UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

TANIMARA SOARES DA SILVA

Utilização de fósforo por ovinos: efeitos de diferentes concentrações na absorção real e perdas fecais

Piracicaba
2008

TANIMARA SOARES DA SILVA

Utilização de fósforo por ovinos: efeitos de diferentes concentrações na absorção real e perdas fecais

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Dorinha M.S.S. Vitti Kennedy

Piracicaba
2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Silva, Tanimara Soares da
Utilização de fósforo por ovinos: efeitos de diferentes concentrações na absorção real e perdas fecais / Tanimara Soares da Silva; orientadora Dorinha M.S.S. Vitti Kennedy. - - Piracicaba, 2008.
76 p. : fig.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Carneiro Santa Inês 2. Diluição isotópica 3. Metabolismo mineral 4. Nutrição animal 5. Radioisótopos 6. Ruminantes I. Título

CDU 591.05:543.525

Por todo Amor, companheirismo e carinho

Ao meu filho Lucas

Pelo Amor, incentivo, suporte e confiança

Aos meus pais Paulo Edson e Valdecila

Pelo incentivo constante e apoio fraternal

Aos meus irmãos Helio e Priscila

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conduzir e fortalecer em todos os momentos da minha existência. À Jesus por todo Amor dedicado, por guiar meus passos e fortalecer a minha fé. Ao meu Mentor, pela paciência e carinho em conduzir-me em direção à Luz Maior.

À minha orientadora Profa. Dorinha M. S. S. Vitti Kennedy pela oportunidade de estudo, pela orientação esmerada, pelo apoio constante e pela coragem em me aceitar como orientanda.

Ao Prof. José Cleto da Silva Filho pelo apoio e sugestões na elaboração do trabalho.

Ao Prof. Adibe Luiz Abdalla pelo apoio e incentivo durante todo o meu estudo.

Ao amigo Walter S. Paes, pelo apoio fraterno, compreensão e sinceridade, auxiliando-me a não perder o foco do meu Ser e aos colegas da proteção radiológica, Gil e Marcos, pelo auxílio e aprendizado.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, por conceder-me a oportunidade da realização dos meus estudos.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Ao amigo René Maurício Patiño Pardo, pela orientação na condução do experimento, dedicação, apoio e constante incentivo durante todo o meu estudo.

A Ives C. S. Bueno, pelo auxílio eficaz no crescimento da minha maturidade na vida acadêmica e pela extrema sensibilidade em saber incentivar no momento certo.

A José Aparecido Moreira e Bernardo Berenchtein no auxílio durante os experimentos e pelas conversas esclarecedoras.

Ao amigo Antonio Sampaio Baptista, pela sinceridade, amizade e pelos apontamentos sempre precisos em inúmeros momentos.

Aos amigos, Eduardo F. Nozella, Lerner A. Oinedo, pelo auxílio, estímulo e amizade.

Ao amigo Alcester Mendes pela paciência e auxílio, principalmente na parte final da redação da dissertação.

Às amigas Priscila Brigide e Patrícia B. Godoy pela amizade, carinho e auxílio em muitas ocasiões e em variadas situações. Pelos sorrisos, amparo fraterno e agradáveis momentos de estudo e descontração.

Aos meus queridos familiares e à minha amiga M. Angélica que, mesmo distante, é fundamental em minha vida.

Aos funcionários Joaquim E. M. dos Santos, Lécio Ap. Castilho, Maria Regina S. R. Peçanha, Silvana P. Maziero, pela colaboração no trabalho e auxílio nos procedimentos analíticos realizados.

Aos estagiários Fernanda C. Campos, Jaqueline Mechi, Juliana da Silva, Mariana Novello, Mariana Novello, Viviane C. Prieto, William Laur Nunes Chiu, pela ajuda oferecida sempre que necessário.

Aos funcionários do CENA, Neuda, Sonia, Cláudia, Marília e Alzira, pelo cordial atendimento, sempre que precisei.

"Tomai sobre vós o meu jugo e aprendei de mim que sou manso e humilde de coração"

Jesus

RESUMO

SOARES, T. **Utilização de fósforo por ovinos: efeitos de diferentes concentrações na absorção real e perdas fecais** 2008. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

O objetivo do presente trabalho foi determinar a absorção real de fósforo (P), as perdas totais fecais e endógenas do mineral em ovinos alimentados com diferentes concentrações de P na dieta, através da determinação do P inorgânico e radioativo em amostras de sangue, fezes, urina, saliva e líquido do rúmen. Vinte e quatro ovinos machos, castrados, da raça Santa Inês, com peso vivo médio igual a (33,67 ± 1,52) kg e idade média de sete meses foram divididos em dois blocos (períodos) de doze animais cada, num delineamento aleatorizado em blocos. Foram utilizados seis animais por tratamento. Os animais foram alojados em gaiolas para ensaio de metabolismo, sendo oferecida dieta basal contendo farinha de mandioca, farelo de soja, uréia, melaço, mistura mineral, vitamina E e feno de capim Tifton (à vontade) com suplementação em P proveniente de fosfato bicálcico em quantidades suficientes para fornecer 0, 2, 4 e 6 g de P ao dia (T0, T2, T4 e T6), respectivamente. As dietas foram consideradas isocalóricas e isoprotéicas. Nos últimos dois dias do período de adaptação, foram coletadas amostras de sangue, fezes, urina, saliva e líquido do rúmen para a determinação do fósforo inorgânico. Após, foram injetados 7,4 MBq de ^{32}P ($Na_2H^{32}PO_4$) na jugular de cada animal e durante 7 dias foram coletadas amostras de sangue, fezes e urina a intervalos de 24 horas após a injeção. Nos últimos três dias de experimento foram coletadas amostras de saliva e líquido do rúmen antes da alimentação. Os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão. As concentrações de P fornecidas na dieta mantiveram normais as concentrações plasmáticas de P. A excreção fecal de P, as perdas endógenas fecais, a absorção real de P e os teores de P no rúmen foram correlacionados ao consumo do mineral. A absorção real e as perdas fecais totais e endógenas apresentaram valores médios de (2,45 ± 1,19) g dia^{-1}, (3,81 ± 2,06) g dia^{-1} e (1,76 ± 0,91) g dia^{-1}, respectivamente. Foi encontrada correlação positiva entre o consumo de P e os parâmetros P excretado nas fezes (r = 0,96), P endógeno fecal (r = 0,79; P<0.01), P no rúmen (r = 0,71; P<0.01) e absorção real de P (r = 0,85; P<0.01). Em termos percentuais, a absorção real de

fósforo foi de 55%, a excreção fecal total de fósforo correspondeu a 84% do total consumido. As perdas endógenas de P representaram 46% do P total excretado e 39% do P ingerido. O máximo recomendado para os animais estudados em função da idade e peso vivo dos mesmos para reduzir a potencialidade de contaminação ambiental corresponde ao valor de 5 g P de ingestão diária por animal.

Palavras-chave: - Radiofósforo, ovinos, absorção real, perdas fecais.

ABSTRACT

SOARES, T. **Phosphorus utilization by sheep: effects of different levels on true absorption and fecal losses** 2008. 76 f. Dissertation (Master) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

The objective of the present work was to evaluate the true absorption of phosphorus (P), total and endogenous fecal losses of P in sheep fed different levels of P in the diet, determining the inorganic and radioactive P in blood, rumen and saliva content, feces and urine. Twenty four Santa Inês male sheep aged seven months and weighting 33,67±1,52 kg were used in a randomized block design arrangement. The animals were kept individually in metabolic cages, receiving a basal diet, Tyfton hay and different P levels from dicalcium phosphate. Six animals per treatment were used. The treatments consisted of the inclusion of different amounts of dicalcium phosphate to a basal diet to give: 0, 2, 4 and 6 g of supplemental P (treatments T0, T2, T4 and T6, respectively). The basal diet was composed by cassava meal, soybean meal, mineral mixture, urea and vitamin E. The diets were considered isocaloric and isoproteic. At the last two days of the adaptation period samples of blood, saliva and rumen content, feces and urine were collected. At the first day of the collection period, each animal was injected intravenously with 7,4 MBq of ^{32}P ($Na_2H^{32}PO_4$). During seven days, samples of blood, feces and urine were collected for the P radioactive measurements. At the last three days of the experiment samples of saliva and rumen content were collected before feeding the animals. The results were submitted to analysis of variance and regression analysis for the variables related to the levels of P intake. P levels of the diets kept normal P concentrations in the blood. The excretion of faecal P and endogenous P losses, P absorption and rumen P content were dependent of P intake and true absorption, total P in faeces and endogenous P fecal losses corresponded to 2,45 ± 1,19 g day^{-1}, 3,81 ± 2,06 g day^{-1} and 1,76 ± 0,91 g day^{-1}, respectively. True P absorption was 55% and endogenous losses of P corresponded to 39% of P intake. The total P excreted by feces was 84% of P intake and the endogenous losses corresponded to 46% of total P excreted in feces. There were positive correlations between P intake and the parameters: total fecal P ($r = 0,96$; $P<0.01$), endogenous losses of P ($r = 0,79$; $P<0.01$), true absorption of P ($r = 0,85$; $P<0.01$) and rumen P content ($r = 0,71$; $P<0.01$). From the results of the experiment the value of 5 g P intake is the maximum

recommended to avoid disturbance to animal physiology and problems os environmental contamination by excretions.

Keywords: - Radiophosphorus, sheep, true absorption, fecal losses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Controle hormonal da homeostase do fósforo..... 32

Figura 2. Relação entre a excreção fecal e o consumo de P em ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 55

Figura 3. Relação linear entre teor de P endógeno nas fezes e o consumo de P para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 57

Figura 4. Relação exponencial entre teor de P endógeno nas fezes e o consumo de P para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 58

Figura 5. Relação entre a absorção real de P e os teores de P endógeno nas fezes para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 59

Figura 6. Relação entre o teor de P no rúmen e o P endógeno fecal para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 61

Figura 7. Relação entre a absorção e o consumo de P para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 63

Figura 8. Relação entre o teor de P no rúmen e o consumo de P em ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta..... 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química dos ingredientes das dietas experimentais e dos tratamentos oferecidos aos animais..... 39

Tabela 2. Parâmetros da análise de variância..... 46

Tabela 3. Efeitos dos teores crescentes de inclusão de P na dieta sobre os parâmetros relacionados ao metabolismo de ovinos..... 48

Tabela 4. Coeficientes de correlação e nível de significância para análise de correlação entre os parâmetros analisados..... 49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15

2. REVISÃO DA LITERATURA 17

2.1 Funções do fósforo no organismo animal 17

2.2 Fósforo no sangue e nos tecidos moles 18

2.3 Fósforo na urina 20

2.4 Excreção de fósforo nas fezes 21

2.5 Perdas endógenas fecais 23

2.6 Fósforo na saliva 26

2.7 Fósforo no líquido ruminal 27

2.8 Absorção de fósforo 29

2.9 Homeostase e controle hormonal do fósforo 31

2.10 Técnica de diluição isotópica e absorção real de minerais 33

2.11 Meia-vida biológica 36

3. MATERIAL E MÉTODOS 37

3.1 Local 37

3.2 Animais e tratamentos 37

3.3 Período experimental 39

3.3.1 Sangue 40

3.3.2 Fezes 41

3.3.3 Urina, saliva e líquido ruminal 42

3.4 Parâmetros avaliados 42

3.4.1 Perda endógena fecal de P 43

3.4.2 Absorção real de P 44

3.4.3 Retenção de P..... 45

3.5 Delineamento experimental e análise estatística..... 45

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 47

5. CONCLUSÕES..... 66

REFERÊNCIAS..... 67

1. INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é elemento essencial na nutrição dos animais, sendo de vital importância na formação do tecido ósseo, no metabolismo de aminoácidos, proteínas e lipídeos, participando nos processos enzimáticos, além de estar envolvido na produção de energia. O P é parte integrante do DNA e RNA, estando, pois, relacionado às características genéticas dos animais (TERNOUTH, 1990), bem como no controle do metabolismo celular (ENSMINGER et al., 1990), além de ser essencial ao metabolismo e desenvolvimento da microbiota do rúmen (BREVES; SCHRÖDER, 1991).

A deficiência de minerais, especialmente a de P, pode provocar alterações que se refletem em baixos índices de fertilidade, diminuição no crescimento, redução na produção de carne e leite e, muitas vezes, causa anomalias ósseas (BORGES, 2007).

No Brasil, os solos com baixo caracterizam-se pelo baixo teor em P e assim, as pastagens produzidas nestes solos não oferecem teores adequados do mineral que correspondam às exigências mínimas do elemento para os animais domésticos. Em alguns locais, especialmente na Europa e Estados Unidos ocorre situação oposta. Rações com elevados teores em P, com o objetivo de obter maior produtividade, são fornecidas aos animais. Isto acarreta em elevada excreção fecal do mineral que não foi utilizado, o que pode contribuir para a contaminação dos solos e, dependendo da forma química à qual o P esteja ligado, o mineral pode ser lixiviado e contaminar lençóis subterrâneos.

Portanto, do ponto de vista nutricional e ecológico, a adequação dos níveis de P fornecidos aos animais é de suma importância. Estudos que possibilitem melhor

compreensão da absorção do P proveniente das rações, bem como dos mecanismos metabólicos do P e da absorção e excreção, em particular, são relevantes para obter informações que possam contribuir para a melhoria da produtividade e na diminuição do custo despendido com rações, otimizando seu uso e distribuição para o rebanho.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de P no metabolismo de ovinos da raça Santa Inês através da determinação das seguintes variáveis:

- P no sangue;
- perdas fecais (total e endógena);
- P urina, na saliva e no líquido ruminal;
- retenção e absorção real de P.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Funções do fósforo no organismo animal

O P é um dos minerais que desempenha múltiplas funções no organismo animal. Juntamente com o cálcio (Ca), o P tem vital importância na formação dos ossos e dentes. Aproximadamente 80% do P no organismo animal estão presentes nos ossos e dentes e os outros 20% estão distribuídos nos fluidos corpóreos e tecidos moles. Nos ossos, o P aparece sob a forma de fosfato tricálcico ou fosfato de magnésio fazendo parte da hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (PFEFFER; BEEDE; VALK, 2005).

A proporção de Ca e P nos ossos é de aproximadamente 2:1. O P desempenha importantes funções nos demais tecidos como componente dos ácidos nucléicos que são responsáveis pela multiplicação, desenvolvimento e diferenciação das células. Em combinação com outros elementos, o P auxilia na manutenção da pressão osmótica e do equilíbrio ácido-base (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

O P está envolvido nos processos de utilização e transferência de energia pois entra na formação de di- e tri-fosfato de adenosina (ADP e ATP, respectivamente). Além disso, o mineral faz parte de fosfolipídios, aminoácidos e proteínas, que são componentes essenciais das membranas celulares (ENSMINGER; OLDFIELD; HEINEMANN, 1990).

O P está envolvido no controle do apetite e na eficiência de utilização dos alimentos (UNDERWOOD, 1966) e sua deficiência provoca a diminuição da taxa de crescimento do animal e produção de leite devido, principalmente, à redução no apetite (KINCAID; HILLERS; CRONRATH, 1981). Nos ruminantes, o P também é

essencial ao metabolismo e desenvolvimento da microbiota do rúmen (BREVES; SCHRÖDER, 1991).

