

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

METABOLISMO DO CÁLCIO E DO FÓSFORO EM  
EQÜINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO UTILIZANDO A  
TÉCNICA DE DILUIÇÃO ISOTÓPICA ou  
RADIONUCLÍDEOS ( $^{45}\text{Ca}$  e  $^{32}\text{P}$ )

Autor: João Batista da Silva Quadros  
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Curso de Doutorado em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro – 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

METABOLISMO DO CÁLCIO E DO FÓSFORO EM  
EQÜINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO UTILIZANDO A  
TÉCNICA DE DILUIÇÃO ISOTÓPICA ou  
RADIONUCLÍDEOS ( $^{45}\text{Ca}$  e  $^{32}\text{P}$ )

Autor: João Batista da Silva Quadros  
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Curso de Doutorado em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro – 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

METABOLISMO DE CÁLCIO E FÓSFORO EM  
EQÜINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO UTILIZANDO A  
TÉCNICA DE DILUIÇÃO ISOTÓPICA ou  
RADIONUCLÍDEOS ( $^{45}\text{Ca}$  e  $^{32}\text{P}$ )

Autor: João Batista da Silva Quadros  
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia – Área de Concentração  
Produção Animal

APROVADO em

---

Prof. Dr.

---

Prof. Dr.

---

Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado  
(Orientador)

## DEDICO

*À memória de minha irmã, Tina, por todo o carinho e amor.*

*À memória de meu mestre, Eduardo B. Marchi, por todos os ensinamentos e, sobretudo, pela amizade.*

*A minha esposa Maura, minha luz.*

*A minha filha Fabiana, minha força.*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e por todas as graças concedidas.

À minha esposa, Maura, por toda a paciência e incentivo.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado, pela valiosa orientação, ensinamentos, estímulo e grande amizade.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização deste Curso.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM, pela amizade e ensinamentos transmitidos durante todo o Curso.

Ao Dr. Paulo Sérgio Barros Barbanti (Haras da Janga) e ao Sr. Nelson A. Braidó (Haras Braidó), pela doação dos animais e empréstimo das instalações, sem os quais jamais teríamos realizado este trabalho.

À Dra. Dorinha M.S.S. Vitti pela valiosa orientação.

À equipe do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA)/USP por toda a colaboração e apoio na execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco pela formulação dos núcleos minerais.

Ao Prof. Dr. Elias Nunes Martins e ao zootecnista Willian G. do Nascimento, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À POTENSAL Nutrição e Saúde Animal pela doação dos ingredientes dos núcleos minerais utilizados.

A todos os colegas do Curso de Doutorado, pelo companheirismo, apoio e amizade.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

JOÃO BATISTA DA SILVA QUADROS, filho de José Carlos de Quadros e Maria Helena da Silva Quadros, nasceu em Londrina, Paraná, no dia 04 de março de 1961.

Em dezembro de 1983, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá (UEM) e em março de 1984, iniciou seus trabalhos como técnico do Serviço de Registro Genealógico da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos da Raça Mangalarga (A.B.C.C.R.M.). Em março de 1985, ingressou no Quadro Oficial de Jurados da mesma. De julho de 1994 a dezembro de 1999, exerceu o cargo de Superintendente do Serviço de Registro Genealógico da referida Associação.

Em fevereiro de 2000, assumiu a disciplina de Equinocultura da Universidade Paranaense UNIPAR e em março do mesmo ano iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Mestrado, área de concentração Produção Animal, na UEM, que conclui em março de 2002, realizando estudos na área de Nutrição de Eqüinos. Em Julho de 2001, foi contratado, como professor colaborador, pelo Departamento de Zootecnia da UEM e em agosto do mesmo assumiu a disciplina de Melhoramento Animal, da UNIPAR.

Em março de 2002 iniciou Pós-Graduação, Doutorado em Produção Animal, na UEM em fevereiro de 2006 submeteu-se à banca para defesa da dissertação.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XII
I - INTRODUÇÃO .....	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.1</b>
1.1. Introdução geral.....	1
1.2. Metabolismo do fósforo .....	4
1.2.1. Importância, funções, distribuição nos tecidos e homeostase.....	4
1.2.2. Nível plasmático de fósforo.....	7
1.2.3. Fósforo nas fezes.....	10
1.2.4. Fósforo na urina.....	11
1.2.5. Perda endógena fecal de fósforo.....	13
1.2.6. Absorção de fósforo.....	14
1.2.7. Disponibilidade biológica de fósforo (absorção real).....	16
1.2.8. Retenção de fósforo.....	18
1.2.9. Exigências nutricionais de fósforo.....	19
1.2.10. Fitato.....	22
1.3. Metabolismo do cálcio .....	24
1.3.1. Importância, funções, distribuição nos tecidos e homeostase.....	22
1.3.2. Cálcio no plasma.....	26
1.3.3. Cálcio nas fezes.....	28
1.3.4. Cálcio na urina.....	29
1.3.5. Perda endógena de cálcio.....	30



1.3.6. Absorção do cálcio.....	31
1.3.7. Disponibilidade biológica do cálcio (absorção real).....	32
1.3.8. Retenção de Cálcio.....	33
1.3.9. Exigências nutricionais de cálcio.....	34
1.3.10. Oxalato.....	36
1.4. Uso de radioisótopos nos cálculos de metabolismo de fósforo e de cálcio.....	37
1.5. Cálculos.....	38
1.5.1. Fósforo.....	38
1.5.2. Cálcio.....	41
Literatura citada .....	42
II - OBJETIVOS GERAIS.....	56
III - METABOLISMO DO FÓSFORO EM EQÜINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO.....	57
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	61
Resultados e Discussão.....	67
Conclusões.....	80
Literatura citada .....	81
IV - METABOLISMO DO CÁLCIO EM EQÜINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO.....	87
Introdução.....	89
Material e Métodos.....	90
Resultados e Discussão.....	96
Conclusões.....	108
Literatura citada.....	109
V - CONCLUSÕES GERAIS.....	112

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composição química dos ingredientes que compõe as dietas experimentais.....	62
TABELA 2. Composição percentual e química das dietas experimentais .....	63
TABELA 3. Composição dos núcleos minerais incorporados às dietas experimentais.....	64
TABELA 4. Parâmetros associados ao metabolismo de fósforo em eqüinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio.....	68
TABELA 5. Composição química dos ingredientes que compõe as dietas experimentais.....	91
TABELA 6. Composição percentual e química das dietas experimentais .....	92
TABELA 7. Composição dos núcleos minerais incorporados às dietas experimentais.....	93
TABELA 8. Parâmetros associados ao metabolismo de cálcio em eqüinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio.....	97

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 – Níveis de cálcio na dieta e fósforo total na urina.....	71
FIGURA 2 - Parâmetros relacionados ao metabolismo de fósforo.....	79
FIGURA 3 - Níveis de cálcio na dieta e cálcio total ingerido.....	98
FIGURA 4 - Níveis de cálcio na dieta e cálcio total nas fezes.....	101
FIGURA 5 - Níveis de cálcio na dieta e cálcio absorvido.....	104
FIGURA 6 - Níveis de cálcio na dieta e cálcio retido.....	105
FIGURA 7 - Parâmetros relacionados ao metabolismo de cálcio.....	107

## RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos, com o objetivo de estudar o metabolismo de cálcio e fósforo em eqüinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio. Foram utilizados doze eqüinos machos, da raça Mangalarga, com idade média de doze meses e peso vivo médio de 221,0Kg. Os tratamentos consistiram de três dietas, compostas por níveis crescentes de cálcio (baixo = 0,15%-N<sub>15</sub>; padrão = 0,45%-N<sub>45</sub>; alto = 0,75%-N<sub>75</sub>) e nível padrão de fósforo (0,23%). Foram injetados em cada animal, através da veia jugular direita, os volumes de uma seringa, que corresponderam à cerca de 7,4 MBq de <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Experimento 1 – Metabolismo do Fósforo) e de <sup>45</sup>Ca (CaC<sub>12</sub>) (Experimento 2 – Metabolismo de Cálcio). Após a injeção, foram colhidas amostras (10 ml) de sangue, via jugular esquerda, aos cinco minutos, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As fezes foram colhidas pela manhã diariamente, a partir de 24 horas após a aplicação do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi armazenada em congelador para posterior análise. O mesmo procedimento das fezes foi adotado para a urina, quando foram colhidas amostras de 1% do volume total diário. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições. No experimento 1, os valores encontrados para fósforo total ingerido, fósforo plasmático, fósforo total nas fezes, fósforo endógeno nas fezes, fósforo absorvido e fósforo retido não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com médias de, respectivamente, 64,75; 4,87; 23,29; 14,90; 56,33 e 37,05 mg/KgPV/dia. A disponibilidade biológica também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com média de 86,70%. Verificou-se uma regressão linear entre níveis de cálcio na dieta e fósforo total na urina, expressa pela equação  $y = 12,02 - 0,17x$ . Considerando os valores médios de perda endógena fecal e de biodisponibilidade de P, os animais necessitariam de 17,19 mg de P/KgPV/dia para balancear as perdas de manutenção ou necessidade total de 45,57 mg

de P/KgPV/dia (10,07 g de P/animal/dia). No experimento 2, o cálcio plasmático, cálcio total na urina e cálcio endógeno nas fezes não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com valores médios de 11,76; 5,54 e 20,86 mg/KgPV/dia, respectivamente. A disponibilidade biológica do cálcio também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, com média de 82,05%. Verificaram-se regressões lineares entre níveis de cálcio na dieta e cálcio total ingerido, cálcio absorvido, cálcio total nas fezes e cálcio retido, expressas, respectivamente pelas equações:  $y=10,7+2,78x$ ;  $y=12,41+2,24x$ ,  $y=5,97+0,92x$  e  $y=6,4+1,7x$ . Considerando os valores médios de perda endógena fecal e de biodisponibilidade de Ca, os animais necessitariam de 25,52 mg de Ca/kg PV/dia para balancear as perdas de manutenção ou necessidade total de 85,79 mg de Ca/kg PV/dia (18,96 g de Ca/animal/dia).

Palavras-chave: cálcio, fósforo, metabolismo, eqüinos

## ABSTRACT

Two experiments had been lead, with the objective to study the metabolism of calcium and phosphorus in growing equines receiving diets with different calcium levels. Twelve Mangalarga male equines were used, with average age of twelve months and average alive weight of 221,0Kg. The treatments had consisted of three diets, composed for increasing calcium levels (low=0,15%-N<sub>15</sub>; standard=0,45%-N<sub>45</sub>; high=0.75%-N<sub>75</sub>), and level phosphorus standard (0,23%). They had been injected in each animal, through the right jugular vein, the volumes of a syringe, that had corresponded to about 7,4 MBq of <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Experiment 1 - Metabolism of Phosphorus) and of <sup>45</sup>Ca (CaC<sub>12</sub>) (Experiment 2 - Metabolism of Calcium). After the injection, had been collected samples (10 ml) of blood, saw jugular vein left, to the five minutes, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours. The feces had been collected in the morning daily, from 24 hours after the application of the radionuclide until the seventh day, being that an aliquot one of 5% of the excreted daily total was collected and stored in freezer for posterior analysis. The same procedure of feces was adopted for urine, when samples of 1% of the daily total volume had been harvested. The experimental techniques used were randomized completely by design for three treatments and four replications. In experiment 1, no effects were noticed on the treatments (P>0,05) over the values found for ingested total phosphorus, plasmatic phosphorus, total phosphorus in feces, endogenous phosphorus in feces, absorbed phosphorus and phosphorus retention, with averages of, respectively, 64,75; 4,87; 23,29; 14,90; 56,33 and 37,05 mg/KgPV/day. No effects were noticed also on the biological availability (P>0,05) with 86,70% average. A linear regression between calcium levels was verified in the diet and total phosphorus in urine, express for the equation  $y=12,02-0,17x$ . Considering the average values of fecal endogenous losses and biological availability of P, the animals would need 17,19 mg of P/KgBW/day to

balance the losses of maintenance or total requirements of 45,57 mg of P/KgBW/day (10,07 g of P/animal/day. In experiment 2, no effects were noticed on the treatments ( $P>0,05$ ) over the plasmatic calcium, total calcium in urine and endogenous calcium in feces, with average values of 11,76; 5,54 and 20,86 mg/KgPV/day, respectively. No effects were noticed also on the biological availability of calcium ( $P>0,05$ ), with 82,05% average. Linear regressions between levels of calcium in the diet and total calcium ingested, absorbed calcium, total calcium in feces and calcium retention, express had been verified, respectively for the equations:  $y=10,7+2,78x$ ;  $y=12,41+2,24x$ ,  $y=5,97+0,92x$  and  $y=6,4+1,7x$ . Considering the average values of fecal endogenous losses and biological availability of Ca, the animals would need 25,52 mg of Ca/KgBW/day to balance the losses of maintenance or total requirements of 85,79 mg of Ca/KgBW/day (18,96 g of Ca/animal/day).

Key Words: calcium, equine, metabolism, phosphorus

de cálcio na dieta e fósforo total ingerido, expressa pela equação  $y=10,7+2,78x$   $r^2=1,0$  e ilustrada na FIGURA 3.

Segundo o NRC (1989) e Ott (1995), equínos em crescimento com idade ao redor de 12 meses, peso vivo adulto previsto de 450 Kg e moderada velocidade de crescimento devem consumir cerca de 23 a 27 g de cálcio por cabeça/dia. Assim sendo, o consumo dos animais alimentados com tratamento N<sub>15</sub>, mostra-se deficiente em cálcio, o consumo dos animais alimentados com tratamento N<sub>45</sub> mostra-se com níveis adequados e o consumo dos animais alimentados com tratamento N<sub>75</sub> com excesso de cálcio.

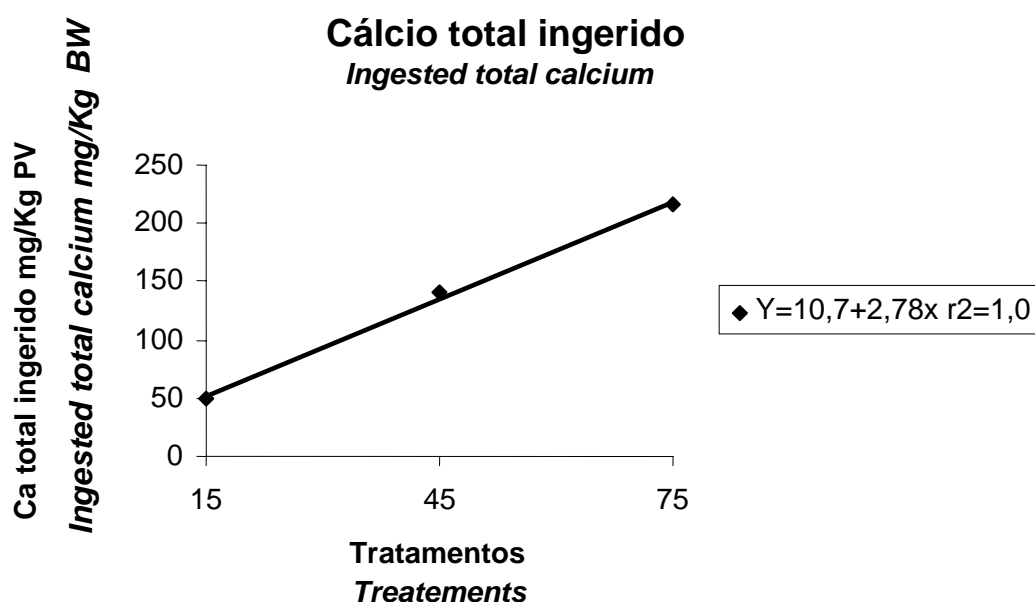


FIGURA 3: Níveis de cálcio na dieta e cálcio total ingerido  
*FIGURE 3: Levels of calcium in the diet and ingested total calcium*

A concentração de cálcio no plasma foi de 11,64; 11,94 e 11,71 mg/dl, respectivamente, para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

Estes resultados concordam com Schryver et al.(1970), que, trabalhando com pôneis recebendo três diferentes níveis de cálcio na dieta (0,15; 0,80 e 1,50%), não observaram diferenças significativas, neste parâmetro, entre os tratamentos. Os autores obtiveram, respectivamente, valores médios de concentração de cálcio no plasma de



11,70; 11,66 e 11,30 mg/dl, muito próximos aos obtidos no presente trabalho e considerados pelos autores com normais para os eqüinos. Os autores ressaltam ainda, que os animais responderam aos níveis de cálcio na dieta através de diversos mecanismos, sempre no sentido da manutenção da concentração plasmática normal do elemento.

Argenzio et al. (1973), estudando a homeostase do cálcio e fósforo em potros de 2 anos alimentados com dietas com diferentes níveis de cálcio e fósforo, obtiveram valores entre 11,1 e 11,8 mg/dl, também bastante semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Buchholz-Bryant et al. (2001), estudaram o efeito da suplementação de cálcio e fósforo, inatividade e subsequente treinamento aeróbico no balanço mineral de eqüinos jovens (2 a 3 anos de idade), maduros (7 a 11 anos de idade) e velhos (15 a 21 anos de idade). Utilizando-se de duas dietas experimentais: controle (133% das recomendações do NRC) e tratamento (275% das recomendações do NRC), observaram que as concentrações de cálcio plasmático mantiveram-se dentro dos padrões normais (10,4 a 13,4 mg/dl) durante todo o experimento em todos os animais. Entretanto, observaram também um pequeno aumento nas concentrações do cálcio plasmático durante um período de inatividade (42 dias), após o qual as concentrações retornaram aos níveis iniciais, assim como um aumento das referidas concentrações durante o período no qual os animais receberam treinamento aeróbico. De acordo com os autores, as mudanças na atividade física aparentemente tiveram maior influência nas variações das concentrações plasmáticas do cálcio do que as quantidades de cálcio nas dietas.

A quase ausência de variação de cálcio plasmática é explicada pela elaborada regulação do cálcio plasmático através de um sistema hormonal constituído paratormônio (PTH), calcitonina e a forma fisiologicamente ativa da vitamina D<sub>3</sub>, 1-25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>).

Considerando-se as concentrações plasmáticas de cálcio obtidas no presente experimento e os resultados citados da literatura consultada, podemos afirmar que os níveis de cálcio nas dietas foram eficientes em manter valores adequados do elemento no sangue. Entretanto, é importante salientar a dificuldade em avaliar-se o *status* de cálcio no organismo animal mediante a análise isolada do nível plasmático do elemento.

Os valores obtidos de cálcio total na urina foram de 0,93; 5,29 e 10,39 mg/KgPV/dia, respectivamente para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

Shryver et al.(1970), obtiveram, com pôneis, recebendo níveis de cálcio na dieta de 0,15; 0,80 e 1,5%, respectivamente, 5,5; 21 e 33 mg/KgPV/dia de Ca excretado na urina. Os autores observaram que os níveis de cálcio na dieta afetaram a excreção urinária do mineral.

Hintz & Shryver (1972), trabalhando com pôneis recebendo dietas contendo entre 0,30 e 0,44% de cálcio, obtiveram valores entre 6,8 e 11,2 mg/KgPV/dia.

Argenzio et al. (1973), avaliando os balanços de cálcio e fósforo em pôneis recebendo dietas com baixos níveis de cálcio (0,4%) e altos níveis de fósforo (1,9%), observaram que os animais permaneceram em balanço negativo de cálcio, mas positivo em fósforo. Neste experimento a excreção de cálcio na urina mostrou-se entre 4,7 e 5,0 mg/KgPV/dia e a excreção de fósforo na urina apresentou valores entre 65,9 e 68,0 mg/KgPV/dia. Segundo os autores, a marcante diferença entre cálcio e fósforo indica um ajustamento compensatório dos rins em conservar cálcio e eliminar fósforo.

Em estudo recente, van Doorn et al. (2004), trabalhando com pôneis adultos, ingerindo nível médio de fósforo de 125,43 mg/KgPV/dia e três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia), obtiveram valores para cálcio na urina de, respectivamente, 49,6; 62,2 e 84,6 mg/KgPV/dia, sendo que os níveis de cálcio ingerido afetaram significativamente os valores de cálcio na urina.

Frape (1992) atribui aos rins uma participação intensa no controle dos níveis sanguíneos do cálcio.

Embora os resultados obtidos no presente experimento não tenham apresentado diferença significativa entre os tratamentos, valores mais elevados foram obtidos a medida em que aumenta-se o nível de cálcio nas dietas (de 0,93 para 10,39 mg/KgPV/dia), o que indica que a excreção renal de Ca pode ser um importante mecanismo na homeostasia do elemento, juntamente com a excreção fecal.

Os valores obtidos para cálcio total nas fezes foram 24,24; 38,46 e 79,41 mg/KgPV/d para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> respectivamente. Verificou-se uma regressão linear entre níveis de cálcio na dieta e cálcio total nas fezes, expressa pela equação  $y = 5,97 + 0,92x$   $r^2 = 0,93$  e ilustrada na FIGURA 4.

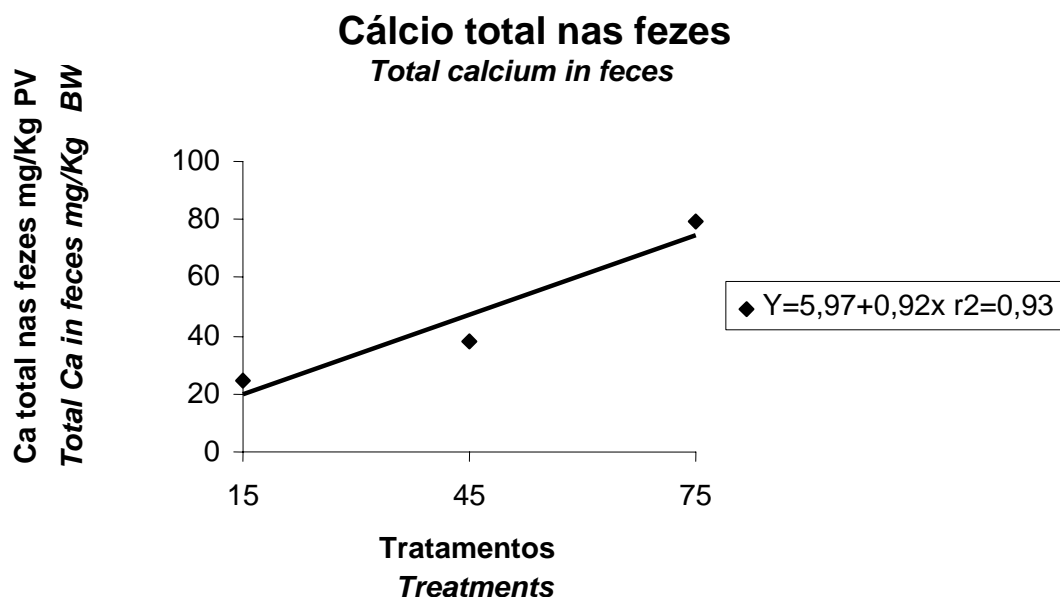


FIGURA 4 – Níveis de cálcio na dieta e cálcio total nas fezes

*FIGURE 4 - Levels of calcium in the diet and total calcium in feces*

Schryver et al.(1970), trabalhando com pôneis recebendo dietas com níveis crescentes de cálcio (0,15; 0,80 e 1,50%), observaram que a excreção fecal de cálcio variou diretamente com a ingestão, com valores médios de 31,0; 88,0 e 153,0 mg/KgPV/dia, respectivamente.

Hintz & Shryver (1972), trabalhando com pôneis recebendo dietas contendo entre 0,30 e 0,44% de cálcio, obtiveram valores entre 33,7 e 41,5 mg/KgPV/dia.

Argenzio et al. (1973), avaliando os balanços de cálcio e fósforo em pôneis recebendo dietas com nível de cálcio de 0,4% e nível de fósforo de 1,9%, obtiveram valores de cálcio total nas fezes entre 42,0 e 44,7 mg/KgPV/dia.

Segundo McDowell (1992), o cálcio fecal é a combinação do cálcio dietético não absorvido e o cálcio endógeno não reabsorvido. Portanto, qualquer fator que afete a sua absorção afetará a quantidade encontrada nas fezes. Schryver et al.(1970), observaram que a quantidade de cálcio absorvido é diretamente proporcional à quantidade ingerida, entretanto, a proporção percentual de cálcio absorvido é inversamente proporcional ao cálcio ingerido.

Em estudo avaliando a influência do cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo em pôneis adultos, ingerindo dietas com três níveis de cálcio (baixo; intermediário e alto) que proporcionaram a ingestão de, respectivamente, 147,9; 315,6 e 535,2

mg/KgPV/dia de cálcio e nível padrão de fósforo (125,43 mg/KgPV/dia), van Doorn et al. (2004) relataram valores de respectivamente, 84,8; 226,4 e 384,9 mg/KgPV/dia.

Os resultados do presente trabalho, quanto a excreção de cálcio nas fezes, concordam com a bibliografia consultada, indicando que a excreção fecal de cálcio se mostra rota importante na manutenção da homeostasia do elemento, principalmente quando se eleva o nível de consumo de cálcio.

Os valores obtidos de cálcio endógeno nas fezes foram de 17,21; 17,33 e 28,04 mg/KgPV/dia, respectivamente para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

Estes resultados concordam com outros experimentos realizados com equinos, descritos abaixo e sugerem que a perda endógena de cálcio é constante para os equinos.

Schryver et al.(1970), obtiveram, com pôneis valores médios de 22,0; 20,0 e 24,0 mg/KgPV/dia, para níveis de cálcio na dieta de 0,15; 0,80 e 1,5%, respectivamente. Estatisticamente, não houve diferença significativa entre os tratamentos com maior e menor nível de cálcio, sendo que o nível médio mostrou-se significativamente diferente. Concluem os autores que a perda endógena fecal de cálcio é constante ( $\cong 22$ mg/ Kg PV/dia) e independente dos vários níveis de cálcio ingerido pelos animais, no estudo, o que concorda com McKenzie et al. (1981) e Swartzman et al. (1978).

No presente experimento, a excreção endógena fecal de Ca não foi afetada pelos níveis de Ca nas dietas e os valores obtidos (média de 20,86 mg/KgPV/dia) encontram-se próximos ao relatado pelo NRC (1989) que é de 20 mg/KgPV/dia. Entretanto, o nível mais alto (0,75%) de Ca na dieta apresentou valor numérico superior de excreção endógena fecal de Ca (28,04 mg/KgPV/dia), indicando que esta rota metabólica pode estar sendo utilizada para eliminar, juntamente com a fezes e a urina, parte do excesso de Ca consumido.

Os valores obtidos para cálcio absorvido foram de 42,49; 120,37 e 176,77 mg/KgPV/dia, para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>, respectivamente. Os níveis de cálcio na dieta afetaram a absorção do elemento. Verificou-se uma regressão linear entre níveis de cálcio na dieta e cálcio absorvido expressa pela equação  $y=12,41+2,24x$   $r^2=0,99$  e ilustrada na FIGURA 5.

Hintz & Schryver (1972), avaliando a disponibilidade de cálcio e fósforo de vários suplementos em pôneis, observaram que os animais que receberam dietas com suplemento de cálcio (0,44% de Ca), tiveram um aumento significativo na

digestibilidade aparente do elemento quando comparados aos animais recebendo dieta basal (0,30% de Ca), entretanto não observaram diferenças na digestibilidade real.

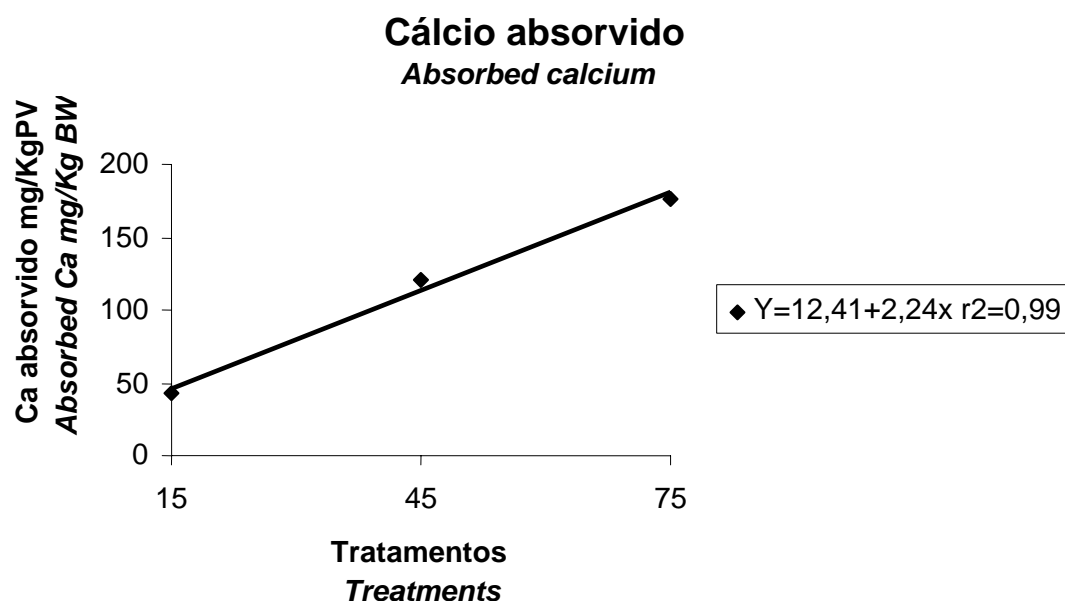


FIGURA 5 - Níveis de cálcio na dieta e cálcio absorvido  
*FIGURE 5 - Levels of calcium in the diet and absorbed calcium*

Schryver et al.(1970), trabalharam com pôneis alimentados com três dietas com níveis crescentes de cálcio, contendo 0,15, 0,80 e 1,5% de cálcio e obtiveram valores médios para cálcio absorvido de 2,0, 6,4 e 11,3 g/100Kg PV/dia. Segundo estes autores, a taxa de absorção de cálcio pode ser determinada quando a excreção endógena fecal de cálcio é conhecida. Os autores observaram ainda que a quantidade de cálcio absorvido é diretamente proporcional à quantidade ingerida, entretanto, a proporção percentual de cálcio absorvido é inversamente proporcional ao cálcio ingerido. Neste sentido, concordam com van Doorn et al. (2004), que, estudando a influência do cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo em pôneis adultos, ingerindo dietas com três níveis de cálcio (baixo; intermediário e alto) que proporcionaram a ingestão de, respectivamente, 147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia de cálcio e nível padrão de fósforo (125,43 mg/KgPV/dia), relataram que a digestibilidade aparente do Ca foi afetada pelos níveis de cálcio nas dietas, sendo que para o nível baixo a digestibilidade aparente foi de 42,2% e para os níveis médio e alto foram de, respectivamente, 27,9 e 27,4%.

No presente trabalho, a absorção de cálcio foi influenciada pelos níveis crescentes do elemento nas dietas, com valores mais altos a partir do nível médio (0,45%) de

consumo de Ca nas dietas. Entretanto, considerando-se o consumo de Ca, percentualmente, a absorção diminuiu com o nível mais alto de consumo, caindo de 85,07 para 76,26%, indicando menor capacidade de aproveitamento do elemento para níveis elevados de consumo.

A disponibilidade biológica de cálcio para os tratamentos utilizados no presente trabalho não foi influenciada pelos níveis de cálcio nas dietas ( $p > 0.05$ ). Os valores percentuais médios encontrados para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> foram 84,63%; 84,17% e 76,32%, respectivamente. Estes valores mostraram-se elevados.

Schryver et al. (1970), trabalhando com pôneis, reportaram disponibilidade biológica de cálcio em torno de 70%, quando as dietas continham níveis de cálcio de manutenção, entretanto, quando os níveis de cálcio ingerido foram elevados para quatro vezes, a disponibilidade biológica caiu para 50%. Os autores também ressaltam que a digestibilidade do cálcio em pôneis pode ser diferente entre animais jovens, em crescimento e adultos.

Hintz & Shryver (1972), avaliando a disponibilidade biológica de cálcio e fósforo de vários suplementos em pôneis, observaram que a inclusão de suplementos ricos em cálcio e fósforo à dieta basal (sem suplementos) não alterou a disponibilidade biológica do cálcio. Entretanto, estes autores trabalharam com níveis de cálcio não superiores a 25% a mais do que as exigências de manutenção. Afirmam que, pode-se assumir que a disponibilidade biológica do cálcio encontra-se ao redor de 70%, quando o cálcio ingerido não é superior em mais de 25% das exigências de manutenção.

No presente trabalho, a disponibilidade biológica do Ca foi alta e não foi afetada pelos níveis de Ca nas dietas. Entretanto, o valor numérico foi menor (76,32%) para o maior nível (0,75%) de Ca na dieta. Os fatores que podem ter contribuído para esta possível alteração metabólica seriam o aumento das excreções fecal e urinária do Ca, aumento na perda endógena fecal de Ca, bem como a menor percentagem de Ca absorvido em relação ao consumido.

