

TAXAS DE COBALTO EM FÍGADO DE BOVINOS E OVINOS DO NORDESTE E NORTE DO BRASIL *

MARIA NORMELIA R. DÁMASO ** e CARLOS HUBINGER TOKARNIA ***

I. INTRODUÇÃO

Em trabalhos anteriores foram comunicados resultados de investigações sobre a deficiência de cobre em ruminantes do Nordeste e Norte do Brasil, sendo que os resultados das análises químicas e sua interpretação em um trabalho¹², e em outro o aspecto patológico da doença observada nas regiões onde há deficiência do metal¹³.

No presente trabalho apresentamos dados analíticos sobre valores de cobalto encontrados nas mesmas amostras que tinham sido submetidas às análises de cobre, com exceção de poucas das quais não havia material em quantidade suficiente, e outras coletadas posteriormente.

II. MATERIAL E MÉTODOS

A técnica de trabalho na aquisição das amostras consistiu em coletar cerca de 250 g de fígado de animais necropsiados, em frascos de vidro de 300 ml de capacidade, rigorosamente limpos a fim de evitar possível contaminação; usou-se formol a 10% para a conservação do material ("Formaldehyde, Reagent A.C.S., Baker & Adamson, Code 1778"). A água empregada na lavagem da vidraria e na preparação do formol, foi bidestilada em aparelhagem de vidro. Para cortar o órgão usamos tesoura de aço inoxidável. As amostras coletadas receberam números correspondentes ao nosso livro de registro.

Além de coletar e analisar as amostras de fígado de bovinos e ovinos do Norte e Nordeste do Brasil, efetuamos também a análise de amostras de fígado de oito bovinos adultos, bem desenvolvidos e em bom estado de nutrição, provenientes da região de Curvelo, Estado de Minas Gerais, e abatidos no Frigorífico de Mendes, Estado do Rio de Janeiro.

No laboratório as amostras foram cortadas em fragmentos menores dentro de cápsula de porcelana e secas em estufa a 150°C durante 24 horas.

A dosagem do cobalto foi feita segundo a técnica de Saltzman e Kenan¹¹ usando-se cerca de 10 g de fígado seco. O processo de mineralização da amostra foi uma adaptação do empregado por Marston e Dewey⁸: digestão úmida sulfo-nitro-perclórica em balão de Kjeldahl de 250 ml de capacidade.

O método de Saltzman e Kenan por nós empregado, consiste no tratamento da cinza (obtida, no caso, por digestão úmida sulfo-nitro-perclórica na proporção de 4 ml de H₂SO₄ (96%), 100 ml de HNO₃ (D 1,42) e 7,5 ml de HClO₄ (70%)), com ácido nítrico 1:1 em banho-maria fervente, durante 1 a 2 horas para destruir os polifosfatos formados durante o processo de mineralização. Depois a cinza é dissolvida em H₂PO₄ 1:49 (o que reduz o efeito de interferências de outros metais) e a solução é ajustada a pH 3-4 com citrato de sódio em solução, usando-se metil-orange como indicador, sem perigo de precipitação. A separação do cobalto é feita com 1-Nitroso-2-Naftol e o complexo formado é extraído com clorofórmio; os extratos são reunidos e lavados com HCl 1:99 a fim de remover outros sais que produziram turvação posterior; o clorofórmio é evaporado e o resíduo é destruído com ácido nítrico auxiliado pelo sulfato de sódio em solução, o qual não só completa a mineralização final como evita perdas de cobalto em casos de resíduo

* Este trabalho foi realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.

** Química bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

*** Veterinário da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

escasso; o resíduo é dissolvido em solução de ácido fosfórico, o qual reduz o efeito de interferências de outros metais; acrescenta-se solução de Nitroso-R-Sal e, em seguida, solução de acetato de sódio, para formação do complexo com o cobalto cuja cor vai do amarelo avermelhado ao vermelho brilhante. A solução é aquecida em banho-maria fervente para maior desenvolvimento da cor, na presença de HCl que descora outros complexos que se possam formar com o Nitroso-R-Sal. A solução depois de fria é completada com água deionizada para o volume final e a concentração de cobalto é determinada espectrofotometricamente a 530 m μ /segundo uma curva padrão construída com 1, 2, 4, e 8 microgramas de Co*** e preparada com a mesma técnica.