Em caso de deficiência ocorre mobilização óssea do Ca e do P regulada principalmente pelo paratormônio (PTH), pela calcitonina (CT) e pela vitamina D (CHURCH et al., 1971; ANNENKOV, 1982). Na deficiência ou alta demanda do elemento, como na gestação e na lactação, o Ca e o P são prontamente mobilizados dos ossos a fim de manter os níveis normais no sangue e nos tecidos moles (HAYS; SWENSON, 1988). A mobilização de Ca no osso como resultado da ação da glândula paratireóide é acompanhada por mobilização de P. O osso é, portanto, um tecido metabolicamente ativo que tem a habilidade de mobilizar Ca e P, principalmente durante a lactação (VALK; METCALF; WITHERS, 2000).

2.2 Fósforo no sangue e nos tecidos moles

No sangue, o P pode estar na forma de fosfolipídios (COHEN, 1975), sendo este o compartimento central de reservas minerais prontamente metabolizáveis. Nos tecidos moles, o P aparece complexado geralmente na forma orgânica, como componente de membranas e de DNA e RNA ou de complexos enzimáticos, como NAD, NADP e FAD (GEORGIEVSKII, 1982), além de participar do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (TERNOUTH, 1990).

Segundo Underwood (1981), os níveis plasmáticos de P normais variam entre 4,5 a 6,5 mg P dL^{-1}. Níveis abaixo de 4,5 mg P dL^{-1} podem indicar deficiência (UNDERWOOD, 1981; McDOWELL et al., 1983). Para Ternouth (1990), os teores de P no plasma podem variar de 2,0 a 8,0 mg dL^{-1} sem que ocorram desordens metabólicas importantes em curto prazo. Valk, Metcalf e Withers (2000) afirmam que

os teores de P no plasma para suplementação adequada de P estão entre 4,7 e 7,8 mg P dL^{-1}.

Existem controvérsias em relação ao efeito do consumo de P na dieta sobre as concentrações do P no plasma.

Scott et al. (1985) observaram efeito do P ingerido nos teores de P no plasma para ovinos que receberam 2 e 4 g P dia^{-1}. Outros autores verificaram correlação positiva entre o consumo de P e as concentrações de P no plasma (BRAITHWAITE, 1985; TERNOUTH; SEVILLA, 1990; BORGES, 2007) embora, para altos teores de P na dieta, essa relação não tenha sido verificada (LOUVANDINI; VITTI, 1994; LOUVANDINI, 1995).

Contrastando com os resultados apresentados acima, outros autores não obtiveram correlação entre o P ingerido e o teor de P no plasma (BRAITHWAITE, 1984; CHALLA; BRAITHWAITE, 1988; LOUVANDINI; VITTI, 1994; LOUVANDINI, 1995; SILVA FILHO, 1995; PORTILLO et al., 2006).

McDowell, Conrad e Loosi (1986) afirmam que a homeostase de P é mantida por mecanismos que se ajustam às condições fisiológicas do animal, uma vez que o teor de P no plasma pode variar com a idade, comportamento do animal, estresse ou manipulação inadequada das amostras, justificando a não existência de correlação entre o consumo de P e o teor de P no plasma.

Considerar isoladamente o teor de P no plasma como indicativo do *status* nutricional requer cautela na interpretação dos dados, uma vez que nem sempre os teores plasmáticos de P refletem o estado nutricional do animal em relação a esse mineral (SILVA FILHO et al., 2000).

Segundo Bortolussi, Ternouth e McMeniman (1988), em períodos longos de seca, em que há deficiência de P e proteínas nas forragens, e, com redução do

consumo, os animais perdem peso e há ressorção óssea, resultando em elevação do teor de P plasmático, apesar dos animais apresentarem deficiência do elemento.

O aumento nos teores de P no plasma também pode ser decorrentes de jejum prolongado (DAYRELL; DOBEREINER; TOKARNIA, 1973) ou de infusão intravenosa de cálcio (RAJARATNE; SCOTT; BUCHAN, 1994).

2.3 Fósforo na urina

Normalmente, os ruminantes excretam apenas traços de P pela urina (BRAITHWAITE, 1985; TERNOUTH; SEVILLA, 1990). Os rins possuem habilidade de reter fosfatos, sendo que menos de 1% é perdido pela via urinária, representando, geralmente, valores desprezíveis quando se calcula a absorção e a perda desse mineral (THOMPSON JR., 1978).

Estudos afirmam que, quando a concentração sanguínea de P ultrapassa 6 mg dL^{-1}, a capacidade de reabsorção dos túbulos renais é excedida havendo uma perda significativa do P via urina. (FIELD; KAMPHUES; WOOLIAMS, 1983; SCOTT; MCLEAN; BUCHAN, 1984; FIELD; WOOLIAMS, DINGWALL., 1985). Dados recentes de Dove e Charmley (2004) indicam que a excreção urinária de P em ovinos foi menor que 2,5% do P ingerido quando o consumo foi menor que 75 mg P kg^{-1} de peso vivo (PV), aumentando rapidamente com o aumento do consumo.

Segundo Challa, Braithwaite e Dhanoa (1989), as perdas urinárias de P normalmente não estão relacionadas com a ingestão de P, mas sim ao maior valor da eficiência de absorção, de acordo com a individualidade animal, considerando, ainda, que as glândulas salivares controlam de forma eficiente a concentração de P

plasmático. Variações individuais na excreção de P pela urina também foram observados por Scott et al. (1985).

Salviano (1996) verificou que ovinos que consumiram, em média 3,0 g dia^{-1} de P, como fosfato bicálcico, excretaram na urina valores médios menores que 11 mg P dia^{-1}. Borges (2007) encontrou valores médios de P excretados pela urina menores que 5,4 mg P ao dia, para consumo diário de P de 1,87 a 3,24 g P, correspondendo a menos de 1% do total ingerido.

Estudos recentes com modelagem matemática mostraram também que a maioria do P foi excretada via fezes e somente traços foram detectados na urina. Entretanto, quando o P ingerido aumenta, proporcionalmente quantidade maior de P que é perdido do corpo é excretada, preferencialmente, na urina, em vez de retornar ao TGI via saliva (KEBREAB et al., 2008).

2.4 Excreção de fósforo nas fezes

O P total excretado nas fezes possui duas frações: uma exógena, composta pelo P da dieta que não foi absorvido e outra endógena, composta, principalmente, pela saliva e pelos sucos gástricos e restos celulares (BRAVO et al., 2003b).

Nos ruminantes, as fezes são a principal via de excreção de P sendo que os valores médios de P excretado nas fezes correspondem a, aproximadamente, 70% em relação ao P consumido (BRAITHWAITE, 1985; VITTI; ABDALLA; SILVA FILHO, 1991; BRAVO et al., 2003b).

Existe relação positiva entre a quantidade de P consumida e o total de P excretado via fezes (WU et al. 2000; VALK ; SEBEK; BEYNEN, 2002; PORTILLO et al., 2006).

Portillo et al. (2006), suplementando cordeiros de peso médio 22,6 kg com 1,5, 3,0 e 4,5 g de P ao dia, proveniente de fosfato bicálcico, observaram relação linear entre o total de P excretado e o P ingerido.

Como supracitado, a utilização do P pelos animais domésticos é ineficiente sendo que grande parte do P consumido é excretada. Quando as fezes são utilizadas como esterco no próprio local, sem planejamento ou manejo adequado, ao longo do tempo, os solos podem se tornar saturados em P e o elemento pode se infiltrar em lençóis subterrâneos ou ser deslocado para águas superficiais, promovendo desenvolvimento de algas verdes e prejudicando a sobrevivência de outras espécies, principalmente pela falta de oxigênio (BRAVO et al., 2003b; KNOWLTON, 2004).

A situação atual mostra que as entradas de P, de origem alimentar ou proveniente de fertilizantes orgânicos e inorgânicos têm excedido as saídas na maioria das fazendas de produção suína ou de aves (JONGBLOED; VALK, 2004).

O P das dietas dos animais domésticos tem origem nos ingredientes básicos da dieta e da suplementação mineral. O principal ponto de partida para a redução da excreção de nutrientes é a manipulação da dieta (CAST, 2002) já que quanto maior o teor de P na dieta maior a quantidade de P excretada nas fezes (VITTI ; ABDALLA, MEIRELLES, 1992; WU; SATTER; SOJO, 2000; KEBREAB et al., 2008).

Redução na quantidade de P na dieta, práticas de manejo adequadas e conhecimento das necessidades mínimas para mantença do animal devem contribuir para o planejamento otimizado do sistema solo-planta-animal numa fazenda com vistas ao desenvolvimento ambientalmente sustentável. Mesmo considerando que solos pobres em P, há uma crescente preocupação com as áreas de criação intensiva, onde pode haver excesso de P presente nos solos decorrente,

possivelmente, do manejo inadequado bem como do excesso de P nas dietas (MONAGHAN et al., 2007).

Ruminantes devem ser alimentados de acordo com suas necessidades fisiológicas, de modo que se possa reduzir a perda excessiva de minerais como o P através das fezes. Nesse sentido, o conhecimento do P endógeno fecal é necessário para se conhecer as reais necessidades de P, pois somente com o conhecimento do P endógeno fecal pode-se obter a real absorção desse mineral (KLEIBER; SMITH; RALSTON, 1951).

2.5 Perdas endógenas fecais

Segundo Georgievskii (1982), a perda endógena de P é a parte do P que foi absorvida, metabolizada e finalmente excretada nas fezes. De acordo com Bravo et al. (2003b), a maior fonte de P endógeno é a saliva (cerca de 80%), estando correlacionado a fatores que influenciam a secreção salivar como o consumo de MS, a forma física e o conteúdo de P na dieta (VALK; METCALF; WITHERS, 2000). Há, também, a parcela microbiana do rúmen que escapou à solubilização durante a digestão pós-rúmen. A excreção do P endógeno fecal representa qual parte da quantidade secretada não foi absorvida durante a passagem ao longo do trato (PFEFFER; BEEDE; VALK, 2005).

O P endógeno possui duas parcelas: uma perda obrigatória imposta pela secreção salivar e outra dependente de ajuste homeostático sobre o P da dieta (BRAVO et al., 2003b).

As recomendações do ARC (1980) mencionam que as perdas endógenas mínimas são constantes e correspondentes a zero de ingestão do mineral. Segundo

o ARFC (1991), as perdas endógenas fecais de P podem variar de acordo com a quantidade de P ingerido, com a qualidade da dieta e com a individualidade animal; além disso, é aventada, ainda, a possibilidade de uma competição pelo P absorvido entre o mecanismo de secreção e a necessidade de produção do animal. A perda endógena em bovinos também não é constante e está relacionada com o P consumido representando importante mecanismo na homeostase desse mineral (CHALLA; BRAITHWAITE, 1988).

Braithwaite (1985), em estudo com ovinos alimentados com dietas consideradas deficiente (0,54 g P dia^{-1}), moderadamente deficiente (1,28 g P dia^{-1}) e adequada (2,02 g P dia^{-1}), obteve correlação positiva entre as quantidades de P ingerido e de P endógeno fecal, a despeito das necessidades de P para os animais deficientes e concluiu que as perdas endógenas não foram constantes.

Bravo et al. (2003b) encontraram correlação positiva entre a quantidade de P ingerido e de P endógeno quando calculado em relação ao peso vivo ou consumo de MS. Scott et al. (1995) sugeriram que a excreção total de P endógeno fecal depende mais do consumo de P do que do consumo de MS. Martz et al. (1999), em estudo com bovinos e Portillo et al. (2006) trabalhando com ovinos, também encontraram relação direta entre o consumo de P e a perda de P endógeno nas fezes.

O aumento na perda endógena de P, devido ao maior consumo do elemento, deve-se, em parte, à maior secreção pela saliva, mas tem sido observado que para altas concentrações de ingestão de P pode ocorrer uma diminuição na eficiência de absorção, levando a uma maior perda de P endógeno (VITTI et al., 2000).

De acordo com o ARC (1980), a perda endógena diária varia de 10 a 14 mg P kg^{-1} PV. Braithwaite (1985) encontrou, para ingestão diária de 0,54 g P, uma variação no P endógeno de 25 a 30 mg P kg^{-1} PV.

Vitti, Abdalla e Silva Filho (1991), obtiveram perda endógena foi de 48,12 mg P kg^{-1} de PV para ingestão diária de 4 g P, o que está dentro dos limites citados por Boxebeld et al. (1983) e Field, Wooliams e Dingwall et al. (1985) de 24,5 a 60,5 e 17,9 a 60,5 mg P kg^{-1} PV, respectivamente.

Vitti, Abdalla e Meirelles (1992), reportaram que ovinos alimentados com fosfato bicálcico, apresentaram perdas endógenas correspondentes a 45% da quantidade total de P excretada.

Estudos sobre a perda endógena mínima são indispensáveis para uma melhor compreensão do metabolismo de P e para os cálculos das necessidades dos animais (SILVA FILHO et al., 2000).

A perda endógena mínima é calculada por interpolação para zero de ingestão na curva de relação entre P endógeno e P consumido. Em estudos com novilhos, Silva Filho et al. (2000) encontraram valor para a perda endógena mínima de P igual a 5,72 mg P kg^{-1} PV. Para bovinos, Valk, Sebek e Beynen (2002), sugeriram que a perda endógena seria de 1,0 g kg^{-1} MS consumida.

Louvandini e Vitti (1994), avaliando as exigências mínimas de P em ovinos, obtiveram valores médios de perda endógena diária de 10,65 mg P kg^{-1} PV, resultando numa exigência mínima de 13,44 mg P kg^{-1} PV ao dia.

A extrapolação do P fecal para o nível zero de ingestão possivelmente representa a excreção do P endógeno que é fornecido para as necessidades dos microorganismos e do animal como um todo (DIAS et al., 2007).

Wu (2005) apontam para a precaução que se deve ter na extrapolação do P fecal para o nível zero de ingestão, uma vez que a relação pode não ser linear se o P ingerido estiver abaixo da exigência.

2.6 Fósforo na saliva

Os valores normais de P na saliva estão entre 20 a 60 mg P dL^{-1}, mas pode haver uma variação de 5 a 100 mg dL^{-1} (THOMPSON JR.,1978). A secreção diária está entre 30 a 60 g P em bovinos (BREVES; ROSENHAGEN; HOLLER, 1987; REINHARDT; HORTS; GOFF, 1988; SCOTT, 1988), e entre 5 a 10 g P em ovinos, influenciada pela quantidade, forma física da dieta e pela quantidade de P consumida (FEEDING, 1990; SCOTT et al., 1995).

Scott e Buchan (1987), fornecendo dieta volumosa para ovinos, observaram aumento na quantidade de P endógeno fecal e conseqüente diminuição na excreção de P pela urina. Ao ser oferecida dieta moída, a excreção fecal diminuiu devido ao menor tempo de ruminação, provocando queda na secreção salivar de P. Mais recentemente, Valk, Sebek e Beynen (2002), encontraram menor excreção fecal de P em conseqüência de reduzida secreção salivar que foi induzida pela menor concentração de P no plasma.