Os valores obtidos para cálcio retido foram de 24,37; 97,76 e 126,58 mg/KgPV/dia para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> respectivamente, que representaram 49,18, 69,08 e 58,505 do cálcio consumido. Verificou-se uma regressão linear entre níveis de cálcio na dieta e cálcio retido, expressa pela equação  $y = 6,4 + 1,70x$   $r^2 = 0,94$  e ilustrada na FIGURA 6.

Considerando-se a relação positiva entre cálcio consumido e retenção do elemento, os resultados concordam com outros experimentos realizados com equinos.

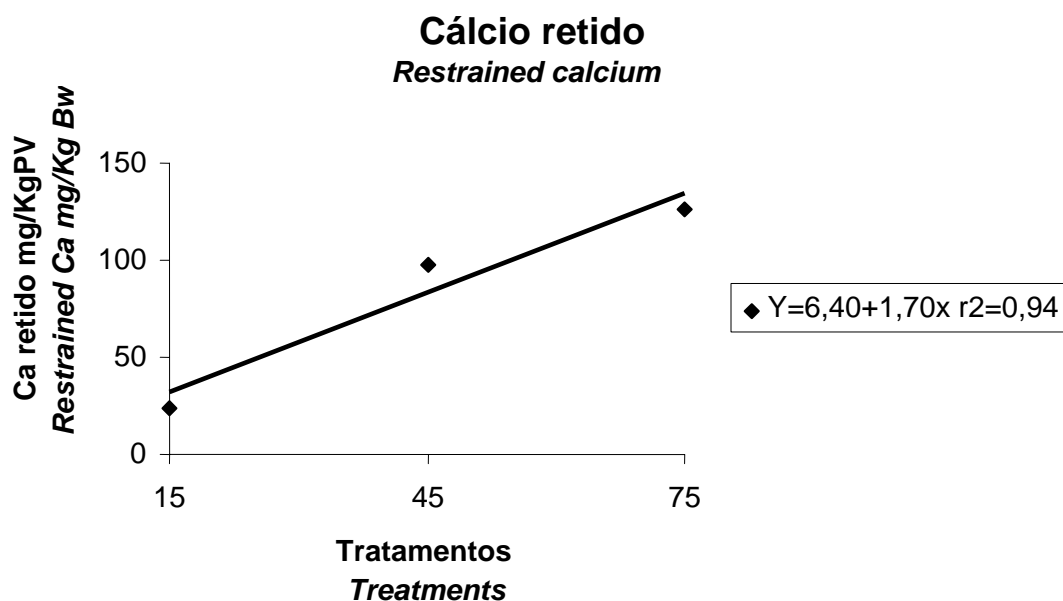


FIGURA 6 – Níveis de cálcio na dieta e cálcio retido  
FIGURE 6 - Levels of calcium in the diet and restrained calcium

Os resultados obtidos por Schryver et al.(1970), com pôneis recebendo três diferentes níveis de cálcio na dieta (0,15; 0,80 e 1,50%), mostraram uma relação positiva entre cálcio ingerido e retenção de cálcio. No citado trabalho, os animais permaneceram em balanço negativo de cálcio no tratamento com 0,15% de cálcio na dieta e foram obtidos valores médios de 24,0 e 56,0 mg/KgPV/dia, respectivamente, para os tratamentos com 0,80 e 1,50% de cálcio nas dietas.

Hintz & Schryver (1972), trabalhando com pôneis recebendo dietas contendo entre 0,30 e 0,44% de cálcio, obtiveram valores entre 2,4 e 12,7 mg/KgPV/dia, sendo que o aumento do cálcio ingerido provocou aumento significativo na retenção de cálcio.

Estudando a influência da ingestão de cálcio na digestibilidade do fósforo, van Doorn et al. (2004), trabalhando com pôneis adultos, ingerindo nível médio de fósforo de 125,43 mg/KgPV/dia e três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia), obtiveram valores para cálcio retido de, respectivamente, 13,5; 27,0 e 65,6 mg/KgPV/dia, sendo que o aumento dos níveis de cálcio ingerido elevaram significativamente a retenção do mesmo.

No presente trabalho, a retenção de cálcio foi influenciada pelos níveis crescentes do elemento nas dietas, com valores mais altos a partir do nível médio (0,45%) de

consumo de Ca nas dietas. Entretanto, considerando-se o consumo de Ca, percentualmente, a retenção diminuiu com o nível mais alto de consumo, caindo de 69,09 para 58,50%, indicando menor capacidade de aproveitamento do elemento para níveis elevados de consumo.

A TABELA 8 demonstra que no presente experimento obteve-se uma eficiência média de absorção real (disponibilidade biológica) de cálcio de 81,70%, e perda endógena fecal média de 20,85mg/KgPV/dia. Assim sendo, um potro em crescimento, nas mesmas condições experimentais, necessitaria de 25,52mg/KgPV/dia ( $20,85 \times 100/81,7$ ) de cálcio para manter o balanço da perda metabólica fecal do elemento.

Os requerimentos de cálcio para um ótimo desenvolvimento ósseo de potros em crescimento são baseados na estimativa de que o potro em desenvolvimento deposita aproximadamente 16 g/dia de fósforo por Kg de ganho de peso (Schryver et al., 1974).

Nas condições do presente trabalho, as exigências de fósforo para potros em crescimento com peso vivo médio de 221,0Kg podem ser calculadas considerando: deposição de 16g de P/Kg ganho de peso; 0,68Kg de ganho de peso e eficiência de absorção de 81,70% ( $16g \times 0,68Kg / 0,817\%$ ) = 13,32g, em adição ao requerimento para manutenção ( $221,0Kg \times 25,52mg$ ) = 5,64g, totalizando um requerimento de 18,96g de cálcio por dia. Este valor é inferior ao previsto pelo NRC (1989) e por Ott (1995), que é de 27g de cálcio/cabeça/dia.

A Figura 7 ilustra os parâmetros relacionados ao metabolismo de cálcio, permitindo melhor visualização do comportamento deste elemento mineral no organismo animal.

No presente trabalho todos os animais terminaram o experimento, não havendo aparentemente efeitos prejudiciais (distúrbios do trato digestório ou problemas de palatabilidade) pelo consumo das dietas experimentais. O exame parasitológico de fezes indicou o.p.g. igual a zero para todos os animais, bem como todos os animais mostraram-se em boas condições de saúde. Os animais mostraram-se adaptados ao confinamento total em gaiola de metabolismo, permanecendo em pé e sem sair do equipamento durante todo o período de coleta, sem contudo ter havido a ocorrência de edemas graves nos membros.



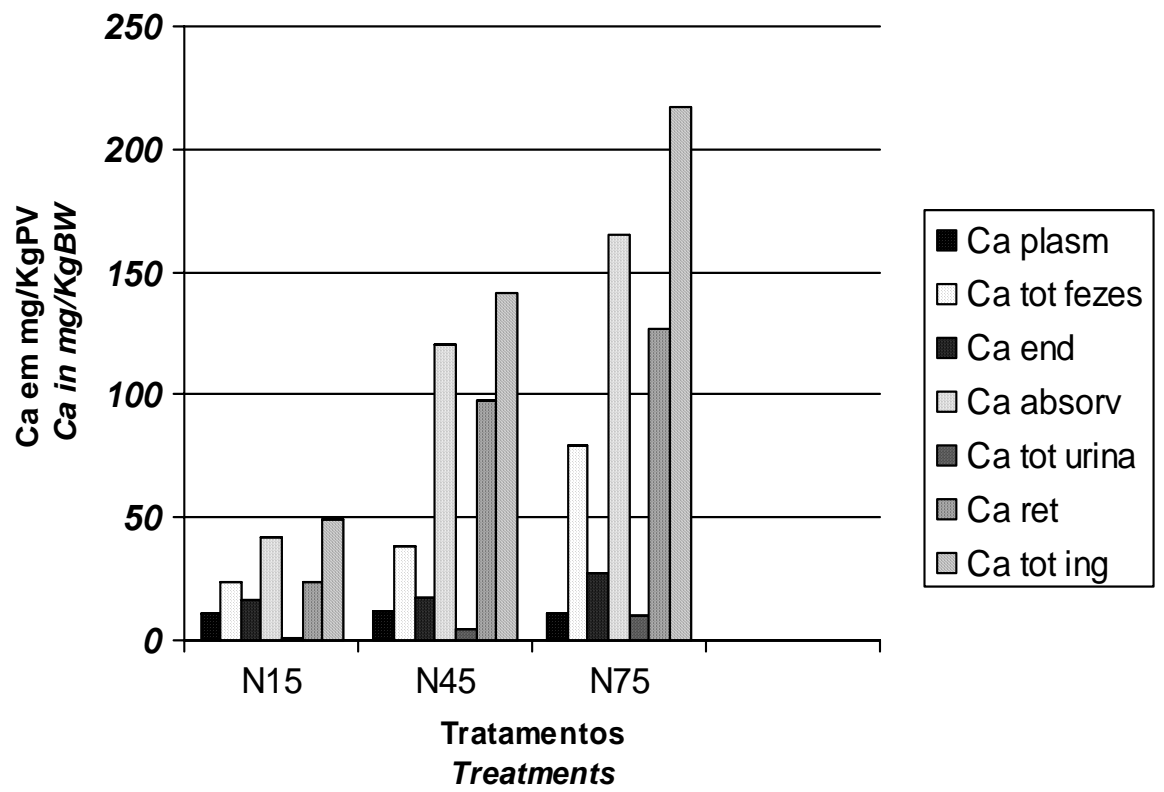


FIGURA 7 - Parâmetros relacionados ao metabolismo de cálcio

FIGURE 7 - Parameters related to the calcium metabolism

## CONCLUSÕES

Os níveis de cálcio das dietas em estudo mostrou-se eficiente em manter concentrações adequadas do elemento no sangue.

Os parâmetros de cálcio plasmático, cálcio na urina, cálcio endógeno nas fezes e disponibilidade biológica do cálcio não foram afetados pelos níveis de cálcio das dietas.

Os parâmetros de cálcio nas fezes, cálcio absorvido e cálcio retido foram dependentes do nível de ingestão de cálcio.

O cálcio total excretado nas fezes correspondeu, em média, a 34,88% do cálcio total ingerido, indicando que, levando-se em conta a elevada retenção do elemento, a eliminação do cálcio é, na sua maioria, através das fezes.

Os valores numéricos mais elevados de excreção urinária de cálcio foram obtidos a medida em que aumenta-se o nível de cálcio nas dietas (de 0,93 para 10,38 mg/Kg PV/dia), o que sugere que a excreção renal de Ca pode ser um importante mecanismo na homeostasia do elemento, juntamente com a excreção fecal, principalmente com elevado consumo do elemento.

Os resultados obtidos no presente experimento sugerem que as exigências de Ca (18,96g de cálcio/animal/dia) para raças nacionais podem ser menores (aproximadamente de 30%) que as preconizadas pelo NRC (1989), ou outras tabelas internacionais de normas de requerimentos nutricionais para eqüinos.

**LITERATURA CITADA**

- ARGENZIO, R. A .; LOWE, J.E.; HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Calcium and phosphorus homeostasis in horse. **Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p. 18-24, 1973.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington: AOAC, 1980. 1018 p.
- BUCHHOLZ-BRYANT, M.A.; BAKER, L.A.; PIPKIN, J.L.; MANSELL, B.S.; HALIBURTON, D.V.M.; BACHMAN, M.S. The effect of calcium and phosphorus supplementation, inactivity, and subsequent aerobic training on the mineral balance in young, mature and aged horses. **Journal of Veterinary Science**. v.21, n.2, p.71-77, 2001.
- CAPEN, C.C. The calcium regulating hormones: parathyroid hormone, calcitonin and cholecalciferol. In: McDonald, L.E. (Ed): **Veterinary endocrinology and reproduction**. 3rd ed, Philadelphia, Lea&Febiger, p60-130, 1980.
- FISKE, C.H.; SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v.66, n.2, p.375-400, 1925.
- FRAPE, D. **Nutrición y Alimentación del Caballo**. Zaragoza: Acribia S.A., 1992. 404 p.
- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Gaiola de metabolismo para equinos. **Acta Scientiarum**. v.22, n.3, p.813-816, 2000.
- GODFREY, S.L.; SHREWBURY, C.L. Determination of fluorine in minerals and bones. **Association of Agricultural Chemistry**, Washington, v.28, p.437-443, 1945.
- HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Availability of ponies of calcium and phosphorus from various supplements. **Journal of Animal Science**, v.34, n.4, p.979-980, 1972.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Laboratory training manual on the use of nuclear techniques in animal research**. Vienna: IAEA, 1979. 299p. (Technical Report Series, 193).

- LOFGREEN, G.P.; KLEIBER, M. The availability of the phosphorus in alfalfa hay. **Journal of Animal Science**, v.12, n.2, p.366-371, 1953.
- McDOWELL, L.R. **Mineral in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.
- McKENISIE, R.A.; BLANEY, B.J.; GARTNER, R.J.W. The effect of dietary oxalate on calcium, phosphorus and magnesium balances in horses. **Journal of Agricultural Science**, v.97, n.1, p.69-74, 1981.
- MORSE, D. et al. Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p. 3039-3949, 1992.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Horses**. 5. ed. Washington: National Acad. Sciences, 1989, 100p.
- OTT, E.A. Dietary nutrient allowances for horses. **Feedstuffs**, v.64, n.29, p.77-80, 1995.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.
- SCHRYVER, H.F.; GRAIG, P.H.; HINTS, H.F. Calcium metabolism in ponies fed varying levels of calcium. **Journal of Nutrition**, v.100, n.5, p.955-964, 1970.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; GRAIG, P.H. Phosphorus metabolism in ponies fed varying levels of phosphorus. **Journal of Nutrition**, v.101, n.5, p.1257-1264, 1971.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E. Calcium and phosphorus in the nutrition of the horse. **Cornell Veterinary**, v. 64, n. 4, p. 493-515, 1974a.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E.; JINTZ, R.L.; HARPER, R.B.; REID, J.T. Mineral compositions of the whole body, liver and bone of young horses. **Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p.126-134, 1974b.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM.- SAS - **System for linear models**. Cary: SAS Institute, 1986. 211 p.

SWARTZMAN, J.A.; HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Inhibition of calcium absorption in ponies fed diets containing oxalic acid. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, p. 1621-1623, 1978.

TORRES, A.P.; JARDIM, W.R. **Criação do cavalo e de outros eqüinos**. São Paulo. Livraria Nobel. 1981, 654p.

UNDERWOOD, E.J. **The mineral nutrition of livestock**. 2. ed., Farham Royal: Comm. Agric. Bureaux, 1981. 180p.

VAN DOORN, D.A.; VAN DER SPEK, M.E.; EVERTS, H.; WOUTERSE, H.; BEYNEN, A.C. The influence of calcium intake on phosphorus digestibility in mature ponies. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 88. p. 412-418, 2004.

WALTHALL, J.C.; MCKENZIE, R.A.: Osteodystrofia fibrosa in horses at pasture in Queensland: field and laboratory observations. **Australian Veterinary Journal**, v.52, p11-16, 1976.

ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; JORGENSEN, S.S.; REIS, B.F. Merzging in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic and flame emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.104, p.279-284, 1979.

# I-INTRODUÇÃO

## 1.1. Introdução Geral

Entre os fatores responsáveis pela baixa produtividade do rebanho equídeo nacional (aproximadamente de 9 milhões de cabeças, segundo o IBGE, 1993), as carências minerais, principalmente de cálcio e fósforo, ocupam lugar de destaque (Furtado et al., 2000 a e b). As pastagens brasileiras apresentam, de forma generalizada, baixos níveis de fósforo (Torres & Jardim, 1981), que estão muito aquém dos requerimentos mínimos dos eqüídeos. A deficiência de fósforo nos eqüídeos provoca alterações que se refletem principalmente no cálcio, afetando também a formação óssea. A integridade do sistema ósseo (esqueleto) tem importância vital no desenvolvimento de eqüinos. Qualquer comprometimento, no desenvolvimento do esqueleto e nas condições de saúde e de bem-estar desses animais, pode levar a um desempenho esportivo inferior ao verdadeiro potencial genético e depreciação no valor comercial do animal atleta (Caple et al., 1982).

Durante muito tempo, pesquisadores chamaram atenção para o fato de que a nutrição mineral, em especial a de fósforo e cálcio, seria um dos principais fatores responsáveis pela incidência do desenvolvimento de doenças ortopédicas (DDO) em eqüinos (Teeter et al., 1967; Shryver et al., 1971; Cunha, 1991).

O cálcio (Ca) e o fósforo (P) são elementos que desempenham um grande número de funções no organismo, além de serem constituintes dos ossos e dentes. Neste sentido, estão presentes nos processos metabólicos associados com ADP, ATP, síntese de fosfolipídios, ácidos nucléicos e fosfoproteínas (NRC, 1989). Esses elementos, portanto, devem estar disponíveis em quantidades apropriadas na ração ou suplemento.

Os mecanismos homeostáticos que regulam o metabolismo do cálcio e do fósforo na espécie equina foram estudados por diversos autores, como Schryver et al. (1970; 1971), Hintz et al. (1971;1973), Schryver et al. (1972), Hintz & Schryver (1972), Schryver et al. (1974a), Argenzio et al. (1974), Hintz & Schryver (1976), McKensie et al. (1981), Blaney et al. (1981), Schryver et al. (1986), Glade et al. (1986) e Schryver et al. (1987). Observa-se que as pesquisas não são recentes, foram conduzidas em outros países, com animais (raças) e ingredientes componentes das dietas diferentes dos normalmente encontrados em nosso país.

Os resultados das pesquisas com fósforo e cálcio têm apresentado grande variação, propiciada não apenas pelo crescente desenvolvimento e produtividade animal (mostra-se difícil atualmente precisar as reais de exigências de equinos em crescimento devido não se conhecer as taxas ótimas de crescimento e de desempenho), mas também, por importantes avanços na tecnologia da nutrição e dos sistemas de criação, especialmente, quando se trata de produção em grande escala. Por outro lado, a indústria de alimentos e seus nutricionistas necessitam de informações precisas, para produzir rações que atendam às exigências dos animais com menor custo, uma vez que tem sido demonstrado que níveis adequados de mineral para crescimento são insuficientes para a máxima mineralização, e a necessidade de que menor quantidade de minerais, em especial de fósforo, sejam incorporados ao solo poluindo o meio ambiente. Portanto estudos de metabolismo de cálcio e de fósforo, que permitam identificar a absorção e a biodisponibilidade destes elementos mostram-se fundamentais na atualidade (Bravo et al., 2003).

Na literatura internacional consultada existem poucas informações recentes sobre o metabolismo de cálcio e do fósforo em equinos, especialmente sobre perda endógena e eficiência de absorção, que por sua vez permitem adequadamente determinar as reais exigências nutricionais dos elementos em estudo. Pesquisas avaliando a cinética destes elementos em tecidos e fluidos utilizando equinos também são escassas. Schryver et al (1974b), utilizando equinos com idade entre 12 e 20 meses, submetidos a dietas com vários níveis de Ca e P relataram que a composição média destes elementos no fígado foi de 0,12 e 9,2 mg/grama de tecido, respectivamente; enquanto que o teor de P foi de 164 mg/grama de cinza para os ossos úmero, rádio, metacarpo, fêmur, tíbia e metatarso. Lopes et al. (2003a e b), em nosso país, em trabalhos pioneiros, avaliaram a cinética do fósforo em equinos recebendo dietas com diferentes fontes e níveis do elemento. Desta forma mostram-se importantes novos

estudos, que possibilitem com maior profundidade identificar em eqüinos o metabolismo do cálcio e suas inter-relações com o fósforo, em especial para que mais se aproximem da realidade da eqüídeo cultura brasileira.

Meyer et al. (1992) relataram que a regulação do metabolismo do cálcio é menos conhecido em eqüinos comparativamente as outras espécies, em especial quanto a absorção e excreção deste elemento em função aos níveis de cálcio consumido.

No Brasil, estudos pioneiros de metabolismo do P utilizando eqüinos em crescimento foram realizados utilizando a metodologia de radioisótopos ( $^{32}\text{P}$ ). Oliveira (1999), estudando o metabolismo do fósforo, avaliou a disponibilidade biológica do P em diferentes dietas para potros em crescimento, encontrou valores entre 40,98 e 57,68% para disponibilidade biológica e entre 25,20 e 47,43 mg/Kg PV/dia para retenção de P. A autora conclui que os resultados sugerem que os eqüinos dispõe de recursos digestivos próprios e suficientes para o aproveitamento do fósforo disponível nos alimentos concentrados na forma de fitatos.

Furtado et al. (2000a e b) também trabalhando com eqüinos em crescimento, relataram que a excreção renal de fósforo aumenta significativamente somente com o aumento no consumo; a excreção pelas fezes representa a principal fonte de eliminação do P e que a perda endógena e a biodisponibilidade do P não foram dependentes do nível de P consumido ( 10,34 mg/kg/PV e 47,07%, respectivamente). Neste trabalho os autores indicaram que as reais exigências de fósforo de eqüinos de raças nacionais, consumindo dietas compostas por ingredientes produzidos em nosso país, podem ser inferiores às determinadas pelas tabelas estrangeiras de normas de nutrição animal. Os autores determinaram ainda valores de biodisponibilidade variando de 25,2 a 33,9% para diferentes fontes de P; e considerando os valores de P endógeno fecal, P absorvido, P retido e absorção real de P o fosfato bicálcico e o fosfato de rocha de Patos de Minas mostraram-se fontes eficientes de P para eqüinos.

Em trabalho mais recente, Van Doorn et al.(2004) avaliaram a influência do cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo e cálcio em pôneis. Os autores enfatizaram também a escassez de estudos e ausência de relatos conclusivos sobre o metabolismo destes minerais, e estudaram o efeito de altos níveis de cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo em eqüinos. Ressaltaram que os resultados relatados pela literatura correlata mostram-se conflitantes. Ainda segundo estes autores, nenhum dos estudos anteriormente realizados avaliou o efeito de níveis de ingestão de cálcio na digestibilidade do fósforo mantendo-se constante a ingestão de fósforo.



O objetivo do presente trabalho foi o de estudar o metabolismo de cálcio e de fósforo em equinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio, visando obter informações nutricionais sobre estes dois importantes minerais que melhor se adaptem ao manejo alimentar dos equinos criados em nosso país.

## 1.2. Metabolismo do fósforo

### 1.2.1. Importância, funções, distribuição nos tecidos e homeostase.

O fósforo (P), juntamente com o cálcio (Ca) são os elementos minerais encontrados em maior quantidade nos mamíferos.

O fósforo é classificado como um macroelemento mineral e conta com mais de 70 mg/kg de peso vivo animal (Bondi, 1989). Encontra-se presente na maioria das moléculas orgânicas na forma de fosfato, um composto quem contém oxigênio e fósforo.

Da mesma forma que o cálcio, o fósforo representa grande quantidade no corpo animal, cerca de 70% em relação aos demais minerais (Lewis, 1995). Segundo Meyer (1995), o organismo do cavalo de tamanho médio contém cerca de 4,0 kg de fósforo total. Do total de fósforo, cerca de 80% pode ser encontrado nos ossos e dentes (na forma de fosfato de cálcio e hidroxiapatita). Portanto, sua maior função no corpo do animal é fazer parte da estrutura óssea, proporcionando estabilidade mecânica, bem como rigidez e dureza ao esqueleto (Underwood, 1981; Bondi, 1989). O fósforo esta presente também na produção de leite, cerca de 30 a 50% em relação aos demais nutrientes (Lewis, 1995).

Os 20% restantes de fósforo representam sua principal função metabólica: encontram-se distribuídos nos fluidos celulares e tecidos moles (ex: músculos e nervos) do corpo, onde pode atuar como agente tamponante, para dar continuidade ao metabolismo energético. O fósforo tem grande importância na maioria das reações metabólicas, como as fosforilações e desfosforilações, sendo considerado o macroelemento mineral mais versátil. Pode também ser encontrado nas combinações orgânicas como a adenosina trifosfato (ATP), difosfato (ADP) e monofosfato cíclico (AMPc), presente nas hexoses fosfato, fosfolipídios, fosfoproteínas e fosfocreatinas.

Toda reação metabólica que envolve gasto de energia depende da presença de fósforo, pois envolvem formações de ligações de alta energia, unindo óxidos de fósforo a carbonos ou a compostos carbônicos nitrogenados. O fósforo atua no metabolismo de gordura e proteínas, faz parte do conteúdo celular do núcleo, na forma dos ácidos nucléicos (RNA e DNA) atuando nos processos de crescimento e diferenciação celular (Hays & Swenson, 1988; McDowell, 1992).

Nos ossos, o fósforo e o cálcio estão na forma de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) e encontram-se na proporção de cálcio e fósforo de aproximadamente 2:1. A hidroxiapatita está presente como cristais intimamente associados a proteínas fibrosas e colágeno. Quando ocorre deficiência de fósforo no animal, 40% das necessidades desse mineral podem ser supridas por resorção óssea (Sevilla, 1985). As trocas bioquímicas do fósforo e cálcio nos tecidos e fluidos animais são constantes e variam de intensidade em função, dentre outros fatores, da idade e do estágio fisiológico, sendo importantes no diagnóstico da carência desse mineral, uma vez que, níveis dietéticos insuficientes resultam em diminuição de sua concentração no organismo. Neste processo, os elementos minerais entram continuamente no sangue e na linfa a partir do trato digestivo, órgãos e tecidos, e são eliminados, no curso do metabolismo, pelos órgãos de excreção, através da interligação entre sangue, órgãos e tecidos (Annenkov, 1982a).

Vários são os fatores que influenciam a utilização do fósforo pelas espécies animais. Entre eles temos o tipo de ração; a forma química do elemento e sua relação na dieta; cálcio; o sexo e a idade do animal; o ambiente; hormônios, vitamina D; níveis de gordura, energia e proteína da dieta; inter-relação com outros minerais e nutrientes; a presença de agentes quelantes e metais pesados; o processamento do alimento, além da natureza física deste e da fonte mineral (Peeler, 1972). Na espécie equina, estudos realizados na década de 1970 comprovaram a influência de alguns destes fatores, como a quantidade relativa e absoluta de cada mineral na dieta, o status nutricional da vitamina D, a presença de fatores dietéticos como o oxalato e fitato, certos aminoácidos e carboidratos, a idade e a intensidade do metabolismo mineral do animal (Schryver et al, 1974a e b), além controle hormonal (Argenzio et al, 1974).

Há falta de informações sobre o metabolismo de fósforo em equinos, especialmente sobre a perda endógena deste elemento. De acordo com o ARC (1980), a excreção endógena de fósforo em ruminantes não é constante, mas atua como rota de excreção do elemento absorvido em excesso, de acordo com a necessidade.

Em ruminantes, a homeostase do fósforo é feita através do controle da perda fecal deste elemento e há discordâncias quanto aos mecanismos envolvidos (Challa & Braithwaite, 1988).

Nos ruminantes, a excreção urinária do fósforo inorgânico é baixa, portanto, ao contrário dos não ruminantes, não contribui significativamente para a regulação da homeostase do fósforo. Entretanto, se o consumo de fósforo for excessivo, a excreção urinária assume maior importância, aproximando-os dos não ruminantes (Braithwaite, 1985; Breves & Schröder, 1991). Scott (1988) acrescentou que os mecanismos que controlam o balanço de fósforo de ruminantes são dependentes da glândula salivar, pois a concentração salivar de fósforo inorgânico é alta, cerca de 5,0 a 10,0 g/dia e parece favorecer a excreção de fósforo pelas fezes.

Estudos enfocando ruminantes relataram que existem poucos aspectos do metabolismo do fósforo que são totalmente conhecidos, e que relevantes informações de estimativas de requerimentos deste mineral são muito dependentes de dados obtidos com ovinos. Concluem ainda da necessidade de futuras pesquisas para determinar as exigências de fósforo para manutenção (determinando corretamente a perda endógena fecal, que pode ser influenciada por fatores como: ingestão de alimento, natureza da dieta e individualidade entre animais) e que há poucas informações sobre disponibilidade de fósforo em forragens e outros alimentos (Braithwaite, 1985; Chala, 1986; Chala & Braithwaite, 1988; Breves & Schröder, 1991).

Quando o animal ingere dietas deficientes em fósforo, o primeiro sintoma pode ser a queda na fração do fosfato inorgânico no plasma sanguíneo e um direcionamento das reservas de fósforo e cálcio dos ossos. Os mecanismos fisiológicos ou homeostáticos que regulam o fósforo sanguíneo e outros elementos não atuam tão rapidamente como aqueles envolvidos na manutenção plasmática do nível de cálcio (Underwood, 1981).

A regulação da homeostase do fósforo em não ruminantes está ligada à excreção renal e à absorção intestinal. Ao receber dietas hipofosfóricas, a proporção do fósforo absorvido na dieta pode ser aumentada e, concomitantemente, a absorção do fósforo inorgânico nos túbulos renais pode ser acrescida, no sentido de minimizar a excreção urinária do alimento (Mulroney & Haranati, 1990). No caso dos ruminantes, a principal rota de controle da homeostase do fósforo é feita principalmente através da saliva e do intestino.

A regulação hormonal da homeostase de fósforo e do cálcio é caracterizada por mecanismos comuns e modulada principalmente por três hormônios, o paratormônio (PTH), a calcitonina e o 1,25-dehidroxicolecalciferol, que atuam simultaneamente em três tecidos alvos: ossos, intestinos e rins. Há também o 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, denominado calcitriol, metabólico originário da vitamina D produzida nos rins, e causa efeitos nos intestinos, ossos e outros tecidos. Sua velocidade de formação depende dos níveis sanguíneos de cálcio, fosfato e/ou paratormônio, bem como as necessidades de cálcio e fosfato animal. O calcitriol estimula a absorção intestinal e a reabsorção renal do fosfato.

O PTH mobiliza o cálcio e o fosfato ósseo aumentando os níveis plasmáticos de cálcio, diminuindo a excreção de cálcio e aumentando a excreção urinária de fosfato. Tem atuação também na ativação do metabolismo de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. O aumento do fosfato plasmático estimula a secreção do PTH. O mecanismo renal do PTH na regulação do fosfato é de grande importância na homeostase deste íon (Hays & Swenson, 1988; Reinhardt et al., 1988; Ganong, 1993).

A calcitonina, hormônio tireoideano, apresenta ação antagonista ao PTH, inibe a reabsorção óssea provoca queda rápida nos níveis de cálcio e impede a reabsorção de fosfato pelos rins. Uma pequena redução na concentração de cálcio no soro sanguíneo resulta no aumento da produção de PTH, provocando um acréscimo na reabsorção de cálcio nos ossos, intestinos e rins e uma elevação na excreção de fósforo via rins (King, 1994). Recentemente, foi avaliada uma técnica de mensuração do PTH em eqüinos: Estepa et al. (1998) concluíram que os kits utilizados como rotina, na determinação do PTH em humanos e ratos, também podem ser usados no plasma de eqüinos. A quantificação do PTH usando essa técnica pode ser mais uma ferramenta na avaliação das desordens que afetam o metabolismo mineral em eqüinos.

No trabalho de Kichura et al. (1983) foi observado que potros consumindo dietas ricas em fósforo, o cálcio influenciou a excreção urinária de fósforo, em maior extensão do que quando foram alimentados com dietas pobres. Os mecanismos envolvidos no controle da redução da excreção urinária do fósforo podem depender dos mecanismos homeostáticos do cálcio.

### 1.2.2. Nível plasmático de fósforo

O fósforo plasmático é constituído, em grande parte, por compostos orgânicos, sendo o restante na forma de fósforo inorgânico, (Pi), principalmente  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ , e  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (Ganong, 1993).

O nível plasmático de fósforo é mais facilmente alterado pela dieta do que o nível plasmático de cálcio. Se o animal apresentar *status* nutricional adequado, o nível plasmático de fósforo pode variar de 4 a 9 mg por 100 mL, dependendo da espécie e idade do animal (McDowell, 1992). No entanto, apesar de ser alterado pela dieta, não pode estar relacionado à falta de equilíbrio entre os demais nutrientes presentes na dieta.

Para a espécie eqüina, a falta de equilíbrio entre os níveis de cálcio e fósforo nas dietas, principalmente para potros em crescimento, pode levar o animal ao desenvolvimento de doenças ortopédicas (DDO), como artrites, osteodistrofias fibrosas e osteocondroses (Teeter et al., 1967; Lowe, 1995).

Teeter et al. (1967) afirmam que nem sempre essa falta de equilíbrio entre os minerais é verificada a tempo, na prevenção dos problemas clínicos. Esses mesmos autores utilizaram diferentes níveis de fósforo em dietas purificadas (0,30; 0,50 e 0,61%), para potros em crescimento e relataram que os valores de fósforo plasmáticos foram respectivamente 3,80; 4,13 e 4,81 mg/100 mL. Nesse trabalho, concluíram que para dietas que contenham no mínimo 0,5% de cálcio e fósforo, os animais apresentaram retenção mineral positiva. Para animais adultos e dietas variando de 0,30 a 0,65% de fósforo, os valores foram respectivamente, 3,84 e 3,22 mg/100 mL.