DETALHES SOBRE A TÉCNICA E SUA PADRONIZAÇÃO — O método apresenta uma excepcional especificidade sem sofrer interferência de complexos ou precipitados devido a metais contaminantes da amostra (fato comprovado experimentalmente por nós com os sais de cobre (Cu**) e de ferro (Fe**)), além de possibilitar o uso de grandes amostras com boa recuperação do cobalto. A sensibilidade do método é de 0,1 micrograma de cobalto e a cor formada é estável por muitas horas, com perfeita aderência à lei de Beer.

Iniciamos o trabalho de padronização e estudo do método com espectrofotômetro de prisma, o "Spectronic 20 B.L.", mas os resultados foram pouco satisfatórios dada a pouca espessura das cubas; passamos a usar então um outro aparelho existente no laboratório, o Coleman "Universal", no qual padronizamos o método obedecendo as suas exigências, aplicando contudo algumas modificações, como por exemplo a diminuição do volume da reação para 2,5 ml (1/4 do volume original). Pelo uso da cuba retangular do aparelho, de 13 mm ganhamos em sensibilidade.

Toda vidraria usada era lavada previamente com ácido nítrico e a água tanto a de limpeza final como a de uso na técnica era deionizada pela passagem em coluna de resinas de permuta ("Barnstead Bantam Standard Demineralizer Cartridge N.º 0802").

Padronizado o método fizemos inicialmente ensaios em branco ("blank") total, isto é, toda a técnica desde a mineralização até a colorimetria, a fim de testar os reativos empregados e, ocasionalmente ensaios de recuperação e teste dos reagentes recém-preparados; controlamos assim a possibilidade de perda ou de contaminação, cuidados essenciais quando se faz análises deste tipo. Resultados obtidos nestes ensaios se acham discriminados nos Quadros I a IV.

Todos os valores foram expressos em partes por milhão de peso sobre a matéria seca (p.p.m.).

III. RESULTADOS

No Quadro V colocamos os valores encontrados nas amostras controle de fígado dos oito bovinos provenientes da região de Curvelo, Minas Gerais.

Os resultados encontrados nas amostras de fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil se acham distribuídos nos Quadros VI a XV de conformidade com as suas procedências.

A análise estatística dos resultados apresentada à tabela XVI, consta da aplicação do teste de "t" à diferença das medidas dos grupos comparados.

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O cobalto é um dos elementos essenciais para os animais. Este elemento não parece ter outra função no animal a não ser como constituinte da vitamina B₁₂, sendo ainda necessário para a proliferação dos microorganismos nos proventrículos que sintetizam as quantidades relativamente grandes desta vitamina necessária aos ruminantes^{3, 4, 5, 15, 16}.

Deficiência de cobalto em ruminantes é assim em efeito uma deficiência de vitamina B₁₂^{4, 5, 15}. Havendo uma ligeira deficiência de cobalto na alimentação de ruminantes, o crescimento é retardado e a produção diminui. Se a deficiência é extrema, os ruminantes não podem ser criados na região, e os animais introduzidos nessa área morrem dentro de meses^{3, 4, 5, 15}.

As determinações de cobalto no fígado em bovinos e ovinos, permitem medir indiretamente a sua armazenagem sob forma de vitamina B₁₂ e são consideradas extremamente valiosas no diagnóstico de deficiência de cobalto em condições naturais. A concentração de cobalto no fígado de bovinos e ovinos varia muito pouco com a idade do animal, porém é influenciada marcadamente pelo nível de cobalto ingerido na alimentação¹⁵. Existem numerosos dados analíticos de amostras de fígado de animais criados nos mais diversos meios; alguns

dêstes aparecem no Quadro XVII. Mc Naught¹⁰, que fêz número elevado de análises, sugere o seguinte critério de diagnóstico: em ovinos, com idade de três meses ou mais, valores abaixo de 0,06 p.p.m. indicam deficiência de cobalto; acima de 0,10 p.p.m. indicam um índice adequado de cobalto; em bovinos, com idade de nove meses ou mais, valores abaixo de 0,05 p.p.m. indicam deficiência de cobalto; acima de 0,12 p.p.m. um índice adequado; valores abaixo de 0,08 p.p.m. em ovinos com idade de seis meses ou mais e abaixo de 0,10 p.p.m. em bovinos com idade de 9 meses ou mais, indicam subdeficiência.

