

**CINÉTICA DO FÓSFORO E DIGESTIBILIDADE
EM OVINOS ALIMENTADOS COM
DIFERENTES QUANTIDADES DO MINERAL**

RENÉ MAURICIO PATIÑO PARDO

2009

RENÉ MAURICIO PATIÑO PARDO

**CINÉTICA DO FÓSFORO E DIGESTIBILIDADE
EM OVINOS ALIMENTADOS COM
DIFERENTES QUANTIDADES DO MINERAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, área de concentração em
Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de
“Doutor”.

Orientador

Prof. José Cleto da Silva Filho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Pardo, René Mauricio Patiño.

Cinética do fósforo e digestibilidade em ovinos alimentados
com diferentes quantidades do mineral / René Mauricio Patiño

Pardo. – Lavras : UFLA, 2009.

119 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: José Cleto da Silva Filho.

Bibliografia.

1. Fósforo. 2. Cinética. 3. Digestibilidade. 4. Modelos. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.308527

RENÉ MAURICIO PATIÑO PARDO

**CINÉTICA DO FÓSFORO E DIGESTIBILIDADE
EM OVINOS ALIMENTADOS COM
DIFERENTES QUANTIDADES DO MINERAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 2 de julho de 2009.

Prof. Flávio Moreno Salvador	UNIFENAS
Prof. Raimundo Vicente de Souza	UFLA
Prof ^a . Nadja Gomes Alves	UFLA
Prof. Juan Ramón Olalquiaga Pérez	UFLA

Prof. José Cleto da Silva Filho
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL

DEDICATÓRIA

À minha esposa Maria, por seu amor e companhia,

Às minhas filhas Vanessa e Maria Alejandra, por alegrarem minha vida,

Aos meus pais, Adelia e Guillermo (*in memorian*), pelo que fizeram por mim,

Às minhas irmãs, Leandra e Angélica, pelo apoio e amizade,

Ao meu avô, Vicente (*in memorian*), pelo apoio e ensinamentos,

A todos meus irmãos em Cristo, que com sua amizade, apoio e carinho ajudaram a fortalecer a minha vida, especialmente à Mary Rose e sua família,

E às pessoas e amigos que me ajudaram na realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, por iluminar meus caminhos;

À minha família, pelo apoio e dedicação;

À Universidade de Sucre, pela comissão concedida;

A “CAPES/CNPq – IEL Nacional – Brasil” por conceder a bolsa de estudos do primeiro autor;

Aos professores da UFLA, pelo aporte;

Ao meu orientador, professor José Cleto da Silva Filho, pela confiança e amizade;

À Dorinha, pela colaboração e pela oportunidade em trabalhar com ela;

Aos meus colegas de curso e de trabalho de pesquisa, e amigos,

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFLA o do LANA do CENA/USP, pela amizade e serviços prestados;

Aos membros da banca examinadora; professores Flávio Moreno, Raimundo Vicente de Souza, Juan Ramón Olalquiaga e Nadja Gomes Alves.

BIOGRAFIA

RENÉ MAURICIO PATIÑO PARDO, filho de Adelia Pardo Cuéllar e Guillermo Patiño Vargas (*in memoriam*), natural de Bogotá – Colômbia nasceu em 29 de junho de 1966. Esposo de Maria Auxiliadora Altamiranda Flórez e pai de duas filhas, Vanessa y Maria Alejandra.

Em janeiro de 1985 ingressou na “Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – UDCA”, no curso de Zootecnia, concluindo-o em junho de 1990.

Em março de 2000 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, obtendo o título de “Mestre” em julho de 2001.

Em março de 2006, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia (área de concentração - Nutrição de Ruminantes) na Universidade Federal de Lavras – UFLA.