Carvalho (1993) estudou a técnica da taxa de depuração renal de creatina para avaliação do *status* mineral do fósforo em eqüinos. Foram comparadas dietas contendo níveis baixos de fósforo, variando de 9,6 a 49,92 g/dia. Essa técnica se mostrou sensível, somente quando a dieta continha níveis altos de fósforo. A análise simultânea do soro sanguíneo e urina 48 horas após a alimentação pode indicar um consumo excessivo de fósforo, revelando um desequilíbrio que permita a tempo a correção com adequado balanceamento do fósforo na dieta.

O nível de fosfato inorgânico plasmático é de 2.1 a 5,9 mg/dL (Portale, 1990), no entanto, da mesma forma como acontece em humanos, a fosfatemia em cavalos também varia com a idade (Bauer 1990, Enbergs et al., 1996).

Os níveis plasmáticos do fósforo podem ser influenciados por uma série de fatores, como a relação de cálcio e fósforo na dieta, a disponibilidade biológica do fósforo, a atividade física, a idade do animal, além de outros.

Kichura et al. (1983) estudaram o efeito de quatro dietas com diferentes proporções de cálcio e fósforo (basal), pobre em cálcio e fósforo (dieta 1); rica em cálcio e pobre em fósforo (dieta 2); pobre em cálcio e rica em fósforo (dieta 3) rica em cálcio e fósforo (dieta 4) em pôneis de diferentes grupos de idade (desmamados, potros de um ano e adultos). As dietas basais continham para os três grupos de idade, respectivamente, 0,23; 0,17 e 0,12% de fósforo; e 2.2:1 1,25:1 e 1,4:1 na relação de cálcio: fósforo em porcentagem da matéria seca total. Foram encontrados os seguintes níveis plasmáticos, respectivamente, para os três grupos de idade: para a dieta 2 (4,3; 4,8 e 2,8 mg/100 mL), para a dieta 3 (8,2; 8,3 e 4,7 mg/100 mL), e para a dieta 4 (7,8; 7,5 e 4,0 mg/100 mL). Os autores concluíram que a habilidade de manutenção dos níveis plasmáticos apresentaram diferenças quanto à dieta, idade e níveis de cálcio na dieta.

Schryver et al. (1971), ao utilizarem pôneis de 24 meses, recebendo dieta basal (0,20%) e intermediária (0,79% de fósforo), verificaram que a concentração plasmática de fósforo permaneceu constante, respectivamente, 3,7 e 3,5 mg/100 mL; entretanto, o valor aumentou para 5,5 mg/100 mL, quando os animais receberam dietas com níveis maiores de fósforo (1,19%). Em estudos subsequentes, Argenzio et al. (1974) compararam duas dietas: basal (0,6%) e rica com fósforo (1,4%). Foram verificadas concentrações significativamente maiores de fósforo no soro, do grupo que recebeu a dieta rica em fósforo (5,11 mg/100 mL) em relação ao grupo da dieta basal (4,3 mg/100 mL). Elfers et al. (1986) utilizando pônies adultos relataram valores de fósforo plasmático variando de 2,4 a 5,0 mg/dL.

Com relação ao uso de fontes fosfatadas, Furtado et al. (2000a) avaliou o uso de diferentes fontes inorgânicas fosfatadas. Os valores obtidos de fósforo no plasma para as fontes: fosfato de rocha de Tapira e de Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos não apresentaram diferenças significativas, respectivamente, (4,69; 5,46; 4,93 e 4,85 mg/100 mL). Mesmo ao avaliar diferentes níveis de fósforo total, variando de 0 a 25 g/animal/dia, num segundo experimento, Furtado et al. (2000b) não encontraram diferenças nos níveis de fósforo no plasma, que apresentaram média de 4,55 mg/100 mL.

Oliveira (1999), obteve valores para fósforo plasmático entre 5,70 e 7,10 mg/100mL, em potros alimentados com cinco diferentes dietas, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

Schryver et al. (1987) em experimento objetivando verificar se o uso excessivo de fontes protéicas como farelos, ricos em fósforo na forma de fitato poderiam influenciar o metabolismo e possivelmente os níveis plasmáticos de fósforo, utilizaram três dietas com níveis crescentes de proteína: 9; 14 e 20%. Apesar das diferenças de proteína, os níveis plasmáticos de fósforo permaneceram constantes ao longo de todo o período experimental (364 dias), respectivamente, 5,5; 5,3 e 5,4 mg/100 mL. A conclusão desse trabalho foi que o metabolismo de fósforo não se alterou com o nível de proteína da dieta, mesmo quando se utilizaram níveis excessivos de fontes protéicas ricas em fitato.

Buchholz-Bryant et al. (2001), estudaram o efeito da suplementação de cálcio e fósforo no balanço mineral de equinos jovens (2 a 3 anos de idade), adultos (7 a 11 anos de idade) e maduros (15 a 21 anos de idade) em inatividade e subsequente treinamento aeróbico. Utilizando-se de duas dietas experimentais: controle (133% das recomendações do NRC) e tratamento (275% das recomendações do NRC), observaram que as concentrações de fósforo plasmático permaneceram em níveis normais (2,3 a 5,5 mg/dL) durante todo o experimento. Entretanto, observaram variações na concentração plasmática do fósforo que, segundo os autores, estariam mais relacionadas às mudanças na atividade do que às diferenças de ingestão do elemento.

Como o fósforo plasmático pode sofrer ação de inúmeros fatores e, portanto, apresentar grande variação, é difícil avaliar o *status* de fósforo no animal utilizando apenas este parâmetro.

### 1.2.3. Fósforo nas fezes

Em geral, para herbívoros, as fezes são a principal via de excreção do fósforo, em outras espécies, a rota de excreção pode variar consideravelmente (Mcdowell, 1992).

Nos equinos, as fezes são consideradas a principal via de excreção apesar de os rins eliminarem quantidades significativas do elemento, quando o animal ingere dietas ricas em fósforo (acima de 200mg/KgPV/dia) (Hintz, 1983).

Buchholz-Bryant et al. (2001), confirmaram que a excreção fecal do fósforo está diretamente ligada à ingestão. Em estudo com equinos de várias idades, ingerindo entre

29,5 e 56,4 mg/Kg PV/dia de P, observaram valores para fósforo excretado nas fezes entre 28,48 e 53,79 mg/Kg PV/dia.

Utilizando pôneis adultos e nível de fósforo consumido de 108 mg/KgPV, Schryver et al (1971) obtiveram valor de fósforo total excretado nas fezes de 70,0 mg/KgPV, correspondendo a 64,8% do fósforo consumido.

Hintz & Schryver (1972), Hintz et al (1973) e Cymbaluck et al (1989), utilizando dietas basais suplementadas por fosfato bicálcico, farinha de ossos e fosfato monossódico, obtiveram valores médios de fósforo total excretado nas fezes em relação ao consumido de 76.13%.

Outros estudos, utilizando diversas fontes fosfatadas obtiveram o valor aproximado de 80,00% de fósforo total excretado nas fezes em relação ao consumido (Hintz & Schryver, 1973; Hintz et al, 1984; Cymbaluck & Christensen, 1986).

Oliveira (1999) obteve valores médios de fósforo total excretado nas fezes entre 51,23 e 64,38 mg/Kg PV/dia, para potros em crescimento, correspondendo em média a 59,57% do fósforo consumido.

Furtado et al.(2000a), trabalhando com potros com idade média de 10 meses e recebendo dietas experimentais, com diferentes combinações de alimentos energéticos e protéicos e diferentes fontes inorgânicas fosfatadas e consumo de fósforo entre 89,35 e 105,31 mg/Kg PV/dia, relataram médias para fósforo total excretado nas fezes entre 72,14 e 82,96 mg/KgPV/dia, correspondendo em média a 79,8% do fósforo consumido.

Em trabalho recente, van Doorn et al. (2004), trabalhando com pôneis adultos consumindo três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/Kg PV/dia) e nível padrão de fósforo, de 125,43 mg/Kg PV/dia, obtiveram valores de excreção fecal de fósforo de 98,6; 108,4 e 108,0 mg/Kg PV/dia, respectivamente.

#### 1.2.4. Fósforo na urina

Apesar das fezes serem consideradas a principal via de excreção do fósforo nos eqüinos, os rins eliminam quantidades significativas do elemento, quando o animal ingere dietas ricas em fósforo (Hintz, 1983). A literatura, entretanto, mostra-se pouco definida quanto aos níveis de excreção renal de fósforo em monogástricos.

Schryver et al. (1972) determinaram que a excreção urinaria total de P foi inferior a 1,0% em experimento utilizando pôneis, alimentados com dietas contendo



0,42 ou 0,32% de fósforo. Em trabalho anterior, Schryver et al. (1971) relataram que a excreção urinária em dietas basais (0,20%) em fósforo foi baixa (1,50 mg P/kg PV/dia) mas elevaram-se de acordo com o aumento do consumo de fósforo da dieta (42,0 mg P/kg PV/dia). A excreção renal do fósforo foi diretamente relacionada ao consumo e parece ser o mecanismo mais importante de manutenção da homeostase do fósforo em pôneis, quando estes ingerem altas concentrações do elemento (>200 mg/Kg PV/dia).

Quando o consumo de fósforo foi baixo, verificado em dietas basais deste elemento, da ordem de 40 mg/kg PV, a quantidade excretada na urina ou foi muito baixa (1,5 mg/kg PV) ou não foi detectada. Os autores concluíram que as fezes são a principal rota de excreção de fósforo nos eqüinos (Schryver et al., 1971; Hintz & Schryver, 1972; Cymbaluk & Christensen, 1986).

Brobst et al. (1978) relataram que, apesar da excreção urinária ser desprezível para ruminantes, nos eqüinos ela pode assumir maior dimensão, variando de 4 a 18 mg/100 mL. Elfers et al. (1986) trabalharam com pôneis adultos em idades variando de 2 a 8 anos e verificaram grande variação nos valores de excreção urinária do fósforo inorgânico (0,2 a 31,8 mg/100 mL).

Oliveira (1999), trabalhando com eqüinos em crescimento recebendo diferentes dietas, determinou valores para fósforo excretado na urina entre 1,38 e 6,85 mg/Kg PV/dia.

Furtado et al. (2000a) obtiveram valores para fósforo excretado na urina de eqüinos em crescimento e alimentados com diferentes combinações de alimentos energéticos e protéicos e diferentes fontes inorgânicas fosfatadas variando entre 0,11 e 2,76 mg/KgPV/dia, correspondendo, em média a 1,5% do fósforo consumido. Os autores consideram que, possivelmente, o nível protéico relativamente baixo das dietas (média de 7,96% PB) tenha contribuído para a baixa excreção de urinária de fósforo, o que concorda com Meyer et al (1989) e Glade et al (1986) que demonstraram ocorrer diminuição na excreção renal de fósforo em dietas com níveis protéicos não muito elevados.

Em estudo realizado com pôneis consumindo três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/Kg PV/dia) e nível padrão de fósforo de 125,43 mg/Kg PV/dia, van Doorn et al. (2004) observaram que a excreção renal de fósforo foi significativamente menor nas dietas com níveis mais elevados de cálcio, com valores médios de 8,1; 2,37 e 1,11 mg/Kg PV/dia, respectivamente.

### 1.2.5. Perda endógena fecal de fósforo

Segundo Annenkov (1982a), os cálculos da disponibilidade biológica (absorção real) do fósforo envolvem a determinação do conteúdo endógeno, pois a diferença entre a ingestão no alimento e a excreção nas fezes resulta numa absorção aparente.

No trato gastrointestinal, o conteúdo de fósforo pode ser de origem exógena (dieta) e endógena, através de secreções, principalmente pancreática e intestinal. Mudd & Stranks (1981) relataram que a perda endógena de um elemento mineral pode ocorrer via fezes ou urina. Um componente primário da perda endógena consiste na porção perdida pelos tecidos corporais (metabolismo dos tecidos, sucos digestivos, sais biliares, restos celulares), também denominada como perda obrigatória. Outra parte da perda endógena é o componente secundário, denominado perda não obrigatória, que é a fração excretada nas fezes e na urina, como via de remoção do excesso de mineral no corpo. Uma vez que as perdas obrigatórias e não obrigatórias podem ser distinguidas, a perda obrigatória pode ser considerada como a quantidade excretada pelo organismo para garantir o metabolismo basal. O fósforo excretado de origem exógena é a fração do elemento de origem alimentar que escapou da digestão e absorção ao longo de todo trato gastrointestinal.

Schyver et al. (1971) não identificaram frações significativas da perda endógena na urina, mas constataram que a excreção endógena fecal representa a maior perda obrigatória de fósforo em equinos, variando de 6 a 13 mg/Kg PV, independentemente do consumo de fósforo na dieta. Esses dados foram confirmados por Lieb & Baker (1975) que, avaliando os efeitos do consumo de cálcio no metabolismo de fósforo, constataram fósforo endógeno fecal constante, com valor médio de 6,5 mg/Kg PV/dia. A proporção cálcio:fósforo, os níveis de cálcio e fósforo na dieta e a idade do animal são fatores que podem influenciar a perda endógena fecal. Kichura et al. (1983) concluíram que a concentração de fósforo plasmático não é parâmetro para predição de fósforo endógeno fecal e dietas ricas em cálcio tendem a aumentar o fósforo endógeno fecal somente para potros de um ano de idade.

Oliveira (1999) obteve valores médios de perda endógena fecal variando de 6,73 a 9,80 mg/KgPV em potros de 10 meses, o que representou 8,5% do fósforo total consumido.

Furtado et al. (2000a), obtiveram valores médios de perda endógena fecal variando de 8,13 a 11,26 mg/KgPV em potros de um ano, representando cerca de 12,5% do fósforo total excretado nas fezes.

Furtado et al. (2000b), avaliando efeitos de diferentes níveis de fósforo na perda endógena do elemento, determinaram valores médios entre 9,39 e 11,72 mg/kg PV/dia, correspondendo a 27,9%, em média, do fósforo consumido. Concluem os autores, que a perda endógena fecal de fósforo não é dependente do nível de fósforo consumido, o que concorda com Schryver et al. (1971) e Cymbaluck et al. (1989).

#### 1.2.6. Absorção de fósforo

Os eqüinos são classificados, quanto à sua fisiologia digestiva, como herbívoros não ruminantes, de ceco e cólon funcional, o que lhes permite uma posição intermediária entre os ruminantes e os não ruminantes, quanto aos mecanismos relacionados ao controle de absorção do fósforo.

Os eqüinos apresentam uma situação peculiar quanto aos locais de absorção de fósforo inorgânico ao longo do trato digestivo. Schryver et al. (1972) relataram que o local de absorção de fósforo ingerido por cavalos varia com a composição da dieta. Pouco fósforo é absorvido no intestino delgado posterior, quando os animais recebem exclusivamente alimentos volumosos. Nesta situação, grandes quantidades de fosfatos são secretadas no ceco e no cólon ventral, que, provavelmente, atuam como tampões aos ácidos graxos voláteis produzidos nestes compartimentos, sendo o cólon o local de maior absorção e de reabsorção dos fosfatos. Quando a dieta é exclusivamente de concentrados, a quantidade de fósforo absorvido aumenta no intestino delgado.

Hintz (1983) citou uma estimativa da porcentagem de fósforo digerido e absorvido, no trato gastrointestinal dos eqüinos, sendo que o intestino delgado contribui com 20 a 50% e o intestino grosso com 50 a 80%.

Schryver et al. (1974a) citaram que os mecanismos fisiológicos que envolvem especificamente o transporte de fósforo pela mucosa intestinal dos eqüinos ainda não foram estudados.

A absorção do fósforo pode ser influenciada pelo tipo de fonte de fósforo utilizada na dieta (orgânica, inorgânica), quantidade de fósforo na dieta, pH do trato gastrointestinal, idade do animal, nível de exercício, nível de ingestão de outros minerais,

como o cálcio, magnésio, ferro, alumínio, potássio, status de vitamina D, oxalato, lactose e composição de aminoácidos na dieta.

Segundo Breves & Schröder (1991), existem algumas diferenças entre as espécies de não ruminantes, quanto às variações nutricionais e os efeitos hormonais, os quais modulam a absorção de fósforo inorgânico (Pi), no intestino delgado. As partes proximais do intestino delgado, dos suínos, por exemplo, são predominantemente mais ativas na absorção de Pi em comparação com as regiões distais. O transporte celular de Pi consiste de, no mínimo, três etapas: (1) passagem de fósforo através da membrana na borda em escova do enterócito; (2) transporte intracelular do fósforo da membrana basolateral da célula; e (3) saída do fósforo através da membrana da borda em escova. Essas três etapas ocorrem simultaneamente a um sistema de cotransporte de  $\text{Na}^+$ .

O transporte transepitelial do fósforo inorgânico no intestino delgado consiste de dois componentes, um ativo e saturável e outro não saturável e passivo. O transporte ativo é acoplado ao  $\text{Na}^+$  e modulado pelo  $1,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_3$ . O transporte passivo predomina quando ocorrem altas concentrações de fósforo ingerido no lúmen intestinal (Reinhardt et al., 1988).

A importância do cólon, na absorção e secreção do fósforo, foi bem relatada, quanto Bertone et al. (1990) encontraram sensível diminuição da digestibilidade aparente do fósforo, seguida de um balanço negativo de fósforo, em equínos com ressecção de cólon após o período de um ano. Os animais apresentaram alta excreção de fósforo e hipofosfatemia. Houve aumento na atividade da fosfatase alcalina no cólon remanescente, o que pode ser explicado como resposta do organismo ao balanço negativo de fósforo.

Após ser absorvido, em condições normais, o fósforo, na forma de fosfato, segue uma parte para o fígado, via sistema porta; a outra fica retida e é utilizada na própria parede intestinal para síntese de compostos orgânicos. Após esterificação parcial no fígado, o fosfato distribui-se nos líquidos extra e intracelulares. Sendo assim, mantém-se o controle da homeostase dos níveis plasmáticos de fosfatos. Nos líquidos intracelulares, os fosfatos são rapidamente incorporados a compostos importantes como adenosinatrifosfato, fosfohexoses, fosfocreatina; uma fração do elemento incorpora-se ao tecido ósseo (Kolbe, 1979).

Oliveira (1999), trabalhando com potros e utilizando dietas experimentais compostas por feno de coast cross e concentrados à base de milho, farelo de algodão, farelo de soja, levedura de cana-de-açúcar e aveia em quantidades suficientes para

fornecer 22g de P/cabeça/dia, sem a utilização de suplementos com fontes minerais fosfatadas, obteve valores para fósforo absorvido entre 35,17 e 57,95 mg/Kg PV/dia.

Furtado et al. (2000a), em experimento visando a determinação da disponibilidade biológica do fósforo de diferentes fontes fosfatadas: fosfato de rocha de Tapira, fosfato de rocha de Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos, obtiveram, respectivamente, valores médios de absorção de fósforo de 22,41, 32,10, 32,71 e 29,72 mg/KgPV, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o fosfato de rocha de Tapira.

Furtado et al. (2000b), avaliando a perda endógena e absorção real de fósforo em dietas para equinos em crescimento, obtiveram resultados que indicaram uma relação linear entre fósforo absorvido e fósforo consumido expressa pela equação  $P_{abs} = 5,632 + 0,341P_{cons}$  ( $r = 0,89$ ;  $P < 0,01$ ). Os autores concluíram que a excreção fecal, a absorção e a retenção de fósforo dependem do nível de fósforo consumido. A dependência entre nível de ingestão e absorção de fósforo foi também observada em estudos com pôneis, sem afetar, entretanto, a eficiência de absorção real do fósforo (Schryver et al., 1971; Kichura et al., 1983; Cymbaluk & Christensen, 1986; Cymbaluk et al., 1989).

Estudos sobre a absorção, o metabolismo e fluxo do fósforo no organismo de diversas espécies animais, por meio da técnica de diluição isotópica, com o uso do  $^{32}P$  como marcador, têm sido relatados em ruminantes (Grace, 1981; Schneider et al., 1985; Annekov, 1982a e b; Vitti, 2000), em suínos (Fernandez, 1995; Lopes et al., 2000a e b) e em caprinos (Vitti, 2000), direcionados, principalmente, para estudos do metabolismo e da cinética do fósforo nessas espécies.

#### 1.2.7. Disponibilidade biológica de fósforo (absorção real)

Segundo Hintz (1983) e NRC (1989), a disponibilidade biológica do fósforo para equinos varia de 30 a 50,0% (dependendo da idade, fonte de fósforo e concentração do elemento na dieta), sendo que os suplementos minerais inorgânicos tradicionais apresentam os maiores valores de absorção real. Estes valores estão de acordo com os relatados por outros autores, como Schryver et al. (1974a e b), Lewis (1995) e Cunha (1991).

Schryver et al. (1971), em estudo clássico sobre o assunto, usando radioisótopos ( $^{32}P$ ), obtiveram valores de disponibilidade biológica de 45,0% para uma dieta

suplementada com fosfato monossódico contendo 0,7% de fósforo. Outros autores, como Hintz & Schryver (1972), utilizando dieta basal suplementada com fosfato bicálcico e farinha de osso, determinaram que a disponibilidade biológica destas fontes fora de 43,6 e 46,3%, respectivamente. Hintz et al (1973), utilizando dieta suplementada com fosfato monossódico, obtiveram valor de 52,7% para a absorção real, enquanto Schyver et al. (1986) avaliando a influência de níveis de alumínio no metabolismo do fósforo relataram valores de biodisponibilidade do fósforo de 45%.

Oliveira (1999), avaliando a disponibilidade biológica do fósforo em diferentes dietas para potros em crescimento, obteve valores entre 40,98 e 57,68%. Vale ressaltar que a autora trabalhou com dietas compostas por alimentos de comum utilização, sem a utilização de fontes minerais fosfatadas.

Furtado et al. (2000a), trabalhado com equinos em crescimento, objetivando a determinação da disponibilidade biológica do fósforo de diferentes fontes fosfatadas: fosfato de rocha de Tapira, fosfato de rocha de Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos obtiveram valores de 25,23; 33,97; 31,71 e 29,36%, respectivamente. Concluem os autores que, embora os valores obtidos para o fosfato de rocha de Patos de Minas, fosfato bicálcico tenham sido superiores, o estudo demonstrou que as diferentes fontes de fósforo testadas são igualmente utilizadas pelo organismo. Em um segundo experimento, avaliando efeitos de diferentes níveis de fósforo na disponibilidade biológica do elemento, Furtado et al. (2000b), determinaram valores médios entre 39,94 e 49,84%. Explicam os autores que os maiores valores determinados no segundo experimento em relação ao primeiro podem ser explicados pelos maiores valores percentuais de fósforo absorvido em relação ao consumido no segundo experimento.

Cymbaluck et al (1989), utilizando cavalos em crescimento ( $\cong$ 12 meses de idade) suplementados com dieta tradicional acrescida por fosfato bicálcico ou fosfato monossódico, obtiveram valores de disponibilidade biológica variando de 31,4 a 34,8%. Estes autores também estimaram valores de perda endógena fecal de fósforo para calcular a absorção real do elemento.

Segundo Cymbaluck (1990), a digestibilidade verdadeira pode ser afetada pela temperatura ambiente. Avaliando os efeitos da temperatura ambiente na digestibilidade verdadeira do fósforo em potros em crescimento com idades de 8; 10 e 12 meses, observou valores de 52,2 e 46,9%; 42,8 e 39,2% e 34,8 e 27,1%, respectivamente, para os tratamentos de ambiente aquecido e livre (baixas temperaturas), sendo que a temperatura afetou significativamente a digestibilidade do fósforo em todas as idades.

### 1.2.8. Retenção de fósforo

A literatura tende a relacionar a retenção de fósforo com a quantidade de fósforo consumido e a fonte de fósforo das dietas.

Segundo Schryver et al (1971), a retenção de fósforo em pôneis foi dependente do nível de fósforo consumido. Considerando um nível médio de fósforo consumido, correspondendo a 108,0mg/KgPV/dia, os autores obtiveram valores de fósforo retido da ordem de 19,0mg/KgPV/dia.

Autores como Hintz & Schryver (1972), Schryver et al (1986) e Cymbaluck & Christensen (1986) obtiveram valores de fósforo retido variando de 1,83 a 7,1mg/KgPV/dia, utilizando níveis de fósforo consumido entre 30,0 a 44,1 mg/Kg PV/dia.

Para níveis de fósforo consumido mais elevados (103,3 e 200,0mg/Kg) pôneis apresentaram maior retenção de fósforo (37,3 e 66,9mg/KgPV) (Hintz et al, 1971; Argenzio et al, 1974).

Oliveira (1999), trabalhando com equínos em crescimento, obteve valores de fósforo retido variando de 25,2 a 47,28 mg/KgPV/dia.

Furtado et al. (2000a) obtiveram valores de fósforo retido de 12,67; 21,33; 22,00 e 17,12mg/KgPV, respectivamente, para fosfato de rocha de Tapira, fosfato de rocha de Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos. Os valores de fósforo retido/fósforo consumido no citado trabalho foram de 14,2; 22,2; 20,9 e 16,9% respectivamente. Estes valores demonstraram uma tendência de maior retenção de fósforo para os tratamentos com fosfato de rocha de Patos de Minas e fosfato bicálcico. Ainda segundo os autores, os valores de fósforo retido/fósforo absorvido variaram de 56,5 a 67,3%, com maiores valores para fosfato de rocha de Patos de Minas e fosfato bicálcico. Os valores obtidos de fósforo retido indicaram que, para todos os tratamentos estudados, os animais permaneceram em balanço positivo de fósforo. Em experimento subsequente, Furtado et al. (2000b), trabalhando com equínos em crescimento alimentados com dietas com diferentes níveis de fósforo, verificaram uma regressão linear entre fósforo consumido e fósforo retido, com valores variando de 4,78 a 18,76 mg/Kg PV/dia.

Buchholz-Bryant et al. (2001), estudaram o efeito da suplementação de cálcio e fósforo no balanço mineral de equinos jovens (2 a 3 anos de idade), adultos (7 a 11 anos de idade) e maduros (15 a 21 anos de idade) em inatividade e subsequente treinamento aeróbico. Utilizando-se de duas dietas experimentais: controle (133% das recomendações do NRC) e tratamento (275% das recomendações do NRC), observaram que ocorreram apenas pequenas diferenças no balanço de fósforo entre os tratamentos, embora a diferença de ingestão tenha sido grande. Os autores sugerem que a manutenção da correta relação Ca:P nas duas dietas e a tendência aparente dos equinos de reter apenas o fósforo necessário para suprir suas exigências explicariam esta pequena diferença.

Em trabalho mais recente, van Doorn et al.(2004), em experimento com pôneis adultos, ingerindo três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia) e nível padrão de fósforo ingerido de 125,43 mg/Kg PV/dia, obtiveram valores médios de 28,8, 11,5 e 16,1 mg/Kg PV/dia, respectivamente. Os autores observaram que os níveis de cálcio ingerido afetaram significativamente a retenção do fósforo, sendo que os animais que consumiram os níveis intermediário de cálcio (315,6 mg/Kg PV/dia) e alto de cálcio (535,2 mg/KgPV/dia) apresentaram valores menores para fósforo retido, comparativamente com os que consumiram menor nível de cálcio (147,9 mg/KgPV/dia).

Em suínos, Fernández (1995) obteve valor de fósforo retido/fósforo ingerido de 50,6% para consumo de fósforo de 375mg/KgPV, enquanto que Louvandini (1994), em trabalho com radioisótopo ( $^{32}\text{P}$ ) em ovinos, obteve valores de fósforo retido/fósforo consumido variando de 23,51 a 40,9%, para consumos de fósforo da ordem de 92,6 a 114,0mg/KgPV.

Bellaver et al. (1983), em experimento com radioisótopos, utilizando suínos, observaram que a relação fósforo retido/fósforo absorvido correspondeu a 96,52%.

#### 1.2.9. Exigências nutricionais de fósforo

As pesquisas realizadas com exigências em minerais surgiram com o objetivo de se estudar o efeito da nutrição no esqueleto equino. Já havia relatos sobre a ocorrência do desenvolvimento de doenças ortopédicas (DDO) desde o século passado (Berns, 1890, citado por Hintz, 1996). O primeiro passo dado para alcançar esse objetivo foi



aprender mais sobre o metabolismo mineral dos equinos e, apesar de esses estudos terem sido iniciados com o cálcio, o fósforo também recebeu grande atenção.

Um dos métodos adotados para determinar os requerimentos para manutenção foi o balanço de fósforo, o qual foi consumido acima e abaixo do estimado, por animais adultos, em gaiolas de metabolismo. Dessa forma, pode-se mensurar o fósforo consumido e excretado nas fezes e na urina. Esses dados foram plotados versus a retenção do fósforo, cujo consumo, necessário para uma retenção igual a zero, indicou a condição de manutenção do animal.

Outro método consiste em mensurar as perdas endógenas na urina e nas fezes, o que pode ser facilmente determinado com o uso de radioisótopos ( $^{32}\text{P}$ ). As perdas endógenas são úteis para estimar os requerimentos acima da manutenção, através do método fatorial e ainda são necessárias para estimar a digestibilidade verdadeira dos nutrientes (biodisponibilidade). A perda diária do fósforo endógeno para animais adultos determinada por Schryver et al. (1971) foi de 10 mg/kg PV.

Segundo Cunha (1991), diversos fatores afetam as necessidades do fósforo: raça, taxa de crescimento e produtividade, estresse de treinamento e desempenho esportivo, nível de outros elementos na ração, idade, qualidade do volumoso e do concentrado, condições ambientais, nível do mineral contido na água de beber e nível de sudorese.

Ott (1995) relatou que as exigências nutricionais dos equinos são compostas de duas frações: as necessidades de manutenção e as necessidades de atividades (gestação, lactação, crescimento e trabalho). Estas atividades são aditivas e ambas devem ser supridas para a manutenção e composição do peso corporal constante. A falta de nutrientes pode limitar o desempenho e a produção, podendo causar prejuízos físicos ou fisiológicos ao sistema orgânico. Para potros em crescimento, o fósforo é requerido para assegurar ótimo desenvolvimento ósseo.

Underwood (1981) chamou atenção para as dificuldades de se estimar, com precisão, as exigências nutricionais de fósforo e cálcio para potros em crescimento. Infelizmente, nem sempre as taxas de crescimento são precisas para servirem de parâmetro a uma taxa ótima de crescimento e desempenho máximo, já que a taxa de crescimento vem sendo incrementada a cada ano. Com isso, as estimativas para potros em crescimento têm sido baseadas na composição do mineral relativa ao ganho de peso, na perda endógena e na eficiência de absorção.

Schryver et al. (1974b) afirmaram ser possível estimar os requerimentos dos minerais, para potros em crescimento, a partir de estudos da composição corporal total,

em comparação com os ensaios de balanço e cinética dos minerais. Os animais receberam dietas com diferentes níveis de fósforo (0,6 a 1,4%) e, com relação à estimativa das exigências de fósforo, os autores concluíram que, para cada quilo de ganho de peso, o animal requer a absorção de 8 gramas de fósforo, mais a absorção da quantidade necessária em gramas para balancear as perdas endógenas nas fezes e urina (manutenção). Com isso, os autores colocam que a deposição de minerais nos tecidos de potros em crescimento e os requerimentos para cada elemento são determinadas pelo acúmulo nos tecidos, perdas endógenas e disponibilidade ou eficiência de absorção.

Hintz (1996) chama a atenção para algumas diferenças encontradas nos guias de referência de requerimentos diários para potros em crescimento. Segundo o NRC (1989), com taxas de crescimento devidamente estabelecidas (rápidas ou moderadas), os requerimentos variam de 16 a 20 g diários de fósforo. De acordo com Martin-Rosset (1990), o crescimento e o desenvolvimento dos eqüinos se traduz pelo aumento do peso vivo e de suas dimensões em função do tempo, variando de acordo com a raça, sexo e o aporte de nutrientes. Para as condições da França, nas raças de sela, as exigências de fósforo para potros em crescimento variam de 14 a 24 g/dia. Para as raças de tração, mais pesadas, as exigências são maiores e variam de 21 a 29 g/dia. Mundy (1993) afirma que as exigências de fósforo para potros em crescimento são baseadas na taxa de crescimento e peso adulto esperado e são específicas e dependentes da individualidade do animal.

Segundo Frappe (1992), os eqüinos, em condições normais, baseadas nos resultados obtidos da eficiência de absorção e perda endógena de fósforo, deveriam receber um aporte diário de 2 g de fósforo/100 Kg PV ou 1 g/ Kg da dieta para balancear os requerimentos de manutenção.