É necessário lembrar, que determinações de cobalto em fígado de ruminantes não são um meio infalível no diagnóstico da deficiência de cobalto. O cobalto do fígado pode se elevar a níveis dez vêzes superiores ao normal pela injeção do elemento, sem que esta reserva hepática esteja à disposição do animal em quantidades significantes para a síntese da vitamina B₁₂ no rumen¹⁵.

Antes de analisar os nossos resultados, temos que frisar dois pontos. Primeiro, nenhum dos animais, dos quais coletamos fígados, recebeu cobalto ou vitamina B₁₂ por qualquer via. Em segundo lugar, para se poder saber se uma região é deficiente em cobalto, baseando-se em análises de cobalto em fígados de animais que nela pastaram, é preciso que os animais tenham permanecido nela tempo suficiente, para a evolução de estado deficitário; por isto, somente coletamos material de animais que nasceram e foram criados na região, ou que estiveram na área pelo menos durante um ano antes da coleta, com poucas exceções que assinalaremos a seguir.

Na região dos canaviais da Serra da Ibiapaba, Ceará, todo gado é levado anualmente, no início da época da chuva (início do ano), para o sertão, de onde somente volta para esta região da Serra da Ibiapaba no início da seca (um pouco antes do meado do ano). Caso não se faça isto, o gado adocece com o "mal do fastio" e morre. Foi o que aconteceu em 1958, ano em que, em virtude da grande "seca", que assolou todo o Nordeste, e especialmente o sertão, o gado em sua maioria não pôde ser levado para o sertão. Com exceção do animal n.º 646, que tinha passado 5 meses no sertão na primeira metade daquele ano, e o animal n.º 745, que veio em agosto do sertão, 3 meses antes da coleta, não se sabendo quanto tempo passou ali, o resto dos animais, dos quais coletamos amostras de fígado, estivera mais que um ano nesta região da Serra da Ibiapaba.

O gado nas regiões das chapadas do Piauí também é sujeito a um regime de mudanças de pastagens. A metade do ano (época da seca) os bovinos pastam nestas chapadas, a outra metade (época da chuva) em outras regiões. Bovinos nascidos e criados nas chapadas, sem sair periódicamente, ficam com uma doença, chamada na região vulgarmente de "entreva", doença esta caracterizada por deformações do esqueleto e amolecimento dos ossos. O material por nós coletado nestas chapadas é de bovinos nascidos e criados nesta região.

Nas chapadas do Maranhão o gado também é sujeito a um regime de mudanças de pastagens. Os animais que pastam durante muito tempo (meses) nas chapadas ficam com uma doença chamada na região vulgarmente de "toque". Esta doença é caracterizada principalmente por falta de apetite ("fastio"), emagrecimento progressivo, pêlo áspero, fezes endurecidas, e finalmente morte. A profilaxia da doença ou a cura de animais afetados se consegue mudando-os periódicamente para outros pastos fora das chapadas. A nossa amostra n.º 524 é de um bovino que tinha pastado durante os últimos meses na chapada e esteve com o início do "toque". As duas outras amostras coletadas na região, n.ºs 532 e 533, são de bovinos sobre os quais não conseguimos informações exatas em relação aos pastos em que tinham ficado durante os últimos meses. Somente sabemos que não estavam ainda com sintomas definidos de "toque".

Adotando o critério de diagnóstico de McNaught¹⁰, verificamos que das dez amostras coletadas na região dos canaviais da Serra da Ibiapaba, Ceará, 4

mostram deficiência de cobalto (n.ºs 647, 648, 649 e 744), 3 tem valores subnormais (n.ºs 747, 749, 750), somente 3 tendo valores normais. Duas das últimas (n.ºs 646 e 745) provinham de animais que naquele mesmo ano tinham sido levados ao sertão.

Das 3 amostras coletadas nas chapadas do Maranhão uma é deficiente em cobalto (n.º 524), justamente a do animal afetado com "toque", outra tem um valor subnormal (n.º 533), e a terceira acusa um valor baixo (n.º 532).

As demais amostras de fígado coletadas no Nordeste e as poucas de origem do Norte, revelaram valores normais de cobalto.