Atualmente é professor da Universidade de Sucre, na Colômbia.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT	vii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução	2
2 Referencial teórico.....	6
2.1 Funções do fósforo no organismo.....	6
2.2 O fósforo nos alimentos.....	7
2.3 Locais e mecanismos da absorção gastrintestinal de Ca e P em ruminantes ..	8
2.4 Relação Ca:P e seu efeito sobre a absorção de P.....	11
2.5 Eficiência na absorção de fósforo da dieta	12
2.6 Cinética do P em tecidos de ruminantes	15
2.7 Marcadores radioativos e diluição isotópica.....	16
2.8 Modelos matemáticos aplicados nos sistemas agrícolas.....	17
2.9 Modelos compartimentais da cinética metabólica de cálcio e fósforo.....	18
3 Referências bibliográficas.....	21
CAPÍTULO 2: Digestibilidade da matéria seca e absorção de Ca e P em ovinos alimentados com quantidades diferentes do mineral	27
Resumo	28
Abstract.....	29
1 Introdução	30
2 Material e métodos.....	31
2.1 Local, animais e dietas experimentais	31
2.2 Injeção de ³² P e análise das amostras.....	35
2.3 Perda endógena fecal de P	36

2.4 Estatística e Delineamento Experimental	37
3 Resultados e discussão.....	38
4 Conclusão	48
5 Referências bibliográficas.....	49
CAPÍTULO 3: Cinética de fósforo em tecidos de ovinos alimentados com	
quantidades diferentes do mineral.	53
Resumo	54
Abstract.....	55
1 Introdução	56
2 Material e métodos.....	57
2.1 Local, animais e dietas experimentais	57
2.2 Injeção de ³² P e análise das amostras.....	60
2.3 Estatística e Delineamento Experimental	61
3 Resultados e discussão.....	62
4 Conclusão	70
5 Referências bibliográficas.....	71
CAPÍTULO 4: Cinética de fósforo em ovinos aplicação e comparação de dois	
modelos matemáticos.....	74
Resumo.....	75
Abstract.....	76
1 Introdução	77
2 Material e métodos.....	79
2.1 Local, animais e dietas experimentais	79
2.2 Injeção de ³² P e análise das amostras.....	81
2.3 Modelo Vitti-Dias	84
2.4 Modelo Fernández (1995) adaptado por Lopes (2001).....	86
2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas	87
3 Resultados e discussão.....	89

4 Conclusão	97
5 Referências bibliográficas.....	98
ANEXOS	101

LISTA DE SIMBOLOS

Ca	cálcio
CAV	coeficiente de absorção verdadeira
CAA	coeficiente de absorção aparente
AE	atividade específica
cpm	contagens por minuto
D	dose de ^{32}P administrada no sangue no tempo zero:cpm
EE	extrato etéreo
F_{ij}	fluxo total de P para o “pool” i a partir do j, F_{i0} denota fluxo externo dentro do “pool” i e F_{0j} o fluxo de saída do sistema a partir do “pool” j, o sublinhado indica o fluxo que pode ser medido experimentalmente: g/d
F_{32}	P incorporado no osso
F_{23}	P reabsorvido do osso
F_{42}	P incorporado nos tecidos moles
F_{24}	P reabsorvido dos tecidos moles
FDA	fibra em detergente ácido
FDN	fibra em detergente neutro
GL	grau de liberdade
IMS	ingestão de matéria seca
MBq	Mega bequerels
MO	matéria orgânica
MM	matéria mineral
MS	matéria seca
P	fósforo
q_i	quantidade de ^{32}P no “pool” i: em cpm
Q_i	quantidade total de P no “pool” i: em gramas (g)
PB	proteína bruta

s_i	atividade específica do “pool” i ($= q_i/Q_i$): em cpm/g
T	tempo, dia
TGI	trato gastrintestinal
V_I	P ingerido
V_F	P total nas fezes
V_f	P endógeno fecal
V_{FD}	P nas fezes de origem dietética
V_u	P na urina
V_{aa}	P absorvido de origem alimentar
V_{IT}	P de origem endógena que chega ao trato gastrointestinal
V_{af}	P endógeno reabsorvido no trato gastrointestinal
V_{at}	P total absorvido
V_{o+}	P incorporado no osso
V_{o-}	P reabsorvido do osso
V_{Te+}	P incorporado nos tecidos moles
V_{Te-}	P reabsorvido dos tecidos moles

RESUMO

PARDO, René Mauricio Patiño. **Cinética do fósforo e digestibilidade em ovinos alimentados com diferentes quantidades do mineral**. 2009. 119p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