De acordo com o NRC (1989), a relação cálcio: fósforo é de grande importância nas dietas para eqüinos. Se for inferior a 1:1, pode ser prejudicial à absorção de cálcio. Se o consumo de fósforo for adequado, essa relação pode ser de até 6:1, sem causar danos aos animais. Aos doze meses de idade, a relação cálcio: fósforo deve ser de 2:1. Os requerimentos de fósforo para um ótimo desenvolvimento ósseo de potros em crescimento podem ser calculados baseados na estimativa de que o potro em desenvolvimento deposita aproximadamente 8 g de fósforo por Kg de ganho de peso. Assim, um potro pesando 215 Kg, com 45% de eficiência de absorção e ganhando 0,85 Kg/dia, requer cerca de 15,1 g de fósforo ( $8g / 0,45 \times 0,85 \text{ Kg}$ ) em adição ao

requerimento para manutenção, que é de 4,8 g (215 Kg x 10 mg/0,45), totalizando um requerimento de 19,9 g de fósforo por dia.

O Kentucky Equine Research (KER) representa uma fundação de pesquisa direcionada para cavalos e corrida que, em função do atraso de nova revisão do NRC, publicou seu próprio guia de exigências. Duren (1996) afirmou que as exigências diárias em fósforo, para o KER (1996), variam de 24 a 33 g, sendo que os maiores requerimentos do KER (1996) se devem a taxas de crescimento rápidas, em função da raça, e do maior aporte de energia. Para potros de 12 meses em crescimento, com ganho de peso diário de 0,5 Kg, o NRC (1989) recomenda 16 g de fósforo. Nas mesmas condições, o KER (1996), citado por Duren (1996), recomenda 30 g. Essas diferenças podem ser atribuídas às condições de manejo e treinamento intensivo e precoce a que os animais de corrida são submetidos para entrarem no calendário hípico de competição.

#### 1.2.10 Fitato

O fitato é uma fonte orgânica de fósforo e consiste numa vitamina inositol combinada com o fósforo de outros minerais. Grande parte dos grãos e seus subprodutos são constituídos de fósforo na forma de fitato

A rejeição dos nutricionistas ao fitato se deu inicialmente da II Guerra Mundial, quando se comprovou que a baixa disponibilidade de fósforo em humanos foi atribuída ao fitato (fosfato de inositol). Porém, recentemente, alguns trabalhos com ratos têm evidenciado que as dietas ricas em fitato podem provocar adaptações ao longo do tempo, principalmente com relação à fosfatase alcalina de origem microbiana, na tentativa de aumentar a disponibilidade de alguns elementos complexados com o fitato (Fairweather-Tait, 1997).

O fitato diminui a absorção de fósforo, ao formar complexos com o cálcio e torná-lo indisponível (Schryver et al. 1974b; Mcdowell, 1992). Segundo Walthall & Mckenzie (1976), fitatos e oxalatos se ligam aos cátions diminuindo a sua absorção. Além disso, o fitato pode formar complexos insolúveis com proteínas resistentes a digestão pela pepsina, bem como atuam inibindo várias enzimas digestivas como a tripsina e alfa amilase (Ledoux et al., 1995). As gramíneas de pastagens tropicais e subtropicais podem apresentar alto nível de oxalato diminuindo a absorção de cálcio e podendo causar o hiperparatireoidismo secundário nutricional. Os grãos de cereais são

ricos (mais de 80% no milho e 50% no farelo de soja) em fitatos, com baixa disponibilidade (variando de 18 a 60%) para suínos e outros monogástricos (Reddy et al., 1982).

A disponibilidade do fósforo na forma de fitato, à semelhança de outras fontes de fósforo, também pode ser influenciada pelo nível de cálcio, razão cálcio e fósforo, zinco, pH do trato gastrintestinal, além de outros. O fósforo na forma de fitato possui menos disponibilidade biológica que as fontes inorgânicas (Cunha, 1991).

Para os não ruminantes, a pequena atividade da fitase bacteriana contribui para diminuir o aproveitamento do fitato (Hays & Swenson, 1988). Em relação a essa deficiência, muitos trabalhos têm sido conduzidos com suínos em relação ao uso da enzima fitase, derivada do fungo *Apergillus ficuum* ou *A niger*, na tentativa de aumentar a disponibilidade do fósforo ligado ao fitato (Liu et al., 1997; Skoglund et al., 1998; Liu et al. 1998). Para os eqüinos, a necessidade da suplementação da dieta com essa mesma enzima torna-se inviável, visto que, o intestino grosso, à semelhança dos ruminantes, a enzima fitase microbiana, produzida pelos microorganismos do ceco e cólon, poderia ser o suficiente para melhorar a disponibilidade do fósforo na forma de fitato.

De acordo com o NRC (1989) o fósforo na forma de fitato é pouco absorvido, entretanto, pode ser parcialmente aproveitado pelos eqüinos, uma vez que existe alguma quantidade de fitase no intestino grosso dos mesmos.

Schryver et al. (1971), com o auxílio da técnica de radioisótopo  $^{32}\text{P}$ , compararam o uso de 1,80% de fitato de sódio na dieta, contendo 0,54% de fósforo total, as dietas suplementadas com 1,50% de fosfato de sódio e 0,79% de fósforo total. As dietas eram à base de feno de gramínea, polpa de beterraba, milho e farelo de soja. Os autores não encontraram diferenças, respectivamente, para consumo (72,0 e 108,0 mg de P/Kg PV), para a excreção urinária (11,0 e 19,0 mg de P/kg PV), para a quantidade de fósforo absorvida (32,0 e 49,0 mg de P/kg PV) e para a disponibilidade biológica (44 e 45%). Os autores concluíram que os eqüinos utilizam o fitato e afirmam que a disponibilidade e os mecanismos de utilização do fósforo no fitato contido nos alimentos necessitam ser mais estudados.

Oliveira (1999), trabalhando com potros em crescimento alimentados com quatro diferentes dietas, constituídas por feno de coast cross acrescidas de diferentes concentrados: milho, aveia, farelo de algodão, farelo de soja e levedura de cana-de-açúcar, sem o uso de fontes minerais fosfatadas, observou que, para todos os tratamentos, os animais permaneceram em balanço positivo de fósforo. Neste estudo, os

valores obtidos para disponibilidade biológica do fósforo foram entre 40,98 e 57,68%. Conclui a autora que os resultados sugerem que os equinos dispõem de recursos digestivos próprios e suficientes para o aproveitamento do fósforo disponível nos alimentos na forma de fitato.

O fitato complexa também outros cátions como o zinco, ferro, manganês, dentre outros, e com a melhora no aproveitamento do fósforo fitico, haverá também, melhor utilização destes cátions (Newmann, 1994).

### 1.3. Metabolismo do cálcio

#### 1.3.1. Importância, funções, distribuição nos tecidos e homeostase

O cálcio é o mais abundante mineral do corpo, representando aproximadamente 46% do total dos minerais nele presentes (McDowell, 1992), sendo que 99% deste total são encontrados no esqueleto, principalmente complexado com outros íons na forma de cristais de hidroxiapatita. Uma função básica do cálcio é proporcionar uma forte estrutura de suporte e proteção a órgãos delicados, articulada para permitir movimentos e maleável para permitir crescimento (Underwood & Suttle, 1999).

A pequena fração de cálcio no organismo que está fora do esqueleto (1%) também é muito importante. Esse cálcio ocorre como íon livre, ligado a proteínas plasmáticas (principalmente a albumina) ou complexado com ácidos orgânicos e inorgânicos. O cálcio ionizado, que representa 50-60% do cálcio total do plasma, é um elemento essencial para diversas funções fisiológicas como condução nervosa, contração e relaxamento muscular, liberação hormonal e coagulação sanguínea (Andriquetto et al., 1993). Além disso, o íon cálcio desempenha um papel único na sinalização intracelular e está envolvido na regulação de muitas enzimas (Hurwitz, 1996).

As concentrações de cálcio intracelular e extracelular são estreitamente reguladas pelo transporte bidirecional de cálcio através das células da membrana plasmática e pelas membranas de organelas intracelulares como o retículo endoplasmático, o retículo sarcoplasmático das células musculares e a mitocôndria (Merck, 2004). A concentração de cálcio intracelular regula uma variedade de outros

processos celulares por ativação de proteínas quinases e enzimas de fosforilação. O cálcio também está envolvido na ação de outros mensageiros intracelulares como a adenosina cíclica monofosfato (AMPC) e o inositol 1,4,5-trifosfato, e media a resposta celular para numerosos hormônios incluindo a epinefrina, o glucagon, a vasopressina, a secretina e a colecistoquinina (Merck, 2004).

A manutenção da homeostasia do cálcio depende principalmente do trato intestinal, do esqueleto e dos rins. Além disso uma contribuição essencial é dada pela pele (sudorese) e fígado.

O íon cálcio é de fundamental importância para todos os sistemas biológicos e a sua concentração deve se situar entre limites estreitos de tolerância fisiológica entre os diversos compartimentos. O íon fosfato também é de importância crítica em todos os sistemas biológicos.

Os principais hormônios controladores da calcemia são o paratormônio, a calcitonina e a vitamina D, embora outros como os corticóides da adrenal, estrógenos, tiroxina, somatotrofina, glucagon, possam também contribuir na homeostase do cálcio.

A ação mais evidente do paratormônio é mobilizar o cálcio das reservas do esqueleto e jogá-lo no fluido extracelular, aumentando a concentração do cálcio plasmático. Ele também aumenta a reabsorção do cálcio no rim e aumenta a excreção urinária de fósforo.

O único estímulo necessário para a liberação do paratormônio é a variação na calcemia.

A calcitonina é produzida pelas células C da tireóide. O estímulo para a sua liberação é o aumento da concentração do cálcio iônico no sangue. A ação da calcitonina é antagonista à do paratormônio com relação à resorção óssea.

O terceiro importante hormônio envolvido na regulação do metabolismo do cálcio e remodelação do esqueleto é o colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), que pode ser absorvido pelo intestino ou sintetizado na epiderme através de reação catalisada pela radiação ultravioleta do sol. Em regiões tropicais a insolação abundante garante excelente aporte de vitamina D<sub>3</sub> (Capen 1980).

O fluxo de cálcio nos ossos é igualmente importante na regulação da concentração iônica do cálcio circulante. Segundo Bain & Watkins (1993), a morfologia do esqueleto representa um compromisso entre a obrigação estrutural e a responsabilidade metabólica, servindo o organismo em suporte e locomoção, enquanto participa ativamente na regulação da homeostase de cálcio.

A associação hormonal que facilita a absorção também facilita a mobilização de cálcio nos ossos, mas os mecanismos são mais complexos e envolvem receptores nucleares para 1,25- (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> nas células formadoras de cartilagem e ossos, os condrócitos e osteoblastos. As células de resorção óssea (osteoblastos) respondem indiretamente a 1,25- (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> via citosinas liberadas pelos osteoblastos (Norman & Hurwitz, 1993).

O balanço entre a adição e a retirada pode ser estabelecido pela mobilização de até um quinto do cálcio no esqueleto no final da prenhez e lactação (Capen., 1980). Esse processo pode ser obrigatório, desde que não reduzido pela suplementação maior de cálcio dietético ou não acompanhado pela hipocalcemia .

Os estudos físico-químicos sobre o metabolismo nos ossos mostram que as trocas de cálcio entre os ossos e fluidos corporais ocorrem por dois processos: a) trocas iônicas, que correspondem ao processo rápido, na superfície óssea, quando excesso de cálcio é incorporado à molécula de fosfato tricálcico; b) trocas lentas ou processo de recristalização, que correspondem à penetração de cálcio trocável no interior do osso.

A intensidade desses processos não pode ser medida por métodos clássicos. O uso de cálcio radioativo (<sup>45</sup>Ca) permite estudar os aspectos dinâmicos do metabolismo desse mineral. Pesquisas (Salviano & Vitti, 1998) têm sido realizadas com ovinos e bovinos, principalmente com fósforo, pela técnica de diluição isotópica, mas poucas informações existem com relação ao cálcio (Roque, 2004).

Meyer et al. (1992) relataram que a regulação do metabolismo do cálcio é menos conhecido em eqüinos comparativamente as outras espécies, em especial quanto a absorção e excreção deste elemento em função aos níveis de cálcio consumido.

### 1.3.2. Cálcio no plasma

Os eqüinos são capazes de regular com grande precisão a concentração de cálcio plasmático, devido à influencia de um sistema hormonal constituído pelo paratormônio (PTH), calcitonina e a forma fisiologicamente ativa da vitamina D<sub>3</sub> , 1-25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol, 1,25- (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) (Capen., 1980).

O paratormônio (PTH) preserva o cálcio plasmático estimulando a produção da forma biologicamente ativa da vitamina D dentro dos rins, facilitando a mobilização de cálcio dos ossos e maximizando a reabsorção tubular de cálcio dentro dos rins. Essa

atividade resulta numa mínima perda de cálcio na urina (Austgen et al., 2003). A vitamina D também atua para aumentar as concentrações plasmáticas de cálcio. Isto geralmente ocorre através da atividade do paratormônio dentro dos rins (Brown, 1991), que estimula a produção de vitamina D e esta facilita a absorção de cálcio pelo intestino delgado (Horst, 1986). Junto com o PTH, a vitamina D também aumenta a mobilização de cálcio ósseo.

Quando níveis plasmáticos de cálcio são muito altos, os mecanismos homeostáticos são revertidos pela secreção de calcitonina. A calcitonina é um hormônio que tem como função reduzir os níveis de cálcio plasmático e faz isso através da supressão da reabsorção tubular renal, diminuindo a excreção de cálcio na urina e inibindo a mobilização óssea (Beckman et al., 1994).

A quase ausência de variação de cálcio plasmática é então explicada pela elaborada regulação do cálcio plasmático através de um sistema hormonal constituído paratormônio (PTH), calcitonina e a forma fisiologicamente ativa da vitamina D<sub>3</sub>, 1-25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>).

Segundo Coffman (1981) e Schryver et al. (1971), o nível normal de cálcio no plasma de equinos adultos é de 10,2 a 14,3 mg/dl e se mantém aproximadamente nestes níveis durante toda a vida do animal.

Schryver et al. (1970), trabalhando com pôneis recebendo três diferentes níveis de cálcio na dieta (0,15; 0,80 e 1,50%), não observaram diferenças significativas, neste parâmetro, entre os tratamentos. Os autores obtiveram, respectivamente, valores médios de concentração de cálcio no plasma de 11,70; 11,66 e 11,30 mg/dl.

Argenzio et al. (1974), estudando a homeostase do cálcio e fósforo em potros de 2 anos alimentados com dietas com diferentes níveis de cálcio e fósforo, obtiveram valores plasmáticos de cálcio entre 11,1 e 11,8 mg/dl.

Elfers et al. (1986), utilizando ponies adultos, em pesquisa para avaliar doença renal aguda, relataram de os níveis de cálcio plasmáticos variaram de 10,0 a 14,9 mg/dl.

Buchholz-Bryant et al. (2001), estudaram o efeito da suplementação de cálcio e fósforo no balanço mineral de equinos jovens (2 a 3 anos de idade), adultos (7 a 11 anos de idade) e maduros (15 a 21 anos de idade) em inatividade e subsequente treinamento aeróbico. Utilizando-se de duas dietas experimentais: controle (133% das recomendações do NRC) e tratamento (275% das recomendações do NRC), observaram que as concentrações de cálcio plasmático mantiveram-se dentro dos padrões normais (10,4 a 13,4 mg/dl) durante todo o experimento em todos os animais. Entretanto,



observaram também aumento nas concentrações do cálcio plasmático durante um período de inatividade (42 dias), após o qual as concentrações retornaram aos níveis iniciais, assim como um aumento das referidas concentrações durante o período no qual os animais passaram a receber treinamento aeróbico. De acordo com os autores, as mudanças na atividade física aparentemente tiveram maior influência nas variações das concentrações plasmáticas do cálcio do que as quantidades de cálcio nas dietas.

### 1.3.3. Cálcio nas fezes

Poucas informações são disponíveis, na literatura consultada, em relação ao cálcio nas fezes. Aparentemente, as fezes são a via de excreção de maior importância no controle homeostático de cálcio para os eqüinos (Jordan et al., 1975), muito embora, segundo Frape (1992), os rins do cavalo parecem participar mais intensamente no controle dos níveis de cálcio sanguíneo que o trato gastrointestinal.

Schryver et al. (1986) relataram valores de excreção fecal de cálcio correspondendo a 68,75% do cálcio consumido, enquanto que a excreção urinária do elemento correspondeu a 21,88% do consumido.

O cálcio fecal é a combinação do cálcio dietético não absorvido e o cálcio endógeno não reabsorvido, portanto, qualquer fator que afete a sua absorção afetará a quantidade encontrada nas fezes (McDowell, 1992). De acordo com Cântaro & Schepart (1973), a maior parte do teor de cálcio nas fezes provém do cálcio alimentar não absorvido.

Aumentos na ingestão de matéria seca são acompanhados por aumentos proporcionais na excreção fecal em ovinos (AFRC, 1991; Chrisp et al., 1989a; 1989b). Sousa et al. (1997) e Bueno et al. (1999), trabalhando com caprinos, também verificaram em seus estudos, uma maior quantidade de cálcio excretado via fezes, à medida que aumentava-se a ingestão do mineral. Salviano & Vitti (1998), em experimento com ovinos recebendo diferentes níveis de cálcio, observaram que a dieta com a menor quantidade de cálcio reduziu significativamente a quantidade desse elemento nas fezes. Por outro lado, entre os demais tratamentos não ocorreu diferença significativa.

Em eqüinos, a excreção fecal do cálcio parece estar diretamente relacionada com a ingestão do mesmo. Em estudo recente, van Doorn et al. (2004), trabalhando com

pôneis adultos, ingerindo nível padrão de fósforo de 125,43 mg/Kg PV/dia e três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia), obtiveram valores para cálcio nas fezes de, respectivamente, 84,8; 226,4 e 384,9 mg/KgPV/dia, sendo que os níveis de cálcio ingerido afetaram significativamente os valores de cálcio nas fezes.

#### 1.3.4. Cálcio na urina

Para ser excretado pela urina o cálcio passa pelos rins, nesses a maior parte do mineral é reabsorvida, com uma perda final de 2%. A maior reabsorção ocorre nos túbulos proximais, em seguida pelos túbulos distais e pela alça de Henle ascendente. Os túbulos distais estão sob controle hormonal e, conseqüentemente, são os locais de regulação de cálcio nos rins (Cunningham, 1993).

Em ruminantes, excreção urinaria de cálcio também tende a permanecer baixa e constante, indiferente ao status de cálcio (Gilbert, 1983). Segundo AFRC (1991), a excreção de cálcio pela urina é sempre baixa e independe da quantidade de cálcio consumida, podendo ser considerada como obrigatória.

Nos eqüinos, a excreção renal de cálcio parece estar relacionada com a quantidade ingerida. A possibilidade dos eqüinos excretarem grandes quantidades de cálcio na urina foi reportada por Kienzle (1991), citado por van Doorn et al. (2004).

Segundo Schryver et al. (1986), Elfers et al. (1986) e Frape (1992), os rins do cavalo parecem participar mais intensamente no controle dos níveis de cálcio sangüíneo que o trato gastrointestinal. Schryver et al. (1978), trabalhando com cavalos em descanso relataram que a excreção renal de cálcio foi da ordem de 16,18% do total de cálcio consumido (68 mg de cálcio/KgPV/dia).

Em estudo recente, van Doorn et al. (2004), trabalhando com pôneis adultos, ingerindo nível padrão de fósforo de 125,43 mg/Kg PV/dia e três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/Kg PV/dia), obtiveram valores para cálcio na urina de, respectivamente, 49,6; 62,2 e 84,6 mg/KgPV/dia, sendo que os níveis de cálcio ingerido afetaram significativamente os valores de cálcio na urina.

A idade também pode afetar a excreção urinária de cálcio. Buchholz-Bryant et al. (2001), em estudo com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de cálcio e fósforo no balanço mineral de eqüinos jovens (2 a 3 anos de idade), adultos (7 a 11 anos de idade) e maduros (15 a 21 anos de idade) em inatividade e subsequente treinamento

aeróbico, recebendo duas dietas experimentais: controle (133% das recomendações do NRC) e tratamento (275% das recomendações do NRC), observaram que a excreção urinária de cálcio foi maior (30,50 mg/Kg PV/dia) nos animais jovens, quando comparados aos animais adultos e maduros (15,25 mg/Kg PV).

### 1.3.5. Perda endógena de cálcio

Um componente primário da perda endógena consiste na porção perdida pelos tecidos corporais (metabolismo dos tecidos, sucos digestivos, sais biliares e restos celulares) também denominada como perda obrigatória. Outra parte da perda endógena é o componente secundário, denominado perda não obrigatória, que é a fração excretada nas fezes e urina, como via de remoção do excesso do mineral no corpo (Mudd & Stranks, 1981). Uma vez que as perdas obrigatórias e não obrigatórias não podem ser distinguidas, a perda obrigatória deve ser considerada como a quantidade excretada pelo organismo para garantir o metabolismo basal.

Em eqüinos, Schryver et al. (1970) determinaram que a perda endógena fecal de cálcio é constante ( $\cong 22$ mg/ Kg PV/dia), e independente dos vários níveis de cálcio ingerido pelos animais. Estes resultados concordam com McKenzie et al. (1981) e Swartzman et al. (1978). Schryver et al. (1978), utilizando cavalos adultos sem atividade física e recebendo 68mg de cálcio/kgPV/dia, relataram valor de perda endógena fecal de 16 mg de cálcio/KgPV/dia.

De acordo com o NRC (1989), estimativas de perdas endógenas fecais de cálcio tem sido feitas em aproximadamente 20 mg/Kg PV/dia.

A excreção endógena de cálcio tende a manter-se em um mínimo (16mg/kg/PV em ruminantes) de acordo com o Agricultural Research Council (1980), não sendo afetada por reduções marcantes na suplementação de cálcio dietético ou status de cálcio.

Em ruminantes, perda endógena pode ser influenciada por vários fatores, sendo a ingestão de matéria seca um dos principais. Nel & Moir (1974), estudando ovinos com idades distintas, verificaram inicialmente que a perda endógena fecal de cálcio aumentou com a idade do animal. Entretanto, quando esses valores foram corrigidos para peso vivo, eles permaneceram constantes, variando entre 10 a 20 mg/kg PV/dia, não sendo afetada pela quantidade de cálcio ingerida e pela quantidade de cálcio

absorvida. Para ovinos, o AFRC (1991) cita valores de perda endógena fecal entre 0,40 e 1,50 g/dia dependendo da quantidade de matéria seca ingerida.

Field et al. (1985) trabalhando com dois níveis de alimentação (0,8 e 1,2 kg MS/dia) verificaram maior perda endógena fecal pelos animais do segundo grupo, com valores médio de 16 e 22 mg/kg PV/dia respectivamente.

### 1.3.6. Absorção do cálcio

Vários fatores influenciam a absorção do cálcio. Normalmente cerca de 50% do cálcio ingerido é absorvido, mas a eficiência da absorção nos equinos diminui na sobrecarga e aumenta quando os níveis são deficientes na dieta (Schryver et al 1971). A eficiência da absorção intestinal aumenta ainda durante períodos de maior intensidade na mineralização óssea, como crescimento e prenhes e também na lactação.

Fitatos e oxalatos se ligam aos cátions diminuindo a sua absorção. As gramíneas de pastagens tropicais e subtropicais podem apresentar alto nível de oxalato diminuindo a absorção de cálcio e podendo causar o hiperparatireoidismo secundário nutricional (Walthall & McKenzie 1976).

O cálcio é absorvido, de acordo com a necessidade, até os limites fixados pela disponibilidade do mineral na dieta (Schneider et al., 1985 e Bronner, 1987). A absorção no intestino delgado ocorre por dois processos, ativo e passivo (Braithwaite, 1984). A difusão passiva de cálcio através da mucosa intestinal ocorre na presença de altas concentrações, não é saturável e aumenta com a ingestão do mineral, contanto que o cálcio presente no intestino esteja numa forma que permita a absorção. Este processo independe da vitamina D e da idade do animal (Guéguen & Pointillart, 2000). O transporte ativo envolve o movimento de cálcio na célula intestinal, ao longo de um gradiente de concentração, que é facilitado por proteínas carreadoras localizadas na face luminal da célula mucosa. O cálcio move-se através da fase serosa da célula mucosa para o líquido intersticial por meio de um sistema de bomba de cálcio. O transporte ativo adapta-se de acordo com a quantidade de cálcio na dieta, tornando-se mais ativo quando as concentrações de cálcio na dieta são mais baixas e menos ativo quando elas são mais altas. (Cunningham, 1993). A vitamina D influencia vários passos no transporte ativo de cálcio (Guéguen & Pointillart, 2000).

De acordo com Schryver et al.(1970), a taxa de absorção de cálcio pode ser determinada quando a excreção endógena fecal de cálcio é conhecida. Os autores observaram que a quantidade de cálcio absorvido é diretamente proporcional à quantidade ingerida, entretanto, a proporção percentual de cálcio absorvido é inversamente proporcional ao cálcio ingerido. Estes autores trabalharam com pôneis alimentados com três dietas com níveis crescentes de cálcio, contendo 0,15, 0,80 e 1,5% de cálcio e obtiveram valores médios para cálcio absorvido de 2,0, 6,4 e 11,3 g/100Kg PV/dia.

De acordo com Buchholz-Bryant et al. (2001), a absorção intestinal do cálcio diminui com a idade. Ainda segundo estes autores, em estudo com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de cálcio e fósforo no balanço mineral de equinos jovens (2 a 3 anos de idade), adultos (7 a 11 anos de idade) e maduros (15 a 21 anos de idade) em inatividade e subsequente treinamento aeróbico, recebendo duas dietas experimentais: controle (133% das recomendações do NRC) e tratamento (275% das recomendações do NRC), animais jovens demonstraram-se mais eficientes em adaptar seu metabolismo de cálcio às mudanças nas atividades físicas (exercícios).

#### 1.3.7. Disponibilidade biológica do cálcio (absorção real)

O conhecimento da disponibilidade biológica do elemento nas diversas fontes auxilia na transformação das exigências líquidas dos animais em exigências nutricionais. A eficiência na produção animal somente pode ser obtida se houver um conhecimento adequado dessas exigências nutricionais e da composição dos alimentos, evidentemente associados a outras práticas de manejo (Silva, 1995).

A eficiência de absorção de um determinado mineral pode variar com fatores ligados ao animal (características genéticas, estágio fisiológico, taxa de crescimento e outros) e pela capacidade da dieta em disponibilizar o nutriente em questão (relacionada principalmente com a forma química e associações estruturais na planta). Outros nutrientes (proteínas, energia e demais minerais) e fatores antinutricionais (glicosídeos, cianogênicos e oxalato), dependendo das quantidades presentes, podem interagir com o mineral e alterar sua eficiência de absorção e sua retenção pelo animal (Nicodemo & Laura, 2001).

As estimativas de exigências nutricionais para animais podem ser baseadas nas estimativas das quantidades de minerais depositadas nos tecidos (músculo, vísceras, ossos, feto e anexos fetais) ou nas secreções (leite e suor), produzidos nos vários estádios fisiológicos, acrescidos das perdas endógenas obrigatórias do organismo. Esses fatores somados representam as necessidades fisiológicas nos tecidos, chamadas de exigências líquidas. O valor da exigência líquida dividido pelo coeficiente de absorção apropriado origina as exigências nutricionais do elemento (Little, 1984).

Os ensaios de digestibilidade convencionais são a forma mais comum de avaliação da capacidade da planta de suprir minerais para o animal. As comparações entre alimentos são feitas usando animais da mesma idade, com “reservas” corporais e consumo total do elemento estudado semelhantes (Playne, 1976). Por meio dos ensaios de digestibilidade convencionais, obtém-se a absorção aparente. Como nas fezes encontra-se não apenas a fração não absorvida do alimento, mais também uma fração secretada no trato gastrointestinal e não reabsorvida, chamada fração fecal endógena, os valores de absorção aparente são mais baixos que os de absorção verdadeira (Little, 1984).

Pesquisa de Schryver et al. (1986), avaliou que a biodisponibilidade de cálcio em em pôneis adultos, recebendo dietas com nível baixo de alumínio, variou de 63 a 71%.

De acordo com o NRC (1989), acredita-se que, nos equinos, a absorção real (biodisponibilidade) do cálcio diminua com a idade, de taxas elevadas de aproximadamente 70% em animais jovens para 50% em animais adultos.

### 1.3.8. Retenção de Cálcio

De acordo com Hintz et al. (1972) vários fatores como idade, nível de ingestão, relação Ca:P e status de vitamina D podem influenciar na retenção do cálcio. Em experimento com pôneis alimentados com dietas contendo diferentes níveis de cálcio e fósforo, os autores observaram que o aumento no nível de cálcio na dieta provocou aumento na retenção do cálcio, bem como variações na retenção do elemento em relações diferentes de Ca:P.

Schryver et al. (1970), trabalhando com pôneis alimentados com dietas com três diferentes níveis de cálcio: baixo (0,15%); médio (0,80%) e alto (1,5%), relataram que

os animais alimentados com a dieta com nível baixo do elemento permaneceram em balanço negativo de cálcio e os alimentados com as dietas com níveis médio e alto permaneceram em balanço positivo. Os autores também observaram que quando os animais foram alimentados com a dieta com nível baixo de cálcio, a absorção do elemento aumentou, excreção renal diminuiu e a taxa de remoção de cálcio dos ossos aumentou para níveis superiores à taxa de deposição do elemento nos mesmos. Resultados opostos foram observados para os níveis médio e alto de cálcio. Estes autores relataram ainda uma relação linear positiva entre cálcio absorvido e cálcio retido. No valor zero de cálcio absorvido, a retenção foi de  $-2,16\text{g}/100\text{Kg}/\text{dia}$ , o que, segundo os já citados autores, constitui-se numa estimativa das perdas obrigatórias do elemento que muito se aproximou da perda endógena fecal do elemento, que foi de  $2,20\text{g}/100\text{Kg}/\text{dia}$ .

Argenzio et al. (1974), trabalhando com potros de aproximadamente 2 anos de idade, recebendo dietas contendo que proporcionaram a ingestão média de cálcio de  $4,29\text{g}/100\text{Kg PV}/\text{dia}$  e  $20,15\text{g}/100\text{Kg Pv}/\text{dia}$  de fósforo, observaram que os animais permaneceram em balanço negativo de cálcio e positivo de fósforo. Segundo os autores a marcante diferença na excreção urinária entre cálcio e fósforo indica um ajustamento compensatório dos rins na conservação do cálcio e eliminação do fósforo.

Utilizando cavalos sem atividade física consumindo  $68\text{ mg de cálcio}/\text{kgPV}/\text{dia}$ , Schryver et al. (1978) relataram valor de cálcio retido de  $20\text{ mg}/\text{kgPV}/\text{dia}$ , correspondendo a  $29,41\%$  do total do elemento consumido.

Estudando a influência da ingestão de cálcio na digestibilidade do fósforo, van Doorn et al. (2004), trabalhando com pôneis adultos, ingerindo nível médio de fósforo de  $125,43\text{ mg}/\text{Kg PV}/\text{dia}$  e três diferentes níveis de cálcio ( $147,9$ ;  $315,6$  e  $535,2\text{ mg}/\text{Kg PV}/\text{dia}$ ), obtiveram valores para cálcio retido de, respectivamente,  $13,5$ ;  $27,0$  e  $65,6\text{ mg}/\text{Kg PV}/\text{dia}$ , sendo que o aumento dos níveis de cálcio ingerido elevaram significativamente a retenção do mesmo.

### 1.3.9. Exigências nutricionais de cálcio

Segundo Ott (1995), as exigências nutricionais dos cavalos são compostas por duas frações: necessidade de manutenção e necessidades de atividade (gestação, lactação, crescimento e trabalho). Estas frações são aditivas, e ambas devem ser

fornecidas para a manutenção e composição do peso vivo. Hintz (1996) em revisão sobre minerais relata que cavalos necessitam de 40 a 50 mg de cálcio/kg PV/dia para suprir as exigências deste mineral.

Em cavalos, o mais freqüente desequilíbrio nutricional ligado aos minerais, é a ingestão excessiva de fósforo ou insuficiente de cálcio (Capen 1993). A ingestão excessiva de fósforo resulta numa absorção intestinal excessiva e hiperfosfatemia. A hiperfosfatemia estimula a paratireóide indiretamente, levando a reabsorção óssea e aumento da fosfatúria. Da mesma forma, a ingestão insuficiente de cálcio determina uma hipocalcemia que leva a estimulação da paratireóide.

A ingestão contínua de uma dieta desbalanceada leva a um estado permanente de hiperparatireoidismo compensatório e ao desenvolvimento progressivo de distúrbios metabólicos do osso por reabsorção da matriz óssea decorrente da ação do paratormônio (Schryver et al 1974a e b). Os cavalos com este tipo de distúrbios geralmente se alimentam de dietas ricas em grãos e com forragens de baixa qualidade. Este tipo de dieta normalmente é palatável e nutritiva, exceto pelo desequilíbrio cálcio/fósforo, de tal forma que o animal se desenvolve com peso e tamanho normais, mas podendo apresentar fragilidade óssea clínica ou subclínica.