A secreção salivar em ruminantes controla a homeostase do ecossistema do rúmen sendo uma das principais funções da saliva transferir P do plasma para o trato digestório (BRAVO et al., 2003a).

Scott e Beastall (1978) e Mañas-Almendros, Ross e Care (1982), encontraram um aumento linear entre o teor de P salivar da parótida quando as concentrações do P no plasma foram aumentadas para 12,4 a 15,5 mg P dL^{-1} por infusão intravenosa

de P. Nessas condições, a razão entre os teores de P na salivar e no plasma variou de 12:1 a 16:1 (BREVES; SCHRÖDER, 1991).

Valk, Sebek e Beynen (2002), estudando a influência do consumo de P na excreção e concentração plasmática e salivar de P em vacas em lactação, observaram que a menor concentração de P na saliva foi induzida pela menor concentração de P no plasma. Segundo esses autores, isso parece sugerir uma correlação positiva entre os teores de P no plasma e na saliva.

2.7 Fósforo no líquido ruminal

Cerca de 50 a 70% do P presente no líquido ruminal é proveniente do P salivar (LOUVANDINI, 1995; VALK; METCALF; WITHERS, 2000), sendo a saliva a principal fonte de fosfato inorgânico no rúmen disponível para os microorganismos (BRAVO et al., 2003a).

O P é um importante mineral constituinte das células microbianas e é essencial ao crescimento microbiano no rúmen. Segundo Poppi e Ternouth (1979) teores abaixo de 20 mg P dL^{-1} são inadequados para manter o estoque de P no rúmen para animal adulto. Georgievskii (1982) relata valores da ordem de 30 a 40 mg P dL^{-1} para as concentrações de P no líquido ruminal e, de acordo com Witt e Owens (1983), podem ocorrer variações da ordem de 20 a 60 mg P dL^{-1}.

A maior parte do conteúdo de P no rúmen está na forma inorgânica e é proveniente, basicamente, da hidrólise de compostos orgânicos e da saliva (GEORGIEVSKII, 1982). A fim de manter a concentração de fosfato inorgânico no líquido ruminal, o P proveniente da dieta deve ser rapidamente convertido em fosfato inorgânico (BRAVO et al., 2003a).

Ternouth (1990) sugere que a elevação de P na dieta se reflete positivamente nas concentrações do mineral na saliva e, conseqüentemente, no rúmen. O teor de P na saliva é influenciado pela quantidade e forma física da dieta (ROSOL; CAPEN, 1997). Se o consumo de alimento é constante e o consumo de P varia, o P salivar é dependente da quantidade de P consumida (SILVA FILHO, 1995). Se o consumo de MS muda, o fluxo salivar é alterado e conseqüentemente, a concentração de P na saliva (VITTI et al., 2000).

O pH no rúmen é influenciado pelo P salivar que atua como tamponante para diminuir a acidez provocada pela formação de ácidos orgânicos resultante do metabolismo dos microorganismos.

O efeito da concentração de P da dieta no teor de P no líquido ruminal foi estudado em ovinos (SILVA FILHO, 1995) que receberam 0, 1, 2 ou 3 g P por animal ao dia, provenientes de farinha de osso. Os resultados obtidos variaram de 54,33 a 63,85 mg P dL^{-1} para o conteúdo de P no líquido ruminal.

Alguns autores relatam correlação positiva entre o conteúdo de P no líquido ruminal e o teor de P no plasma (TOMAS; MOIR; SOMERS, 1967; VITTI et al., 1988) e que há passagem de P pelas paredes do rúmen. Entretanto, há controvérsia a esse respeito, pois outros autores afirmam que não há transferência substancial de P através das paredes do rúmen (SCOTT; BUCHAN, 1987; BEARDSWORTH, BEARDSWORTH; CARE, 1989), mas apenas pelas paredes do duodeno e do jejuno (HUBER et al., 2002).

2.8 Absorção de fósforo

O P que entra no trato gastrintestinal (TGI) dos ruminantes é proveniente do alimento e da saliva. O P da dieta, que está na forma de fosfatos orgânicos (fitatos, fosfoproteínas, fosfolipídeos) ou compostos inorgânicos (mono, di ou trifosfatos), é submetido, desde a ruminação, aos processos de digestão pelas enzimas produzidas pelos microorganismos no rúmen e no trato como um todo (BREVES; SCHRÖDER, 1991).

Embora os mecanismos de absorção de P pelos ruminantes ainda não sejam totalmente esclarecidos, sabe-se que alguns fatores influenciam e determinam a absorção, tais como: pH no intestino, concentrações e proporções de Ca e P na dieta, vitamina D, presença de outros minerais, além da individualidade animal e da genética (REID, 1980; FIELD; KAMPHUES; WOOLIAMS, 1983; FIELD; WOOLIAMS, 1984).

Segundo Braithwaite (1984), o animal aproveitará o total de P absorvido de acordo com a demanda e necessidades que são diferentes dependendo da idade, espécie e estado nutricional (ANDRIGUETTO et al., 1990). Esse aproveitamento depende dos teores de P ingeridos sendo que a absorção do P aumenta com a crescente ingestão do mineral (CHALLA; BRAITHWAITE, 1988; BRAVO et al., 2003a).

O local de maior absorção de P nos ruminantes é o intestino delgado devido ao pH suficientemente baixo para que ocorra a solubilização. Existem evidências de que a absorção de P ocorra em outros locais do trato (PFEFFER; BEEDE; VALK, 2005). Passagem de P através do rúmen foi observada, mas não houve absorção significativa neste compartimento (BREVES et al., 1988; BEARDSWORTH;

BEARDSWORTH; CARE, 1989). Alguns autores (EDRISE; SMITH, 1986) indicam a ocorrência de absorção de P no omaso de bezerros mas os dados destes trabalhos não foram confirmados por outros estudos.

Na absorção de P no TGI concorrem dois processos: um ativo, sendo dependente da demanda de P pelo animal e outro passivo, que predomina quando há alta concentração de P no lúmen do TGI estando, portanto, relacionado ao consumo e excesso do mineral (BRAITHWAITE, 1984). Cerca de 65% do transporte ativo de P no jejuno de ovinos é mediado por um mecanismo de transporte ativo dependente de sódio (SCHRÖDER et al., 1995; HUBER et al., 2002). No intestino há a produção de ribonuclease que digere mais facilmente os ácidos nucléicos, liberando os aminoácidos, os lipídios e o P (ANDRIGUETTO et al., 1990; VITTI et al., 2000).

A absorção do P ingerido no intestino delgado depende de sua solubilização no ponto de contato com as membranas de absorção e isso é maior nas condições ácidas do duodeno (VALK; SEBEK; BEYNEN, 2002), mas pouco se sabe sobre os processos de transporte epitelial envolvidos e sua regulação hormonal (SCHRÖDER et al., 1995). Não se sabe ao certo qual seria a quantidade de P que limita sua absorção no intestino delgado e como isso acontece (VALK; METCALF; WITHERS, 2000).

Vários trabalhos relatam a existência de correlação positiva entre o P ingerido e a absorção do mineral em ovinos e caprinos. Isso foi observado por Braithwaite (1985) e Bueno e Vitti (1999) que forneceram diferentes teores de P para ovinos e caprinos, respectivamente. Louvandini e Vitti (1994) relatam correlação positiva entre a ingestão e a absorção de P para 0, 1, 2 e 3 g do mineral na dieta proveniente de farinha de ossos. Portillo et al. (2006), que também investigaram diferentes

concentrações de P na dieta (0, 1 e 2 g de suplementação diária de P), relatam que houve relação linear positiva entre a ingestão e a absorção de P por ovinos.

2.9 Homeostase e controle hormonal do fósforo

Segundo Bravo et al. (2003b), as glândulas salivares, os sítios de absorção de P no intestino e, ocasionalmente, os rins possuem mecanismos que mantêm a homeostase do P em ruminantes.

A proporção Ca:P constitui relação importante para a homeostase desses macrominerais. Um desequilíbrio nesta proporção pode interferir no processo de homeostase de ambos os componentes (ANDRIGUETTO et al., 1990). A razão Ca:P de 2:1 representa a otimização da taxa de absorção dos dois minerais (SALVIANO, 1996) e tem sido estudada por vários autores (LUECKER; LOFGREEN, 1961; SALVIANO, 1996).

O metabolismo de Ca e P apresenta mecanismos que estão sob controle hormonal, sendo que o do P parece ser secundário ao do Ca (SCHRÖDER et al., 1995), existindo, entretanto, uma inter-relação no metabolismo dos dois minerais pois eles são regulados por mecanismos biológicos e físico-químicos idênticos (VALK; METCALF; WITHERS, 2000).

No controle hormonal da homeostase do cálcio e, como conseqüência, do P, atuam os hormônios paratormônio (PTH), calcitonina (CT) e di-hidroxi-colecalciferol (DHCC, metabólito da vitamina D processada pelo fígado). A secreção de PTH é induzida por baixa concentração de Ca e alta concentração de P na dieta e, juntamente com o DHCC, estimula as ressorções ósseas, mobilizando Ca e P do

osso para o sangue a fim de manter os teores séricos desses elementos ou redistribuí-los aos demais tecidos (Figura 1) (HAYS; SWENSON, 1988).

O PTH e o DHCC estimulam a ressorção óssea que resulta em liberação de Ca e P. O DHCC aumenta a reabsorção de Ca no TGI e também a de P, aumentando as concentrações séricas de ambos os elementos. A absorção de P é também estimulada pela vitamina D por um processo direto e independente da sua relação com o metabolismo de Ca (BREVES; SCHRÖDER,1991).

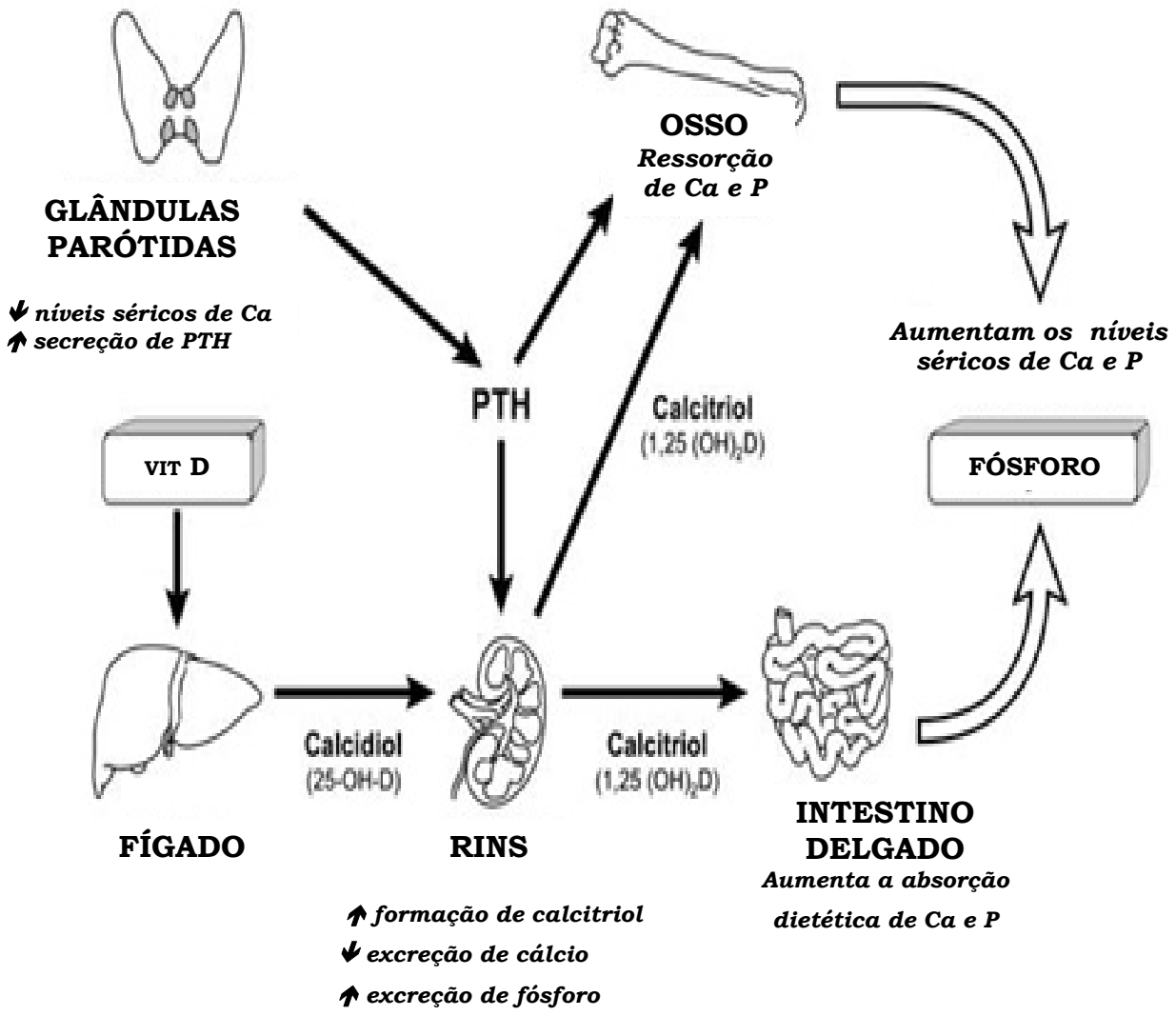

Figura 1. Controle hormonal da homeostase do fósforo
Fonte: http://www.geocities.com/imar.geo/Calcium.jpg

A CT é secretada pela glândula tireóide em resposta a alta concentração de Ca no sangue tendo como função principal inibir a ressorção óssea e diminuir o teor de Ca plasmático. A CT também reduz a reabsorção de Ca e P tubular nos rins e no TGI (MATSUI et al., 1984).

2.10 Técnica de diluição isotópica e absorção real de minerais

A quantificação da absorção real de minerais envolve o uso de radiotraçadores. Os princípios do método com o uso de radiotraçador apresentados inicialmente por Kleiber, Smith e Ralston (1951), basearam-se na técnica da diluição isotópica utilizando o radionuclídeo ^{32}P em bovinos leiteiros. Apesar de ser metodologia utilizada por poucos pesquisadores no Brasil (VITTI, 1989; SALVIANO, 1996; DORIGAN, 2000), a literatura mundial considera a técnica de diluição isotópica um método muito confiável para estudos de metabolismo mineral nos animais.

O princípio da técnica de diluição isotópica baseia-se no fato de que, após a injeção do radionuclídeo no plasma, este se distribui homogeneamente 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.

O conhecimento da absorção real do mineral 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 FILHO, 1995).

A eficiência de absorção de um determinado mineral pode variar com fatores ligados ao animal - características genéticas, fisiologia, 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 estágios 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 pela eficiência de absorção apropriada origina as exigências nutricionais do elemento (LITTLE, 1984).