O P é considerado um elemento vital para os animais, pois participa no metabolismo energético e na estrutura óssea. Uma deficiência de este elemento afeta o desempenho animal. Entretanto, quando o P é oferecido em excesso, pode causar contaminação ambiental, pelo incremento na excreção. O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do incremento na ingestão de P em cordeiros sobre a digestibilidade, cinética do P nos tecidos, e fluxos no metabolismo de P aplicando modelos matemáticos. O trabalho foi conduzido no estado de São Paulo. Vinte e quatro machos da raça Santa Inês entre 34,5 kg ($\pm 1,4$) foram distribuídos em quatro tratamentos (níveis de P suplementar: 0; 2; 4 e 6 g/dia) segundo um delineamento em blocos ao acaso. Foi usado fosfato bicalcico como fonte suplementar de P. Após 14 dias, os animais foram injetados com 7,4 MBq de ^{32}P e 7,7 MBq de ^{45}Ca , na jugular direita e abatidos oito dias depois. O metabolismo do P foi avaliado comparando-se os modelos Vitti adaptado por Dias (V-D) e Fernandez adaptado por Lopes (F-L). O incremento no teor dietético de P não afetou ($P < 0,05$) a digestibilidade aparente da MS, MO, PB, FDN e FDA, mas causou diminuição nos coeficientes de absorção verdadeira de P e Ca ($P < 0,05$). Os valores dos coeficientes de absorção verdadeira e aparente diferiram entre si ($P < 0,0001$). O incremento na ingestão de P afetou linearmente ($P < 0,01$) a concentração plasmática de P, a atividade metabólica do P nos tecidos e a retenção de ^{32}P . A substituição do P estável por ^{32}P foi afetada quadraticamente ($P < 0,01$) com o aumento na ingestão de P. O fígado apresentou a maior atividade metabólica. O aumento no teor de P da dieta incrementou de maneira linear ($P < 0,001$) a ingestão e a excreção fecal do mineral. Similarmente, a quantidade de P em plasma e tecidos moles foi afetada linearmente ($P < 0,03$) com o aumento na ingestão de P, não sendo observado efeito sobre a quantidade nos ossos ($P > 0,812$). Os fluxos de P entre trato digestivo e plasma e vice-versa, foram afetados quadraticamente ($P < 0,03$) pelos tratamentos, sendo observada uma queda nestes fluxos após a ingestão de 5,5 g de P. Aplicando o modelo V-D foi observado um efeito linear ($P < 0,02$) do incremento na ingestão de P sobre os fluxos entre plasma e ossos, ossos e plasma, plasma e tecidos moles, e tecidos moles e plasma. Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos tratamentos sobre o balanço final de P em ossos

¹Comitê Orientador: Prof. José Cleto da Silva Filho – UFLA (Orientador); Profª. Dorinha Miriam Silber Schmidt Vitti Kennedy CENA/USP; Prof. Juan Ramón O. Perez – UFLA

e tecidos moles. Quando aplicado o modelo F-L não foi observado efeito ($P > 0,28$) do incremento na ingestão de P sobre os fluxos entre plasma a ossos e tecidos moles, nem nos fluxos contrários. Como conclusão pode-se afirmar que: o coeficiente de absorção aparente não é um parâmetro confiável para determinar a eficiência de absorção de P nem Ca; o incremento na ingestão de P modifica a cinética de elemento nos tecidos, e os modelos avaliados foram úteis para estudar a cinética de P, apesar de que foram evidenciadas diferenças entre eles.

¹Comitê Orientador: Prof. José Cleto da Silva Filho – UFLA (Orientador); Prof^a. Dorinha Miriam Silber Schmidt Vitti Kennedy CENA/USP; Prof. Juan Ramón O. Perez – UFLA