De acordo com o NRC (1989), a relação cálcio: fósforo é de grande importância nas dietas para eqüinos. Se for inferior a 1:1, pode ser prejudicial à absorção de cálcio. Se o consumo de fósforo for adequado, essa relação pode ser de até 6:1, sem causar danos aos animais. Aos doze meses de idade, a relação cálcio: fósforo deve ser de 2:1.

Underwood (1981) chamou atenção para as dificuldades de se estimar, com precisão, as exigências nutricionais de fósforo e cálcio para potros em crescimento. Infelizmente, nem sempre as taxas de crescimento são precisas para servirem de parâmetro a uma taxa ótima de crescimento e desempenho máximo, já que a taxa de crescimento vem sendo incrementada a cada ano. Com isso, as estimativas para potros em crescimento têm sido baseadas na composição do mineral relativa ao ganho de peso, na perda endógena e na eficiência de absorção.

Os requerimentos de cálcio para um ótimo desenvolvimento ósseo de potros em crescimento podem ser calculados baseados na estimativa de que o potro em desenvolvimento deposita aproximadamente 16 g/dia de fósforo por Kg de ganho de peso (Schryver et al., 1974). Assim, segundo o NRC (1989), um potro em crescimento pesando 215 Kg, com ganho de peso diário de 0,85 Kg e com eficiência de absorção de 50% necessitaria de 27,2g/dia de Ca ( $16g \times 0,85Kg/0,5$ ) para atender às exigências do



crescimento esquelético mais 8,6 g/dia (215 Kg x 20 mg/0,5) para as exigências de manutenção (perda endógena obrigatória de 20 mg/Kg PV/dia de Ca), totalizando 35,8 g/dia.

Segundo Hintz (1996) cavalos de 4 a 12 meses de idade, com expectativa de peso adulto de 500 kg, necessitariam de 29 a 36 gramas de cálcio/dia. Pesquisadores alemães estimam em 20 a 30 gramas/dia, enquanto que franceses indicam de 28 a 39 gramas de cálcio/dia. O autor relata, entretanto, que as dificuldades em determinar níveis adequados de ingestão do elemento estão diretamente relacionadas ao não conhecimento ainda da composição e velocidade ótima do crescimento ósseo e que portanto mais estudos devem ser conduzidos.

#### 1.3.10. Oxalato

Algumas forrageiras acumulam oxalatos. O oxalato reage com cátions monovalentes como potássio ou sódio formando sais solúveis de oxalato, mas forma também quelatos menos solúveis com cátions bivalentes como cálcio e magnésio. Desses quelatos, oxalato de cálcio é o mais estável e menos solúvel (Nicodermo & Laura, 2001).

Esses cristais insolúveis formam-se nos vacúolos de células especializadas, que estão geralmente associados ao sistema vascular das plantas. Quando associado a essa fração da planta, de baixa digestibilidade, o cálcio está essencialmente indisponível para o animal, e os cristais de oxalato tendem a passar intactos pelo trato digestivo dos animais (Ward et al., 1979; Marais et al., 1997).

Groenendyk & Seawright (1974) e Walthall & McKenzie (1976) descreveram o hiperparatiroidismo nutricional secundário em equinos em pastagens constituídas por gramíneas tropicais. Estes autores observaram que o índice total de oxalato destas gramíneas era teoricamente suficiente para ligar todo seu conteúdo de cálcio. Sugeriram que esta ligação tornou o cálcio dietético indisponível para a absorção pelos cavalos e produziram, desse modo, a doença.

McKenzie et al. (1981), em experimento com cavalos adultos e comparando a dieta basal com dietas contendo cloreto de potássio (KCl) e oxalato de potássio ( $K_2(COO)_2$ ), observaram que o balanço de cálcio foi negativo para os animais alimentados com dietas contendo ( $K_2(COO)_2$ ).

De acordo com o NRC (1989), o oxalato afeta diretamente a absorção de cálcio, sendo que um nível de 1% de oxalato na dieta poderia reduzir a absorção de cálcio em 66% e uma concentração total na dieta de 2,6 a 4,3% poderia ocasionar balanços negativos de cálcio. Ainda segundo o NRC (1989), gramíneas tropicais com mais de 0,5% de oxalato podem levar a balanços negativos de cálcio.

#### 1.4. Uso de radioisótopos nos cálculos de metabolismo de fósforo e de cálcio

A fração fecal endógena, utilizada no cálculo da absorção verdadeira (biodisponibilidade), pode ser estimada em alguns casos por marcação dos tecidos corporais com o isótopo do elemento em estudo e subsequente medida da extensão de diluição da fração endógena do mineral total das fezes (ou urina) (Kleiber et al., 1951). Outras formas de se calcular a excreção fecal endógena envolvem a utilização de dietas livres do elemento ou o uso de equações de regressão da retenção do elemento em relação a diferentes taxas de ingestão, obtidas em ensaios de balanço. Estes dois últimos métodos apresentam inconvenientes, fornecendo valores de excreção endógena mais baixos que aqueles obtidos pelo método isotópico (Playne, 1976).

A quantificação da disponibilidade biológica nos alimentos para ruminantes envolve o uso de  $^{45}\text{Ca}$  como traçador. Os princípios do método com o uso de radiotraçador apresentados inicialmente por Kleiber et al. (1951), basearam-se na técnica da diluição isotópica (radioisótopos) utilizando o radionuclídeo  $^{32}\text{P}$  em bovinos leiteiros. Apesar de ser uma metodologia utilizada por poucos pesquisadores no Brasil (Vitti, 1989; Salviano, 1996; Salviano & Vitti, 1998; Dorigan, 2000), a literatura mundial considera a técnica de diluição isotópica um método muito confiável para estudos de metabolismo mineral nos animais. No Brasil, pesquisas pioneiras utilizando esta metodologia em eqüinos, avaliaram o metabolismo do fósforo, bem como comprovaram a eficiência e a viabilidade do uso de radioisótopos ( $^{32}\text{P}$ ) em pesquisas com animais (Oliveira, 1999; Furtado et al. 2000a,b e Lopes et al., 2000a e b).

O princípio da técnica de diluição isotópica baseia-se no fato de que, após a injeção do radionuclídeo no plasma, este distribui-se homoganeamente nos fluidos corporais (plasma, líquidos intersticiais, etc.), sendo sua presença nas fezes indicativo

da fração endógena. A fração endógena pode ser estimada através da comparação da atividade do plasma com a das fezes. A atividade específica das fezes é sempre menor que a do plasma, pois nas fezes a fração exógena do elemento é mais elevada causando a diluição isotópica do elemento. Sabendo-se a fração endógena do elemento, pode-se calcular a absorção verdadeira.

Entre os isótopos do cálcio, o  $^{45}\text{Ca}$  é o mais utilizado em pesquisas com animais, possui meia-vida de 163 dias. No caso do fósforo utiliza-se o isótopo  $^{32}\text{P}$ , o qual possui meia-vida de 22 dias.

O ARC (1980) cita que a disponibilidade biológica do cálcio é baixa estando ao redor de 30%, e para se conhecer esta disponibilidade nos alimentos há necessidade de mensurar o aproveitamento do cálcio pelo animal. O AFRC (1991) menciona valores de absorção verdadeira de cálcio entre 0,25 e 0,75 g/dia, dependendo da exigência do indivíduo. Segundo AFRC (1991), a disponibilidade biológica de cálcio para dietas colidas raramente ultrapassa 50% do cálcio total fornecido.

Baseando-se nas explicações acima, conclui-se então que se houver erro na determinação da disponibilidade biológica do mineral, haverá prejuízo para o cálculo das exigências dietéticas. Daí a importância desta determinação através de metodologias mais precisas, como a diluição isotópica.

## 1.5. Cálculos

### 1.5.1. Fósforo

#### 1.5.1.1. Atividade específica

A atividade específica no plasma, nas fezes e na urina foi calculada como percentagem da atividade injetada por miligrama de fósforo (Lofgreen & Kleiber, 1953).

a) proporção da atividade injetada no plasma:

$$A_{ipl} = \lambda_{pl} \times \lambda_{pd}^{-1} \times 100$$

onde:

$A_{ipl}$  = percentagem da atividade injetada presente no plasma

$\lambda_{pl}$  = contagens por minuto em 1mL de plasma

$\lambda_{pd}$  = contagens por minuto em 100  $\mu$ l da solução padrão.

b) atividade específica no plasma:

$$A_{epl} = A_{ipl} \times P_{ipl}^{-1}$$

onde:

$A_{epl}$  = atividade específica no plasma

$P_{ipl}$  = mg de fósforo em 1mL de plasma.

c) proporção da atividade injetada nas fezes:

$$A_{ifz} = \lambda_{fz} \times \lambda_{pd}^{-1} \times 100$$

onde:

$A_{ifz}$  = percentagem da atividade injetada presente nas fezes

$\lambda_{fz}$  = contagens por minuto em 1g de fezes

$\lambda_{pd}$  = contagens por minuto em 100  $\mu$ l da solução padrão.

d) atividade específica nas fezes:

$$A_{efz} = A_{ifz} \times P_{ifz}^{-1}$$

onde:  $A_{efz}$  = atividade específica nas fezes

$P_{ifz}$  = mg de fósforo em 1g de fezes.

e) proporção da atividade injetada na urina:

$$A_{iur} = \lambda_{ur} \times \lambda_{pd}^{-1} \times 100$$

onde:

$A_{iur}$  = percentagem da atividade injetada presente na urina

$\lambda_{ur}$  = contagens por minuto em 1mL de urina

$\lambda_{pd}$  = contagens por minuto em 100  $\mu$ l da solução padrão.

f) atividade específica na urina:

$$A_{eur} = A_{iur} \times P_{iur}^{-1}$$

onde:  $A_{eur}$  = atividade radioativa específica na urina

Piur = mg de fósforo em 1mL de urina.

#### 1.5.1.2. Perda endógena fecal, absorção líquida e disponibilidade biológica.

A perda endógena fecal diária foi determinada através das atividades radioativas específicas no plasma e nas fezes, e pelo cálculo do fósforo total excretado (Lofgreen & Kleiber, 1953).

a) fósforo endógeno fecal:

$$P_{pef} = A_{ep1} \times A_{efz}^{-1} \times 100$$

onde:  $P_{pef}$  = percentagem de fósforo nas fezes de origem endógena

b) perda endógena fecal:

$$P_{ef} = P_{pef} \times P_{tex}$$

onde:

$P_{ef}$  = quantidade diária de fósforo endógeno nas fezes

$P_{tex}$  = fósforo total excretado nas fezes em gramas/dia  $\Leftrightarrow$  volume diário das fezes x percentagem de fósforo nas fezes.

Sabendo-se a quantidade de fósforo consumido, a excreção total e a perda endógena nas fezes, determinou-se a absorção real ou líquida.

c) absorção líquida:

$$P_{abs} = P_{cons} - (P_{tex} - P_{ef})$$

onde:

$P_{abs}$  = fósforo absorvido em gramas

$P_{cons}$  = quantidade de fósforo consumido em gramas/dia.

d) disponibilidade biológica:

$$DB = P_{abs} \times P_{cons}^{-1} \times 100$$

onde:

DB = disponibilidade biológica em percentagem.

### 1.5.1.3. Retenção de fósforo

Para cálculo do fósforo retido utilizou-se a seguinte expressão:

$$P_{re} = P_{cons} + (P_{te} - P_{ur})$$

onde:  $P_{cons}$  x  $P_{ur}$

$P_{re}$  = fósforo retido

$P_{ur}$  = fósforo presente na urina em mg/dia.

### 1.5.2. Cálcio

Para o cálcio foram utilizadas as mesmas fórmulas descritas acima.

## LITERATURA CITADA

- AGRICULTURAL FOOD AND RESEARCH COUNCIL – AFRC. A reappraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. Report 6. **Nutrition Abstract and Reviews. Series B**, v.61, n.9, p.573-612, 1991.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. **The nutrient requirements of farm livestock**. London: Commonwealth Agricultural Buresux, 1980.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. **The nutrient requirements of ruminant livestock**. Farnham Royal: Comm. Agric. Bureau, 1990.
- ANDRIGUETO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. **Nutrição Animal**. São Paulo:Nobel, 1993. 395 p.
- ANNENKOV, B.N. Kinetics of mineral metabolism in blood. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V.I. **Mineral nutrition of animais**. 1. ed. London: Butterworths, 1982a. p.243-256.
- ANNENKOV, B.N. Kinetics of mineral metabolism in organs and tissues. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, VI. **Mineral nutrition of animais**. 1. ed. London: Butterworths, 1982b. p. 257-271.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Secretaria de Planejamento da Presidência da República. Rio de Janeiro: Fundação do IBGE, v. 45, 1993. 904p.
- ARGENZIO, R. A .; LOWE, J.E.; HINTZ, H.F. et al. Calcium and phosphorus homeostasis in horse. **Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p. 18-24, 1974.
- AUSTGEN, L.; BOWEN, R.A.; ROUGE, M. Endocrine control of calcium and phosphate homeostasis. Colorado State University: Fort Collins, 2003. <http://arbl.cvmb.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/thyroid/calcium.html>. (14 jun. 2004)

- BAIN, S.D.; WATKINS, B.A. Local modulation of skeletal growth and bone modeling in poultry. **Journal of Nutrition**, v.123,n.2, p.317-322, 1993.
- BAUER, J.E. Normal Blood Chemistry. In: Koterba,A.M.; Drummond,W.H.; Kosch,P.C. (Ed) **Equine clinical neonatology**. Lea&Febiger, Philadelphia, p602-614, 1990.
- BECKMAN, M.J.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A. et al. In vivo regulation of rat intestinal 24-hydroxylase potencial: potencial new role of calcium. **Endocrinology**, v.135, p.1951-1955, 1994.
- BELLAVER, C.; GOMES, P.C.; SANTOS, D.L. Absorção e disponibilidade de fósforo para suínos, baseada na diluição de radiofósforo (<sup>32</sup>P). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.18, n.9, p.1053-1057, 1983.
- BERTONE, A.L.; TOOFANIAN, F.;STASHAK, T.T. Alteration of intestinal enzyme activities associated with extensive large-colon resection in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.51, n.9, p.1329-1334, 1990.
- BLANEY, B.J.; GARTNER, R.J.W.; MCKENSIE, B.A. The effect of oxalate in some tropical grasses on the availability to horses of calcium, phosphorus and magnesium. **Journal of Agricultural Science**, v.97, n.3, p.507-514, 1981.
- BONDI, A.A. Importancia nutritive de los minerals. In: BONDI, A.A. **Nutrition animal**. Zarazoga:Acribia, 1989. cap. 10, p.175-187.
- BRAITHWAITE, G.D. Some observations of phosphorus homeostasis and requirements of sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.102, p.295-306, 1984.
- BRAITHWAITE, G.D. Endogenous fecal loss of phosphorus in growing lambs and the calculation of phosphorus requirements. **Journal of Agricultural Sciences**, v.105, n.1, p.67-72, 1985.
- BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C. et al. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants. **Reproduction, Nutrition, Development**, v.43, n.3, p. 271-284, 2003.



- BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research Reviews**, v.4, p.1 25-140, 1991.
- BROBST, D.F., LEE, H.A., SPENCER, G.R. Hypercalcemia and hypophosphatemia in a mare with renal insufficiency. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.173, n.10, p.1370-1372, 1978.
- BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. **Journal of Nutrition**, v.117, p.1347-1352, 1987.
- BROWN, E.M. Extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  sensing, regulation of parathyroid cell function and role of  $\text{Ca}^{2+}$  and other ions as extracellular (first) messengers. **Physiological Reviews**, v.71, p.1347-1352, 1991.
- BUCHHOLZ-BRYANT, M.A.; BAKER, L.A.; PIPKIN, J.L. et al. The effect of calcium and phosphorus supplementation, inactivity, and subsequent aerobic training on the mineral balance in young, mature and aged horses. **Journal of Veterinary Science**. v.21, n.2, p.71-77, 2001.
- BUENO, M.S.; SANTOS, L.E.; CUNHA, E.A. et al. Níveis de cálcio para caprinos em crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., Porto Alegre, 1999. **Anais**. Porto Alegre: SBZ, 1999. 1CD-ROM.
- CANTARO, W.A.; SHEPART, Z.B. **Bioquímica**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1973. 912p.
- CAPEN, C.C.: The calcium regulating hormones : parathyroid hormone, calcitonin and cholecalciferol In: McDonald, L.E. (Ed): **Veterinary Endocrinology and reproduction**. 3rd ed, Philadelphia, Lea&Febiger, 1980. p60-130.
- CAPLE, I.W.; DOAKE ,P.A.; ELLIS ,P.G.: Assessment of the calcium and phosphorus nutrition in horses by analysis of urine, **Australian Veterinary Journal**, v.58, p125-135, 1982.
- CARVALHO, P.R. **Aplicação da técnica da taxa de depuração renal de creatina para avaliação do status mineral do cálcio e fósforo em eqüinos**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1993. 114p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1993.

- CHALA, J. **Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis**. Reading, 1986. 215p. Tese (Doutorado) - University of Reading, 1986.
- CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis. 1. Studies of the effects of changes in the dietary P intake on P and Ca metabolism. **Journal of Agricultural Science**, v.110, n.3, p. 573-581, 1988.
- COFFMAN, J.R.: Calcium and phosphorus physiology and pathophysiology. In: **Equine Clinical Chemistry and Pathophysiology** (Ed). Veterinary Medical Publishing Company, Kansas, 1981.
- CHRISP, J.S.; SYKES, A.R.; GRACE, N.D. Kinetic aspects of calcium metabolism in lactating sheep offered herbage with different calcium concentrations and the effect of protein supplementation. **British Journal of Nutrition**, v. 61, p.45-58, 1989a.
- CHRISP, J.S.; SYKES, A.R.; GRACE, N.D. Faecal endogenous loss of calcium in young sheep. **British Journal of Nutrition**, v.61, p.59-65, 1989b.
- CUNHA, T.J.: Pasture for horses in: **Horses feeding and nutrition** (Ed). California, Academic Press, Inc. p274-293, 1991.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993. 454p.
- CYMBALUCK, N.F. Cold housing effects on growth and nutrient demand of young horses. **Journal of Animal Science**, v.68, n.11, p.3152-3162, 1990.
- CYMBALUCK, N.F., CHRISTENSEN, D.A. Nutrient utilization of pelleted and unpelleted forages by ponies. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, n.2, p.237-244, 1986.
- CYMBALUCK, N.F., CHRISTISON, G.L., LEACH, D.H. Nutrient utilization by limit and ad libitum fed growing horses. **Journal of Animal Science**, v. 67, n.2, p.414-425, 1989.

- DORIGAN, C.J. Metabolismo e perda endógena de cálcio em cabritos Saanen. Jaboticabal, 2000. 114p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” .
- DUREN, S. Delivering essential nutrients to young growing horses. In: FOCUS ON EQUINE NUTRITION. MINERAL REQUERIMENTS AND MANAGEMENT OF THE GROWING HORSE, 1996, Kentucky. **Proceedings**...p. 23-54.
- ELFERS, R.S. et al. Alterations in calcium, phosphorus and c-terminal parathyroid hormone levels in equine acute renal disease. **Cornell Veterinary**, v.76, n.3, p.317-329, 1986.
- ENBERGS ,H; KARP ,H.P.; SCHONHERR ,U. : Course of blood levels of calcium, inorganic phosphate, alkaline phosphatase parathyroid hormone and calcidiol in one and two year old throughbred horses: **Deutsche Tierarztl Wochenschr**, v.103, n.12, p491-493, 1996.
- ESTEPA, J.C. et al. Measurament of parathoid hormone in horses. **Equine Veterinary Journal**, v.30, n.6., p.476-481, 1998.
- FAIRWEAHER-TAIT, S.J. From absortion and excretion of minerals...to the importance of bioavailability and adaptation. **British Journal of Nutrition**, v.78, suppl.2, p.S95-S100, 1997.
- FERNANDEZ, J.A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs. III. A model resolution. **Livestock Productlon Science**, v.41, n.1, p.255-2261, 1995.
- FIELD, A.O.; SUTTLE, N.F.; NISBET, D.I. Effects of diet low in calcium and phosphorus on the absorption in chimaera-derived sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.85, p.435-442, 1985.
- FIELD, A.C.; WOOLLIAMS, J.A.; DINGWALL, R.A. The effect of dietary intake of calcium and dry matter on the absorption and excretion of calcium and phosphorus by growing lambs. **Journal of Agricultural science**, v.105,p.237-243,1985.
- FRAPE, D. **Nutrición y Alimentación del Caballo**. Zaragoza: Acribia S.A., 1992. 404 p.

- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Gaiola de metabolismo para eqüinos. **Acta Scientiarum**. v.22, n.3, p.813-816, 2000.
- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Disponibilidade biológica do fósforo de diferentes fontes para eqüinos em crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.5, p.1011-1016, 2000a.
- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Perda endógena e absorção real de fósforo em dietas para eqüinos em crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.5, p.1023-1028, 2000b.
- GANONG, W.F. **Fisiologia médica**. 15.ed. Rio de Janeiro:Prentice-Hall do Brasil, 1993. 560p.
- GILBERT, A.B. Calcium and reproductive function in the hen. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.2, p.195-212, 1983.
- GLADE, M.J.; LUBA, N.K.; SCHRYVER, H.F. Effects on age, diet development of mechanical strenght by the third metacarpal and metatarsal bones in young horses. **Journal Animal Science**, v.63, n.10, p.1432-1444, 1986.
- GRACE, ND. Phosphorus kinetics in the sheeps. **British Journal of Nutrition**, v.46, p.381-374, 1981.
- GUÉGUEN, L. POINTILLART, A. The bioavailability of dietary calcium. **Jounal of the American College of Nutrition**, v.19, n.2, p.119s-136s, 2000.
- GROENENDYK, S.; SEAWRIGHT, A.A. Osteodystrophia fibrosa in horses in grazing *Setaria sphacelata*. **Australian Veterinary Journal**, v.50, p.131-132, 1974.
- HAYS, V.W., SWENSON, M.J. Minerais. In: SWENSON, M.J. **Dukes: Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. cap.4, p.397-411.
- HINTZ, H.F. **Horse nutrition**. New York, Arco Publishing, 1983. 228 p.
- HINTZ, H.F. Mineral requeriments in the horse: a historical perspective. In: FOCUS ON EQUINE NUTRITION. MINERAL REQUERIMENTS AND

MANAGEMENT OF GROWING HORSE, 1996, Kentucky. **Proceedings...p.1-7.**

HINTZ, H.F. et al. Oxalic acid content of alfalfa hays and its influence on availability of calcium, phosphorus and magnesium to ponies. **Journal of Animal Science**, v.58, n.4, p.939-942, 1984.

HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Availability of ponies of calcium and phosphorus from various supplements. **Journal of Animal Science**, v.34, n.4, p.979-980, 1972.

HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Potassium metabolism in ponies. **Journal of Animal Science**, v.42, n.3, p.637-643, 1976

HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F.; LOWE, J.E. Comparison of a blend of milk products and linseed meal as protein supplements for young growing horses. **Journal of Animal Science**, v.33, n.6, p.1274-1277, 1971.

HINTZ, H.F.; WILLIAMS, A.J.; ROGOFF, J. et al. Availability of phosphorus wheat bran when fed to ponies. **Journal of Animal Science**, v.36, n.2, p.522-525, 1973.

HORST, R.L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.604-616, 1986.

HURWITZ, S. Homeostatic control of plasma calcium concentration. **Critical Reviews in Biochemistry And Molecular Biology**, v. 31, p.41-100, 1996.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Laboratory training manual on the use of nuclear techniques in animal research.** Vienna: IAEA, 1979. 299p. (Technical Report Series, 193).

JORDAN, R.M.; MYERS, V.S.; YOHO, B. et al. Effect of calcium and phosphorus levels on growth, reproduction and bone development in ponies, **Journal of Animal Science**, v.40, p.I, 1975.

KICHURA, T.S., HINTZ, H.F., SCHRYNER, H.F. Factors influencing endogenous phosphorus losses in ponies. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 8, 1983, Lexington. **Proceedings...p.2-6.**

- KING, C. Practical use of urinary fractional excretion. **Journal of Equine Veterinary Science**. V.14, n.9, p.464-468, 1994.
- KLEIBER, M.; SMITH, AH.; RALSTON, N.P. et al. Radiophosphorus ( $^{32}\text{P}$ ) as tracer for measuring endogenous phosphorus in cow's feces. **Journal of Nutrition**, v.45, n.2, p.253-263, 1951.
- KOLBE, E. **Fisiologia veterinária**. 2 ed, Zaragoza:Acribia, 1979, 1115p.
- LEWIS, L.D. **Feeding and care of the horse**. 2.ed. Media: Willians and Wilkins, 1995. 446 p.
- LEUDOX, D.R.; ZYLA, K.; VEUM, T.L. Substitution of phytase for inorganic phosphorus for turkey hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.4, p. 157-163, 1995.
- LIEB, S., BAKER, J.P. Effect of high calcium intake on phosphorus metabolism. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 4, 1975. Pomona. **Proceedings...**p.60.
- LITTLE, D.A. Utilization of minerals. In: HACKER, J.B.(Ed) **Nutritional limits to animal production from pastures**. Farnham Royal: CSIRO, 1984. p.259-283.
- LIU, J. et al. Soaking increases the efficacy of supplemental microbial phytase low-phosphorus corn-soybean meal diet for growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.75, n.6, p.1292-1298, 1997.
- LIU, J. et al. Lowering the dietary calcium to total phosphorus ratio increases phosphorus utilization in low-phosphorus corn-soybean meal diets supplement with microbial phytase for growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v.76, n.4, p.808-813, 1998.
- LOPES, J.B.; FURTADO, C.E.; VITTI, D.M.S.S. et al. Simulação do metabolismo do fósforo de diferentes fontes de fosfatos em eqüinos. In: XXXVII REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 2000a. Viçosa: **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000.
- LOPES, J.B.; FURTADO, C.E.; VITTI, D.M.S.S. et al. Modelo do metabolismo do fósforo em eqüinos. In: XXXVII REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 2000b. Viçosa: **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000.

- LOUVANDINI, H., VITTI, D.M.S.S. Perda endógena de fósforo em ovinos suplementados com diferentes níveis do elemento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V. 29, n.1, p.145-149, 1994.
- MARAIS, J.O.; BARNABAS, A.D.; FIGENSCHOU, D.L. Effect of calcium nutrition on the formation of calcium oxalate in kikuyu grass. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 18, Winnipeg, 1997. **Proceedings...**Winnipeg, 1997. v.2, Session 17 – Forage Quality.
- MARTIN-ROSSET, W. **L' alimentation des chevaux**. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1990. 303p.
- McDOWELL, L.R. **Mineral in animal and human nutrition**. San Diego:Academic Press, 1992. 524p.
- McKENISIE, R.A.; BLANEY, B.J.; GARTNER, R.J.W. The effect of dietary oxalate on calcium, phosphorus and magnesium balances in horses. **Journal of Agricultural Science**, v.97, n.1, p.69-74, 1981.
- MERCK RESEARCH LABORATORIES. **The Merck manual of diagnosis and therapy**. Calcium metabolism. Whitehouse Station, 2004. <http://merck.com/mrkshared/manual/section2/chapter12/12d.jsp>. (07/04/04).
- MEYER, H. **Alimentação de Cavalos**. São Paulo : Varela, 1995. 302 p
- MEYER, H.; HEINLEMANN, M.; PEREZ, H. et al. Investigations on the postprandial renal Ca, P e Mg excretion in resting and exercised horses. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 11., 1989, Stilwater. **Proceedings...**Stilwater: Equine Nutrition and Physiology Society, 1989. p.133-138.
- MEYER, H.; STADERMANN, B.; SCHNURPEL, B. et al. The influence of type of diet (roughage or concentrate) on the plasma level, renal excretion and apparent digestibility of calcium and magnesium in resting and exercising horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.12, n.4, 1992.
- MUDD, A.J., STRANKS, M.H. Mineral and trace element requirements of pigs. In: COLE, D.J.A., HARESIGN, W. (Ed). **Recent development in pig nutrition**. Butterworths, 1981. p. 123-138.

- MULRONEY, A.J., HARAMATI, A. Renal adaptation to changes in dietary phosphate during development. **American Journal of Physiology**, V.258, n.10, p.1650-1656, 1990.
- MUNDY, G.W. Nutrient requirements for the growing horse. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 37, 1993, San Antonio, **Proceedings...**p.49-54.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Requirements of Domestic Animals. **Nutrient Requirements of Horses**. 5. ed. Washington: National Acad. Sciences, 1989, 100p.
- NEL, J.W.; MOIR, R.J. The effect of ruminal and duodenal application of different levels of calcium and phosphorus to sheep on semi-purified diets. **African Journal of Animal Science**, v.4, p.1-20, 1974.
- NEWMANN, C.W. The U.S. marker for feed enzymes: what opportunities exist? In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 10, 1994. Nicholasville. **Proceedings...** Nicholasville, Alltech Technical Publications, 1994. p.99-116.
- NICODEMO, M.L.F.; LAURA, V.A. **Elementos minerais em forrageiras: formas químicas, distribuição e biodisponibilidade**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. (Documentos, 115).
- NORMAN, A.W.; HURWITZ, S. The role of vitamin D endocrine system in avian bone biology. **Journal of Nutrition**, v.123, p.310-316, 1993.
- OLIVEIRA, A.A.M.A. **Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo em diferentes dietas para potros em crescimento**. Jaboticabal, SP: UNESP, 123p. 1999. Dissertação (Doutorado em Zootecnia)-UNESP,1999.
- OTT, E.A. Dietary nutrient allowances for horses. **Feedstuffs**, v.64,n.29, p.77-80, 1995.
- PEELER, H.T. Biological availability of nutrients in feeds: availability of major mineral ions. **Journal of Animal Science**, v.35, n.3, p.695-712, 1972.
- PLAYNE, M.J. Availability of phosphorus in feedstuffs for utilization by ruminants. **Reviews in Rural Science**, v.3, p.155-164, 1976.



- PORTALE, A.A.: Blood calcium, phosphorus and magnesium. in Favus, M.J. (Ed): Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. **American Society for Bone and Mineral Research**, Lippincot-Raven Pub, New York, p93-96, 1990.
- REDDY, N.R.; SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Phytates in legumes and cereals. In: C.O. Chichester (Ed). **Advances in food research**: New York, Academic Press, 1982. v.28, n.1.
- REINHARDT, T.A., HORTS, R.Z., GOFF, J.P. Calcium, phosphorus and magnesium homeostasis in ruminants. **Veterinary Clinical North America Food Animal Practice**, v.4, n.2, p.331-350, 1988.
- ROQUE, A.P. **Cinética e disponibilidade biológica do cálcio de fontes utilizadas em dietas para cordeiros em terminação**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004. 59p. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.
- SALVIANO, L.M.C. **Efeito de diferentes proporções de cálcio e fósforo sobre as perdas endógenas e absorção real de fósforo em ovinos**. Piracicaba, 1996. 83p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- SALVIANO, L.M.C.; VITTI, D.M.S.S. Influência da proporção de cálcio e fósforo na dieta nas perdas endógenas e na absorção de fósforo em ovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.3, p.349-356. 1998.
- SCHNEIDER, K.N.; TERNOUTH, J.H.; SEVILLA, C.C. et al. A shorterm study of calcium and phosphorus absorption in sheep fed on diets high and low incalcium and phosphorus. **Australian Journal Agricultural Research**, v.36, p.91-105, 1985.
- SCHRYVER, H.F.; GRAIG, P.H.; HINTS, H.F. Calcium metabolism in ponies fed varyng levels of calcium. **Journal of Nutrition**, v.100, n.5, p.955-964, 1970.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; GRAIG, P.H. Phosphorus metabolism in ponies fed varyng levels of phosphorus. **Journal of Nutrition**, v.101, n.5, p.1257-1264, 1971.

- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; GRAIG, P.H. et al. Site of phosphorus absorption from intestine of the horse. **Journal of Nutrition**, v.102, n.1, p.143-148, 1972.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E. Calcium and phosphorus in the nutrition of the horse. **Cornell Veterinary**, v. 64, n. 4, p. 493-515, 1974a.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E. et al. Mineral compositions of the whole body, liver and bone of young horses. **Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p.126-134, 1974b.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E. Calcium metabolism, body composition and sweat losses of exercised horses. **Animal Journal of Veterinary Research**, v.39, n.2, p.245-248, 1978.
- SCHRYVER, H.F.; MILLS, D.L.; SODERHOLM, L.V. et al. Metabolism of some essential minerals in ponies fed high levels of aluminum. **Cornell Veterinary**, v.76, n.2, p.345-360, 1986.
- SCHRYVER, H.F.; PARKER, M.T.; DANILUK, P.D. et al. Salt consumption and the effect of salt on mineral metabolism in horses. **Cornell Veterinary**, v.77, n.1, p.122-131, 1987.
- SCOGLUND, E., NÄSI, M., SANDBERG, A.S. Phytate hydrolysis in pigs fed a barley-rapeseed meal diet treated with *Aspergillus niger* phytase or steeped with whey. **Canadian Journal of Animal Science**, v.78, n.1, p.175-180, 1998.
- SCOTT, D. Control of phosphorus balance in ruminants. In: ASPECTS OF DIGESTIVE PHYSIOLOGY IN RUMINANTS, 30, 1988, Ithaca. **Proceedings...**cap. 7, p.280-287, 1987.
- SEVILLA, C.C. **Phosphorus deficiency in lambs**. Sta. Lucia, 1985. Tese (Doutorado). University of Queensland, 1985.
- SILVA, J.F.C. Exigências de macroelementos inorgânicos para bovinos: osistema ARC/AFC e a experiência no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, Viçosa, 1995. **Anais...**Viçosa:JARD, 1995. p.467-504.
- SOUSA, H.M.H.; QUEIROZ, A.C.; RESENDE, K.T. et al. Xigância de cálcio para manutenção de caprinos da raça Parda Alpina em crescimento: frações

endógenas e abate comparativo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, Juiz de fora, 1997. **Anais...Jiz de Fora:SBZ**, 1997. p.403-405.