Os valores de cobalto por nós encontrados nas amostras de fígado de bovinos adultos, bem desenvolvidos e em estado de nutrição bom, provenientes da região de Curvelo, Minas Gerais, estão de acordo com os valores considerados normais constantes da literatura.

Dados sobre o quadro patológico da deficiência de cobalto observado nos animais nas regiões onde foi determinada deficiência de cobalto, bem como outros aspectos relacionados, serão apresentados e discutidos em outro trabalho.

V. RESUMO

Os autores comunicam os resultados das dosagens de cobalto obtidos em fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. Inicialmente dão detalhes sobre o método usado.

Antes de analisar os dados obtidos, frisam que para se poder saber se uma região é deficiente em cobalto, baseando-se em análises de cobalto em fígados de animais que nela pastaram, é preciso que os animais tenham permanecido nela tempo suficiente, para a evolução do estado deficitário. Por isto, somente foram coletadas amostras em animais que nasceram e foram criados na região, ou que estiveram na área pelo menos durante um ano antes da coleta, com poucas exceções que assinalam; são os dos animais ns. 524, 532, 533, 646 e 745.

Foram encontrados valores baixos (abaixo de 0,05 p.p.m.) e subnormais (abaixo de 0,12 p.p.m.) de cobalto em fígado de bovinos provenientes de duas áreas, isto é, na maioria dos da região canavial da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, e nas três amostras coletadas nas chapadas do Estado do Maranhão.

A análise de amostras de fígado de 8 bovinos considerados normais (Curvelo, Minas Gerais) mostram taxa média de cobalto igual a $0,194 \pm 0,038$ p.p., condizente com outros dados da literatura.

VI. AGRADECIMENTOS

Queremos deixar aqui os nossos agradecimentos ao Dr. Fernando Ubatuba, Professor da Escola Nacional de Veterinária e Chefe do Laboratório de Endocrinologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, pela valiosa orientação e a ajuda na execução do presente trabalho.

COBALT VALUES FOUND IN THE LIVERS OF BOVINES AND OVINES OF THE NORTHEAST AND NORTH OF BRAZIL

Abstract

The authors made cobalt estimations in liver samples collected from bovinos and ovinos in the Northeast and North of Brazil. They describe the analytical method used. Before discussing the results, the authors stress that if one wants

to know if a certain area is deficient in cobalt, basing oneself on cobalt estimations in the livers of animals which graze there, it is necessary that the animals have stayed in that area for a long enough period. Therefore the authors collected liver samples only from animals which were born and bred in the area, or which had been in the area at least for one year before the liver samples were obtained, with five exceptions. The authors found low (below 0,05 p.p.m.) or sub-optimal (below 0,12 p.p.m.) cobalt values in livers of bovines of two areas. These values were found in most liver samples from the sugar cane plantation area of the Serra da Ibiapaba, State of Ceará, and in the three samples collected in the "chapadas" of the State of Maranhão. All other liver samples taken in the Northeast and the few from the North of Brazil had normal cobalt values. The analysis of 8 liver samples of bovines considered normal from Curvelo, State of Minas Gerais, gave a meanvalue of $0,194 \pm 0,038$ p.p.m. This is in agreement with the findings of other authors.