ABSTRACT

PARDO, René Mauricio Patiño. **Phosphorus kinetics and digestibility of sheep fed different quantities of mineral.** 2009. 119.p Thesis (Doctorate in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Phosphorus is considered a vital mineral for animals, because in addition to its participation in energy metabolism is an integral part of the bone. The deficiency of this element can affect animal performance. However, when P is supplied in excess, the excretion increase, and can cause environmental contamination. The aim of the study was to evaluate the effect of the increases in P intake in lambs on digestibility, kinetics of P the tissues, and general metabolism of P using mathematical models. The experiment was conducted in Sao Paulo state, Brazil. Twenty-four Santa Inês lambs with 33,6 - 34.5 kg BW were allotted to four treatments (0; 2; 4 e 6 g of supplementary P per animal per day). A randomized blocks design was used. P metabolism was assessed comparing the Vitti adapted by Dias (VD) and Fernandez adapted by Lopes (FL) models. Lambs were injected with 7.4 MBq of ³²P and ⁴⁵Ca and slaughtered eight days later. DM, OM, CP, NDF and ADF digestibility were not affect by the increase in P intake (P <0.05), but caused reduction in true absorption coefficient of P and Ca (P <0.05). The values of true and apparent coefficients were different (P <0.0001). Plasma P concentrations, metabolic activity of tissues and retention of ³²P were affect linearly by P intake increase (P <0.01). The replacement of stable P by ³²P was affect by P intake (P <0.01). Liver was the most metabolic activity organ. P intake and P fecal excretion increased linearly with P intake increase (P <0.001). Similarly, the amount of P in plasma and tissues was affected linearly (P <0.03) with the increases in P intake, without effect on the amount in P bone. P flows between the digestive tract and plasma and vice versa, were affected quadratic (P <0.03) by treatments, and a decrease was observed for P levels up to 5,5 g in P intake. Applying the model VD it was observed a linear effect (P <0.02) of P intake on plasma and bone, bone and plasma, plasma and soft tissues and soft tissues and plasma flows. No effects were observed (P > 0.05) of treatments on the balance of P in bones and soft tissues. Using FL model it was not observed effect of P intake on plasma flows between the bones and soft tissues and vice-versa, with a clear difference between the two models in those flows. Apparent absorption coefficient was not a reliable parameter for determining the efficiency of absorption of P and Ca; the increase in P intake influenced the kinetics of mineral tissue, and VD and FL

¹Guidance Comitee: José Cleto da Silva Filho – UFLA (Major Professor); Dorinha Miriam Silber Schmidt Vitti Kennedy CENA/USP; Juan Ramón O. Perez – UFLA

models are useful tools to study the kinetics of P, although some differences were found when comparing the two models.

¹Guidance Comitee: José Cleto da Silva Filho – UFLA (Major Professor);
Dorinha Miriam Silber Schmidt Vitti Kennedy CENA/USP; Juan Ramón
O. Perez – UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é um dos minerais mais abundantes no corpo dos mamíferos e está envolvido em grande número de reações do metabolismo orgânico, e participa ativamente da estrutura do tecido ósseo (SCIRO, 2007). Portanto a essencialidade do P nos animais é uma questão que deve ser considerada como de grande importância, devido a que, a falta deste elemento limita o desempenho animal (McDowell, 1997).

Na atualidade, o P está sendo o foco de novos estudos, por ser considerado um poluente do ambiente (Hill et al., 2008), devido à contaminação de fontes de água por P de origem animal, liberado através das excretas, principalmente em sistemas de produção intensiva (Kebread et al., 2008).

Vários grupos de pesquisa no mundo estão realizando projetos que objetivam precisar ainda mais em relação às exigências nutricionais de P, para minimizar sua excreção ou perda ao ambiente (Vitti, 2000). Vários são os aspectos considerados nestas pesquisas para melhorar e facilitar a compreensão da forma como acontece o metabolismo destes elementos no organismo. Apesar do avanço histórico na nutrição animal, em relação ao metabolismo do P, vários aspectos permanecem ainda sem esclarecer.

Melhor compreensão dos processos metabólicos e dos demais fatores que influenciam a liberação de P ao ambiente é fundamental para poder definir estratégias que permitam reduzir sua excreção e prover maior precisão (Kojima et al., 2005).

Nos ruminantes, quando a ingestão de P é incrementada, a excreção também é aumentada (Silva et al., 2008). A quantidade excretada depende além da ingestão de P, de outros fatores próprios do indivíduo, como a espécie e a

fase fisiológica (Braithwaite, 1983), e das características do P da dieta (National Research Council-NRC, 2001).