Os ensaios de disponibilidade 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 mineral estudado semelhantes (PLAYNE, 1976). Por meio dos ensaios de disponibilidade convencionais, obtém-se a absorção aparente. Como nas fezes encontra-se não apenas a fração não absorvida do alimento, mas também uma fração secretada no TGI e não reabsorvida, chamada

fração fecal endógena, os valores de absorção aparente são mais baixos que os de absorção verdadeira (LITTLE, 1984). Nas excreções endógenas fecais encontram-se mais de 70% de P endógeno (BRAVO et al., 2003b), provenientes da saliva e de descamações das paredes do TGI e fluidos excretados por glândulas do sistema digestório, o que caracteriza a importância da determinação da digestibilidade verdadeira dos alimentos para animais ruminantes.

A fração fecal endógena, utilizada no cálculo da absorção verdadeira, pode ser estimada em alguns casos por marcação dos tecidos corporais com o isótopo do elemento em estudo e subseqüente medida da extensão de diluição da fração endógena do mineral total das fezes ou urina (KLEIBER; SMITH; RALSTON, 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 se apresentam inconvenientes, fornecendo valores de excreção endógena mais baixos que aqueles obtidos pelo método isotópico (PLAYNE, 1976).

A grande vantagem do uso da diluição isotópica é que os experimentos podem ser realizados em animais em condições normais de alimentação e quando se utiliza a técnica de diluição isotópica, é possível estabelecer analogia entre os conceitos de meia-vida física e meia-vida biológica.

2.11 Meia-vida biológica

A meia-vida biológica ($T_{1/2}$) de um composto no plasma representa o tempo necessário para que a sua concentração seja reduzida à metade. É dada em horas e é recíproca de k na relação:

$$T_{1/2} = \ln 2 / k \qquad (1)$$

sendo k a constante de desaparecimento do composto no organismo vivo e análoga à constante de desintegração de átomos radioativos da equação de decaimento de radioisótopos dada pela fórmula:

$$A = A_o \cdot e^{-\lambda t} \quad \text{ou} \quad A = A_o \cdot e^{-\ln 2 . t/\tau_{1/2}} \qquad (2)$$

pois $\lambda = \ln 2 / \tau_{1/2}$ onde, $\tau_{1/2}$ representa a meia-vida física do radioisótopo.

Um alto valor de $T_{1/2}$ significa que o composto permanece mais tempo na corrente sangüínea. O uso de radioisótopos e a hipótese de que o comportamento do elemento radiomarcado é similar quimicamente ao não marcado, permite calcular a meia-vida biológica pela relação acima, e obter uma melhor compreensão do que ocorre com a cinética do composto dentro do organismo animal.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), em Piracicaba (SP).

As análises químicas foram realizadas no LANA e as contagens do material radioativo, no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) do CENA.

3.2 Animais e tratamentos

Vinte e quatro ovinos Santa Inês, com idade entre 7 e 8 meses e peso vivo médio de (33,67 ± 1,52) kg foram alocados no biotério do LANA. Antes do início do experimento os animais foram pesados e evermifugados.

Os animais receberam dieta basal constituída de farinha de mandioca (200 g), farelo de soja (60 g), uréia (15 g), mistura mineral[1] e vitaminas (10 g) e melaço (15 g). A dieta foi suplementada com fosfato bicálcico, além de feno Tifton, à vontade.

Foram estudados quatro tratamentos com diferentes concentrações de P, idealizados para fornecer 0; 2, 4 e 6 g de P suplementar por animal ao dia (T0, T2, T4 e T6) adicionados como fosfato bicálcico em quantidades iguais a 0,0; 12,6; 25,2 e 37,9 g, respectivamente. Foram utilizados seis animais por tratamento. As dietas fornecidas aos animais foram calculadas para serem isocalóricas e isoprotéicas. O alimento foi oferecido sempre à mesma hora e em dois períodos do dia: às 9 h e às

[1] Composição: $FeSO_4$ (1,785%); $CuSO_4$ (0,556%); $CoSO_4$ (0,013%); $MnSO_4$ (1,536%); $ZnSO_4$ (1,165%); Na_2SeO_3 (0,006%); NaCl (55,911%); MnO (11,981%); KI (0,090%); S (26,957%).

16 h. Não houve sobras de concentrado e as sobras de feno foram registradas diariamente.

As amostras do concentrado e do feno foram analisadas para determinação de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), P, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) (Tabela 1). As análises foram realizadas segundo as recomendações da AOAC (1995), com exceção da análise de FDN, feita de acordo com Mertens (2002).

A composição química dos ingredientes das dietas experimentais e dos tratamentos oferecidos aos animais encontra-se na Tabela 1. O fosfato bicálcico utilizado na formulação das dietas apresentou concentração de 15,85% em P e 26,06% em Ca.

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes das dietas experimentais e dos tratamentos oferecidos aos animais.

Ingredientes	**MS** (%)	**MM** (%MS)	**FDN** (%MS)	**FDA** (%MS)	**PB** (%MS)	**EE** (%MS)	**P** (%)	**Ca:P**
Farinha de mandioca	88,45	1,15	13,16	2,61	0,94	0,36	0,06	-
Farelo de soja	88,59	6,44	23,89	8,54	43,06	2,83	0,68	-
Feno	89,36	5,45	85,87	44,24	6,66	1,05	0,13	-
Tratamentos								
T0	86,74	2,89	56,15	4,14	25,25	0,93	0,14	2,36
T2	87,59	6,82	55,54	3,75	24,70	0,79	0,82	1,92
T4	87,71	11,77	48,29	3,48	25,19	1,13	1,84	1,78
T6	88,66	20,67	40,75	3,08	26,58	1,09	3,68	1,71

Para a determinação do P inorgânico nas amostras de feno e concentrado, foi obtido extrato a partir das cinzas (500 ºC) e, após a digestão clorídrica, as amostras

foram filtradas e o volume foi completado para 100 mL. Em seguida, foi realizada a determinação do P na amostra pelo método do vanadato-molibdato (SARRUGE; HAAG, 1974), baseada na cor amarela do complexo formado pelo ácido fosfórico, ácido vanádico e ácido molíbdico. A coloração do composto é proporcional à concentração de P no extrato obtido pela oxidação por via seca da amostra (matéria mineral), sendo a leitura feita em fotocolorímetro usando filtro de 400 – 450 nm.

Para a determinação do teor de P no fosfato bicálcico, foi feita a digestão de 1 g de amostra com a adição de 30 mL de ácido nítrico e 5 mL de ácido clorídrico. Após aquecimento até a destruição da matéria orgânica, foram adicionados 40 mL de água destilada e após fervura por 5 min, procedeu-se à filtragem do material. Em seguida, foi realizada a determinação do P na amostra pelo método do vanadato-molibdato (SARRUGE; HAAG, 1974).

3.3 Período experimental

Após período de adaptação (sete dias em baias), os animais foram pesados e distribuídos em gaiolas para ensaio de metabolismo, equipadas com dispositivos para separação de fezes e urina, por 14 dias.

Após uma semana de adaptação às gaiolas, 7,4 MBq de ^{32}P foram injetados em cada animal, através da jugular direita. Foi preparada solução radioativa para aplicar nos animais a partir de solução de ^{32}P ($Na_2H^{32}PO_4$) obtida no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo. O fosfato de sódio radiomarcado, livre de carregador, foi diluído em 11,2 mL de solução estéril de cloreto de sódio 0,85%, preparando-se a solução a ser injetada nos animais de forma que cada animal recebesse 7,4 MBq em 0,5 mL de solução de ^{32}P.

Para o padrão, 0,5 mL dessa solução foi transferido para balão volumétrico de 1 L, contendo água destilada. Após completar o volume do balão, 1mL de solução foi adicionada a frascos de borosilicato (para medir cintilação) contendo 19 mL de água. Posteriormente, foi medida a radioatividade através do efeito Cerenkov (NASCIMENTO FILHO; LOBÃO, 1977), em espectrofotômetro de cintilação líquida (Beckman LS 5000 - TA).

Coletas de sangue, fezes e urinas foram realizadas a cada 24 h, a partir do momento da injeção, por sete dias. Para as coletas de amostras de sangue foram usados tubos a vácuo contendo heparina. As excreções totais diárias de urina e fezes foram registradas e alíquotas de 10% foram tomadas e homogeneizadas para análise subseqüente. Foram realizadas coletas de saliva e líquido do rúmen e de sobras de feno, sempre antes da alimentação matinal. A saliva foi obtida com o auxílio de pinça metálica e pequenas esponjas diretamente da boca dos animais. Para as coletas de líquido do rúmen foram utilizadas sondas esofágicas de, aproximadamente, 1,2 m de comprimento, contendo furos laterais nos 10 cm de uma das extremidades.

3.3.1 Sangue

Imediatamente após a colheita, as amostras de sangue foram centrifugadas a 1800 *g* em centrífuga DAMON IEC/DIVISION, por 10 minutos, para separar o plasma das células. Para a detecção da radioatividade, foi adicionado 1 mL do sobrenadante a 19 mL de água destilada em frascos de cintilação, sendo obtida a leitura através do efeito Cerenkov (IAEA, 1979), em espectrofotômetro Beckman LS 5000 - TA, equipado com circuito de coincidência, três canais de contagem simultâneos e uma

fonte radioativa de ^{137}Cs para a padronização externa automática (NASCIMENTO FILHO, 1977).

Para a determinação do P inorgânico nas amostras de sangue, 0,5 mL de plasma foi misturado a 4,5 mL de ácido tricloroacético (10%) para precipitação das proteínas. Após 10 minutos em repouso no escuro, o material foi centrifugado a 1800 *g*, durante 10 min, e o sobrenadante separado para análise colorimétrica. O método para a determinação de P inorgânico baseia-se na formação de fosfomolibdato de amônio, com a subseqüente redução para azul de molibdênio, sendo a leitura realizada em fotocolorímetro a 660 nm (FISKE; SUBBAROW, 1925).

3.3.2 Fezes

Após a colheita das amostras, 10% do total diário foram macerados e homogeneizados. Alíquotas de 1g de fezes foram pré-secas a 60 ºC, secas a 100 ºC e posteriormente, as cinzas foram obtidas (500 ºC). Para a determinação do ^{32}P, foi feita, inicialmente, digestão clorídrica. Esta digestão consistiu em se adicionar às cinzas 10 ml de água destilada mais 5 mL de ácido clorídrico. Após digestão em chapa aquecida, 1 mL da amostra foi transferido para frascos de contagem contendo 19 mL de água destilada e a radioatividade medida por efeito Cerenkov.

Para a análise do P inorgânico, após a digestão clorídrica, as amostras foram filtradas e o volume foi completado para 100 mL. A determinação do P inorgânico foi obtida pelo método colorimétrico do vanadato-molibdato, segundo metodologia de Sarruge e Haag (1974).

3.3.3 Urina, saliva e líquido ruminal

Para a determinação da radioatividade, 1 mL de amostra foi adicionado a 19 mL de água destilada contida em frascos de cintilação e a radiação determinada pelo efeito Cerenkov. Para aumentar a eficiência de medição e diminuir o efeito de *quenching* de cor nas amostras foram preparados cinco padrões de mesma atividade com soluções de diferentes concentrações de alaranjado de metila, constituindo curva de *quenching* crescente para a correção da medida da radioatividade nas amostras coloridas.

Para a determinação do P inorgânico nas amostras de urina, saliva e líquido ruminal, 0,5 mL de amostra foi misturado a 4,5 mL de ácido tricloroacético (10%) para precipitação das proteínas. Após 10 minutos em repouso no escuro, o material foi centrifugado a 1800 *g*, durante 10 min e o sobrenadante separado para análise colorimétrica (FISKE; SUBBAROW, 1925). As amostras de saliva e líquido do rúmen foram diluídas na proporção de 1:20 com água destilada antes de serem misturadas ao ácido.

3.4 Parâmetros avaliados

Os parâmetros avaliados no presente experimento foram: consumo de MS, consumo de P, teor de P nas fezes, urina, plasma, saliva, líquido do rúmen, excreção endógena P, absorção real de P, retenção de P e meia-vida biológica do P.

O consumo de MS, e o consumo de P foram calculados a partir das análises químicas do concentrado e feno e da observação diária de consumo e sobras de alimento durante todo o experimento.

Os valores de P nas fezes e na urina foram obtidos a partir da análise do P inorgânico e dos dados de excreção diária fecal e urinária. Os parâmetros P endógeno, absorção real, P retido e a meia-vida biológica foram calculados a partir dos dados de P inorgânico e das medidas de radioatividade do P, de acordo com as equações apresentadas nos itens 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3.

3.4.1 Perda endógena fecal de P

A porcentagem de P de origem endógena, utilizando-se a técnica de diluição isotópica (LOFGREEN; KLEIBER, 1953), foi obtida utilizando a seguinte equação:

$$\% P_{endógeno} = \frac{AE_{fz}}{AE_{pl}} \times 100 \qquad (3)$$

onde AE_{fz} e AE_{pl} representam as atividades específicas nas fezes e no plasma, respectivamente, e são dadas por:

$$AE_{fz} = \frac{A_{amostra} / A_{padrão}}{\text{mg de P em 1 g de fezes}} \quad (Bq) \qquad (4)$$

$$AE_{pl} = \frac{A_{amostra} / A_{padrão}}{\text{mg de P em 1 mL de plasma}} \quad (Bq) \qquad (5)$$

onde $A_{amostra}$ e $A_{padrão}$ representam as medidas da radioatividade da amostra e do padrão, respectivamente.

A perda endógena fecal foi calculada de acordo com:

$$P_{endógeno} = \% P_{endógeno} \times P_{excretado} \quad (g\ dia^{-1}) \qquad (6)$$

onde $P_{excretado}$ corresponde ao P total excretado nas fezes, em g dia^{-1}, que foi obtido através de :

$$P_{excretado} = \% P_{fz} \times Q_{fz} \quad (g\ dia^{-1}) \qquad (7)$$

sendo, $\% P_{fz}$ = porcentagem de P nas fezes e

Q_{fz} = quantidade diária de fezes (g dia^{-1}).

3.4.2 Absorção real de P

A absorção real de P (Abs_{real}) foi obtida pela equação:

$$Abs_{real} = P_{cons} - (P_{excr} - P_{end}) \quad (g\ dia^{-1}) \qquad (8)$$

onde, P_{cons} é o P consumido diariamente, P_{excr} é o P excretado diário e P_{end} representa o P endógeno total por dia.

3.4.3 Retenção de P

A retenção de P foi dada pela relação:

$$P_{retido} = P_{consumido} - (P_{excretado} - P_{urina}) \quad (g\ dia^{-1}) \qquad (9)$$

3.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, constituído por dois blocos, quatro tratamentos e seis repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância através do uso do software SAS (SAS, 2000). Também foi testada a correlação entre os parâmetros estudados e regressões foram feitas para os parâmetros que apresentaram correlação entre si.