SWARTZMAN, J.A.; HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Inhibition of calcium absorption in ponies fed diets containing oxalic acid. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, p. 1621-1623, 1978.

TEETER, S.M., STILLIONS, M.C., NELSON, W.E. Maintenance levels of calcium and phosphorus in horses. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.15, n.12, p.1625-1628, 1967.

TORRES, A.P.; JARDIM, W.R. **Criação do cavalo e de outros eqüinos**. São Paulo. Livraria Nobel. 1981, 654p.

UNDERWOOD, E.J. **The mineral nutrition of livestock**. 2. ed., Farham Royal: Comm. Agric. Bureaux, 1981. 180p.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: CAB, 1999. 614p.

VAN DOORN, D.A.; EVERTS, H.; WOUTERSE, H. et al. The apparent digestibility of phytate phosphorus and the influence of supplemental phytase in horses. **Journal of Animal Science**. n.82, p.1756-1763, 2004.

VAN DOORN, D.A.; VAN DER SPEK, M.E.; EVERTS, H. et al. The influence of calcium intake on phosphorus digestibility in mature ponies. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. n.88. p. 412-418, 2004.

VITTI, D.M.S.S. **Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo dos fosfatos bicálcico, Patos de Minas, Tapira e finos de Tapira para ovinos pela técnica da diluição isotópica**. São Paulo, 1989. 87p. Tese (Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, 1989.

VITTI, D.M.S.S. **Modelos biomatemáticos do metabolismo de fósforo em ovinos e caprinos**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000. 149p. Dissertação (Livre Doência) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000.

WALTHALL, J.C.;McKENZIE, R.A.: Osteodystrofia fibrosa in horses at pasture in Queensland: field and laboratory observations. **Australian Veterinary Journal**, v.52, p11-16, 1976.

WARD, G.; HARBERS, L.H.; BLAHA, J.J. Calcium containing crystals in alfafa: their fate in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.62, n.5, p.715-722, 1979.

## II-OBJETIVOS GERAIS

O objetivo do presente trabalho será o de estudar o metabolismo do cálcio e do fósforo em eqüinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio, que possibilitem estabelecer valores de metabolismo destes elementos que sejam mais próximos da realidade nutricional conduzida em nosso país.

### III - METABOLISMO DO FÓSFORO EM EQUINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivo estudar o metabolismo do fósforo em equinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio. Foram utilizados doze equinos machos, da raça Mangalarga com idade média de doze meses e peso vivo médio de 221,0kg. Os tratamentos consistiram de três dietas, compostas por níveis crescentes de cálcio (baixo = 0,15%-N<sub>15</sub>; padrão = 0,45%- N<sub>45</sub>; alto = 0,75%- N<sub>75</sub>), e nível padrão de fósforo (0,23%). Foram injetados em cada animal, através da veia jugular direita, os volumes de uma seringa, que corresponderam à cerca de 7,4 MBq de <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Após a injeção, foram colhidas amostras (10 mL) de sangue, via jugular esquerda, aos cinco minutos, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As fezes foram colhidas pela manhã diariamente, a partir de 24 horas após a aplicação do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi colhida e armazenada em congelador para posterior análise. O mesmo procedimento das fezes foi adotado para a urina, quando foram colhidas amostras de 1% do volume total diário. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições. Os valores encontrados para fósforo total ingerido, fósforo plasmático, fósforo total nas fezes, fósforo endógeno nas fezes, fósforo absorvido e fósforo retido não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com médias de, respectivamente, 64,75; 4,88; 23,30; 14,91; 56,33 e 37,04 mg/KgPV/dia. A disponibilidade biológica também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com média de 86,71%. Verificou-se uma regressão linear entre níveis de cálcio na dieta e fósforo total na urina, expressa pela equação  $y = 12,02 - 0,17x$   $r^2 = 0,68$ , com média de 4,37 mg/KgPV/dia. Conclui-se que o nível de fósforo das dietas em estudo mostrou-se eficiente em manter concentrações adequadas do elemento no sangue e os parâmetros de fósforo plasmático, fósforo consumido, fósforo total excretado nas fezes, fósforo endógeno nas fezes, fósforo absorvido, fósforo retido e disponibilidade biológica do fósforo não foram afetados pelos níveis de cálcio das dietas.

Palavras-chave: equinos, fósforo, metabolismo.

### III - METABOLISM OF THE PHOSPHORUS IN GROWING EQUINES RECEIVING DIETS WITH DIFFERENT CALCIUM LEVELS

**ABSTRACT:** This work had as objective to study the metabolism of the phosphorus in growing equines receiving diets with different calcium levels. Twelve male equines were used, with average age of twelve months and average body weight of 221,0Kg. The treatments had consisted of three diets, composed for increasing calcium levels (low=0,15%-N<sub>15</sub>; standard=0,45%-N<sub>45</sub>; high=0.75%-N<sub>75</sub>), and level phosphorus standard (0,23%). They had been injected in each animal, through the right jugular vein, the volumes of a syringe, that had corresponded to about 7,4 MBq of <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). After the injection, had been collected samples (10 mL) of blood, saw jugular vein left, to the five minutes, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours. The feces had been collected in the morning daily, from 24 hours after the application of the radionuclide until the seventh day, being that an aliquot one of 5% of the feces daily total was collected and stored in freezer for posterior analysis. The same procedure of feces was adopted for urine, when samples of 1% of the daily total volume had been collected. The experimental techniques used were randomized completely by design for three treatments and four replications. No effects were noticed on ingested total phosphorus, plasmatic phosphorus, total phosphorus in feces, endogenous phosphorus in feces, absorbed phosphorus and restrained phosphorus, with averages of, respectively, 64,75; 4,88; 23,30; 14,91; 56,33 e 37,04 mg/KgPV/day. No effects were noticed on the biological availability with 86,70% average. A linear regression between levels of calcium in the diet and total phosphorus in urine was verified, express for the equation  $y = 12,02 - 0,17x$   $r^2 = 0,68$ , with average of 4,37 mg/KgPV/day. It was concluded that the level of phosphorus of the diets in study revealed efficient in keeping adequate concentrations of the element in the blood and the parameters of plasmatic phosphorus, consumed phosphorus, excreted total phosphorus in feces, endogenous phosphorus in feces, absorbed phosphorus, retained phosphorus and biological availability of the phosphorus had not been affected by the calcium levels of the diets.

Key Words: calcium, equines, metabolism, phosphorus.

## INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é um elemento mineral de grande importância para a manutenção das funções vitais, não apenas compondo estruturas, mas também participando de reações bioquímicas no organismo animal (National Research Council-NRC, 1989).

Os principais estudos de metabolismo de P em eqüinos foram realizados nos Estados Unidos, no início da década de 70, utilizando pôneis, nos quais foi avaliada a perda endógena fecal desse elemento, sem a qual não se pode determinar com precisão as exigências do animal (Schryver et al., 1971; Hintz et al., 1973; Cymbaluk, 1990).

A determinação da exigência animal desse elemento reveste-se de fundamental importância para fazer com que a suplementação de P seja a mais eficiente possível. As pesquisas em eqüinos a este respeito são escassas, em comparação com o universo de publicações correlatas em outras espécies (Furtado et al., 2000<sup>a</sup> e b). Entre os fatores responsáveis pela baixa produtividade do rebanho eqüídeo nacional, as carências minerais, principalmente de cálcio e fósforo, ocupam lugar de destaque. As pastagens brasileiras apresentam, de forma generalizada, baixos níveis de fósforo (Torres & Jardim, 1981), que estão muito aquém dos requerimentos mínimos dos eqüídeos. A deficiência de fósforo nos eqüídeos provoca alterações que se refletem principalmente no cálcio, afetando também a formação óssea. O cálcio (Ca) e o fósforo são elementos que desempenham um grande número de funções no organismo, além de serem constituintes dos ossos e dentes. Neste sentido, estão presentes nos processos metabólicos associados com ADP, ATP, síntese de fosfolipídios, ácidos nucléicos e fosfoproteínas (NRC, 1989). Esses elementos, portanto, devem estar disponíveis em quantidades apropriadas na ração ou suplemento.

Os mecanismos homeostáticos que regulam o metabolismo do cálcio e do fósforo na espécie eqüina foram estudados por diversos autores, como Schryver et al. (1970; 1971), Hintz et al. (1971;1973), Schryver et al. (1972), Hintz & Schryver (1972;1973), Schryver et al. (1974a), Argenzio et al. (1974), Hintz & Schryver (1976), McKensie et al. (1981), Blaney et al. (1981), Schryver et al. (1986), Glade et al. (1986) e Schryver et al. (1987), utilizando metodologias, animais, ingredientes e dietas diferentes das normalmente encontradas em nosso país.

Os resultados das pesquisas com fósforo e cálcio têm apresentado grande variação, propiciada não apenas pelo crescente desenvolvimento e produtividade animal, mas também, por importantes avanços na tecnologia da nutrição e dos sistemas



de criação, especialmente, quando se trata de produção em grande escala. Por outro lado, a indústria de alimentos necessita de informações precisas, para produzir rações que atendam às exigências dos animais com menor custo (Cupák et al. 1972), uma vez que tem sido demonstrado que níveis adequados de mineral para crescimento são insuficientes para a máxima mineralização (Cromwell et al., 1970).

Existem poucas informações recentes sobre o metabolismo do fósforo em eqüinos, especialmente sobre perda endógena e eficiência de absorção. Pesquisas avaliando a cinética destes elementos em tecidos e fluidos utilizando eqüinos são escassas. Schryver et al. (1974b), utilizando eqüinos com idade entre 12 e 20 meses, submetidos a dietas com vários níveis de Ca e P relataram que a composição média destes elementos no fígado foi de 0,12 e 9,2 mg/grama de tecido, respectivamente; enquanto que o teor de P foi de 164 mg/grama de cinza para os ossos úmero, rádio, metacarpo, fêmur, tibia e metatarso. Desta forma mostram-se importantes novos estudos, os quais possibilitem com maior profundidade identificar em eqüinos a cinética e o metabolismo do cálcio e suas inter-relações com o fósforo.

Em trabalho mais recente, van Doorn et al.(2004) avaliaram a influência do cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo e cálcio em pôneis. Os autores enfatizam a escassez de estudos e ausência de relatos conclusivos do efeito de altos níveis de cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo em eqüinos. Ressaltam que os resultados relatados mostram-se conflitantes. Ainda segundo estes autores, nenhum dos estudos anteriormente realizados avaliou o efeito de níveis de ingestão de cálcio na digestibilidade do fósforo mantendo constante a ingestão de fósforo.

No Brasil, estudo de metabolismo do P utilizando eqüinos em crescimento, realizado por Furtado et al. (2000b) relatou que a excreção renal do elemento aumenta significativamente somente com o aumento no consumo; a excreção pelas fezes representa a principal fonte de eliminação do P e que a perda endógena e a biodisponibilidade do P não foram dependentes do nível de P consumido (10,34 mg/kg/PV e 47,07%, respectivamente). Em outro experimento, Furtado et al. (2000<sup>a</sup>) determinaram valores de biodisponibilidade variando de 25,2 a 33,9% para diferentes fontes de P; e considerando os valores de P endógeno fecal, P absorvido, P retido e absorção real de P o fosfato bicálcico e o fosfato de rocha de Patos de Minas mostraram-se fontes eficientes de P para eqüinos.

Oliveira (1996), trabalhando com potros submetidos a 4 diferentes dietas, sem a utilização de fontes fosfatadas, observou altos valores para fósforo retido (25,20 a 47,43

mg/KgPV), indicando que os animais permaneceram em balanço positivo em todas as dietas. Estes resultados, segundo a autora, sugerem que os equinos dispõem de recursos digestivos próprios e suficientes para o aproveitamento do fósforo disponível nos alimentos concentrados na forma de fitatos.

O número relativamente reduzido de pesquisas no Brasil, em nutrição de equinos, conduz à consulta de tabelas estrangeiras, que, na maioria das vezes, não são aplicáveis às nossas condições.

O estudo teve como objetivo estudar o metabolismo do fósforo em equinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio, que possibilitem estabelecer valores de metabolismo deste elemento que sejam mais próximos da realidade nutricional conduzida em nosso país.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda e Haras Braido, município de Cerqueira César (SP) e no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.

Foram utilizados doze equinos machos, com idade média de doze meses e peso vivo médio de 221,0Kg.

A composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais está apresentada na TABELA 1.

Os tratamentos consistiram de três dietas, compostas por níveis crescentes de cálcio (baixo = 0,15%-N<sub>15</sub>; padrão = 0,45%-N<sub>45</sub>; alto = 0,75%-N<sub>75</sub>), e nível padrão de fósforo (0,23%) (TABELA 2). Para obter os níveis crescentes de cálcio as dietas (nível padrão e alto de Ca) foram suplementadas com um núcleo mineral (Potensal<sup>®</sup>) como fonte adicional de cálcio (TABELA 3).

Foram realizadas análises bromatológicas de acordo com as recomendações da AOAC (1980), o fosfato foi analisado em seu nível de fósforo (colorimetria), cálcio (espectrometria de absorção atômica) e flúor (Godfrey & Shrewsbury, 1945). As normas de alimentação foram de acordo com as recomendações do NRC (1989) e Ott (1995), os animais receberam as dietas na razão de 2,6% do peso vivo/kg/animal/dia

(60% de concentrado e 40% de volumoso), correspondendo a um consumo médio de 6,23kg alimento/animal/dia.

TABELA 1 – Composição química dos ingredientes que compõe as dietas experimentais (base na matéria seca – MS%)

TABLE 1 - Chemical composition of the ingredients that composes the experimental diets (dry matter bases – DM%)

Composição química\Ingredientes <i>Chemical composition\Ingredients</i>	Milho <sup>1</sup> <i>Corn<sup>1</sup></i>	Farelo de Soja <sup>1</sup> <i>Soybean meal<sup>1</sup></i>	Feno de Tifton 85 <sup>2</sup> <i>Tifton Hay<sup>2</sup></i>
Matéria Seca (MS) (%) <i>Dry matter (%)</i>	89.77	89.31	91.73
Proteína Bruta (PB) (%) <i>Crude Protein (CP) (%)</i>	9.78	42.48	7.67
Energia Bruta (Kcal/kg) <sup>1</sup> <i>Gross energy (Kcal/Kg)<sup>1</sup></i>	4458.48	4545.95	4181.35
Cálcio (Ca) (%) <i>Calcium (Ca)(%)</i>	0.05	0.35	0.26
Fósforo (P) (%) <i>Phosphorus (P)(%)</i>	0.27	0.63	0.12
Fibra Bruta (FB) (%) <i>Crude fiber (CF) (%)</i>	1.86	6.46	30.49
Fibra Detergente Neutro (FDN) (%) <i>Neutral Detergent Fiber (NDF) (%)</i>	9.36	17.77	84.55
Fibra Detergente Ácido (FDA) (%) <i>Acid Detergent Fiber (ADF) (%)</i>	2.75	11.57	41.37
Extrato Etéreo (EE) (%) <i>Ether Extract (EE) (%)</i>	4.14	2.17	2.06
Matéria Mineral (MM) (%) <i>Mineral matter (MM) (%)</i>	n.d	n.d	5.26
Lignina (LIG) (%) <i>Lignine (Lig) (%)</i>	n.d	n.d	11.78

1 Análises realizadas no LANA/DZO/UEM

2 Análises realizadas no LANA/CENA/USP

n.d. não determinado

1 Analyzes carried through LANA/DZO/UEM

2 Analyzes carried through LANA/DZO/UEM

n.d not determined

As dietas foram oferecidas em 3 refeições diárias, as 8, 13 e 18 horas, sendo o concentrado fracionado em partes iguais e 2/3 da quantidade do feno oferecida na última refeição (1,250kg de concentrado/refeição e 0,500kg + 0,500kg + 1,490kg/refeição).

Durante o período pré-experimental, com duração de dez dias, os animais permaneceram na Fazenda e Haras Braido, foram vermifugados com vermífugo de amplo espectro (ivermectina/0,2mg/kg de peso vivo), adaptados as dietas experimentais, permanecendo em baias individuais de alvenaria semi-abertas, com área de 25 m<sup>2</sup>, piso

de cimento sem cama, com bebedouro e comedouro de cimento. Os animais foram pesados no início e ao final deste período.

TABELA 2 - Composição percentual e química das dietas experimentais (base na MS%)

TABLE 2 – Chemical and percentual composition of the experimental diets (base in DM%)

Ingredientes (%) <i>Ingredients (%)</i>	Tratamentos <i>Treatements</i>		
	N <sub>15</sub>	N <sub>45</sub>	N <sub>75</sub>
Milho - grãos moídos <i>Corn – Worn out grains</i>	49.06	49.06	49.06
Farelo de Soja <i>Soybean meal</i>	10.94	10.94	10.94
Feno de Tifton 85 <i>Tifton 85 hay</i>	40.00	40.00	40.00
Total <i>Total</i>	100.00	100.00	100.00
Núcleo Mineral <sup>1</sup> <i>Mineral Mixture</i>	-----		
Composição analisada <sup>2</sup> <i>Analyzed composition<sup>2</sup></i>			
Matéria Seca (MS) (%) <i>Dry Matter (DM) (%)</i>	90.59	90.89	91.02
Proteína Bruta (PB) (%) <i>Crude Protein (CP) (%)</i>	11.87	11.90	11.72
Cálcio (Ca) (%) <i>Calcium (Ca) (%)</i>	0.15	0.45	0.75
Fósforo (P) (%) <i>Phosphorus (P) (%)</i>	0.23	0.23	0.23
Fibra Bruta (FB) (%) <i>Crude Fiber (CF) (%)</i>	13.73	13.58	13.67
Fibra em Detergente Neutro (FDN) (%) <i>Neutral Detergent Fiber (NDF) (%)</i>	49.72	50.97	50.95
Fibra em Detergente Ácido (FDA) (%) <i>Acid Detergent Fiber (ADF) (%)</i>	19.52	19.33	19.58
Extrato Etéreo (EE) (%) <i>Ethereal Extract (EE) (%)</i>	3.14	3.12	3.12
Matéria Mineral (MM) (%) <i>Mineral Matter (MM) (%)</i>	3.82	4.24	4.76
Composição estimada <sup>3</sup> <i>Estimated composition<sup>3</sup></i>			
Energia digestível (ED) (Mcal/Kg) <i>Digestible Energy (DE) (Mcal/Kg)</i>	2.68	2.68	2.68
Lisina (Lis) (%) <i>Lisine (Lis) (%)</i>	0.47	0.47	0.47

1 Núcleo mineral (Potensal<sup>®</sup>)

2 Análises realizadas no LANA/CENA/USP

3 Valores estimados pelo programa Super Crac Equinos

1 Mineral Mixture (Potensal)

2 Analyzes carried through LANA/DZO/UEM

3 Values estimated for the program Super Crac Equinos

Tabela 3 - Composição dos núcleos minerais (Potensal<sup>®</sup>) incorporados às dietas experimentais

TABLE 3 - Composition of the mineral mixture (Potensal) incorporated to the experimental diets

Ingredientes <i>Igredients</i>	Tratamentos <i>Treatements</i>		
	N <sub>15</sub>	N <sub>45</sub>	N <sub>75</sub>
Sulfato de cobre <sup>1</sup> <i>Copper Sulphate</i> <sup>1</sup>	61,60	61,60	61,60
Iodato de cálcio <sup>1</sup> <i>Calcium Iodate</i> <sup>1</sup>	1,25	1,25	1,25
Sulfato de manganês <sup>1</sup> <i>Manganese Sulphate</i> <sup>1</sup>	173,00	173,00	173,00
Selenito de sódio <sup>1</sup> <i>Sodium Selenite</i> <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50
Óxido de zinco <sup>1</sup> <i>Zinc Oxide</i> <sup>1</sup>	76,00	76,00	76,00
Sulfato de cobalto <sup>1</sup> <i>Cobalt Sulphate</i> <sup>1</sup>	2,50	2,50	2,50
Flor de enxofre <sup>2</sup> <i>Sulfur Flower</i> <sup>2</sup>	450,00	450,00	450,00
Óxido de magnésio <sup>2</sup> <i>Magnesium Oxide</i> <sup>2</sup>	700,00	700,00	700,00
Cloreto de sódio <sup>2</sup> <i>Sodium Chloride</i> <sup>2</sup>	2.840,00	2.840,00	2.840,00
Calcário <sup>2</sup> <i>Limestone</i> <sup>2</sup>	-----	6.500,00	13.000,00

<sup>1</sup> em miligramas

<sup>2</sup> em gramas

<sup>1</sup> in milligrams

<sup>2</sup> in grams

Durante o período experimental, com duração de sete dias, os animais permaneceram no biotério do Laboratório de Nutrição Animal/CENA, construção de alvenaria com área de aproximadamente 200m<sup>2</sup>. Foram colocados em gaiolas para estudos de metabolismo, segundo modelo adaptado de Furtado et al. (2000), onde receberam as dietas experimentais, e água para consumo à vontade.

Na sequência, foram coletadas aproximadamente 200g de fezes de cada animal para exame parasitológico (opg) e plasma, fezes e urina para análise de fósforo e cálcio inorgânico antes de injetar o elemento radioativo. Em seguida foram injetados em cada animal, através da veia jugular direita, os volumes de uma seringa, que corresponderam à cerca de 7,4 MBq de <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Após a injeção, foram colhidas amostras (10 mL) de sangue, via jugular esquerda, aos cinco minutos, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As fezes foram colhidas pela manhã diariamente, a partir de 24 horas após a

aplicação do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi colhida e armazenada em congelador para posterior análise. O mesmo procedimento das fezes foi adotado para a urina, quando foram colhidas amostras de 1% do volume total diário.

As soluções radioativas foram preparadas a partir de uma solução de fosfato de sódio com  $^{32}\text{P}$  ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ou solução de cloreto de cálcio aquoso, livre de carreador, fornecidas pelo Instituto de Pesquisas Energéticas de São Paulo (IPEN), utilizando-se solução salina estéril de Na Cl a 0,87%. A solução padrão foi elaborada, retirando-se uma alíquota de 0,5 mL da solução radioativa, colocando-a em balão de um litro, que é completado com água destilada. A seguir 100 microlitros desta solução foi transferido para frascos de contagem, adicionando-se 19 mL de água destilada e em seguida feita à leitura da radioatividade em espectômetro de cintilação líquida Tri-carb TR (PACKARD), por meio de efeito Cerenkov.

O plasma foi separado por centrifugação (3.000 rpm – 10 minutos) e após a precipitação das proteínas com ácido tricloroacético (10%) o nível de fósforo foi determinado (Fiske & Subbarow, 1925) e o de cálcio por espectrometria de absorção atômica (Zagatto *et al.*, 1979). A atividade radioativa foi medida por efeito Cerenkov segundo a International Atomic Energy Agency (IAEA, 1979), adicionando 1 mL de plasma em 19 mL de água destilada em frascos de contagem. As fezes (1 grama) foram secas (100 °C) e digeridas com ácido clorídrico para determinação do fósforo inorgânico por colorimetria empregando o método do Vanadato e Molibdato de Amônio. Para determinação da radioatividade, 1 grama de fezes foi digerido em 5 mL de ácido sulfúrico 1:1 e o volume total transferido para frascos de contagem após completar o volume para 20 mL. As amostras de urina foram digeridas à quente em ácido clorídrico e levadas a mufla. As cinzas foram diluídas em ácido clorídrico com volume ajustado em balão volumétrico de 10 mL, segundo Morse et al. (1992). O fósforo inorgânico foi determinado pelo método do Vanadato e Molibdato de amônio. Para determinar a atividade radioativa foi adicionado 1 mL de urina em 19 mL de água destilada em frasco de contagem.

Através das atividades específicas nas fezes, plasma e urina foram determinados os parâmetros de metabolismo do fósforo, segundo as equações propostas por Lofgreen & Kleiber (1953).

No 16º dia experimental, injetou-se em cada animal, através da veia jugular direita, o volume de uma seringa, que correspondeu a 30MBq de  $^{32}\text{P}$ . Após a injeção,

amostras de sangue foram coletadas através da veia jugular esquerda, usando tubos a vácuo heparinizados, aos 5 minutos e após 24; 48; 76; 96; 120 e 144 horas.

A coleta total de fezes foi realizada pela manhã, diariamente, a partir de 24 horas após a injeção do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi colhida e armazenada em congelador para posterior análise. Procedimento semelhante foi feito para a urina, diferenciando somente na alíquota utilizada, que foi de 1%.

As análises foram realizadas nos laboratórios da Seção de Ciências Animais do CENA, sendo as contagens das amostras radioativas transferidas para contagem na Seção de Ecologia do CENA.

Alíquotas de 1mL de plasma foram misturadas com 9mL de ácido tricloroacético a 10%, para precipitação das proteínas. Após 10 minutos o material foi filtrado e o teor de fósforo inorgânico determinado pelo método de Fiske & Subbarow (1925).

Para a determinação do fósforo inorgânico nas fezes, realizada por colorimetria, fez-se à digestão das cinzas com ácido clorídrico concentrado empregando o método de Vanadato e Molibdato de amônio (Sarruge & Haag, 1974).

Amostras de urina com 30mL foram digeridas a quente, em ácido clorídrico (12N), secas a 55°C em estufa e posteriormente queimadas a 500°C. As cinzas foram diluídas em ácido clorídrico (3N) com volume ajustado em balão volumétrico de 10mL, segundo Morse et al. (1992). A determinação do fósforo inorgânico foi realizado pelo método de Vanadato e Molibdato de amônio (Sarruge & Haag, 1974).

Para determinação da atividade radioativa no plasma, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000rpm (Sorvall modelo RC2B) por 10 minutos e o plasma separado. Em seguida 1mL de plasma foi transferido para frascos de contagem com 19mL de água destilada.

As fezes foram maceradas em almofariz, homogeneizadas e 1g colocado em cadinho de porcelana para determinação da matéria seca a 100°C e das cinzas a 500°C. Seguiu-se à digestão das cinzas com 5mL de ácido sulfúrico (18N) e o material digerido foi colocado em frascos de contagem para medida da radioatividade, completando-se o volume para 20mL com água destilada.

Para a determinação da radioatividade presente na urina foi adicionado 1mL de urina em 19mL de água destilada em frascos de contagem.

A radioatividade foi detectada por efeito Cerenkov, segundo as normas da International Atomic Energy Agency (IAEA, 1979). Foram feitas duplicatas de todas as amostras.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAEG (1983) e o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1 X_i + e_{ij}, \text{ onde:}$$

$Y_{ij}$  é a estimativa da resposta medida, sendo considerada, para um tratamento  $i$  e um animal  $j$  ( $i=1,2,3$ ), ( $j=1,2,3,4$ );

$b_0$  é o coeficiente linear do modelo (constante);

$b_1$  é o coeficiente das variáveis independentes  $X_i$  (tratamentos);

$X_i$  são as variáveis independentes ( $i=1,2,3$ );

$e_{ij}$  é o erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos quanto aos parâmetros relacionados ao metabolismo de P estão apresentados na Tabela 4 e serão discutidos adiante.

Os valores médios de fósforo consumido nos tratamentos  $N_{15}$ ;  $N_{45}$  e  $N_{75}$  foram, respectivamente, 66,21 ; 66.03 e 62,02 mg/KgPV/dia, valores que representaram, em média, 13,60; 13,04 e 13,46 g/dia. Não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos.

Os níveis de fósforo consumido podem ser considerados adequados. Segundo o NRC (1989) e Ott (1995), eqüinos em crescimento com idade ao redor de 12 meses e peso vivo adulto previsto de 450Kg, com moderada velocidade de crescimento, devem consumir cerca de 13g de fósforo por cabeça/dia. Pelos dados contidos na Tabela 4, os animais apresentaram retenção positiva de fósforo, demonstrando que não houve deficiência do mineral, inclusive quando considera-se os níveis crescentes de cálcio das dietas experimentais.



Tabela 4. Parâmetros associados ao metabolismo de fósforo em equinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio.

TABLE 4. Parameters associates to the phosphorus metabolism in growing horses fed diets with different calcium levels.

<b>Parâmetro\Tratamento</b> <i>Parameter\Treatment</i>	<b>N<sub>15</sub></b>	<b>N<sub>45</sub></b>	<b>N<sub>75</sub></b>	<b>Média</b> <i>Average</i>	<b>Efeitos principais</b> <i>Principal effects</i>	<b>C.V. (%)*</b>
P consumido (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>P Intake (mg/kgPV)</i>	66,21	66,03	62,02	64,75	NS	27,59
P plasmático (mg/dl) <sup>1</sup> <i>P Plasmatic (mg/dl)</i>	5,06	4,98	4,60	4,88	NS	22,69
P urina (mg/kgPV) <sup>2</sup> <i>P Urine (mg/kgPV)</i>	11,34	0,44	1,34	4,37	Y=12,02-0,17x r <sup>2</sup> =0,68	111,32
P fezes (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>P Feces (mg/kgPV)</i>	24,73	22,93	22,24	23,30	NS	41,99
P endógeno (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>P Endogenous (mg/kgPV)</i>	18,02	11,76	14,96	14,91	NS	58,19
P absorvido (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>P Absorbed (mg/kgPV)</i>	59,40	54,85	54,73	56,33	NS	30,07
Disponibilidade Biológica (%) <sup>1</sup> <i>Biological Availability (%)</i>	89,26	81,99	88,87	86,71	NS	6,91
P retido (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>P Retention (mg/kgPV)</i>	30,04	42,66	38,44	37,04	NS	44,38
Peso vivo (Kg) <sup>1</sup> <i>Body Weight (Kg)</i>	223,47	218,26	221,28	221,00	NS	32,08

<sup>1</sup> Médias não diferem significativamente (P>0,05)

<sup>2</sup> Médias diferem significativamente (P<0,05)

\* Coeficiente de variação

<sup>1</sup>No effects were noticed on the diets (P>0,05)

<sup>2</sup>Effects were noticed on the diets (P<0,05)

\*Coefficient of variation

A concentração de fósforo no plasma foi de 5,06; 4,98 e 4,60 mg/dL, respectivamente para os tratamentos N<sub>15</sub>; N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>, não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

Considerando-se a concentração plasmática de fósforo, podemos afirmar que o nível de fósforo nas dietas foi eficiente em manter valores adequados (acima de 3,2mg/dL) do elemento no sangue (Teeter et al., 1967; Schryver et al., 1971; Argenzio et al., 1973; Hintz & Schryver, 1972 e Schryver et al., 1987). McDowell (1992) considera que os limites normais de fósforo plasmático podem variar de 4,0 a 9,0 mg/dL. Entretanto, é importante salientar a dificuldade em avaliar-se o *status* de fósforo no organismo animal mediante a análise isolada do nível plasmático do elemento, pois este parâmetro pode sofrer influência de inúmeros fatores.

Furtado et al. (2000a) avaliaram o uso de diferentes fontes inorgânicas fosfatadas. Os valores obtidos de fósforo no plasma para as fontes: fosfato de rocha de Tapira e de

Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos não apresentaram diferenças significativas e foram, respectivamente, 4,69; 5,46; 4,93 e 4,85 mg/100 mL. Mesmo ao avaliar diferentes níveis de fósforo total, variando de 0,08 a 9,56% num segundo experimento, os autores não encontraram diferenças nos níveis de fósforo obtidos no plasma, que apresentaram média de 4,69; 5,46; 4,93 e 4,89mg/100mL, respectivamente para fosfato de rocha de Tapira e de Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos, não havendo diferença significativa entre os tratamentos, apesar do fosfato de rocha de Tapira ter apresentado menor valor de fósforo plasmático. Com relação aos níveis plasmáticos de fósforo, concluem os autores que todas as fontes fosfatadas no referido estudo se mostraram eficientes em manter níveis adequados (acima de 3,2mg/100mL) do elemento no sangue.