O coeficiente de absorção é a forma mais usual de representar a eficiência com que um nutriente é absorvido. Dependendo da metodologia utilizada existem duas formas de expressar a eficiência de absorção: a absorção aparente e a real ou verdadeira. Bravo et al. (2003a) afirmaram que a metodologia que consegue determinar a fração verdadeiramente absorvida, que requer o uso de marcadores isotópicos (^{32}P), é a forma mais adequada. Porém, também é usada a digestibilidade aparente.

Poucos trabalhos de pesquisa comparam simultaneamente as metodologias de determinação dos coeficientes de absorção aparente e real em faixas amplas de ingestão do mineral, nos ruminantes. A informação que poderia ser gerada de este tipo de pesquisa seria de grande importância para compreender melhor os processos que determinam a eficiência com que o P é absorvido.

Outros processos inerentes ao metabolismo do P no organismo, como a captação e as trocas metabólicas nos diferentes tecidos, também têm sido estudados para complementar a informação existente em relação aos processos de regulação homeostática no organismo. O radiofósforo ^{32}P tem sido usado como marcador plasmático para estudar o metabolismo do P no organismo (Kebreab & Vitti, 2005; Dias et al., 2007). A concentração, a taxa de retenção e a atividade específica padronizada (AEP) e relativa (AER) do ^{32}P permitem estudar a cinética de P nos tecidos (Teixeira et al., 2004).

A taxa de retenção do ^{32}P nos tecidos define a atividade de cada tecido, em relação à mobilização de P. A AER (trocas de ^{32}P entre plasma e tecidos) é um índice que indica a atividade metabólica dos tecidos, e é usada para remover o efeito aparente de outros processos importantes, como a formação de ossos, sobre a captação de P nos tecidos moles (Smith et al., 1952). A padronização

(AEP) pode ser feita considerando-se a atividade injetada em relação ao peso vivo dos animais, chamada atividade específica padronizada, que indica a substituição de P estável por ^{32}P no tecido.

Dias et al. (2007) observaram que a retenção de ^{32}P em ovinos foi maior ($P < 0,05$) nos ossos, seguida do músculo, fígado, coração e rins, semelhante ao observado por Bueno & Vitti (1999), em caprinos da raça Alpina. Resultados diferentes foram observados por Lobão & Crocomo (1974) em ovinos, onde os ossos apresentaram a menor retenção. As diferenças entre estudos evidenciam que ainda existem vários aspectos da cinética sem uma suficiente compreensão, e que mais estudos são necessários para complementar a informação existente.

A modelagem aplicada à agricultura pode ser utilizada como uma ferramenta para melhor compreender os sistemas. Um sistema modelado por compartimentos é composto por um ou mais compartimentos que trabalham e interagem entre si e nos quais algum elemento ou substância está em movimento. A modelagem deste tipo de sistemas é conhecida como análise compartimental (Vohnout, 2003).

Vitti et al. (2000) propuseram um modelo de quatro “pools” ou compartimentos (trato gastrintestinal, plasma, ossos e tecidos moles) para estudar a cinética de P em cabras em crescimento. Neste estudo, usando ^{32}P como isótopo radioativo, o princípio de conservação das massas foi aplicado para gerar as equações diferenciais que descrevem a dinâmica do comportamento do sistema. Dias et al. (2006) revisaram o modelo anterior, e realizaram algumas modificações para melhorar a acurácia do mesmo.

Fernandez (1995) utilizou dados combinados de estudos de balanço e absorção de P com estudos de cinética em suínos para formular um modelo do metabolismo de Ca e P visando avaliar as implicações metabólicas do incremento na ingestão desses minerais. Lopes et al. (2001) adaptaram o modelo de Fernandez para avaliar os fluxos biológicos de P em suínos e acrescentaram

um novo compartimento para representar os tecidos. Este modelo foi usado posteriormente em ovinos por Dias (2006).

Vários estudos têm sido feitos em ovinos para avaliar o efeito do incremento da ingestão de P sobre o metabolismo do mineral (Portilho et al. 2006; Louvandini & Vitti, 2007; Dias et al., 2007). Nesses estudos foram avaliados diferentes níveis de ingestão de P em animais de diferentes idades e de diferentes grupos raciais, porém, por causa dos resultados obtidos, são necessárias informações complementarias para níveis de ingestão de até 220 mg/kg PV em animais em torno de 35 kg .