O quadro geral de análise de variância para os parâmetros analisados encontra-se a seguir:

Tabela 2. Parâmetros de análise da variância

Fonte de Variação	G. L.	QM[1]												
		PV	**MScons**	**Pcons**	**Ppl**	**Puri**	**Pfec**	**Pend**	**Abs. real**	**Ef. Abs.**	**Pret**	**Psal**	**Prum**	**$T_{1/2}$**
Tratamentos	3	0,5278^{ns}	0,0082^{ns}	40,7689**	6,8252^{ns}	454,3419^{ns}	31,1526**	4,4744**	9,5963**	0,0496*	1,2035*	715,8721*	1329,5083**	808,4942**
Blocos	1	9,3750^{ns}	0,1775*	0,0368^{ns}	0,1148^{ns}	13,8184^{ns}	0,7455^{ns}	2,2878**	0,7176^{ns}	0,0092^{ns}	0,4620^{ns}	41,3438^{ns}	787,3022^{ns}	1764,2205**
Trat. x Blocos	3	2,1250^{ns}	0,0189^{ns}	0,0758^{ns}	0,8986^{ns}	133,9323^{ns}	0,1805^{ns}	0,3187^{ns}	0,7146^{ns}	0,0143^{ns}	0,3064^{ns}	251,5936^{ns}	146,0006^{ns}	50,4661^{ns}
Resíduo	16													
Total	**23**													

[1]quadrado médio
^{ns} não significativo
** significativo a 1% (P<0,01)
* significativo a 5% (P<0,05)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes aos efeitos das diferentes concentrações de P na dieta para ovinos, sobre as variáveis relacionadas ao metabolismo são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Efeitos dos teores crescentes de inclusão de P na dieta sobre os parâmetros relacionados ao metabolismo de ovinos.

	Tratamentos				
Parâmetros	**T0**	**T2**	**T4**	**T6**	**CV**
Peso vivo (kg)	33,92	33,92	33,33	33,50	4,46^{ns}
Consumo de MS (kg dia^{-1})	0,92	0,96	0,98	0,90	7,51^{ns}
P consumido (g dia^{-1})	1,47	3,53	5,69	7,47	5,41**
P plasma (mg dL^{-1})	6,66	7,91	8,78	9,02	21,56^{ns}
P urina (mg dia^{-1})	3,41	10,25	20,29	7,38	113,97^{ns}
P fezes (g dia^{-1})	1,10	3,18	4,40	6,55	11,85**
P endógeno fecal (g dia^{-1})	0,60	1,60	2,41	2,43	22,44**
Absorção real (g dia^{-1})	0,97	1,95	3,70	3,36	21,55**
Eficiência absorção	0,66	0,55	0,64	0,45	16,78*
P retido (g dia^{-1})	0,37	0,34	0,97	0,61	78,86*
P saliva (mg dL^{-1})	50,79	61,26	75,86	70,02	21,19*
P liq. ruminal (mg dL^{-1})	53,88	71,66	84,60	85,91	15,04**
$T_{1/2}$ (h)	88,84	77,22	65,46	63,95	12,67**

* significativo, a 5% (P < 0,05)
** significativo, a 1% (P < 0,01)
^{ns} não significativo

Foram realizados testes de correlação entre os parâmetros avaliados (Tabela 3) e para as correlações que apresentaram coeficientes maiores do que 70% foram feitas as análises de regressão.

Tabela 4. Coeficientes de correlação e nível de significância para análise de correlação entre os parâmetros analisados.

	P cons	**P fec**	**P end**	**P saliva**	**P rum**	**Abs real P**
P cons	1	0,96**	0,79**	0,51*	0,71**	0,85**
P fec		1	0,80**	0,47*	0,71**	0,75**
P end			1	0,52**	0,72**	0,89**
P saliva				1	0,81**	0,56**
P rúmen					1	0,66**
Abs real P						1

P cons: fósforo consumido; **P fec**: fósforo excretado nas fezes; **P end**: fósforo endógeno fecal; **P sal**: fósforo na saliva; **P rum**: fósforo no líquido ruminal; **Abs real P**:absorção real de fósforo.
* significativo, a 5% (P < 0,05)
** significativo, a 1% (P < 0,01)

As análises de regressão para o consumo de MS e peso vivo não foram significativas em relação ao P ingerido. Isso pode ser decorrente do curto período de suplementação de P não suficiente para interferir no consumo de matéria seca (LOUVANDINI; VITTI, 1994; WU et al., 2003).

A suplementação de P fornecida aos animais resultou em variação no consumo de P (1,47, 3,53, 5,69, 7,47 g dia^{-1}). Segundo o NRC(1985), a suplementação ideal de P para ovinos de 30 kg é de 3,2 g dia^{-1}. De acordo com recomendações mais recentes (NRC, 2007), o suplemento de P para ovinos de 30 kg, idade de 8 meses e ganho médio de peso diário de 200 g é de 3,6 g dia^{-1}. O NRC (2007) não contempla animais em mantença, com idade de 8 meses e peso médio de 30 a 40 kg, como nas condições do presente experimento. Resultados de trabalhos com ovinos adaptados a climas tropicais e subtropicais demonstram que a

suplementação adequada para ovinos nestas condições climáticas, que são diferentes das dos animais de referência representados no NRC, estão em torno de 4,5 g (LOUVANDINI; VITTI, 1994; DIAS et al., 2007).

As concentrações de P fornecidas neste experimento foram consideradas abaixo das exigências, tratamento T0 (1,47 g dia^{-1}) e tratamento T2 (3,53 g dia^{-1}) e superior às recomendações, tratamentos T4 (5,69 g dia^{-1}) e T6 (7,47 g dia^{-1}) de acordo com os resultados dos trabalhos supracitados.

Os valores médios encontrados para os teores de P no plasma estão dentro da faixa de 4 a 9 mg P dL^{-1} considerada normal (UNDERWOOD, 1981; McDOWELL, 1992; NRC, 1985). Silva Filho (1995), em estudo com ovinos suplementados com 2 g P dia^{-1} provenientes de várias fontes de P não observou diferença significativa no valor de P no plasma, embora o valor médio para o conteúdo plasmático de P relatado no trabalho tenha sido inferior ao do presente experimento (4,28 mg P dL^{-1}).

Os teores de P no plasma referentes ao tratamento T2 (3,53 g P dia^{-1}) foram semelhantes aos encontrados por Vitti, Abdalla e Silva Filho (1991), que forneceram 4 g P para cada ovino por dia (7,50 mg P dL^{-1}), enquanto que os resultados da quantidade de P no plasma referente ao tratamento T0 foram similares aos observados por Borges (2007) que, em estudo com cordeiros de peso médio 27 kg, encontrou os valores 5,99, 7,29 e 7,58 mg dL^{-1} para consumos de P de 1,87, 2,54 e 3,24 g dia^{-1}.

No presente experimento, embora os valores de P plasmático tenham aumentado com a ingestão do mineral não foi encontrada correlação significativa entre o consumo de P e as concentrações plasmáticas deste mineral. Estes resultados estão de acordo com aqueles observados por Morse et al. (1992), Silva Filho (1995) e Portillo et al. (2006).

Braithwaite (1985) relatou correlação positiva entre os teores de P no plasma e o consumo de P em ruminantes, embora os valores de ingestão de P tenham sido, em média, inferiores ao do presente trabalho.

Borges (2007), em experimento com ovinos da mesma raça utilizada neste experimento, fornecendo dietas com quantidades de P 25% menor, adequada e 25% superior ao recomendado (NRC, 1985) encontrou correlação positiva entre os valores do consumo de P e as concentrações séricas do mineral no plasma (r = 0,64), entretanto, a partir de 2,5 g P por animal ao dia houve estabilização do P plasmático em torno de 7,44 mg dL^{-1}.

Braithwaite (1984) e Morse et al. (1992) indicam que, de um modo geral, não há uma boa relação entre o consumo de P e a concentração de P no plasma porque a homeostase de P é mantida através de mecanismos ajustados à condição fisiológica do animal e fatores como idade, consumo, espécie e estado nutricional também interferem nessa relação. Esses fatos podem justificar as contradições apresentadas em resultados de pesquisas realizadas para verificar a existência de correlação entre o consumo de P e os teores plasmáticos do mineral (SILVA FILHO, 1995; PORTILLO et al., 2006).

Os valores médios de P excretados via urina (Tabela 2) apresentaram grande variação resultando no cálculo do P retido não significativo em relação ao P ingerido.

Field e Wooliams (1984) e Reis, Graca e Mauricio (1999), relataram que a excreção de P na urina mostrou coeficientes de variação maiores que 100%. Variações individuais na excreção de P pela urina também foram observadas por Scott et al. (1985).

A maior parte dos valores de P na urina ficou em torno de 2% do P ingerido que foi irrelevante, confirmando os resultados da literatura, os quais citam que a excreção

renal de P em ovinos está entre 1 a 2% do P ingerido (BRAITHWAITE, 1985; LOUVANDINI; VITTI, 1994; BUENO; VITTI, 1999; VITTI et al., 2000; BORGES, 2007). A excreção pela via urinária é relevante em condições determinadas, geralmente, por características individuais (FIELD; KAMPHUES; WOOLIAMS, 1983; FIELD; WOOLIAMS; DINGWALL, 1985) ou restrição alimentar baseada em altos teores de concentrado ou forma da dieta (SCOTT; BUCHAN,1987). Possivelmente, em função dessa variação nos valores de P urinário, as análises de correlação entre o conteúdo de P na urina e os teores de P no plasma, na saliva e no líquido ruminal também não apresentaram significância.

Challa e Braithwaite (1989) sugerem que a excreção de P urinário não é significante até que a concentração de P plasmático exceda de 6 a 9 mg dL^{-1}, correspondente ao limiar renal, ou seja, do limite da capacidade de reabsorção dos túbulos renais. No presente trabalho, para concentrações elevadas de P, principalmente no tratamento T4, foram observadas excreções urinárias maiores que as consideradas normais. Entretanto, não se pode afirmar que a maior excreção urinária nessas situações se deve apenas à maior ingestão de P, uma vez que outros animais do mesmo tratamento não apresentaram tal comportamento. É mais provável que uma combinação de fatores tais como características individuais, alta ingestão de P e forma de coleta tenham contribuído, de forma ocasional, para uma maior excreção via urina, o que pode justificar também o alto coeficiente de variação nos valores de P na urina encontrados neste trabalho.

Para valores de ingestão diária de 1,47, 3,53, 5,69 e 7,47 g P por animal, a excreção de P nas fezes apresentou os valores médios 1,10, 3,18, 4,40 e 6,55 g P dia^{-1}, respectivamente. Os dados de excreção de P nas fezes corresponderam, em média, a 84% do P ingerido.

Louvandini (1995) fornecendo farinha de ossos a ovinos suplementados com diferentes concentrações de P encontrou para o teor de P nas fezes 64% da quantidade do P ingerido. Vitti, Abdalla e Silva Filho (1991), relataram excreção fecal da ordem de 72% do P ingerido, fornecendo fosfato bicálcico a ovinos. Borges (2007), alimentando cordeiros com dieta basal composta de milho, farelo de soja e polpa cítrica e suplementados com duas concentrações de fosfato bicálcico encontrou P nas fezes dos animais igual a 64% do P ingerido.

O P fecal é uma combinação de P exógeno, proveniente da dieta e que não foi absorvido e P endógeno não absorvido (McDOWELL, 1992). Os resultados de excreção estão acima dos valores apresentados na literatura que relatam que o P excretado via fezes corresponde a, aproximadamente, 70% do P consumido (BRAITHWAITE, 1985; VITTI, ABDALLA; SILVA FILHO, 1991; BRAVO et al., 2003b). Os valores encontrados para a excreção fecal neste experimento estão, portanto, elevados quando comparados com outros trabalhos similares.

Em estudos com bovinos, vários autores relatam que a excreção fecal de P aumenta com o consumo do mineral (SILVA FILHO et al., 2000; WU; SATTER; SOJO, 2000).

Foi observada, na maioria dos trabalhos com ovinos, correlação positiva significativa entre o consumo e a excreção fecal de P. Vários autores que ofereceram diferentes concentrações de P na dieta provenientes de fontes variadas de P, também relataram efeito do consumo na excreção fecal de P (LOUVANDINI; VITTI, 1994; LOUVANDINI, 1995; BUENO; VITTI, 1999; BRAVO et al., 2003b; BORGES, 2007).

Portillo et al. (2006), em experimento com cordeiros alimentados com fosfato bicálcico, com teores de ingestão diária de P de 0,0, 1,5, 3,0 e 4,5 g P por animal,

encontraram valores de excreção correspondentes a 1,40, 2,89, 4,10 e 5,52 g P dia^{-1}, mostrando que a excreção aumenta com o aumento do consumo de P.

No presente experimento, foi observada correlação altamente significativa (r = 0,96; *P*<0,01) entre o consumo e a excreção de P e a análise de regressão indicou uma relação linear entre essas variáveis (P_{fec} = 0,86P_{cons} - 0,08; R^2 = 0,92; *P*<0,01; Figura 2).

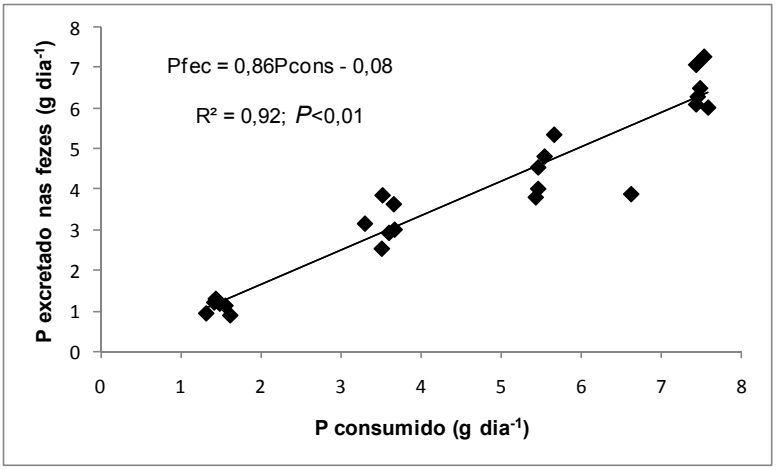

Figura 2. Relação entre a excreção fecal e o consumo de P em ovinos alimentados com diferentes concentrações do mineral na dieta

Atualmente, principalmente em países da Europa, há uma crescente preocupação com os elevados valores de excreção fecal de P pelos animais domésticos por ser esta uma via de possível contaminação de solos e águas subterrâneas. Vários trabalhos (KNOWLTON et al., 2004; KLEINMAN et al., 2005) verificaram que a contaminação de solos e águas já é alarmante em algumas condições de pastejo e, juntamente com o manejo inadequado das excretas animais na sua utilização como fertilizantes nos processos agrícolas (MONAGHAN et al.,

2007), torna os sistemas de produção agrícola objetos atuais de estudo para a busca da sustentabillidade ambiental nas fazendas de produção animal intensiva (JONGBLOED; VALK, 2004; WHITERS et al., 2007).

A excreção endógena média de P nas fezes variou entre 0,60 e 2,43 g P por dia e correspondeu, em média, a 46% do P total excretado e a 39% do P ingerido. Silva Filho (1990), em trabalho com bovinos, encontrou 52% para a porcentagem de P endógeno nas fezes. Os resultados observados no presente experimento concordam Vitti, Abdalla e Meirelles (1992) que forneceram 4 g P dia^{-1} para ovinos de várias fontes e relataram que a porcentagem de P endógeno nas fezes foi de 45% em relação ao P excretado e de 33% em relação ao P ingerido para o fosfato bicálcico. Godoy e Chicco (2002), alimentando ovinos de 25 kg com vários fosfatos, verificou, para o fosfato bicálcico, uma perda endógena fecal média de 0,64 g P dia^{-1} correspondente a 38% do total excretado e a 17% do P ingerido.