VII. REFERÊNCIAS

- 1) ASKEW, M.O. & WATSON, J. (1943).—*N. Z. J. Sci. Technol.*, 25 A:81. Citado por GEE, R.W.
- 2) CORRÊA, R. (1957).—Carência de cobalto em bovinos. *Arq. Inst. Biol.*, 24: 199-227.
- 3) CUNNINGHAM, I.J. (1955).—Diseases Caused by Deficiencies of Trace Elements. Em *Advances in Veterinary Science*. Vol. 2. Academic Press Inc., Publishers, New York, pgs. 138-181.
- 4) DAVIS, K.G. (1958).—Metabolic Function and Practical Use of Cobalt in Nutrition. Em *Trace Elements*. Academic Press Inc., New York & London, pgs. 193-211.
- 5) GEE, R.W. (1958).—*Cobalt and Ruminant Nutrition*. Nicholas Institute for Medical and Veterinary Research, "Burnham Beeches", Sherbrooke, Victoria, Australia. 29 pgs.
- 6) GESSERT, C.F.; BERMAN, D.T.; KASTELIC, J.; BENTLEY, O.G. & PHILLIPS, P.H. (1952).—Concentrations of Certain Minerals in the Blood and Livers of Cattle as Related to Trace Mineral Supplementation and Bovine Brucellosis. *J. Dairy Sc.*, 35: 693-698.
- 7) HART, P.C. (1954).—Onderzoek naar het cobaltgehalte van runderlevers. *Tijdschrift v. Diergeeskunde*, 79 (14): 517-528.
- 8) MARSTON, H.R. & DEWEY, D.W. (1940).—The Estimation of Cobalt in Plant and Animal Tissue. *Austr. J. Exp. Biol.*, 18: 343-352.
- 9) MARSTON, H.R.; LEE, H.J. & McDONALD, I.W. (1948).—Cobalt and Copper in the Nutrition of Sheep. *J. Agr. Sc.*, 38 (2): 222-228.
- 10) McNAUGHT, K.J. (1949).—Cobalt, Copper and Iron in the Liver in Relation to Cobalt Deficiency Ailment. *New Zealand J. Sc. Techn.*, 30 (1) Sect. A: 26-43.
- 11) SALTZMAN, B.E. & KENAN, R.J. (1957).—Microdetermination of Cobalt in Biological Material. Em GLICK, D. *Methods of Biochemical Analysis*, Volume 5. Interscience Publishers, Inc., New York, pgs. 181-223.
- 12) TOKARNIA, C.H.; MITDIERI, E. & AFFONSO, O.R. (1959).—Dados analíticos sobre valores de cobre e ferro encontrados em fígados de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. *Arq. Inst. Biol. Animal*, 2: 33-37.
- 13) TOKARNIA, C.H.; CANELLA, C.F.C. & DÖBEREINER, J. (1960).—Deficiência de cobre em bovinos no delta do rio Parnaíba, nos Estados do Piauí e Maranhão. *Arq. Inst. Biol. Animal*, 3: 25-37.
- 14) UNDERWOOD, E.J. & HARVEY, R.J. (1938).—Enzootic Marasmus: The Content of Soils, Pastures and Animal Organs. *Austr. Vet. J.*, 14: 183-189.
- 15) UNDERWOOD, E.J. (1956).—*Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Academic Press Inc., Publishers, New York.
- 16) UNDERWOOD, E.J. (1958).—Trace Elements in Animals. Em *Trace Elements*. Academic Press Inc., New York & London, pgs. 33-45.

QUADRO I

Resultados encontrados para "blanks" totais (todo o processo desde a mineralização até à colorimetria)

NÚMERO	Densidade optica
1.....	0,015
2.....	0,022

QUADRO II

Dados referentes à determinação do cobalto em alíquotas de água deionizada usada na técnica

MATERIAL	Quantidade	Co+++ em microgramos
Água deionizada.....	5 ml	0,05 < 0,1
Água deionizada.....	5 ml	0,05 < 0,1

QUADRO III

Resultados referentes à pesquisa do Co+++ no líquido conservador das amostras de fígado (formol a 10%) antes e após o seu uso, ou seja em estado puro e em contato com amostras

MATERIAL	Quantidade	Co+++ em p.p.m.
Formol puro (1956).....	30 ml	0,016
Formol puro (1957).....	30 ml	0,010
Formol puro (1956).....	10 ml	0,020
Formol da amostra 7.....	10 ml	0,028
Formol da amostra 9.....	10 ml	0,028

QUADRO IV

Dados referentes às provas de recuperação do cobalto (Co+++)

N.º	MATERIAL	Data	Recuperação do Co+++ em µg		%
			teórico	achado	
1	Sol. Padrão.....	20- 9-60	5,00	4,70	94
2	Sol. Padrão.....	13-12-60	4,00	4,00	100
3	Sol. Padrão.....	19- 1-61	1,00	1,04	104
4	Sol. Padrão.....	5- 5-61	1,00	1,08	108
5	Fígado bovino (10,5 gr) + 1 µg de Co+++.....	5- 5-61	2,65	2,75	103

QUADRO V

Valores de cobalto encontrados nas amostras de fígado dos bovinos provenientes da região de Curvelo, Minas Gerais

NÚMERO	Cobalto em p.p.m.
1.....	0,206
3.....	0,220
4.....	0,238
6.....	0,225
7.....	0,211
8.....	0,149
9.....	0,163
10.....	0,149
Média e desvio padrão $\bar{x} \pm S$	$= 0,194 \pm 0,036$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