De outra parte, faltam estudos que comparem os resultados obtidos da cinética metabólica do P em ovinos alimentados com níveis crescentes do mineral, utilizando uma ampla faixa de ingestão e aplicando o modelo Vitti adaptado por Dias e o modelo Fernandez adaptado por Lopes.

Em resumo, foram realizados três experimentos em ovinos em crescimento da raça Santa Inês recebendo dietas com níveis crescentes de P, com os seguintes objetivos: 1) avaliar o efeito do incremento na ingestão de P sobre a digestibilidade da dieta e caracterizar a relação entre os valores dos coeficientes de absorção real e aparente de P; 2) estudar a cinética do P, em termos de distribuição, taxa metabólica e troca de P, nos tecidos, utilizando o radiofósforo ^{32}P como traçador, e 3) estudar a cinética metabólica do fósforo por meio da aplicação e comparação de dois modelos matemáticos de tipo compartimental.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Funções do fósforo no organismo

A maior parte do P (80-85%) no corpo dos mamíferos está localizada nos ossos e dentes, e o P restante (15-20%), em diferentes locais, realizando importantes funções (McDowell, 1997). Os fosfatos são de crucial importância biológica, como reguladores de vários processos biológicos, entre eles a mineralização esquelética. Os fosfatos são um componente dos ácidos nucleicos, de proteínas receptoras e de transporte, coenzimas, e da bicamada lipídica das membranas celulares (Razzaque & Lanske, 2007), além de participar nos processos de regulação ácido-base (Xu et al., 2002).

Uma hipofosfatemia aguda pode causar miopatias, disfunção cardíaca e anormalidades hematológicas; o quadro crônico afeta, principalmente, a mineralização óssea, levando, inclusive a raquitismo e osteomalacia (Razzaque & Lanske, 2007).

A essencialidade do P nos animais é uma questão que deve ser considerada como de grande importância, devido a que, a falta deste elemento limita o desempenho animal. Em muitos lugares do mundo, deficiências deste elemento nas dietas de ruminantes têm sido observadas (McDowell, 1997).

2.2 O fósforo nos alimentos

O P é um componente do ortofosfato de cálcio fluorapatita $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{CaF}_2$ e da hidroxiapatita $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$. A forma natural estável do P é o isótopo ^{31}P . Nos estudos biológicos sobre metabolismo e cinética de P, o radioisótopo ^{32}P é o mais usado; este possui uma meia vida de 14,2 dias e a energia da sua radiação é β (1,71MeV) (Georgievskii, 1982).

O P se encontra nas plantas, principalmente, como componente orgânico na forma de sais de ácido fítico, fosfolipídios, ácidos nucleicos e outros

componentes. Sua concentração em grãos (sementes) é três a quatro vezes maiores que em palhas. A distribuição aproximada nos grãos é: fitatos solúveis e insolúveis (50-70%); fosfolipídios, fosfoproteínas, ácidos nucleicos (20-30%); e fosfatos minerais (8-12%). A concentração média do P nos grãos está entre 3,5 e 4,5 g/kg MS e nos pastos entre 2,5 e 3,0 g/kg MS (Georgievskii, 1982). Já nos suplementos vegetais protéicos são observadas concentrações entre 5 e 12 g P/kg MS, e apesar de que a maior parte deste P (até 80%) está na forma de fitato, os ruminantes utilizam bem este P.

No caso das forrageiras a concentração de P é muito variável e vai depender das características dos solos. Valores em gramíneas tropicais vão desde 0,05% até 0,37% da MS (McDowell, 1997).

Segundo Bravo et al. (2003a), o P da dieta está disponível para absorção quando alcança os locais de absorção na forma de P_i , portanto, a solubilização do mineral antes da absorção determinará a quantidade absorvida. Dependendo da forma química do P da dieta, a solubilização digestiva do P acontecerá pela solubilização química (fosfato inorgânico), pela liberação do P resultante do processo de digestão da matéria orgânica (P nos nucleotídeos, nos lipídeos, etc.) ou de reações de hidrólise específicas (P fítico). A porção de P orgânico dos alimentos inclui o P fítico e o P contido nas moléculas de fosfolipídios e/ou ácidos nucleicos. A forma em que se encontra o P nos alimentos varia muito entre eles.