De acordo com o ARC (1980), a perda endógena fecal de P permanece constante (10 a 14 mg P kg^{-1} de PV) e igual àquela que corresponde a zero de ingestão do mineral até que o animal atinja as suas necessidades. Challa e Braithwaite (1988), porém, demonstraram que a perda endógena de P em bovinos não é constante e está relacionada ao P ingerido, representando um importante mecanismo na homeostase desse mineral, o que também foi observado por Silva Filho et al. (2000).

Vários estudos relatam relação linear entre o consumo de P e o teor de P endógeno nas fezes (BRAITHWAITE, 1985; MARTZ et al., 1999; BUENO; VITTI, 1999; BRAVO et al., 2003b). Outros autores (LOUVANDINI, 1995; PORTILLO et al., 2006) observaram relação exponencial entre essas variáveis. No presente trabalho

foi observada correlação positiva entre a quantidade de P endógeno e o consumo de P (r = 0,78; *P*<0,01).

A análise de regressão entre o consumo de P e os teores de P endógeno nas fezes apresentou uma relação linear entre esses parâmetros (P_{end} = 0,31Pcons + 0,36; R^2 = 0,62; *P*<0,01; Figura 3).

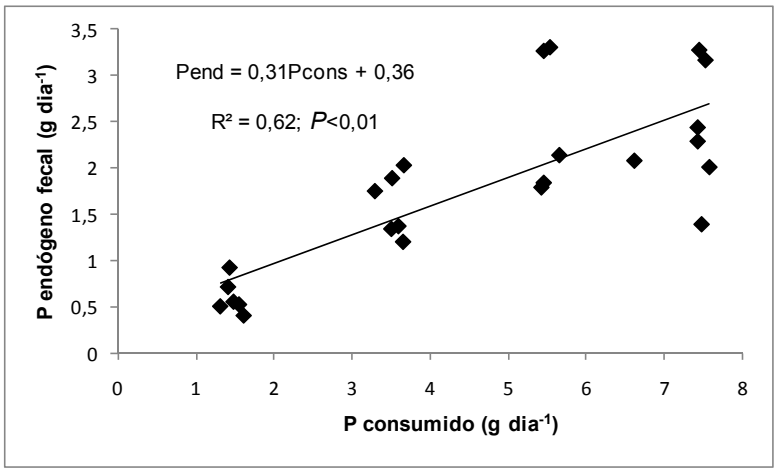

Figura 3. Relação entre o teor de P endógeno nas fezes e o consumo de P para ovinos alimentados com diferentes concentrações do mineral na dieta.

Neste trabalho, considerando zero de ingestão, a perda endógena mínima diária para os animais nas condições estudadas foi de 10,69 mg P kg^{-1} de PV ou 0,36 g P, superior ao limite apresentado pelo ARC (1980).

Bueno e Vitti (1999), fornecendo 0, 1 e 2 g de P suplementar para caprinos, verificaram perda endógena fecal mínima foi de 10,36 mg P kg^{-1} PV ou 0,36 g P ao dia. Em estudo com ovinos, Louvandini & Vitti (1994) observaram perda endógena fecal mínima de 10,65 mg P kg^{-1} PV ou 0,43 g P ao dia para valores de P ingerido de 0, 1, 2 e 3 g provenientes da farinha de ossos. Neste trabalho, considerando zero de ingestão, a perda endógena mínima diária para os animais nas condições estudadas

foi de 10,69 mg P kg^{-1} PV ou 0,36 g P dia^{-1}, que concorda com os resultados dos autores acima citados mas foi superior ao limite apresentado pelo ARC (1980).

Quando se analisam os valores médios de P endógeno na Tabela 2, parece haver estabilização na quantidade dessa variável em torno de 5 g de consumo, correspondente a 169 mg P kg^{-1} PV, contrastando com resultados obtidos por Louvandini e Vitti (1984) e Louvandini (1995) que obtiveram estabilização nos valores de P endógeno a partir de 100 mg $kg^{-}1$ PV de ingestão de P. Isso se deve, provavelmente, à diferença entre raças e peso dos animais nos dois experimentos bem como do tipo de suplementação mineral utilizada, já que os animais utilizados pertenciam à raça Suffolk e receberam suplementação em P através de farinha de ossos.

Devido a isto, foi também testada a significância de curva exponencial entre e a excreção fecal endógena e o consumo de P. Os dados se ajustaram significativamente à seguinte equação: $P_{end} = -0,82 + 3,59\ (1 - e^{-0,34P_{cons}})$, $R^2 = 0,68$; $P<0,01$; Figura 4), mostrando que a estabilização nos valores de P endógeno estão em torno de 5 g P de consumo.

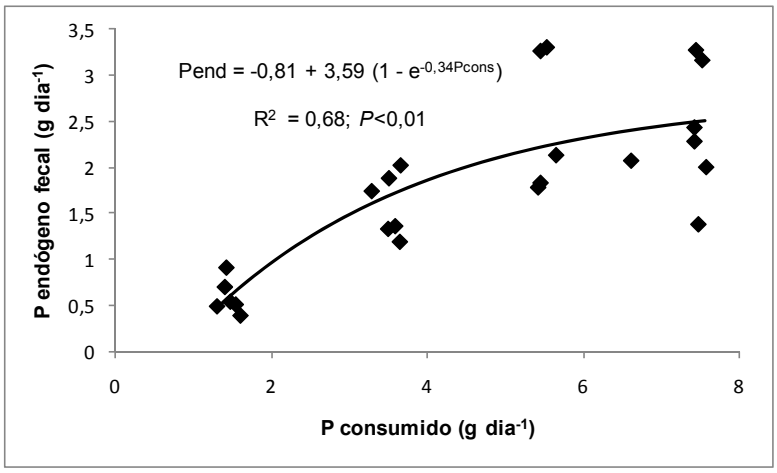

Figura 4. Relação exponencial entre o teor de P endógeno nas fezes e o consumo de P para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta.

De acordo com Braithwaite (1984) e Scott et al. (1985), a perda endógena fecal é diretamente relacionada ao consumo e à absorção. Nesse aspecto, os dados do presente trabalho sugerem que a estabilização nos valores do P de origem metabólica indica que houve correspondente limitação na absorção. Isso é confirmado pela alta correlação (0,89) observada entre o P endógeno e a absorção real. A análise de regressão entre esses parâmetros mostrou uma relação linear altamente significativa (P_{abs} = 1,16P_{end} + 0,40; R^2 = 0,80; *P*<0,01; Figura 5).

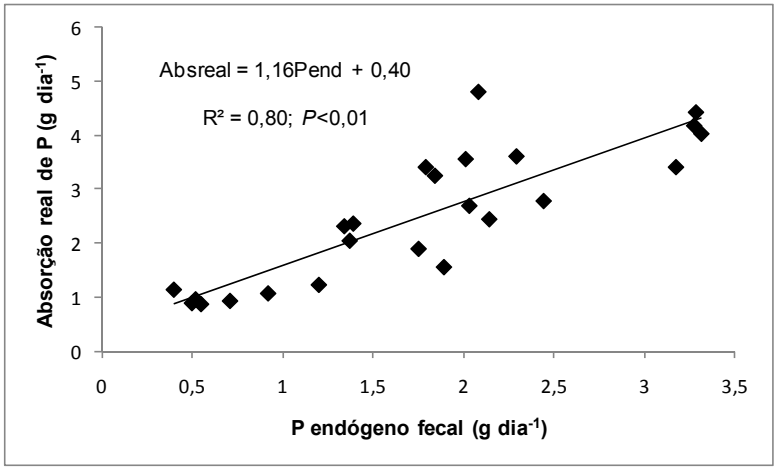

Figura 5. Relação entre a absorção real de P e os teores de P endógeno nas fezes para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta.

Essa relação entre P endógeno e absorção real de P corrobora a afirmação de que ocorre uma estabilização nos valores de P endógeno e limitação na absorção do mineral, o que pode ser visto pelos valores médios de P endógeno e da absorção real de P a partir do tratamento T4, considerado limitante, portanto, para a absorção de P. Logo, pelos dados do presente trabalho, suplementação de P acima de 5 g na dieta não acarretará maior absorção do mineral que será excretado nas fezes. Isso é confirmado também pela alta excreção da fração exógena do P no tratamento T6 (4,12 g), aumentando a preocupação referente à possibilidade de contaminação de

solos pela excreta dos animais domésticos quando teores elevados de P são fornecidos pela dieta.

Foi observada correlação entre o teor de P no líquido ruminal (r = 0,72; *P*<0,01) e o P endógeno fecal e a análise de regressão demonstrou ser a relação linear P_{rum} = 13,94P_{end} + 49,51 (R^2 = 0,52; *P*<0,01; Figura 6) a mais adequada entre essas variáveis. Essa relação era esperada uma vez que a reciclagem de P endógeno ocorre entre os diversos compartimentos do TGI e os teores de secreção endógena de P se refletem nas concentrações de P no líquido ruminal.

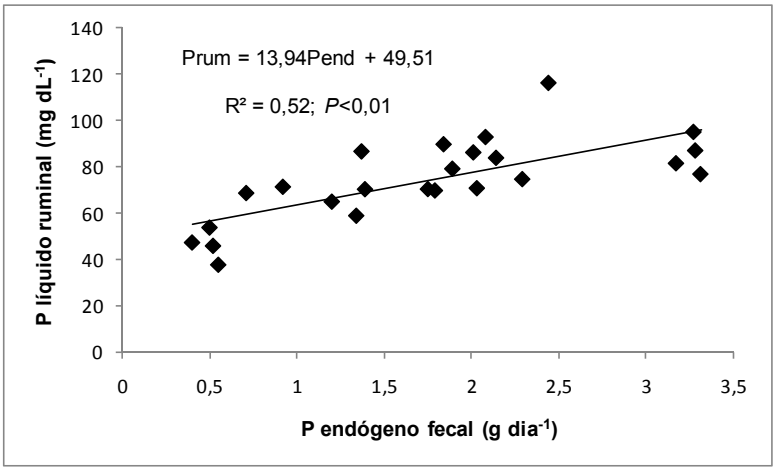

Figura 6. Relação entre o teor de P no líquido ruminal e o P endógeno fecal para ovinos suplementados com diferentes quantidades de P.

Para os valores de ingestão de P de 1,47, 3,53, 5,69 e 7,47 g P d^{-1} os valores de absorção real foram 0,97, 1,95, 3,52 e 3,36 g P d^{-1} para os tratamentos T0, T2, T4 e T6, respectivamente. A eficiência de absorção de P é a relação entre a absorção e o consumo do mineral e os valores acima correspondem a uma eficiência de absorção de 0,66, 0,55, 0,64 e 0,45 (T0, T2, T4 e T6), tendo como valor médio 0,55.

Em média, os valores de eficiência de absorção expressos em porcentagem do P consumido foram 55%. Este valor representa a disponibilidade biológica do mineral.

Vitti, Abdalla e Silva Filho (1991) e Vitti, Abdalla e Meirelles (1992) em trabalhos com ovinos suplementados com fosfato bicálcico encontraram valores de eficiência de absorção de 0,43 e 0,62, respectivamente, e Godoy e Chicco (2005), em experimento semelhante obtiveram valor de 0,75. Estes últimos autores forneceram menor quantidade de P (1,97g ao dia) enquanto os primeiros forneceram 4g ao dia. A maior eficiência encontrada por Godoy e Chicco (2005) pode ser explicada pela menor quantidade ingestão de P.

Portillo et al. (2006) também fornecendo 4,5 g de P por animal ao dia obtiveram valor de eficiência de absorção de 0,67 para o fosfato bicálcico.

As diferenças observadas na eficiência de absorção podem ser devidas à quantidade de P ingerido, à características individuais dos animais (ARC, 1980) e à genética dos mesmos (FIELD; KAMPHUES; WOOLIAMS, 1983).

Embora baixos, quando comparados com outros autores, os valores de absorção real estão dentro dos limites de 50 a 70% assinalados pela literatura (LONG et al., 1956; LOFGREEN, 1960; VITTI, 1989).

Foi encontrada relação exponencial significativa entre a absorção real de P e o consumo do mineral dada pela equação: $Abs_{real} = -0,49 + 4,99(1 - e^{-0,22P_{cons}})$, $R^2 = 0,76$; $P<0,01$ (Figura 7). Essa equação permite avaliar o comportamento limitante na absorção de P em torno de 5 g, ou seja, próximo ao valor de consumo de 5,69 g P ao dia (tratamento T4). Isso pode indicar a existência de saturação nos mecanismos de absorção de P (LOUVANDINI; VITTI, 1994), indicando que houve excesso de P no lúmen intestinal nesses tratamentos. Quando absorvido, o P é

distribuído no organismo pelo plasma; após saturação no organismo, o excesso é secretado via saliva, seguindo para o rúmen e, quando chega ao intestino, há uma menor reabsorção e uma maior excreção via fezes (BORGES, 2007).

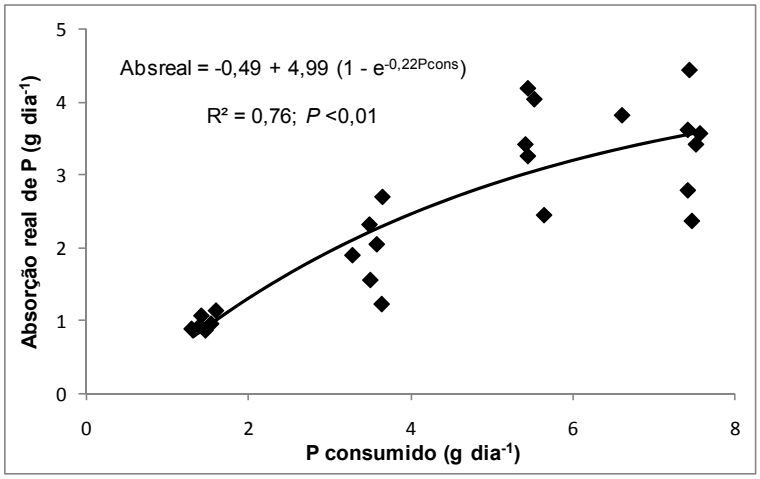

Figura 7. Relação entre a absorção e o consumo de P para ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta.

Esses resultados e a análise de regressão entre o P endógeno e a absorção real de P já mencionada anteriormente, corroboram os valores fornecidos pelo trabalho de Dias et al. (2007), no qual o valor ideal de consumo de P em ovinos é de 4,5 g P dia^{-1} por animal. Valores superiores a 4,5 g P dia^{-1} para cada animal, portanto, podem ter como conseqüência maior excreção pelas fezes sem representar aumento da absorção, resultado que também foi evidenciado pelo presente trabalho.

Isso pode indicar a existência de saturação nos mecanismos de absorção de P (LOUVANDINI; VITTI, 1994), indicando que houve excesso de P no lúmen intestinal nesses tratamentos. Quando absorvido, o P é distribuído no organismo pelo plasma. Após saturação no organismo, o excesso é secretado via saliva,

seguindo para o rúmen e, quando chega ao intestino, há uma menor reabsorção e uma maior excreção via fezes (BORGES, 2007).

