- UNDERWOOD E. J., 1971. *Trace elements in human and animal nutrition*, 543 p. Academic Press New York, London ed.
- WHANGER P. D., 1972. Sulphur in ruminant nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.*, 15, 225-255.