2.3 Locais e mecanismos da absorção gastrointestinal de Ca e P em ruminantes

As bases dos mecanismos do metabolismo gastrointestinal de P variam consideravelmente entre animais ruminantes e não ruminantes. Nos ruminantes, grandes quantidades de P_i são secretadas dentro do TGI a partir das glândulas salivares. A secreção salivar de P_i é, normalmente, bem balanceada a partir da

absorção intestinal de Pi. Muitos aspectos relacionados com os processos de absorção local e a regulação de P, ainda não estão claramente definidos (Breves & Schröder, 1991).

O intestino delgado é considerado como o principal local de absorção de Ca e P nos ruminantes. O transporte celular de Pi no enterócito consiste basicamente de três passos: (a) o Pi entra ao enterócito desde o lúmen intestinal, atravessando a membrana da borda em escova; (b) o Pi dentro da célula é transportado até a membrana basolateral; e (c) o Pi atravessa a membrana basolateral (Breves & Schröder, 1991).

Segundo Eto et al. (2006) a absorção de Pi através do intestino delgado acontece por duas rotas fisioanatomicas: (a) uma rota transcelular através da membrana lipídica e (b) uma rota paracelular através das zônulas de oclusão dos espaços laterais intercelulares. Estes autores observaram nos seus estudos que a rota transcelular é mais ativa, sob condições fisiológicas. Quando a observação foi feita sob condições de depleção de Na, a permeação transcelular foi atenuada, mas a paracelular não foi afetada. De maneira semelhante, um inibidor específico de NaPi reduziu somente a permeação transcelular e não a paracelular. Portanto, esses resultados indicam que o sistema de transporte de Pi transcelular é mediado pela proteína transportadora de Pi sódio-dependente, mas o sistema paracelular não.

A vitamina D muda a permeabilidade da membrana, aumentando assim a absorção de fosfato (Church, 1994). A ação do hormônio 1,25-Dihidroxitamina D₃ sobre o transporte intestinal de fosfato acontece devido ao seu efeito sobre o incremento no sistema de transporte sódio dependente (Xu et al., 2002). Comparado com os animais não ruminantes (ex. suínos) a absorção líquida de Pi é substancialmente maior nos ruminantes (Schröder et al., 1995).

Berndt et al. (2007), considerando os resultados de vários estudos, indicaram que o balanço de P nos mamíferos é controlado a partir da absorção

de P no duodeno e jejuno e a reabsorção tubular de fosfato inorgânico nos rins. A eficiência desse processo é controlada por vários hormônios e peptídeos, incluindo o sistema endócrino vitamina D, paratormônio (HPT) e fosfatoninas, como FGF-23 e sFRP-4, os quais atuam incrementando a absorção de fosfato ou diminuindo a quantidade de fosfato retido pelo rim. A eficiência intestinal de absorção de fosfato é incrementada por 1,25-(OH)₂ vitamina D₃, a forma hormonal da vitamina D, e também pelo processo vitamina D-independente, que depende da quantidade de P da dieta.

Em cordeiros em crescimento, foi observado que a maior taxa de absorção aconteceu na parte média do jejuno e que este processo poderia ser inibido pela presença de galactose ou glicose, indicando a presença de mecanismos competitivos entre Pi e açúcares (Sharrer, 1985).