Os valores de retenção de P foram 0,37, 0,34, 1,21 e 0,91 g P dia^{-1} para os tratamentos T0, T2, T4 e T6, respectivamente (Tabela 3); entretanto, esses dados apresentaram grande variação, conforme observado pelo coeficiente de variação. Isto se deve ao fato da variação obtida no teor de P na urina (Tabela 2) e já discutido anteriormente. Considerando-se os valores de retenção médios em relação ao P consumido, obtém-se valor de 16%. Esse resultado é similar ao obtido por Portillo et al. (2006). Já Louvandini e Vitti (1994), fornecendo farinha de ossos como suplementação em P na faixa de 0 a 3 g P por animal ao dia observaram valor mais elevado (34%).

Não houve correlação significativa entre o teor de P retido e o consumo de P devido à variação nos dados de urina, o que impossibilitou os cálculos de exigências mínimas em P para os animais estudados. As exigências míninas são calculadas a partir da curva entre a retenção e o consumo de P, considerando-se zero de retenção.

Os valores encontrados para o P presente no líquido do rúmen foram: 53,88; 71,66; 84,60 e 85,91 mg P dL^{-1}, respectivamente, para os tratamentos T0, T2, T4 e T6, apresentando valor médio de 74,01 mg P dL^{-1}.

Os teores de P encontrados no conteúdo ruminal, na menor ingestão de P (1,47 g dia^{-1}), foram, em média, 53,88 mg P dL^{-1}. Estes valores estão dentro da faixa de 20 a 60 mg P dL^{-1}, considerada normal para um bom desenvolvimento dos microrganismos do rúmen, para os quais o P é um nutriente limitante (BRYANT, ROBINSON;CHU, 1959; WITT; OWENS, 1983).

Esses resultados estão acima dos obtidos por Silva Filho (1995) que forneceu diariamente 1,79; 2,76; 3,77 e 4,75 g P dia^{-1} através de farinha de ossos a ovinos e obteve valores crescentes de P ruminal entre 54,33 a 63,85 mg P dia^{-1}. Borges (2007), fornecendo fosfato bicálcico a cordeiros Santa Inês, encontrou valores para os teores ruminais de P de 48,64, 70,48 e 75,41 mg dL^{-1}, para ingestão de 1,87, 2,54 e 3,23 g P por animal ao dia. Esses valores estão de acordo com os encontrados para os tratamentos T0 e T2.

Os valores elevados do teor de P no rúmen indicam que a reciclagem via saliva foi alta e que, se o P ficou totalmente disponível nesse compartimento, foi assegurada a máxima eficiência de digestão possível (WITT; OWENS, 1983).

Verificou-se relação linear entre os teores de P no rúmen e o consumo de P dada através da equação P_{rum} = 5,45P_{cons} + 49,28 (R^2 = 0,51; *P*<0,01; Figura 8). Relação linear significativa entre o conteúdo de P no rúmen e o consumo do mineral também foi encontrada por Borges (2007).

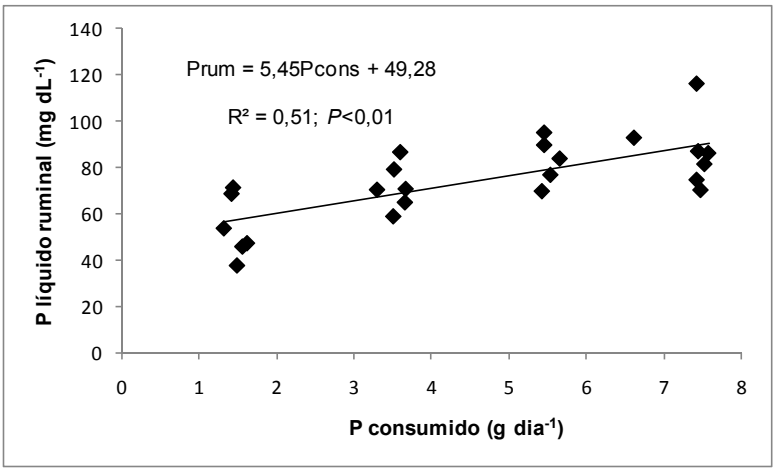

Figura 8. Relação entre o teor de P no líquido ruminal e o consumo de P em ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta.

O teor médio do conteúdo de P na secreção salivar correspondeu, em média, a 87% do P presente no rúmen. As secreções salivares de P constituem 80% do P endógeno reciclado no TGI e dependem do consumo de MS, usualmente combinado com P ingerido e o conteúdo de fibra da dieta (VALK; METCLAF; WITHERS, 2000; BRAVO et al., 2003a).

Foi encontrada correlação entre as concentrações salivares de P e os teores de P no rúmen (r = 0,80; *P*<0,01). Observou-se relação linear entre essas variáveis (P_{rum} = 0,89P_{sal} + 16,86; R^2 = 0,65; *P*<0,01; Figura 8). Essa relação era esperada, uma vez que os ruminantes secretam dentro do rúmen grandes quantidades de saliva, a qual supre, em grande parte, as necessidades de P dos microrganismos (SCOTT; BUCHAN, 1988; TERNOUTH, 1990), compondo o P endógeno.

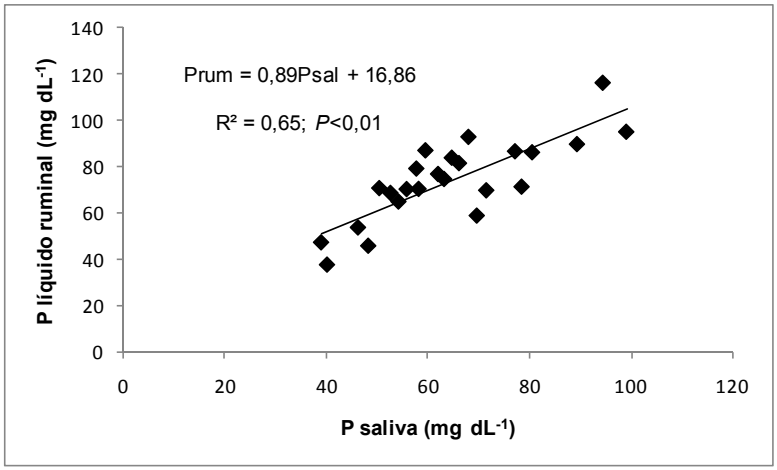

Figura 8. Relação entre os teores de P no líquido ruminal e na saliva em ovinos suplementados com diferentes concentrações do mineral na dieta.

Bueno e Vitti (1999), trabalhando com caprinos que receberam dietas com 0, 1 e 2 g de P, observaram que as concentrações de P na saliva foram de 80,20; 83,99 e 89,39 mg dL^{-1}, respectivamente. Esses resultados estão acima dos valores

encontrados para todos os tratamentos neste trabalho. Isso pode ser devido à diferença entre as raças estudadas e às dietas oferecidas.

Utilizando técnica semelhante para a coleta de saliva, os teores de P salivar encontrados neste trabalho para ingestão de P correspondente aos tratamentos T0 (1,47 g P dia^{-1}) e T2 (3,53 g P dia^{-1}) são semelhantes aos observados por Borges (2007), que observou valores médios de P salivar de 42,91, 62,82 e 69,78 mg dL^{-1} para as quantidades de P ingerido de 1,87, 2,54 e 3,23 g, respectivamente.

Não houve correlação entre os teores de P no plasma e a concentração salivar de P mas esta correspondeu, em média, a 9 vezes as concentrações plasmáticas de P, estando um pouco abaixo dos valores indicados pelo AFRC (1991), de cerca de 10 a 15 vezes os valores de P no plasma, também relatados por Challa, Braithwaite e Dhanoa (1989).

No presente trabalho a meia-vida biológica ($T_{1/2}$) apresentou os valores médios 88,84, 77,22, 65,46 e 63,95 h para os tratamentos T0, T2, T4 e T6, respectivamente, sendo o valor médio para os tratamentos igual a 75,88 h.

Silva Filho (1990), em estudo com bovinos, encontrou valores de $T_{1/2}$ em torno de 113,05 h para o fosfato bicálcico. Os resultados do presente estudo estão abaixo dos encontrados por Louvandini (1995) que obteve um valor médio para a meia-vida biológica em ovinos alimentados com níveis crescentes de P proveniente de farinha de ossos de 95,98 h.

Vitti (1999), comparando diferentes rochas fosfatadas com o fosfato bicálcico encontrou valor para a meia-vida biológica menor (57,27 h) para o fosfato bicálcico do que para as rochas fosfatadas e concluiu que a forma química do P presente nas fontes afetou o metabolismo do mineral e, conseqüentemente, a meia-vida biológica.

Godoy e Chicco (2005) citam que fontes de maior disponibilidade apresentam $T_{1/2}$ menor. No presente experimento, como só foi utilizada uma única fonte de P, o que possivelmente ocorreu foi uma eliminação mais rápida do mineral, devido ao mecanismo de saturação pelos elevados teores de ingestão de P.

5. CONCLUSÕES

A adição de quantidades crescentes de P na dieta de ovinos Santa Inês promove o aumento na excreção fecal de P via fezes, sendo que os parâmetros excreção fecal total e endógena de P, a absorção e o conteúdo de P no rúmen são dependentes dos teores de ingestão de P.

O fornecimento diário de, aproximadamente, 5 g de P por animal é valor limitante (superior) à absorção do mineral pelos animais da espécie supracitada. Ingestões acima deste valor promovem maior excreção fecal, representando potencialidade de contaminação de solos e águas subterrâneas.

REFERÊNCIAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. Technical Committee on Responses to Nutrients. A reapraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstracts and Reviews. Series B**, Aberdeen, v. 61, n. 9, p. 573-612, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. **The nutrient requirement of ruminant livestock**. Wallingford: CAB, 1980. p. 192-218.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMING, J. S.; SOUZA, G. A.; BONA FILHO, A. Os princípios nutritivos e suas finalidades. In: _____. **Nutrição animal**. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1990. p. 189-255.

ANNENKOV, B. N. Kinetics of mineral metabolism in organs and tissues. In: GEORGIEVSK II, V. I.; ANNENKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. I., **Mineral nutrition of animals**. London: Butterworth's, 1982. cap. 10, p. 243-257.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC**. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995. v. 1, p. 4/1-4/30.

BEARDSWORTH, L. J.; BEARDSWORTH, P. M.; CARE, A. D. The effect of ruminal phosphate concentration on the absorption of calcium, phosphorus and magnesium from the reticulo-rumen of the sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 61, p. 715-723, 1989.

BORGES, E. E. S. **Fluxo de fósforo em ovinos alimentados com diferentes níveis de fósforo.** 2007. 74 f. Dissertação – (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

BORTOLUSSI, G.; TERNOUTH, J. H.; McMENIMAN, N. P. Dietary nitrogen and phosphorus interaction in *Bos indicus* cattle. **Proceedings of the Nutrition Society of Australia**, Kent Town, v. 14, p. 124, 1988.

BOXEBELD, A.; GUEGUEN, L.; HANNEQUART, G.; DURAND, M. Utilization of phosphorus and calcium and minimal maintenance requirement for phosphorus in growing sheep fed a low-phosphorus diet. **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v. 23, p. 1043-1053, 1983.

BRAITHWAITE, G. D. Some observations of phosphorus homeostasis and requirements of sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, 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 Science**, Cambridge, v. 105, p. 67-72, 1985.

BRAVO, D.; SAUVANT, D; BOGAERT, C.; MESCHY, F. II. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 43, n. 3, p. 271-284, 2003a.

BRAVO, D.; SAUVANT, D; BOGAERT, C.; MESCHY, F. III. Quantitative aspects of phosphorus excretion in ruminants. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 43, n.3, p. 285-300, 2003b.

BRYANT, M. P.; ROBINSON, I. M.; CHU, H. Observations on the nutrition of *Bacterioides succinogens*-a ruminal cellulolytic bacterium. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 42, p. 1831-1847, 1959.

BREVES, G.; ROSENHAGEN, C.; HOLLER, H. Saliva secretion of inorganic phosphorus in phosphorus-depleted sheep. **Journal of Veterinary Medicine Series A - Physiology Pathology Clinical Medicine**, Berlin, v. 34, n. 1, p. 42-47, 1987.

BREVES, G.; HOLLER, H.; PACKHEISER, P.; GABEL, G.; MARTENS, H. Flux of inorganic-phosphate across the sheep rumen wall *in vivo* and *in vitro*. **Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences**, Aberdeen, v. 73, n. 3, p. 343-351, 1988.

BREVES, G.; SCHRODER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 4, p. 125-140, 1991.

BUENO, M. S.; VITTI, D. M. S. S. Níveis de fósforo para caprinos: Perda endógena fecal exigência líquida para mantença. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 675-681, 1999.

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

CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G. D.; DHANOA, M. S. Phosphorus homeostasis in growing calves. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 112, n. 2, p. 217-226, 1989.

CHURCH, D. C.; SMITH, G. E.; FONTENOT, J. P.; RALSTON, A. T. The macro (major) minerals. In: CHURCH, D. C. **Digestive physiology and nutrition of ruminants**: nutrition. 2. ed. Corvallis: O & B. Books, 1971. v. 2, cap. 19, p. 413-451.

COHEN, R. D. H. Phosphorus and the grazing ruminant an examination of the role of phosphorus in ruminant nutrition with particular reference to the beef cattle industry in Australia. **Animal Production**, Edinburgh, v. 11, p. 27-43, 1975.

COUNCIL FOR AGRICULTURE SCIENCE AND TECHNOLOGY - CAST. 2002. **Animal diet modification to decrease the potential for nitrogen and phosphorus pollution**. Ames, 2002. (Issue Paper, 21).

DAYRELL, M. S.; DOBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H. Deficiência de fósforo em bovinos na Região de Brasília - **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 8, p. 105-114, 1973.

DIAS, R. S.; KEBREAB, E.; VITTI, D. M. S. S.; PORTILHO, F. P.; LOUVANDINI, H.; FRANCE, J. Phosphorus kinetics in lambs fed different levels of dicalcium phosphate. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 145, p. 509-516, 2007.

DORIGAN, C. J. **Metabolismo e perdas endógenas de cálcio em cabritos Saanen.** 2000. 114 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2000.

DOVE, H.; CHARMLEY, E. Relationships between phosphorus intake, plasma phosphorus and faecal and urinary phosphorus excretion in Young sheep. **Animal Production in Australia**, Queensland, v. 25, p. 37-40, 2004.

EDRISE, B. M.; SMITH, R. H. Exchanges of magnesium and phosphorus at different sites in the ruminant stomach. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 36, n. 11, p. 1019-1027, 1986.

ENSMINGER, M. E.; OLDFIELD, J. E.; HEINEMANN, W. W. Feeding poultry. In: _____. **Feeds & nutrition**. 2. ed. Clovis: Ensminger Publishing Company, 1990. cap. 24, p. 1009-1064.

FEEDING standards of Australian livestock. Ruminants. East Melbourne; CSIRO, 1990.