Estudos com eqüinos (pôneis e cavalos) utilizando níveis de fósforo na dieta variando de 0,30 a 0,70% obtiveram valores de fósforo plasmáticos em média de 4,50mg/100mL, valor este muito próximo aos obtidos no presente trabalho usando semelhante nível de fósforo na dieta (Teeter et al., 1967; Schryver et al., 1987; Argenzio et al., 1973; Hintz & Schryver, 1973 e Schryver et al., 1987). De uma forma mais ampla, McDowell (1992) considera como limites normais de fósforo plasmático variação de 4,0 a 9,0mg/100mL.

Estes estudos ratificam a afirmação anterior no sentido de que no presente trabalho os níveis de fósforo consumido foram adequados, contribuindo para que os valores obtidos de fósforo plasmáticos se apresentassem dentro de valores normais.

Schryver et al., 1971; Argenzio et al., 1973 relatam que excessiva ingestão de fósforo resulta, além do aumento na absorção intestinal de fósforo, em aumento na concentração plasmática do elemento.

No presente experimento, os níveis plasmáticos de P mantiveram-se dentro dos valores normais e não foram afetados pelos níveis crescentes de Ca nas dietas. Entretanto, os valores numéricos para P plasmático diminuíram ligeiramente com o aumento nos níveis de cálcio consumido, fato este que pode estar relacionado mais com ligeira diminuição no consumo de fósforo para o Tratamento N<sub>75</sub>. Furtado et al. (2000b) relataram em eqüinos, recebendo níveis crescentes de fósforo, tendência de ligeiro aumento nos valores plasmáticos do elemento com incremento na ingestão de fósforo. Estudos com pôneis relataram que a concentração plasmática de fósforo pode ser afetada por altos níveis de fósforo consumido (200mg/KgPV/dia), atingindo valores de até 9,8mg/dL. (Schryver et al., 1971; Argenzio et al., 1973). Entretanto deve-se ressaltar

que os valores de fósforo consumido do presente experimento foram bem inferiores aos dos trabalhos acima citados.

Em ruminantes, Braithwaite (1985) e Challa & Braithwaite (1988) relataram que ocorre uma relação linear positiva entre fósforo consumido e fósforo plasmático. Por outro lado, outros estudos, como os de Braithwaite (1984) e Morse et al (1992), indicam, de forma geral, não haver boa relação entre estes dois parâmetros, pois a homeostase do fósforo é mantida através de mecanismos ajustados à condição fisiológica em que o animal se encontra.

Como o fósforo plasmático pode sofrer ação de inúmeros fatores e, portanto, apresentar grande variação, é difícil avaliar o *status* de fósforo no animal utilizando apenas este parâmetro.

Os valores obtidos para fósforo excretado na urina foram 11,34; 0,44 e 1,34 mg/KgPV/dia para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> respectivamente. Verificou-se uma regressão linear entre níveis de cálcio na dieta e fósforo total na urina, expressa pela equação  $y=12,02-0,17x$   $r^2=0,68$  e ilustrada na FIGURA 1.

A literatura mostra-se pouco definida quanto aos níveis de excreção renal de fósforo em monogástricos. Estudos de Schryver et al. (1971), Brobst et al. (1978), Elfers et al. (1978), Kolb (1979) e Fernández (1995a), indicam que nos equinos a excreção renal de fósforo não é principal via de excreção de fósforo, entretanto, cavalos e suínos podem excretar grandes quantidades de fósforo via urina quando a ingestão de fósforo for alta, o que leva os rins a terem importante função na manutenção da homeostase do fósforo.

Neste sentido, Schryver et al. (1971) e Argenzio et al. (1973), utilizando dietas com altos níveis de fósforo consumido ( $\cong 200$ mg/KgPV/dia) relataram que a excreção renal de fósforo atingiu valores entre 20 e 30% do fósforo consumido, indicando que a elevação na excreção urinária indicou ajuste renal na eliminação do fósforo. Capen & Rosol (1989) e Cunha (1991) também demonstraram que o excesso de fósforo consumido resulta em maior excreção urinária do elemento.

Por outro lado, Schryver et al. (1971), Hintz & Schryver (1973), Schryver et al. (1986), Cymbaluck & Christensen (1986) e Meyer et al. (1989) relataram que em equinos com níveis baixos de ingestão de fósforo, variando de 30,0 a 60,0mg/KgPV/dia, a excreção renal de fósforo correspondeu a aproximadamente 3,0% do fósforo consumido, sendo que em alguns casos não houve detecção de fósforo excretado na

urina. Estes autores concluíram que as fezes foram a principal rota de perda do elemento.

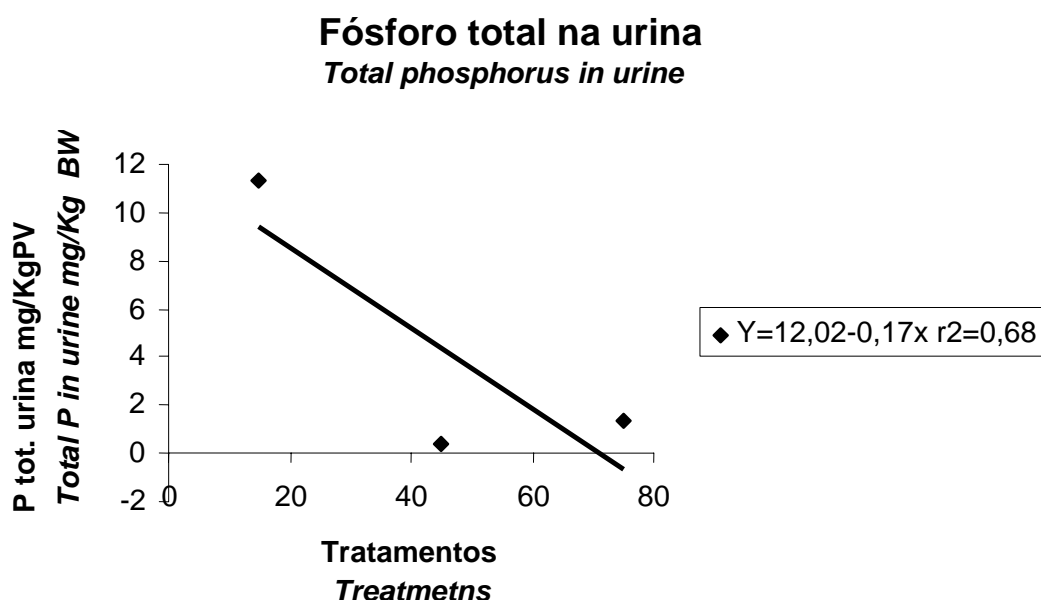


FIGURA 1: Níveis de cálcio na dieta e fósforo total na urina.

*Figure 1: Levels of calcium in the diet and total phosphorus in urine.*

Meyer & Staderman (1990) obtiveram correlação muito baixa para fósforo excretado na urina e fósforo consumido para equinos.

Furtado et al. (2000a) obtiveram valores para fósforo excretado na urina de equinos em crescimento e alimentados com diferentes combinações de alimentos energéticos e protéicos e diferentes fontes inorgânicas fosfatadas variando entre 0,11 e 2,76 mg/KgPV/dia, correspondendo, em média a 1,5% do fósforo consumido. Os autores consideram que, possivelmente, o nível protéico relativamente baixo das dietas (média de 7,96% PB) tenha contribuído para a baixa excreção de urinária de fósforo, o que concorda com Meyer et al. (1989) e Glade et al. (1985) que demonstraram ocorrer diminuição na excreção renal de fósforo em dietas com níveis protéicos não muito elevados.

Em recente estudo, realizado com pôneis consumindo três diferentes níveis de cálcio (147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia) e nível de médio de fósforo de 125,43 mg/KgPV/dia, van Doorn et al. (2004) observaram que a excreção renal de fósforo foi

significativamente menor nas dietas com níveis mais elevados de cálcio, com valores médios de 8,1; 2,37 e 1,11 mg/KgPV/dia, respectivamente. Neste sentido, estes resultados concordam com os obtidos no presente trabalho, embora os referidos autores não tenham oferecido nenhuma explicação para a menor excreção urinária de fósforo verificada nos animais que ingeriram maiores quantidades de cálcio.

No presente estudo, o metabolismo do P foi influenciado significativamente onde o tratamento com menor relação Ca:P (N<sub>15</sub>) apresentou maior valor de excreção de P na urina. Este fato pode sugerir que a relação Ca:P da dieta pode ser fator importante na manutenção da homeostasia do elemento, ou seja, a baixa relação Ca:P pode ter levado os animais a apresentarem uma hiperfosfatemia, que por sua vez acarreta diminuições nas concentrações plasmáticas de Ca e conseqüente aumento na atividade do PTH, que por sua vez aumentaria a excreção renal de P (Breves& Schröder, 1991).

Embora a excreção urinária de P tenha sido afetada pelos níveis de Ca das dietas, a quantidade de P excretada foi baixa (de 0,17 a 17,11% do P consumido) em todos os tratamentos, indicando que esta rota de excreção de P não é a mais importante para manter a homeostasia do elemento nos eqüinos, em especial quando os níveis de consumo são baixos.

As médias encontradas para o fósforo total excretado nas fezes foram 24,73; 22,93 e 22,24 mg/KgPV/dia, respectivamente, para os tratamentos N<sub>15</sub>; N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>. A excreção de P nas fezes não foi alterada pelos níveis de cálcio, não havendo diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os mesmos. No presente trabalho o fósforo excretado nas fezes correspondeu, em média, a 35,97% do fósforo consumido. Estes valores são mais baixos dos encontrados por Furtado et al. (2000a) e Oliveira (1999) que, trabalhando com eqüinos em crescimento, obtiveram, respectivamente, valores médios de 78,17 mg/KgPV/dia e 58,45 mg/KgPV/dia com médias percentuais de 79,8 e 59,57% de fósforo excretado nas fezes em relação ao fósforo consumido. Em contrapartida, o fósforo absorvido apresentou, neste trabalho, médias de 59,40; 54,85 e 54,73 mg/KgPV/dia para os tratamentos N<sub>15</sub>; N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>, valores mais altos que os encontrados pelos já citados autores que obtiveram médias de 24,70 mg/KgPV/dia e 48,49 mg/KgPV/dia.

Furtado et al. (2000a e b), utilizando eqüinos em crescimento, recebendo diferentes fontes e níveis de fósforo na dieta, obtiveram uma relação linear positiva entre fósforo total excretado nas fezes e fósforo consumido, sendo que o fósforo total excretado nas fezes correspondeu em média a 73,7% do fósforo consumido.

Trabalhando com pôneis adultos, alimentados com dietas com três diferentes níveis de cálcio (baixo; intermediário e alto) que promoveram, respectivamente, a ingestão de 147, 9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia de cálcio e nível padrão de fósforo (média de 125,43 mg/KgPV/dia), van Doorn et al. (2004) obtiveram valores de fósforo nas fezes de 98,6 mg/KgPV/dia para tratamento com baixo nível de cálcio e 108,4 e 108,0 mg/KgPV/dia, respectivamente, para os tratamentos com níveis médio e alto. Estes autores relataram ainda que a excreção de fósforo nas fezes foi significativamente menor para o tratamento com nível baixo de cálcio. No presente experimento, não foram observadas diferenças significativas neste parâmetro para as diferentes dietas e os valores de fósforo nas fezes mostraram-se mais baixos. Entretanto, vale ressaltar que o citado estudo foi realizado com animais adultos, de outra raça, alimentados com dietas formuladas com diferentes ingredientes e níveis de cálcio e fósforo muito superiores aos utilizados no presente trabalho, além de utilizar outra metodologia para os cálculos do metabolismo do fósforo.

Considerando-se que a principal via de eliminação do fósforo é a excreção fecal (Hintz & Schryver, 1972; Schryver et al., 1971; McDowell, 1992 e Furtado et al., 2000ab, van Doorn et al., 2004), os valores relativamente baixos encontrados no presente trabalho podem ser explicados pela elevada absorção do elemento.

Os valores médios de perda endógena fecal para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> foram, respectivamente, 18,02; 11,76 e 14,96 mg/KgPV/dia. Não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). A perda endógena fecal média do presente experimento representou cerca de 63,99% do fósforo total excretado nas fezes.

Furtado et al.(2000a) relataram valores médios de 10,34 mg/KgPV/dia e 27,9% do fósforo total excretado nas fezes. Oliveira (1999) obteve valores médios de 8,42 mg/KgPV/dia e 14,55% do fósforo total excretado nas fezes. Cymbaluck et al. (1989), utilizando potros em crescimento e nível de fósforo consumido de 160 mg/KgPV/dia, obtiveram valor de fósforo endógeno fecal de 17,9 mg/KgPV/dia, o que representou 15,6% do fósforo total excretado. A diferença percentual da perda endógena em relação ao fósforo total excretado deste trabalho pode ser explicada pela relativa alta absorção e baixa excreção comparativamente aos trabalhos citados. Schryver et al. (1971) e Furtado et al.(2000b) relataram que, em pôneis e potros em crescimento, a perda endógena fecal não relaciona-se com o aumento de fósforo consumido. Por outro lado, estudos com ruminantes, utilizando radioisótopos, avaliando o fosfato bicálcico como fonte de fósforo, com níveis de fósforo consumido variando de 63,9 a 150

mg/KgPV/dia, apresentaram valores de fósforo endógeno fecal de 39,9 a 54,4 mg/KgPV/dia, correspondendo a aproximadamente 50,0% do fósforo total excretado nas fezes (Lopes et al., 1990; Vitti et al.; Vitti et al., 1992a e b).

No presente estudo, a perda endógena fecal de P não foi afetada pelos níveis de cálcio nas dietas, com valores entre 11,75 e 18,01 mg/KgPV/dia, próximos ao relatado pelo NRC (1989) que é de 10 mg/KgPV/dia.

Os níveis de Cálcio não afetaram ( $p>0.05$ ) a absorção de fósforo, que apresentou valores médios de 59,40; 54,85 e 54,73 mg/KgPV/dia para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub>, respectivamente. Estes valores são mais elevados que os encontrados por Furtado et al. (2000a) e Oliveira (1999) que, trabalhando com equínos em crescimento, obtiveram médias de 24,70 mg/KgPV/dia e 48,49 mg/KgPV/dia, respectivamente.

Furtado et al. (2000b), trabalhando com potros em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de fósforo, obteve uma relação linear positiva entre o fósforo consumido e o fósforo absorvido, embora não tenha observado efeito significativo na eficiência de absorção (disponibilidade biológica).

A dependência entre nível de ingestão e absorção de fósforo foi também observada em experimentos com equínos realizados por Schryver et al. (1971), usando níveis crescentes de fósforo (43 a 200mgP/KgPV/dia), obtiveram aumentos na absorção do elemento (17 a 92mg/Kg) e relataram, entretanto, não ter ocorrido influência na eficiência de absorção do fósforo.

Cymbaluck et al. (1989) e Kichura (1983), utilizando também potros em crescimento, relataram que o aumento de fósforo consumido relaciona-se diretamente com valores de fósforo absorvido e que a idade dos animais interfere negativamente na absorção de fósforo.

Os altos valores de fósforo absorvido no presente experimento podem ser explicados, possivelmente, pela pouca idade dos animais utilizados e, provavelmente, pela carência do elemento que os mesmos encontravam-se antes do início do trabalho.

A disponibilidade biológica de fósforo mostrou-se alta para todos os tratamentos e não foi influenciada pelos níveis de Cálcio nas dietas ( $p>0.05$ ). Os valores percentuais médios encontrados para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> foram 89,26%; 81,99% e 88,87%, respectivamente. Estes valores estão acima das estimativas do NRC (1989), que indicam coeficientes de absorção real de fósforo variando de 30 a 50%, dependendo da idade, fonte de fósforo e níveis do elemento na dieta.

Apesar de não terem avaliado a absorção real (biodisponibilidade) de fósforo, e sim a digestibilidade aparente do elemento, os relatos de Lieb & Baker (1975) e van Doorn et al. (2004) sugerem um efeito negativo na digestibilidade aparente do fósforo quando equínos são alimentados com dietas contendo elevados níveis de cálcio. Entretanto, estes autores colocam que este efeito parece estar associado à idade dos animais, sendo mais expressivo em animais adultos que em animais jovens.

Trabalhando com pôneis adultos ingerindo níveis de 147,9 (baixo); 315,6 (intermediário) e 535,2 (alto) mg/Kg PV/dia de cálcio e nível padrão de fósforo (média de 125,43 mg/Kg PV/dia), van Doorn et al. (2004) observaram diferença significativa entre o nível baixo e os níveis médio e alto de cálcio na digestibilidade aparente do fósforo, com valores percentuais de 24,8; 10,8 e 13,3%, respectivamente. Os autores sugerem duas explicações possíveis para este efeito inibitório de altos níveis de cálcio ingerido na digestibilidade aparente do fósforo: a formação de fosfato de cálcio insolúvel, e, portanto, não absorvível, no trato intestinal (provocada pela adição de cálcio na dieta) e pela ação de mecanismos reguladores de Ca e P no organismo. Vale ressaltar que estes autores trabalharam com níveis de cálcio bem mais elevados dos que os utilizados no presente trabalho.

Schryver et al. (1971); Hintz & Schryver (1972) e Hintz et al. (1973), trabalhando com pôneis e fosfatos orgânicos apresentaram valores de disponibilidade biológica da ordem de 47,1%. Por outro lado Cymbaluck et al. (1989), utilizando potros em crescimento com idade aproximada de 17 meses, obtiveram valores de absorção real de cerca de 26,1%, entretanto, os animais apresentaram baixos valores de fósforo absorvido em relação ao fósforo consumido.

Comparando-se os resultados deste experimento com Furtado et al. (2000a e b) e Oliveira (1999) que, trabalhando com equínos em crescimento e dietas com diferentes níveis de fósforo, obtiveram, respectivamente, valores médios de disponibilidade biológica de 47,06% e 48,78%, verificamos que os mesmos apresentam-se mais elevados. Isto pode ser explicado pelos maiores valores percentuais de fósforo absorvido em relação ao fósforo consumido do presente experimento.

No já referido trabalho, Oliveira (1999), trabalhando com potros em crescimento alimentados com quatro diferentes dietas, constituídas por feno de coast cross acrescidas de diferentes concentrados: milho, aveia, farelo de algodão, farelo de soja e levedura de cana-de-açúcar, sem o uso de fontes minerais fosfatadas, observou que, para todos os tratamentos, os animais permaneceram em balanço positivo de fósforo. Conclui



a autora que os resultados sugerem que os equinos dispõem de recursos digestivos próprios e suficientes para o aproveitamento do fósforo disponível nos alimentos na forma de fitato.

Estudando a digestibilidade aparente do fósforo fítico e a influência da suplementação com fitase em cavalos, van Doorn et al. (2004) não observaram diferenças significativas na digestibilidade aparente de dietas com fonte normal de fósforo (fosfato monocálcico), com fontes de fósforo fítico (farelo de trigo e farelo de arroz) e com fontes de fósforo fítico suplementada com fitase, com valores de digestibilidade aparente do fósforo de, respectivamente, 15,2; 11,1 e 13,2% do total ingerido. Concluem os autores que o fósforo fítico nos alimentos é parcialmente disponível para os cavalos e que a suplementação com fitase parece ter maior influência na digestibilidade do cálcio que na digestibilidade do fósforo.

No presente trabalho, a disponibilidade biológica do P mostrou-se alta para todos os tratamentos e não foi influenciada pelos níveis de Ca nas dietas. Considerando que todo P consumido provinha dos ingredientes das dietas (fósforo fítico), os valores obtidos para disponibilidade biológica indicam que os equinos são hábeis em aproveitar o P na forma de fitato contido nos grãos e fenos de gramíneas em quantidades muito superiores às relatadas pela literatura encontrada até o presente momento.

Os valores médios de fósforo retido para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> foram, respectivamente, 30,04; 42,66 e 38,44 mg/KgPV/dia. Não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), sendo que os níveis de cálcio não afetaram ( $p > 0,05$ ) a retenção de fósforo.

Os valores obtidos de fósforo retido indicam que para todos os tratamentos os animais permaneceram em balanço positivo de fósforo.

A relação entre fósforo retido e fósforo consumido, no presente trabalho apresentou valor alto, de 66,18%, superior ao encontrado em diversas pesquisas utilizando equinos e a metodologia com radioisótopos. Os valores de fósforo retido/fósforo consumido em trabalho realizado por Furtado et al. (2000a) foram de 14,2; 22,2; 20,9 e 16,9% respectivamente, para fosfato de rocha de Tapira e de Patos de Minas, fosfato bicálcico e farinha de ossos.

Oliveira (1999), obteve valores variando de 25,20 a 47,43 mg/KgPV/dia, correspondendo a 26,3 a 41,9% de fósforo retido/fósforo consumido em diferentes dietas para equinos em crescimento.

Segundo Schryver et al (1971), a retenção de fósforo em pôneis foi dependente do nível de fósforo consumido. Para consumos intermediários de 108 mg/KgPV, a retenção foi de 19,0 mg/KgPV/dia. Já para consumos maiores de fósforo (200 mg/KgPV/dia), com os mesmos animais, a retenção aumentou para 42 mg/KgPV/dia. Estes resultados concordam com os resultados obtidos por Furtado et al (2000b), que estudando efeitos de diferentes níveis de fósforo no metabolismo que eqüinos em crescimento, verificaram uma regressão linear entre fósforo consumido e fósforo retido, com valores variando de 4,78 a 18,76 mg/KgPV/dia, com níveis de fósforo consumido variando entre 33,34 e 77,86 mg/KgPV/dia.

Autores como Hintz & Schryver (1973), Schryver et al (1986) e Cymbaluck & Christensen (1986) obtiveram valores de fósforo retido variando de 1,83 a 7,1mg/KgPV/dia, portanto, inferiores aos obtidos no presente trabalho, porém utilizando níveis de fósforo consumido entre 30,0 a 44,1mg/KgPV/dia.

Para níveis de fósforo consumido mais elevado (103,3 e 200,0mg/Kg/dia) pôneis apresentaram maior retenção de fósforo (37,3 e 66,9mg/KgPV/dia) (Hintz et al, 1971; Argenzio et al, 1973).

Estudando a influência do cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo em pôneis adultos, ingerindo dietas com três níveis de cálcio (baixo; intermediário e alto) que proporcionaram a ingestão de, respectivamente, 147,9; 315,6 e 535,2 mg/KgPV/dia de cálcio e nível padrão de fósforo (125,43 mg/KgPV/dia), van Doorn et al. (2004) relataram valores de fósforo retido de 25,8; 10,8 e 13,3 mg/KgPV/dia, respectivamente, para os tratamentos com níveis de cálcio baixo, intermediário e alto. Os autores ainda observaram que a retenção de fósforo foi significativamente menor para as dietas com níveis intermediário e alto de cálcio em relação à dieta com nível baixo de cálcio, ao contrário do que ocorreu no presente experimento, apesar de menores níveis de cálcio consumido.

Em suínos, Fernández (1995) obteve valor de fósforo retido/fósforo ingerido de 50,6% para consumo de fósforo de 375 mg/KgPV/dia, enquanto que Louvandini (1995), em trabalho com radioisótopo ( $^{32}\text{P}$ ) em ovinos, obteve valores de fósforo retido/fósforo consumido variando de 23,51 a 40,9%, para consumos de fósforo da ordem de 92,6 a 114,0 mg/KgPV/dia.

Bellaver et al (1983), em experimento com radioisótopos, utilizando suínos observaram que a relação fósforo retido/fósforo absorvido correspondeu a 96,52%.

A TABELA 4 demonstra que no presente experimento obteve-se uma eficiência média de absorção real (disponibilidade biológica) de fósforo de 86,70%, e perda endógena fecal média de 14,90 mg/KgPV/dia. Assim sendo, um potro em crescimento, nas mesmas condições experimentais, necessitaria de 17,19 mg/KgPV/dia de fósforo para manter o balanço da perda metabólica fecal do elemento.

Este valor se aproxima com os relatados por Schryver et al (1971), em pesquisa clássica e única sobre o assunto, usando radioisótopos e pôneis, obtiveram valores de 9,33 mg/KgPV/dia para perda endógena fecal e 44,0% para coeficiente de absorção de fósforo, e estimaram que os animais necessitariam de 21,20 mg/KgPV/dia para balancear a perda endógena fecal de fósforo.

Os valores obtidos no presente trabalho para os requerimentos mínimos (manutenção) de fósforo estão ligeiramente inferiores aos de outros autores, como Wolter (1977) e Frappe (1992), que relataram que as exigências dos equinos em fósforo para balancear a perda endógena fecal deve ser de 2,1 a 2,5g/100KgPV/dia. Segundo o NRC (1989), os requerimentos de manutenção situam-se ao nível de 22,2 mgP/KgPV/dia. Furtado (2000a e b) e Oliveira (1999) estimaram exigências diárias de manutenção em 22,2 e 21,96 mg/KgPV/dia, respectivamente.

Segundo Underwood (1981), os cálculos das exigências nutricionais de fósforo para pôneis devem ser baseados na composição do mineral em relação ao ganho de peso diário, na perda endógena fecal do elemento e na sua disponibilidade biológica. Schryver et al (1974a e b) estimaram que equinos em crescimento requerem cerca de 8g de fósforo por quilo de ganho de peso vivo.

As necessidades de fósforo para o crescimento são a somatória das necessidades de manutenção e a deposição de novos tecidos, os quais estão diretamente relacionados com a taxa de crescimento (Ott, 1995 e NRC, 1989).

Nas condições do presente trabalho, as exigências de fósforo para potros em crescimento com peso vivo médio de 221,0Kg podem ser calculadas considerando: deposição de 8g de P/Kg ganho de peso; 0,68Kg de ganho de peso e eficiência de absorção de 86,70% ( $8g \times 0,68Kg / 0,867\%$ ) = 6,27g, em adição ao requerimento para manutenção (221,0Kg x 17,19mg) = 3,80g, totalizando um requerimento de 10,07g de fósforo por dia. Este valor, obtido no presente trabalho, é inferior ao previsto pelo NRC (1989) e por Ott (1995), que é de 13g de P/cabeça/dia.

Furtado et al. (2000a), trabalhando com potros de 19 meses de idade, da raça Brasileiro de Hipismo, obteve um requerimento de 14,75g de P/dia, inferior à recomendação do NRC (1989), que é de 16g de P/dia.

Os resultados obtidos no presente experimento sugerem que as exigências de P para raças nacionais podem ser menores que as preconizadas pelo NRC (1989), ou outras tabelas internacionais de normas de requerimentos nutricionais para eqüinos.

A FIGURA 2 ilustra os parâmetros relacionados ao metabolismo de fósforo, permitindo melhor visualização do comportamento deste elemento mineral no organismo animal.

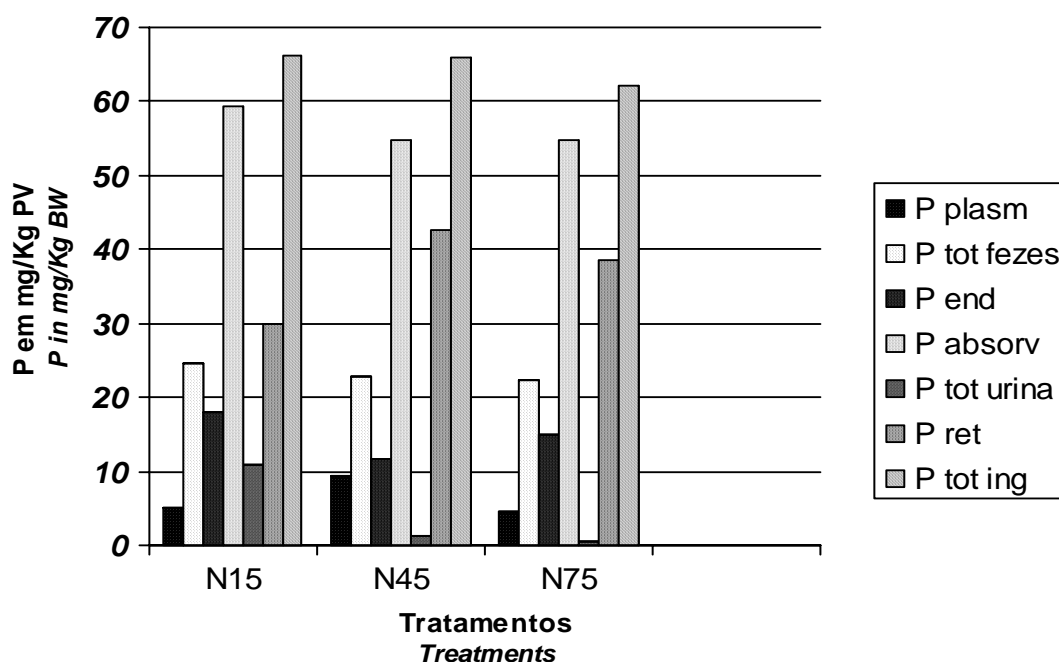


FIGURA 2 - Parâmetros relacionados ao metabolismo de fósforo

FIGURE 2 - Parameters related to the phosphorus metabolism

No presente trabalho todos os animais terminaram o experimento, não havendo, aparentemente, efeitos prejudiciais (distúrbios do trato digestório ou problemas de palatabilidade) pelo consumo das dietas experimentais. O exame parasitológico de fezes indicou o.p.g. igual a zero para todos os animais, bem como todos os animais mostraram-se em boas condições de saúde. Os animais mostraram-se adaptados ao confinamento total em gaiola de metabolismo, permanecendo em pé e sem sair do equipamento durante todo o período de coleta, sem contudo ter havido a ocorrência de edemas graves nos membros.

## CONCLUSÕES

Os níveis de fósforo consumido (média de 13,37g/animal/dia ou 64,75 mg/Kg PV/dia) foram satisfatórios, de acordo com as normas de recomendação nutricional para a categoria do NRC (1989) e Ott(1995).

Os níveis de fósforo das dietas em estudo mostraram-se eficientes em manter concentrações adequadas do elemento no sangue.

Os parâmetros de fósforo plasmático, fósforo consumido, fósforo total excretado nas fezes, fósforo endógeno nas fezes, fósforo absorvido, fósforo retido e disponibilidade biológica do fósforo não foram afetados pelos níveis de cálcio das dietas.

Os níveis de fósforo excretado na urina foram dependentes do nível de ingestão de cálcio.

O fósforo total excretado nas fezes correspondeu, em média, a 35,97% do fósforo total ingerido, o que sugere que, levando-se em conta a elevada retenção do elemento, a eliminação do fósforo é, na sua maioria, através das fezes.

Os resultados obtidos no presente experimento sugerem que as exigências de P (10,07g.de fósforo/animal/dia) para raças nacionais podem ser menores (aproximadamente de 23%) que as preconizadas pelo NRC (1989), ou outras tabelas internacionais de normas de requerimentos nutricionais para eqüinos.

Considerando que todo P consumido provinha dos ingredientes das dietas (fósforo fítico), os valores obtidos para disponibilidade biológica indicam que os eqüinos são hábeis em aproveitar o P na forma de fitato contido nos grãos e fenos de gramíneas.

**LITERATURA CITADA**

ARGENZIO, R. A .; LOWE, J.E.; HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Calcium and phosphorus homeostasis in horse. **Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p. 18-24, 1973.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington: AOAC, 1980. 1018 p.

BLANEY, B.J.; GARTNER, R.J.W.; MCKENSIE, B.A. The effect of oxalate in some tropical grasses on the availability to horses of calcium, phosphorus and magnesium. **Journal of Agricultural Science**, v.97, n.3, p.507-514, 1981.

BRAITHWAITE, G.D. Some observations of phosphorus homeostasis and requirements of sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.102, p.295-306, 1984.

BRAITHWAITE, G.D. Endogenous fecal loss of phosphorus in growing lambs and the calculation of phosphorus requirements. **Journal of Agricultural Sciences**, v.105, n.1, p.67-72, 1985.

BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research Reviews**, v.4, p.1 25-140, 1991.

BROBST, D.F., LEE, H.A., SPENCER, G.R. Hypercalcemia and hypophosphatemia in a mare with renal insufficiency. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.173, n.10, p.1370-1372, 1978.

CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D. Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis. 1. Studies of the effects of changes in the dietary intake on P and Ca metabolism. **Journal of Agricultural Science**, v.110, n.3, p. 573-581, 1988.

CYMBALUCK, N.F. Cold housing effects on growth and nutrient demand of young horses. **Journal of Animal Science**, v.68, n.11, p.3152-3162, 1990.