QUADRO VI

Região do Sertão Nordestino

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
168	Bahia-Mun. Casa Nova-Faz. Caldeirão....	ovino	adulto	3-12-56	0,359
182	» Mun. Juazeiro-Gerais.....	»	»	6-12-56	0,340
171	Pernambuco-Mun. Petrolina-Faz. Cachabuco	bovino	6 anos	4-12-56	0,406
176	» » » »	»	10 »	»	0,352
192	R. Gr. do Norte-Mun. Serra Negra-Faz. Pedrecal.....	»	6 »	12-12-56	0,247
741	Ceará-Mun. de Granja-Faz. Alto Alegre....	»	2 1/2 »	26-11-58	0,245

Média e desvio padrão = $0,325 \pm 0,065$

QUADRO VII

Região do Interior do Estado do Piauí

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
136	Piauí-Mun. Campo Maior-Faz. Alegre	bovino	2 anos	19-11-56	0,290
140	» » » » »	»	1 »	»	0,302
154	» Mun. Pimenteiras-Gerais.....	»	6 »	26-11-56	0,257

Média e desvio padrão = $0,283 \pm 0,023$

QUADRO VIII
Região das Chapadas do Estado do Piauí

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
46	Piauí-Mun. Piracuruca-Faz. Cajueiro d'Água	bovino	4 anos	21-10-56	0,161
78	» » » » »	»	5 »	25-10-56	0,228
93	» » » » »	»	2 »	27-10-56	0,279
145	Piauí-Mun. Alto-Faz. Samambaia.....	»	10 »	21-11-56	0,302

Média e desvio padrão = 0,242 ± 0,062

QUADRO IX
Região das Chapadas do Maranhão

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
524	Maranhão-Mun. Brejo-Faz. Guabiraba.....	bovino	3 anos	4- 6-57	0,047
532	» Mun. Chapadinha-Faz. Roça Velha	»	7 »	9- 6-57	0,104
533	» » » » »	»	2 »	»	0,083

Média e desvio padrão = 0,078 ± 0,029

QUADRO X
Serra da Ibiapaba, Ceará, Região do plantio da cana.
Animais com menos de um ano na região

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
646	Mun. Ubajara-Alto da Cruz.....	bovino	4 anos	1- 9-58	0,210
745	» Viçosa-Sítio Rebentão.....	»	8 »	29-11-58	0,120

Média e desvio padrão = 0,165 ± 0,064

QUADRO XI
Serra da Ibiapaba, Ceará, Região do plantio da cana.
Animais que nasceram ou com mais de um ano na região

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
647	Mun. Tianguá-Sítio Corrego Taboca.....	bovino	1 1/2 anos	2- 9-58	0,037
648	» » » » »	»	7 meses	»	0,038
649	» Ibiapina-Sítio Floresta.....	»	6 anos	3- 9-58	0,027
744	» Viçosa-Prop. de R.R.C.....	»	1 »	28-11-58	0,030
747	» Ubajara-Prop. de R.P.....	»	7 »	1-12-58	0,097
748	» » Sítio Queimado.....	»	5 »	»	0,126
749	» » Sítio Carpina.....	»	9 »	2-12-58	0,065
750	» Tianguá-Sítio Salgado.....	»	5 »	3-12-58	0,083

Média e desvio padrão = 0,063 ± 0,036

QUADRO XII
Serra da Ibiapaba, Ceará, Região de Carrasco

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
742	Mun. Viçosa-Fazenda Tanque.....	bovino	10 anos	27-11-58	0,261
743	» » Sítio Macajituba.....	»	3 »	»	0,205

Média e desvio padrão = $0,233 \pm 0,039$

QUADRO XIII
Serra da Miruoca, Ceará

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
650	Mun. de Miruoca-Prop. de S.L.....	bovino	5 anos	4-12-58	0,250