FIELD, A. C.; KAMPHUES, J.; WOOLIAMS, J. A. The effect of dietary intake of calcium and phosphorus on the absorption and excretion of phosphorus in chimaera-derived sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 101, p. 597-602, 1983.

FIELD, A. C.; WOOLLIAMS, J. A. Genetic control of phosphorus metabolism in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 64, p. 232-233, 1984. Supplement.

FIELD, A. C.; WOOLIAMS, 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**, Cambridge, v. 105, p. 237-243, 1985.

FISKE, C. H.; SUBBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 66, n. 2, p. 375-400, 1925.

GEORGIEVSK II, V. I. The physiological role of macroelements. In: GEORGIEVSK II, V. I.; ANNENKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. I. **Mineral nutrition of animals**. London: Butterworths, 1982. cap. 6, p. 91-170.

GODOY, S.; CHICCO, C. F. Phosphorus absorption, and phosphorus and calcium kinetics in sheeps fed with different phosphates. **Interciencia**, Caracas, v. 30, n. 7, p. 414-418, 2005.

GODOY, S.; CHICCO, C. F. Venezuelan sedimentary phosphates in lamb feed. **Interciencia**, Caracas, v. 27, n. 9, p. 482-488, 2002.

HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerais e ossos. In: DUKES, H. H.; SWENSON, M. J (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 297-427.

HUBER, K.; WALTER, C.; SCHRÖDER, B.; BREVES, G. Phosphate transport in the duodenum and jejunum of goats and its adaptation by dietary phosphate and calcium. **American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 52, n. 2, p. R296-R302, 2002.

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

JONGBLOED, A. W.; VALK, H. Alteration of phosphorus content in diets for livestock: Impact on animal performance and health, and the environment. In: INTERNATIONAL PHOSPHORUS WORKSHOP, 4., 2004, Wageningen. **Critical evaluation of options for reducing phosphorus loss from agriculture**; proceedings… Wageningen, 2004.

KEBREAB, E.; ODONGO, N. E.; McBRIDE, B. W.; HANIGAN, M. D.; FRANCE, J. Phosphorus utilization and environmental and economic implications of reducing phosphorus pollution from Ontario dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 91, p. 241-246, 2008.

KINKAID, J. K.; HILLERS, J. K.; CRONRATH, J. D. Calcium and phosphorus supplementation of rations for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 64, p. 754-758, 1981.

KLEIBER, M., SMITH, A. H., RALSTON, N. P. Radiophosphorus (^{32}P) as tracer for measuring endogenous phosphorus in cow's feces. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 45, n. 2, p. 253-263, 1951.

KLEINMAM, P. J. A.; SALON, P.; SHARPLEY, A. N.; SAPORITO, L. S. Effect of cover crops established at time of corn planting on phosphorus runoff from soils before and after dairy manure application. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v. 60, n. 6, p. 311-322, 2005.

KNOWLTON, K. F.; RADCLIFE, J. S.; NOVAK, C. L.; EMMERSON, D. A. Animal management to reduce phosphorus losses to the environment. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 1, p. 173-195, 2004.

LITTLE, D. A. Utilization of minerals. In: HACKER, J. B. **Nutritional limits to animal production from pastures**. Farnham Royal: CSIRO, 1984. P. 259-283.

LOFGREEN, G. P. The Availability of the phosphorus in dicalcium phosphate, onemeal, soft phosphate and calcium phytate for mature wethers. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.70, n. 1, p. 58-62, 1960.

LOFGREEN, G. P.; KLEIBER, M. The availability of the phosphorus in alfafa hay. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 12, n. 2, p. 366-371, 1953.

LONG, T. A.; TILLMAN, A. D.; NELSON, A. B.; GALLUP, W. D.; DAVIS, B. Availability of phosphorus in mineral supplements for beef catle. **Journal of Animal Science**, v. 15, n.4, p. 1258-1259, 1956.

LOUVANDINI, H. **Perda endógena de fósforo em ovinos suplementados com diferentes níveis do elemento na dieta**. 1995. 87 f. (Doutorado em Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1995.

LOUVANDINI, H.; VITTI, D. M. S. S. Perda endógena de fósforo em ovinos com diferentes níveis do elemento na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 145-149, 1994.

LUEKER, C. E.; LOFGREEN, G. P. Effects of intake and calcium to phosphorus ratio on absorption of these elements by sheep. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 74, p. 233-238, 1961.

MANAS-ALMENDROS, M.; ROSS, R.; CARE, A. D. Factors affecting the secretion of phosphate in parotid saliva in sheep and goat. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 67, p. 269-280, 1982.

MARTZ, F. A.; BELO, A. T.; WEISS, M. F.; BELYEA, R. L. True absorption of calcium and phosphorus from corn silage fed to nonlactating, pregnant dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 82, n. 3, p. 618-622, 1999.

MATSUI, T.; KANGANA, Y.; YANO, H.; KAWASHMA, R. Effect of calcitonin on salivary phosphours and calcium excretion in sheep. **Journal of Endocrinology**, London, v. 102, n. 3, p. 365-368, 1984.

McDOWELL, L. R. **Mineral in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524 p.

McDOWELL, L. R.; CONRAD, J. H.; ELLIS, G. L.; LOOSLI, J. K. **Minerals for grazing ruminants in tropical regions**. Gainesville: University of Florida, 1983. 86p.

McDOWELL, L.R.; CONRAD, J.H.; LOOSLI, F.K. Mineral imbalances and their diagnosis in ruminants. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Nuclear and related techniques in animal production and health**. Vienna: IAEA, 1986. p. 521-534. (IAEA – SM – 292/25).

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of the AOAC International**, Arlington, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

MONAGHAN, R. M.; HEDLEY, M. J.; DI, H. J.; McDOWELLI, R. W.; CAMERON, K. C.; LEDGARD, S. F. Nutrient management in New Zealand pastures recent developments and future issues. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 50, n. 2, p. 181-201, 2007.

MORSE, D.; HEAD, H. H.; WILCOX, C. J.; VAN HORN, H. H.; HISSEN, C. D.; HARRIS JUNIOR, B. Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, p. 3039-3049, 1992.

NASCIMENTO FILHO, V. F. **Métodos de determinação de eficiência de detecção em cintilação líquida e efeito Cerenkov**. Piracicaba: CENA/USP, 1977. 35 p. (Buletim Científico, 20).

NASCIMENTO FILHO, V. F.; LOBÃO, A. O. **Detecção de P-32 em amostras de origem animal e vegetal por efeito Cerenkov, cintilação líquida e detector GM**. Piracicaba: CENA/USP, 1977. 25 p. (Boletim Científico, 48).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirement of sheep**. Washington: National Academic Press, 1985. 99 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**: sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington: National Academic Press, 2007.

NICODEMO, M. L. F.; LAURA, V. A. **Elementos minerais em forrageiras**: formas químicas, distribuição e biodisponibilidade. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. (Documents, 115).

PFEFFER, E.; BEEDE, D. K.; VALK, H. Phosphorus metabolism in ruminants and requirements of cattle, p.195-231. In: PFEFFER, E.; HRISTOV, A. N. (Ed.). **Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle** – reducing the environment impact of cattle operations. Wallingford: CABI Publishing, 2005. 288 p.

PLAYNE, M. J. Availability of phosphorus in feedstuffs for utilization by ruminants. In: BLAIR, G. J. (Ed.). **Reviews in rural science**. 3. Prospects for improving efficiency of phosphorus utilization. Armidale: University of New England Publishing, 1976. p. 155-164.

POPPI, D. P.; TERNOUTH, J. H. Secretion and absorption of phosphorus in the gastrointestinal tract of sheep fed on four diets. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 30, p.503-512, 1979.

PORTILHO, F. P.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; MCMANUS, C. M.; REZENDE, M. J. M.; LOUVANDINI, H. Minimum phosphorus requirement for Santa Inês lambs reared under tropical conditions. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, p. 170-176, 2006.

RAJARATNE, A. A. J.; SCOTT, D.; BUCHAN, W. Effect of a change in phosphorus requirement on phosphorus kinetics in the sheep. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 56, p. 262-264, 1994.

REID, R. L. Relationship between phosphorus nutrition of plants and phosphorus nutrition of animals and man. In: KHAWNEH, F. E.; SAMPLE, E. C.; KAMPRATH, E. J. **The role of phosphorus in agriculture**. Madison: ASA, 1980. p. 847-886.

REINHARDT, T. A.; HORTS, R. L.; GOFF, J. P. Calcium, phosphorus and magnesium homeostasis in ruminants. **Veterinary Clinics of North America**. **Food Animal Practice,** Philadelphia, v. 4, n. 2, p. 331-350, 1988.

REIS, R.A.; GRACA, D.S.; MAURICIO, R.M.. Retenção do fósforo de fenos de gramíneas tropicais em ovinos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n. 3, p.275-282, 1999.

ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANEKO, J. J. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestics animals**. 5. ed. New York: Academic Press, 1997.

SALVIANO, L. M. C. **Efeito de diferentes proporções de cálcio e fósforo sobre as perdas endógenas e absorção real de fósforo em ovinos**. 1996. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. Determinação colorimétrica do fósforo. In: _____. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Química, 1974. p. 6-58.

SCHRODER, B.; HAPPNER, H.; FAILING, K.; PEEFFER, E.; BREVES, G. Mechanisms of intestinal phosphate transport in small ruminants. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 74, n. 5, p. 635-648, 1995.

SCOTT, D. Control of phosphorus balance in ruminants. In Aspects of digestive physiology in ruminants. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF THE INTERNATIONAL UNION OF PHYSIOLOGICAL SCIENCES, 30., 1986, Ithaca. **Proceedings of a Satellite Symposium…** Ithaca: Comstock Publishing Associates, 1988. p. 156-174.

SCOTT, D.; BUCHAN, W. The effects of feeding either hay or grass diets on salivary phosphorus secretion, net intestinal phosphorus absorption and on the partition of phosphorus excretion between urine and faeces in the sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 22, n. 3, p. 331-338, 1987.

SCOTT, D.; BUCHAN, W. Effect of reduction in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion and on duodenal digesta and dry - matter flow in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.110, n.2, p.411-413. 1988.

SCOTT, D.; BEASTALL, G. Effects of intravenous phosphate loading on salivary phosphate secretion and plasma parathyroid-hormone levels in sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences**, Aberdeen, v. 63, n. 2, p. 147-146, 1978.

SCOTT, D.; MCLEAN, A.F.; BUCHAN, W. The effect of variation in phosphorus intake on net intestinal phosphorus absorption, salivary phosphorus secretion and pathway of excretion in sheep fed roughage diets. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 69, n. 3, p. 439-452, 1984.

SCOTT, D.; WHITELAW, F. G.; BUCHAN, W.; BRUCE, L. A. The effect of variation in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion, net phosphorus absorption and faecal endogenous phosphorus excretion in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 105, p. 271-277, 1985.

SCOTT, D.; RAJARATNE, A. A. J.; BUCHAN, W. Factors affecting faecal endogenous phosphorus loss in the sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 124, p. 145-151, 1995.

SILVA FILHO, J. C. **Absorção real do fósforo dos fosfatos bicálcico, monoamônio, supertriplo e de uréia em bovinos, através da diluição do radiofósforo (P-32)**. 1990. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

SILVA FILHO, J. C. Inorganic macronutrient requirement in cattle: the ARC/AFRC system and the Brazilian experience. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, Viçosa, 1995. **Anais...** Viçosa: UFV, 1995. p. 311-343.

SILVA FILHO, J. C.; VITTI, D. M. S. S.; CAMPOS NETO, O.; ABDALLA, A. L. Exigência mínina de fósforo em novilhos da raça nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 9, p. 1861-1865, 2000.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS System for linear models**. Cary: SAS Institute, 2000. 211 p.

TAMMINGA, S. Pollution due to nutrient losses and its control in European animal production. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 84, n. 2, p. 101-111, 2003.

TERNOUTH, J. H. Phosphorus and beef production in Northern Australia. 3. Phosphorus in cattle a review. **Tropical Grassland**, Brisbane, v.24, n.3., p.159-169. 1990.

TERNOUTH, J. H.; SEVILLA, C. C. The effects of low levels of dietary phosphorus upon the dry matter intake and metabolism of lambs. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 41, n. 1, p. 175-184, 1990.

THOMPSON JUNIOR, W. R. Phosphorus in animal nutrition. In: _____. **Phosphorus for agriculture a situation analysis**. Atlanta: Potash & Phosphate Institute, 1978. p. 126-158.

TOMAS, F. M.; MOIR, R. J.; SOMERS, M. Phosphorus turnover in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 18, n. 4, p. 635-645, 1967.

UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. Farnham Royal: CAB, 1981. 180 p.

UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. Farnham Royal: CAB, 1966. 237 p.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford: CABI Publishing, 1999.

VALK, H.; METCALF, J. A.; WITHERS, P. J. A. Minimizing P excreted in ruminants by manipulating diet. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 29, p. 28-36, 2000.

VALK, H.; SEBEK, L. B. J. S.; BEYNEN, A. C. Influence of phosphorus intake on excretion and blood plasma and saliva concentrations of phosphorus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, p. 2642-2649, 2002.

VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; AMBROSANO, E. J. Métodos para o diagnóstico da deficiência de fósforo em ruminantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 6, p. 645-51, 1988.

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**. 1989. 87 f. (Doutorado em Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 1989.

VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C. Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo do fosfato bicálcico de fosfatos de rocha para ovino com uso do radiofósforo (P-32) como traçador. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 8, p. 1113-1118, 1991.

VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; MEIRELLES, 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**, Belo Horizonte, v. 44, n. 3, p. 227-233, 1992.

VITTI, D. M. S. S.; KEBREAB, E.; ABDALLA, A. L.; DE CARVALHO, F. F. R.; DE RESENDE, K. T.; CROMPTON, L. A.; FRANCE, J. A kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 78, n. 10, p. 2706-2716, 2000.

WHITERS, P. J. A.; HODGKINSON, R. H.; ADAMSON, H.; GREEN, G. The impact of pasture improvement on phosphorus concentrations in soils and streams in an upland catchment in Northern England. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 122, p. 220-232, 2007.

WILLIAMS, S. N.; McDOWELL, L. R.; WARNICK, A. C.; WILKINSON, N. S.; LAWRENCE, L. A. Phosphorus concentrations in blood, milk, feces, bone and selected fluids and tissues of growing heifers as affected by dietary phosphorus. **Livestock Research for Rural Development**, Gainesville, v. 3, n. 2, p. 67-80, 1991.

WITT, K. E.; OWENS, F. N. Phosphorus: Ruminal availability and effects on digestion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 56, n. 4, p. 930-937, 1983.

WU, Z.; SATTER L. D.; SOJO, R. Milk production, reproductive performance, and fecal excretion of phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 83, p. 1028-1041, 2000.

WU, Z.; TALLAM, S. K.; ISHLER, V. A.; ARCHIBALD, D. D. Utilization of phosphorus in lactating cows fed varying amounts of phosphorus and forage **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 86, p. 3300-3308, 2003.

WU, Z. Utilization of phosphorus in lactating cows fed varying amounts of phosphorus and sources of fiber. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 88, p. 2850-2859, 2005.