- CYMBALUCK, N.F., CHRISTENSEN, D.A. Nutrient utilization of pelleted and unpelleted forages by ponies. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, n.2, p.237-244, 1986.
- CYMBALUCK, N.F., CHRISTISON, G.L., LEACH, D.H. Nutrient utilization by limit and ad libidum fed growing horses. **Journal of Animal Science**, v. 67, n.2, p.414-425, 1989.
- CUPÁK, M; PROCHAZKA, Z.; JAMBOR, V. Utilization of phosphorus compounds in pigs after endogenous phosphorus determination by means of <sup>32</sup>P. **Acta Veterinaria Brno**, v.41, p.257-262, 1972
- FERNANDEZ, J.A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs. III. A model resolution. **Livestock Production Science**, v.41, n.1, p.255-2261, 1995.
- FISKE, C.H.; SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v.66, n.2, p.375-400, 1925.
- FRAPE, D. **Nutrición y Alimentación del Caballo**. Zaragoza: Acribia S.A., 1992. 404 p.
- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Gaiola de metabolismo para eqüinos. **Acta Scientiarum**. v.22, n.3, p.813-816, 2000.
- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Disponibilidade biológica do fósforo de diferentes fontes para eqüinos em crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.5, p.1011-1016, 2000a.
- FURTADO C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Perda endógena e absorção real de fósforo em dietas para eqüinos em crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.5, p.1023-1028, 2000b.
- GLADE, M.J. et al. Dietary protein in excess of requeriments inhibits renal calcium and phosphorus reabsortion in young horses. **Nutrition Reports International**, v.31, n.3, p.649-659, 1985.
- GLADE, M.J.; LUBA, N.K.; SCHRYVER, H.F. Effects on age, diet development of mechanical strenght by the third metacarpal and metatarsal bones in young horses. **Journal Animal Science**, v.63, n.10, p.1432-1444, 1986.

- GODFREY, S.L.; SHREWBURY, C.L. Determination of fluorine in minerals and bones. **Association of Agricultural Chemistry**, Washington, v.28, p.437-443, 1945.
- HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F.; LOWE, J.E. Comparison of a blend of milk products and linseed meal as protein supplements for young growing horses. **Journal of Animal Science**, v.33, n.6, p.1274-1277, 1971.
- HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Availability of ponies of calcium and phosphorus from various supplements. **Journal of Animal Science**, v.34, n.4, p.979-980, 1972.
- HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Potassium metabolism in ponies. **Journal of Animal Science**, v.42, n.3, p.637-643, 1976.
- HINTZ, H.F. et al. Oxalic acid content of alfalfa hays and its influence on availability of calcium, phosphorus and magnesium to ponies. **Journal of Animal Science**, v.58, n.4, p.939-942, 1984.
- HINTZ, H.F.; WILLIAMS, A.J.; ROGOFF, J.; SCHRYVER, H.F. Availability of phosphorus wheat bran when fed to ponies. **Journal of Animal Science**, v.36, n.2, p.522-525, 1973.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Laboratory training manual on the use of nuclear techniques in animal research**. Vienna: IAEA, 1979. 299p. (Technical Report Series, 193).
- KICHURA, T.S., HINTZ, H.F., SCHRYVER, H.F. Factors influencing endogenous phosphorus losses in ponies. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 8, 1983, Lexington. **Proceedings...**p.2-6.
- LIEB, S., BAKER, J.P. Effect of high calcium intake on phosphorus metabolism. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 4, 1975. Pomona. **Proceedings...**p.60.
- LOFGREEN, G.P.; KLEIBER, M. The availability of the phosphorus in alfalfa hay. **Journal of Animal Science**, v.12, n.2, p.366-371, 1953.
- McDOWELL, L.R. **Mineral in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.



- McKENISIE, R.A.; BLANEY, B.J.; GARTNER, R.J.W. The effect of dietary oxalate on calcium, phosphorus and magnesium balances in horses. **Journal of Agricultural Science**, v.97, n.1, p.69-74, 1981.
- MEYER, H. **Alimentação de Cavalos**. São Paulo : Varela, 1995. 302 p.
- MEYER, H.; STARDERMAN, B. Use of urine analysis to estimate mineral supply of horses. **Advances in Animal Physiology and Animal Nutrition**. N.21, p.86-97, 1990.
- MEYER, H.; HEINLEMANN, M.; PEREZ, H.; GOMDA, Y. Investigations on the postprandial renal Ca, P e Mg excretion in resting and exercised horses. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 11., 1989, Stilwater. **Proceedings...**Stilwater: Equine Nutrition and Physiology Society, 1989. p.133-138.
- MORSE, D. et al. Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p. 3039-3949, 1992.
- MUNDY, G.W. Nutrient requirements for the growing horse. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 37, 1993, San Antonio, **Proceedings...**p.49-54.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Requirements of Domestic Animals. **Nutrient Requirements of Horses**. 5. ed. Washington: National Acad. Sciences, 1989, 100p.
- OLIVEIRA, A.A.M.A. **Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo em diferentes dietas para potros em crescimento**. Jaboticabal, SP: UNESP, 123p. 1999. Dissertação (Doutorado em Zootecnia)-UNESP, 1999.
- OTT, E.A. Dietary nutrient allowances for horses. **Feedstuffs**, v.64,n.29, p.77-80, 1995.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.
- SCHRYVER, H.F.; GRAIG, P.H.; HINTS, H.F. Calcium metabolism in ponies fed varying levels of calcium. **Journal of Nutrition**, v.100, n.5, p.955-964, 1970.

- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; GRAIG, P.H. Phosphorus metabolism in ponies fed varying levels of phosphorus. **Journal of Nutrition**, v.101, n.5, p.1257-1264, 1971.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E. Calcium and phosphorus in the nutrition of the horse. **Cornell Veterinary**, v. 64, n. 4, p. 493-515, 1974a.
- SCHRYVER, H.F.; HINTS, H.F.; LOWE, J.E.; JINTZ, R.L.; HARPER, R.B.; REID, J.T. Mineral compositions of the whole body, liver and bone of young horses. **Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p.126-134, 1974b.
- SCHRYVER, H.F.; MILLS, D.L.; SODERHOLM, L.V.; WILLIAMS, J.; HINTS, H.F. Metabolism of some essential minerals in ponies fed high levels of aluminum. **Cornell Veterinary**, v.76, n.2, p.345-360, 1986.
- SCHRYVER, H.F.; PARKER, M.T.; DANILUK, P.D.; PAGAN, K.I.; WILLIAMS, J.; SODERHOLM, L.V.; HINTS, H.F. Salt consumption and the effect of salt on mineral metabolism in horses. **Cornell Veterinary**, v.77, n.1, p.122-131, 1987.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM.- SAS - **System for linear models**. Cary: SAS Institute, 1986. 211 p.
- TEETER, S.M., STTILLIONS, M.C., NELSON, W.E. Maintenance levels of calcium and phosphorus in horses. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.15, n.12, p.1625-1628, 1967.
- TORRES, A.P.; JARDIM, W.R. **Criação do cavalo e de outros eqüinos**. São Paulo. Livraria Nobel. 1981, 654p.
- UNDERWOOD, E.J. **The mineral nutrition of livestock**. 2. ed., Farham Royal: Comm. Agric. Bureaux, 1981. 180p.
- VAN DOORN, D.A.; VAN DER SPEK, M.E.; EVERTS, H.; WOUTERSE, H.; BEYNEN, A.C. The influence of calcium intake on phosphorus digestibility in mature ponies. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 88. p. 412-418, 2004.
- VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, AI.; MEIRELES, C.F. Cinética do fósforo em ovinos suplementados com diferentes fontes fosfatadas através da técnica de

diluição isotópica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.44, n.3, p.227-233, 1992.

WOLTER, R. **Alimentacion del caballo**. Zaragoza: Acribia, 1977. 172p.

ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; JORGENSEN, S.S.; REIS, B.F. Merzing in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic and flame emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.104, p.279-284, 1979.

# IV - METABOLISMO DO CÁLCIO EM EQUINOS EM CRESCIMENTO RECEBENDO DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivo estudar o metabolismo do cálcio em equinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio. Foram utilizados doze equinos machos, da raça Mangalarga com idade média de doze meses e peso vivo médio de 221,0Kg. Os tratamentos consistiram de três dietas, compostas por níveis crescentes de cálcio (baixo = 0,15%-N<sub>15</sub>; padrão = 0,45%-N<sub>45</sub>; alto = 0,75%-N<sub>75</sub>), e nível padrão de fósforo (0,23%). Foram injetados em cada animal, através da veia jugular direita, os volumes de uma seringa, que corresponderam à cerca de 7,4 MBq de <sup>45</sup>Ca (CaC<sub>12</sub>). Após a injeção, foram colhidas amostras (10 mL) de sangue, via jugular esquerda, aos cinco minutos, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As fezes foram colhidas pela manhã diariamente, a partir de 24 horas após a aplicação do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi colhida e armazenada em congelador para posterior análise. O mesmo procedimento das fezes foi adotado para a urina, quando foram colhidas amostras de 1% do volume total diário. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições. O cálcio plasmático, cálcio total na urina e cálcio endógeno nas fezes e não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com valores médios de 11,76; 5,54 e 20,86 mg/KgPV/dia, respectivamente. A disponibilidade biológica do cálcio também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, com média de 82,05%. Verificaram-se regressões lineares entre níveis de cálcio na dieta e cálcio total ingerido, cálcio absorvido, cálcio total nas fezes e cálcio retido, expressas, respectivamente pelas equações:  $y=10,7+2,78x$   $r^2=1,0$ ;  $y=12,41+2,24x$   $r^2=0,99$ ;  $y=5,97+0,92x$   $r^2=0,93$  e  $y=6,4+1,70x$   $r^2=0,94$  com médias de, respectivamente, 135,80; 113,21; 47,37 e 82,90 mg/KgPV/dia.

Palavras-chave: cálcio, metabolismo, equinos.

## IV - METABOLISM OF CALCIUM IN GROWING EQUINES RECEIVING DIETS WITH DIFFERENT CALCIUM LEVELS

**ABSTRACT:** This work had as objective to study the metabolism of calcium in growing equines receiving diets with different calcium levels. Twelve Mangalarga male equines were used, with average age of twelve months and average alive weight of 221,0Kg. The treatments had consisted of three diets, composed for increasing calcium levels (low=0,15%-N<sub>15</sub>; standard=0,45%-N<sub>45</sub>; high =0.75%-N<sub>75</sub>), and level phosphorus standard (0,23%). They had been injected in each animal, through the right jugular vein, the volumes of a syringe, that had corresponded to about 7,4 MBq of <sup>45</sup>Ca (CaCl<sub>2</sub>). After the injection, had been collected samples (10 mL) of blood, saw jugular vein left, to the five minutes, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours. The feces had been collected per the morning daily, from 24 hours after the application of the radionuclide until the seventh day, being that an aliquot one of 5% of the excreted daily total was collected and stored in freezer for posterior analysis. The same procedure of excrements was adopted for urine, when samples of 1% of the daily total volume had been collected. The experimental techniques used were randomized completely by design for three treatments and four replications. No effects were noticed on the plasmatic calcium, total calcium in urine and endogenous calcium in feces, with average values of 11,76; 5,54 and 20,86 mg/KgPV/day, respectively. No effects were noticed on the biological availability of calcium, with 82,05% average. Linear regressions between levels of calcium in the diet and total calcium ingested, absorbed calcium, total calcium in feces and restrained calcium had been verified, express, respectively, for the equations:  $y=10,7+2,78x$   $r^2=1,0$ ;  $y=12,41+2,24x$   $r^2=0,99$ ;  $y=5,97+0,92x$   $r^2=0,93$  e  $y=6,4+1,70x$   $r^2=0,94$ , with averages of, respectively, 135,80; 113,21; 47,37 and 82,90 mg/KgPV/day.

Key Words: calcium, equines, metabolism.

## INTRODUÇÃO

A integridade do sistema ósseo (esqueleto) tem importância vital no desenvolvimento de eqüinos. Qualquer comprometimento, no desenvolvimento do esqueleto e nas condições de saúde e de bem-estar desses animais, pode levar a um desempenho esportivo inferior ao verdadeiro potencial genético e depreciação no valor comercial do animal atleta.

O íon cálcio é de fundamental importância para todos os sistemas biológicos e a sua concentração deve se situar entre limites estreitos de tolerância fisiológica entre os diversos compartimentos (Underwood, 1981).

A manutenção da homeostasia do cálcio depende principalmente do trato intestinal, do esqueleto e dos rins. Além disso uma contribuição essencial é dada pela pele e fígado.

Vários fatores influenciam a absorção do cálcio. Normalmente cerca de 50% do cálcio ingerido é absorvido, mas a eficiência da absorção nos eqüinos diminui na sobrecarga e aumenta quando os níveis são deficientes na dieta (Schryver et al 1971). A eficiência da absorção intestinal aumenta ainda durante períodos de maior intensidade na mineralização óssea, como crescimento e prenhez e também na lactação (Capen, 1980).

Fitatos e oxalatos se ligam aos cátions diminuindo a sua absorção. As gramíneas de pastagens tropicais e subtropicais podem apresentar alto nível de oxalato diminuindo a absorção de cálcio e podendo causar o hiperparatireoidismo secundário nutricional (Walthall & McKenzie 1976).

Tanto a formação e mineralização do osso como a reabsorção dependem da concentração plasmática de cálcio. Por sua vez, o esqueleto é o grande reservatório de cálcio e de fósforo disponível para a manutenção dos níveis normais destes minerais no sangue.

Em cavalos, o mais freqüente desequilíbrio nutricional ligado aos minerais, é a ingestão excessiva de fósforo ou insuficiente de cálcio (Capen, 1993). A ingestão insuficiente de cálcio determina uma hipocalcemia que leva a estimulação da paratireóide.

A ingestão contínua de uma dieta desbalanceada leva a um estado permanente de hiperparatireoidismo compensatório e ao desenvolvimento progressivo de distúrbios

metabólicos do osso por reabsorção da matriz óssea decorrente da ação do paratormônio (Schryver et al 1974a e b). Os cavalos com este tipo de distúrbios geralmente se alimentam de dietas ricas em grãos e com forragens de baixa qualidade. Este tipo de dieta normalmente é palatável e nutritiva, exceto pelo desequilíbrio cálcio/fósforo, de tal forma que o animal se desenvolve com peso e tamanho normais, mas podendo apresentar fragilidade óssea clínica ou subclínica.

Existem poucas informações recentes sobre o metabolismo de cálcio em eqüinos, especialmente sobre perda endógena e eficiência de absorção. Pesquisas avaliando a cinética de cálcio em tecidos e fluidos utilizando eqüinos são escassas.

Os mecanismos homeostáticos que regulam o metabolismo do cálcio na espécie eqüina foram estudados por autores como Schryver et al (1970), Hintz et al (1972), Argenzio et al (1973) e McKensie et al. (1980), utilizando metodologias, animais, ingredientes e dietas diferentes das normalmente encontradas em nosso país.

Em trabalho mais recente, van Doorn et al.(2004) avaliaram a influência do cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo e cálcio em pôneis. Os autores enfatizam a escassez de estudos e ausência de relatos conclusivos do efeito de altos níveis de cálcio ingerido na digestibilidade do fósforo em eqüinos. Ressaltam que os resultados relatados mostram-se conflitantes. Ainda segundo estes autores, nenhum dos estudos anteriormente realizados avaliou o efeito de níveis de ingestão de cálcio na digestibilidade do fósforo mantendo-se constante a ingestão de fósforo.

Desta forma mostram-se importantes novos estudos, os quais possibilitem com maior profundidade identificar em eqüinos o metabolismo do cálcio e suas inter-relações com o fósforo.

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar o metabolismo do cálcio em eqüinos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio, visando a possibilidade de estabelecer valores de metabolismo deste elemento que sejam mais próximos da realidade nutricional conduzida em nosso país.

## MATERIAS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda e Haras Braido, município de Cerqueira César (SP) e no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na

agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.

Foram utilizados doze equinos machos, com idade média de doze meses e peso vivo médio de  $221,0 \pm 23,9$ kg.

A composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais está apresentada na TABELA 5.

Os tratamentos consistiram de três dietas, compostas por níveis crescentes de cálcio (baixo = 0,15%-N<sub>15</sub>; padrão = 0,45%-N<sub>45</sub>; alto = 0,75%-N<sub>75</sub>), e nível padrão de fósforo (0,23%) (TABELA 6). Para obter os níveis crescentes de cálcio as dietas (nível padrão e alto de Ca) foram suplementadas com um núcleo mineral (Potensal®) como fonte adicional de cálcio (TABELA 7).

TABELA 5 - Composição química dos ingredientes que compõe as dietas experimentais (base na MS%)

TABLE 5 - Chemical composition of the ingredients that composes the experimental diets (base in DM%)

Composição química\Ingredientes <i>Chemical composition\Ingredients</i>	Milho <sup>1</sup> <i>Corn<sup>1</sup></i>	Farelo de Soja <sup>1</sup> <i>Soybean meal<sup>1</sup></i>	Feno de Tifton 85 <sup>2</sup> <i>Tifton Hay<sup>2</sup></i>
Matéria Seca (MS) (%) <i>Dry matter (%)</i>	89.77	89.31	91.73
Proteína Bruta (PB) (%) <i>Crude Protein (CP) (%)</i>	9.78	42.48	7.67
Energia Bruta (Kcal/kg) <sup>1</sup> <i>Gross energy (kcal/kg)<sup>1</sup></i>	4458.48	4545.95	4181.35
Cálcio (Ca) (%) <i>Calcium (Ca)(%)</i>	0.05	0.35	0.26
Fósforo (P) (%) <i>Phosphorus (P)(%)</i>	0.27	0.63	0.12
Fibra Bruta (FB) (%) <i>Crude fiber (CF) (%)</i>	1.86	6.46	30.49
Fibra Detergente Neutro (FDN) (%) <i>Neutral Detergent Fiber (NDF) (%)</i>	9.36	17.77	84.55
Fibra Detergente Ácido (FDA) (%) <i>Acid Detergent Fiber (ADF) (%)</i>	2.75	11.57	41.37
Extrato Etéreo (EE) (%) <i>Etereo Extract (EE) (%)</i>	4.14	2.17	2.06
Matéria Mineral (MM) (%) <i>Mineral matter (MM) (%)</i>	n.d	n.d	5.26
Lignina (LIG) (%) <i>Lignine (Lig) (%)</i>	n.d	n.d	11.78

1 Análises realizadas no LANA/DZO/UEM

2 Análises realizadas no LANA/CENA/USP

n.d. não determinado

1 Analyzes carried through LANA/DZO/UEM

2 Analyzes carried through LANA/DZO/UEM

n.d not determined



TABELA 6 - Composição percentual e química das dietas experimentais (base na matéria seca - MS%)

TABLE 6 - Percentile and chemical composition of the experimental diets (dry matter bases - DM%)

Ingredientes (%) <i>Ingredients (%)</i>	Tratamentos <i>Treatements</i>		
	N <sub>15</sub>	N <sub>45</sub>	N <sub>75</sub>
Milho - grãos moídos <i>Corn - Worn out grains</i>	49.06	49.06	49.06
Farelo de Soja <i>Soybean meal</i>	10.94	10.94	10.94
Feno de Tifton 85 <i>Tifton 85 hay</i>	40.00	40.00	40.00
Total <i>Total</i>	100.00	100.00	100.00
Núcleo Mineral <sup>1</sup> <i>Mineral Mixture<sup>1</sup></i>	-----		
Composição analisada <sup>2</sup> <i>Analyzed composition<sup>2</sup></i>			
Matéria Seca (MS) (%) <i>Dry Matter (DM) (%)</i>	90.59	90.89	91.02
Protéina Bruta (PB) (%) <i>Crude Protein (CP) (%)</i>	11.87	11.90	11.72
Cálcio (Ca) (%) <i>Calcium (Ca) (%)</i>	0.15	0.45	0.75
Fósforo (P) (%) <i>Phosphorus (P) (%)</i>	0.23	0.23	0.23
Fibra Bruta (FB) (%) <i>Crude Fiber (CF) (%)</i>	13.73	13.58	13.67
Fibra em Detergente Neutro (FDN) (%) <i>Neutral Detergent Fiber (NDF) (%)</i>	49.72	50.97	50.95
Fibra em Detergente Ácido (FDA) (%) <i>Acid Detergent Fiber ADF (%)</i>	19.52	19.33	19.58
Extrato Etéreo (EE) (%) <i>Etereo Extract (EE) (%)</i>	3.14	3.12	3.12
Matéria Mineral (MM) (%) <i>Mineral Matter (MM) (%)</i>	3.82	4.24	4.76
Composição estimada <sup>3</sup> <i>Esteem composition<sup>3</sup></i>			
Energia digestível (ED) (Mcal/Kg) <i>Digestible Energy (DE) (Mcal/Kg)</i>	2.68	2.68	2.68
Lisina (Lis) (%) <i>Lisine (Lis) (%)</i>	0.47	0.47	0.47

1 Núcleo mineral (Potensal<sup>®</sup>)

2 Análises realizadas no LANA/CENA/USP

3 Valores estimados pelo programa Super Crac Equinos

1 Mineral Mixture (Potensal)

2 Analyzes carried through LANA/DZO/UEM

3 Values esteem for the program Super Crac Equinos

TABELA 7 - Composição dos núcleos minerais (Potensal<sup>®</sup>) incorporados às dietas experimentais

TABLE 7 - Composition of the mineral mixture (Potensal) incorporated to the experimental diets

Ingredientes <i>Igredients</i>	Tratamentos <i>Treatements</i>		
	N <sub>15</sub>	N <sub>45</sub>	N <sub>75</sub>
Sulfato de cobre <sup>1</sup> <i>Copper Sulphate<sup>1</sup></i>	61,60	61,60	61,60
Iodato de cálcio <sup>1</sup> <i>Calcium Iodate<sup>1</sup></i>	1,25	1,25	1,25
Sulfato de manganês <sup>1</sup> <i>Manganese Sulphate<sup>1</sup></i>	173,00	173,00	173,00
Selenito de sódio <sup>1</sup> <i>Sodium Selenite<sup>1</sup></i>	0,50	0,50	0,50
Óxido de zinco <sup>1</sup> <i>Zinc Oxide<sup>1</sup></i>	76,00	76,00	76,00
Sulfato de cobalto <sup>1</sup> <i>Cobalt Sulphate<sup>1</sup></i>	2,50	2,50	2,50
Flor de enxofre <sup>2</sup> <i>Sulfur Flower<sup>2</sup></i>	450,00	450,00	450,00
Óxido de magnésio <sup>2</sup> <i>Magnesium Oxide<sup>2</sup></i>	700,00	700,00	700,00
Cloreto de sódio <sup>2</sup> <i>Sodium Chloride<sup>2</sup></i>	2.840,00	2.840,00	2.840,00
Calcário <sup>2</sup> <i>Limestone<sup>2</sup></i>	-----	6.500,00	13.000,00

<sup>1</sup> em miligramas

<sup>2</sup> em gramas

<sup>1</sup> in milligrams

<sup>2</sup> in grams

Foram realizadas análises bromatológicas de acordo com as recomendações da AOAC (1980), o fosfato foi analisado em seu nível de fósforo (colorimetria), cálcio (espectrometria de absorção atômica) e flúor (Godfrey & Shrewsbury, 1945). As normas de alimentação foram de acordo com as recomendações do NRC (1989) e Ott (1995), os animais receberam as dietas na razão de 2,6% do peso vivo/Kg/animal/dia (60% de concentrado e 40% de volumoso), correspondendo a um consumo médio de 6,23Kg alimento/animal/dia.

As dietas foram oferecidas em 3 refeições diárias, as 8, 13 e 18 horas, sendo o concentrado fracionado em partes iguais e 2/3 da quantidade do feno oferecida na última refeição (1,250kg de concentrado/refeição e 0,500kg + 0,500kg + 1,490kg/refeição).

Durante o período pré-experimental, com duração de dez dias, os animais permaneceram na Fazenda e Haras Braido, foram vermifugados com vermífugo de amplo espectro (ivermectina/0,2mg/kg de peso vivo), adaptados as dietas experimentais,

permanecendo em baias individuais de alvenaria semi-abertas, com área de 25 m<sup>2</sup>, piso de cimento sem cama, com bebedouro e comedouro de cimento. Os animais foram pesados no início e ao final deste período.

Durante o período experimental, com duração de sete dias, os animais permaneceram no biotério do Laboratório de Nutrição Animal/CENA, construção de alvenaria com área de aproximadamente 200m<sup>2</sup>. Foram colocados em gaiolas para estudos de metabolismo, segundo modelo adaptado de Furtado et al. (2000), onde receberam as dietas experimentais, e água para consumo à vontade. Em seguida foram coletadas aproximadamente 200g de fezes de cada animal para exame parasitológico (opg) e plasma, fezes e urina para análise de fósforo e cálcio inorgânico antes de injetar o elemento radioativo. Em seguida foram injetados em cada animal, através da veia jugular direita, os volumes de uma seringa, que corresponderam à cerca de 7,4 MBq de <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Após a injeção, foram colhidas amostras (10 mL) de sangue, via jugular esquerda, aos cinco minutos, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As fezes foram colhidas pela manhã diariamente, a partir de 24 horas após a aplicação do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi colhida e armazenada em congelador para posterior análise. O mesmo procedimento das fezes foi adotado para a urina, quando foram colhidas amostras de 1% do volume total diário.

As soluções radioativas foram preparadas a partir de uma solução de fosfato de sódio com <sup>32</sup>P (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ou solução de cloreto de cálcio aquoso com <sup>45</sup>Ca (CaCl<sub>2</sub>), livre de carreador, fornecidas pelo Instituto de Pesquisas Energéticas de São Paulo (IPEN), utilizando-se solução salina estéril de Na Cl a 0,87%. A solução padrão foi elaborada, retirando-se uma alíquota de 0,5 mL da solução radioativa, colocando-a em balão de um litro, que é completado com água destilada. A seguir 100 microlitros desta solução foi transferido para frascos de contagem, adicionando-se 19 mL de água destilada e em seguida feita à leitura da radioatividade em espectômetro de cintilação líquida Tri-carb TR (PACKARD), por meio de efeito Cerenkov.

O plasma foi separado por centrifugação (3.000 rpm – 10 minutos) e após a precipitação das proteínas com ácido tricloroacético (10%) o nível de fósforo foi determinado (Fiske & Subbarow, 1925) e o de cálcio por espectrometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979). A atividade radioativa foi medida por efeito Cerenkov segundo a International Atomic Energy Agency (IAEA, 1979), adicionando 1 mL de plasma em 19 mL de água destilada em frascos de contagem. As fezes (1 grama) foram secas (100 °C) e digeridas com ácido clorídrico para determinação do fósforo inorgânico

por colorimetria empregando o método do Vanadato e Molibdato de Amônio. Para determinação da radioatividade, 1 grama de fezes foi digerido em 5 mL de ácido sulfúrico 1:1 e o volume total transferido para frascos de contagem após completar o volume para 20 mL. As amostras de urina foram digeridas à quente em ácido clorídrico e levadas a mufla. As cinzas foram diluídas em ácido clorídrico com volume ajustado em balão volumétrico de 10 mL, segundo Morse et al. (1992). O fósforo inorgânico foi determinado pelo método do Vanadato e Molibdato de amônio. Para determinar a atividade radioativa foi adicionado 1 mL de urina em 19 mL de água destilada em frasco de contagem.

Através das atividades específicas nas fezes, plasma e urina foram determinados os parâmetros de metabolismo do cálcio, segundo as equações propostas por Lofgreen & Kleiber (1953).

No 16º dia experimental, injetou-se em cada animal, através da veia jugular direita, o volume de uma seringa, que correspondeu a 30MBq de  $^{45}\text{Ca}$ . Após a injeção, amostras de sangue foram coletadas através da veia jugular esquerda, usando tubos a vácuo heparinizados, aos 5 minutos e após 24; 48; 76; 96; 120 e 144 horas.

A coleta total de fezes foi realizada pela manhã, diariamente, a partir de 24 horas após a injeção do radionuclídeo até o sétimo dia, sendo que uma alíquota de 5% do total diário excretado foi colhida e armazenada em congelador para posterior análise. Procedimento semelhante foi feito para a urina, diferenciando somente na alíquota utilizada, que foi de 1%.

As análises foram realizadas nos laboratórios da Seção de Ciências Animais do CENA, sendo as contagens das amostras radioativas transferidas para contagem na Seção de Ecologia do CENA.

Alíquotas de 1mL de plasma foram misturadas com 9mL de ácido tricloroacético a 10%, para precipitação das proteínas. Após 10 minutos o material foi filtrado e o teor de fósforo inorgânico determinado pelo método de Fiske & Subbarow (1925).

Para a determinação do fósforo inorgânico nas fezes, realizada por colorimetria, fez-se à digestão das cinzas com ácido clorídrico concentrado empregando o método de Vanadato e Molibdato de amônio (Sarruge & Haag, 1974).

Amostras de urina com 30mL foram digeridas a quente, em ácido clorídrico (12N), secas a 55°C em estufa e posteriormente queimadas a 500°C. As cinzas foram diluídas em ácido clorídrico (3N) com volume ajustado em balão volumétrico de 10mL,

segundo Morse et al. (1992). A determinação do fósforo inorgânico foi realizado pelo método de Vanadato e Molibdato de amônio (Sarruge & Haag, 1974).

Para determinação da atividade radioativa no plasma, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000rpm (SORVALL modelo RC2B) por 10 minutos e o plasma separado. Em seguida 1mL de plasma foi transferido para frascos de contagem com 19mL de água destilada.

As fezes foram maceradas em almofariz, homogeneizadas e 1g colocado em cadinho de porcelana para determinação da matéria seca a 100°C e das cinzas a 500°C. Seguiu-se à digestão das cinzas com 5mL de ácido sulfúrico (18N) e o material digerido foi colocado em frascos de contagem para medida da radioatividade, completando-se o volume para 20mL com água destilada.

Para a determinação da radioatividade presente na urina foi adicionado 1mL de urina em 19mL de água destilada em frascos de contagem.

A radioatividade foi detectada por efeito Cerenkov, segundo as normas da International Atomic Energy Agency (IAEA, 1979). Foram feitas duplicatas de todas as amostras.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAEG (1983) e o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = b_0 + b_1 X_i + e_{ij}, \text{ onde:}$$

$Y_{ij}$  é a estimativa da resposta medida, sendo considerada, para um tratamento  $i$  e um animal  $j$  ( $i=1,2,3$ ), ( $j=1,2,3,4$ );

$b_0$  é o coeficiente linear do modelo (constante);

$b_1$  é o coeficiente das variáveis independentes  $X_i$  (tratamentos);

$X_i$  são as variáveis independentes ( $i=1,2,3$ );

$e_{ij}$  é o erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos quanto aos parâmetros relacionados ao metabolismo de cálcio estão apresentados na TABELA 8 e serão discutidos adiante.

TABELA 8. Parâmetros associados ao metabolismo de cálcio em equínos em crescimento recebendo dietas com diferentes níveis de cálcio

TABLE 8. . Parameters associates to the calcium metabolism in growing horses fed diets with different calcium levels.

<b>Parâmetro\Tratamento</b> <i>Parameter\Treatment</i>	<b>N<sub>15</sub></b>	<b>N<sub>45</sub></b>	<b>N<sub>75</sub></b>	<b>Média</b> <i>Average</i>	<b>Efeitos principais</b> <i>Principal effects</i>	<b>C.V. (%)*</b>
Ca consumido (mg/kgPV) <sup>2</sup> <i>Ca Intake (mg/kgPV)</i>	49,55	141,50	216,37	135,80	Y=10,7+2,78x r <sup>2</sup> =1,0	27,13
Ca plasmático (mg/dl) <sup>1</sup> <i>Ca Plasmatic (mg/dl)</i>	11,64	11,94	11,71	11,76	NS	5,79
Ca urina (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>Ca Urine (mg/kgPV)</i>	0,93	5,29	10,39	5,54	NS	161,70
Ca fezes (mg/kgPV) <sup>2</sup> <i>Ca Feces (mg/kgPV)</i>	24,24	38,46	79,41	47,37	Y=5,97+0,92x r <sup>2</sup> =0,93	21,52
Ca endógeno (mg/kgPV) <sup>1</sup> <i>Ca Endogenous (mg/kgPV)</i>	17,21	17,33	28,04	20,86	NS	47,42
Ca absorvido (mg/kgPV) <sup>2</sup> <i>Ca Absorved (mg/kgPV)</i>	42,49	120,37	176,77	113,21	Y=12,41+2,24x r <sup>2</sup> =0,99	30,41
Disponibilidade Biológica (%) <sup>1</sup> <i>Biological Availability (%)</i>	84,63	84,17	76,33	82,05	NS	6,95
Ca retido (mg/kgPV) <sup>2</sup> <i>Ca Retention (mg/kgPV)</i>	24,37	97,76	126,58	82,90	Y=6,4+1,7x r <sup>2</sup> =0,94	34,31
Peso vivo (Kg) <i>Body Weight (Kg)</i>	223,47	218,26	221,28	221,00	NS	32,08

<sup>1</sup> Médias não diferem significativamente (P>0,05)

<sup>2</sup> Méidas diferem significativamente (P<0,05)

\* Coeficiente de variação

<sup>1</sup> No effects were noticed on the diets (P>0,05)

<sup>2</sup> Effects were noticed on the diets (P<0,05)

\*Coefficient of variation

Os valores obtidos para cálcio total ingerido foram 49,55; 141,50 e 216,37 mg/KgPV/dia para os tratamentos N<sub>15</sub>, N<sub>45</sub> e N<sub>75</sub> respectivamente, correspondendo a um consumo diário de 10,27, 27,99 e 46,89g. Verificou-se uma regressão linear entre níveis