QUADRO XIV
Região Litorânea do Nordeste

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
594	Ceará-Mun. Aracati-Faz. Porto J. Alves....	ovino	2 anos	17- 2-58	0,309
596	» » » Faz. Carnaúbinha.....	bovino	3 »	18- 2-58	0,214
598	» » » Faz. Imburana.....	»	2 »	19- 2-58	0,289
600	» » » Faz. Belém.....	»	10 »	21- 2-58	0,134
601	» » » » »	ovino	adulto	22- 2-58	0,240
602	» » » » »	bovino	6 anos	»	0,322
603	» » » Faz. São Chico.....	ovino	1 »	»	0,226
604	» » » Faz. Novo Mundo....	bovino	2 »	23- 2-58	0,200
605	» » » Faz. Mutuca.....	»	3 »	»	0,284
640	» Mun. Pacatuba-Faz. Messejana.....	»	adulto	18- 6-58	0,115
641	» » » » »	»	6 anos	»	0,230
752	» Mun. Fortaleza-Pósto Criação Itaperi.	»	adulto	20- 2-59	0,252
755	» » » » » »	»	»	12- 5-59	0,161
103	Piauí-Mun. Parnaíba-Faz. Bom-Jesus.....	»	3 anos	3-11-56	0,194
104	» » » » » »	»	3 »	»	0,201
117	» » » Faz. Cotia.....	»	3 »	8-11-56	0,140
426	» » » Faz. Bom-Jesus.....	ovino	adulto	7- 5-57	0,186
109	Maranhão-Mun. Arraioses-Faz. Agua Fria..	bovino	3 anos	7-11-56	0,245
4	» Mun. São Luiz-Sítio S. Conceição	»	8 »	4-10-56	0,166

Média e desvio padrão = $0,216 \pm 0,058$

QUADRO XV

Região do Território do Rio Branco

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
323	Murupá.....	bovino	9 anos	18- 2-57	0,390
325	»	»	10 »	»	0,385
324	Cotingó.....	»	4 »	»	0,274

Média e desvio padrão = 0,349 ± 0,066

QUADRO XVI

Análise estatística dos resultados. Comparação entre os diferentes grupos.
Significância avaliada pelo teste de "t" de "Student" usando-se
os níveis de 5% (significante) e 1% (altamente significativa)

GRUPOS COMPARADOS	"t"	P
Normais-Região do Sertão Nordestino (Quadro VI).....	4,94	P < 0,01
Normais-Região do Interior do Piauí (Quadro VII).....	3,95	P < 0,01
Normais-Região da Chapada do Piauí (Quadro VIII).....	1,72	P > 0,05
Normais-Região da Chapada do Maranhão (Quadro IX).....	5,01	P < 0,01
Normais-Região da Serra Grande, Ceará (Quadro X).....	0,91	P > 0,05
Normais-Região da Serra Grande, Ceará (Quadro XI).....	7,27	P < 0,01
Normais-Região de Carrasco, Ceará (Quadro XII).....	1,36	P > 0,05
Normais-Região Litorânea do Nordeste (Quadro XIV).....	0,97	P > 0,05
Normais-Região do Território de Rio Branco (Quadro XV).....		

QUADRO XVII

Valores de cobalto em fígado de bovinos e ovinos sadios e deficientes
(p.p.m. de peso sobre a matéria seca)

ESPÉCIE E IDADE	Estado em Co	Valores de cobalto	Referência
Ovinos.....	sadios	0,08—0,58 (média 0,28)	Underwood & Harvey (14)
»	doentes	0,03—0,14 (média 0,06)	»
» jovens.....	sadios	0,15	Askew & Watson (1) apud Gee
» »	deficientes	0,024—0,082 (média 0,02)	»
» c/mais 8 meses	sadios	0,24—0,47 (média 0,34)	Marston et col (9)
» » »	deficientes	0,04—0,22 (média 0,09)	» » » »
» » »	sadios	0,063—0,322 (média 0,167)	Mc Naught (10)
» » »	doentes	0,008—0,054 (média 0,032)	» » »
Bovinos » 6 »	sadios	0,122—0,398 (média 0,240)	» » »
» 1 ano.....	doentes	0,025—0,038 (média 0,034)	» » »
» açut s.....	sadios	0,16—0,59	Gessert et al. (6)
» »	s/def. Co	0,22—0,45 (média 0,37)	Hart (7)
» »	sadios	0,113—0,328 (média 0,201)	Corrêa (2)
» »	doentes	0,026—0,100 (média 0,058)	»
» »	sadios	0,194 ± 0,038	Dâmaso & Tokarnia (este trabalho)