Schröder et al. (1995) estudaram, *in vivo* e *in vitro*, vários aspectos relacionados com os mecanismos de transporte de fosfatos no intestino. Observaram que os fluxos líquidos de Pi através da mucosa do jejuno variavam quando as concentrações de Na⁺ no meio eram modificadas, sendo diminuídas na menor concentração de Na⁺, indicando a presença de um mecanismo ativo de transporte. Nos animais que sofreram depleção de Ca, ou de Ca e P, os níveis de calcitriol foram aumentados, o que não aconteceu quando a depleção foi só de P, diferente do que acontece em animais não ruminantes. O autor inferiu que, possivelmente, em ruminantes que sofrem depleção de P, o sistema hormonal vitamina D é regulado no nível dos receptores citosólicos de calcitriol, no enterócito, baseado em outro estudo que observou aumentos na afinidade desse receptor em cabras que sofreram depleção de P. De outro lado, encontraram que os fluxos de Pi da mucosa para a serosa do epitélio, e os fluxos líquidos de Pi, foram superiores (P<0,05) em animais que sofreram depleção de P ou de P e Ca, simultaneamente, quando comparados com aqueles animais que receberam quantidades adequadas desses minerais ou àqueles que sofreram depleção de Ca.

O acontecido em relação ao aumento nos fluxos de Pi da mucosa para a serosa, confirmou resultados de outros estudos, e foi sugerido que o aumento na captação de Pi pelo entorócito, aconteceu pelo aumento na V_{\max} do sistema de co-transporte Na^+/Pi . Os fluxos de Pi da serosa para a capa mucosa não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$). Foi concluído neste estudo, que não foi possível identificar, se o tipo de transporte de Pi através da mucosa intestinal foi Na^+ -dependente ou Na^+ -independente e que o estímulo na absorção de Pi não foi mediado pelo calcitriol nem pelo HPT, indicando a independência do processo.

Segundo Schröder & Breves (1996) a presença de dois sistemas de transporte apical poderia ser considerada. O Na^+/H^+ “antiport” concederia prótons para o sistema de co-transporte Na^+/Pi . Porém, em trabalhos mais recentes, citados por Busche et al. (2007) a presença de um sistema de transporte “symporter” Na/Pi H^+ -sensitivo no mRNA e no nível de proteínas no jejuno de cabras (Huber et al., 2000) poderia mostrar homologia com o sistema Na/Pi tipo IIb observado no intestino de camundongos (Hilfiker et al., 1998).

Segundo Schröder et al. (1995) a depleção de P, no longo prazo, estimula a absorção líquida de Pi na ordem de 150% no intestino delgado superior, o qual está correlacionado com a elevada expressão de um transportador NaPi IIb. Esse efeito poderia não ser atribuído a um incremento nos níveis plasmáticos de $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$, já que em ruminantes com hipofosfatemia não é induzido um aumento considerável deste hormônio, como ocorre em monogástricos (Schröder et al., 1991).

Existem controvérsias em relação à possível absorção de P inorgânico pela parede do rúmen. Neste sentido, os resultados têm sido muito variáveis. Na maioria de estudos de balanço de P em ovinos e bovinos foi observada secreção líquida de P pré-duodenal, com valores entre 1 a 15 g/d em ovinos e mais de 20 g/d em bovinos adultos e bezerros. Um problema presente nesses estudos é que a quantidade de P secretado na saliva não foi medida, portanto, a possível

absorção de P nos pré-estômagos não foi detectada. Vários estudos têm observado movimento de P através da parede do rúmen, porém, as quantidades foram mínimas (Yano et al., 1991). Alguns trabalhos observaram fluxos de P através da parede ruminal quando mudado o gradiente elétrico, indicando um tipo de difusão eletrogênica de fosfato e sem presença de transporte ativo (Yano et al., 1991).

A absorção de Pi através da parede omasal não tem sido muito estudada. Em alguns estudos utilizando bezerros, foi observado que um percentual entre 10 e 40% do P que entrou no abomaso foi absorvido, resultados contrários aos observados em ovinos, onde a absorção de P foi menor que 0,5 mM/h (Yano et al., 1991).

2.4 Relação Ca:P e seu efeito sobre a absorção de P

Alguns estudos têm reportado que proporções elevadas de Ca:P nas dietas para ruminantes reduzem a quantidade de P absorvido (McDowell, 1977). Porém, outros estudos (Ternouth & Sevilla, 1990) reportaram resultados diferentes, indicando a tolerância dos ruminantes a variações na relação entre estes dois minerais. Call et al. (1978) observaram efeitos adversos sobre o crescimento quando foi usada uma proporção de 9:1. Ternouth & Sevilla (1990) afirmaram que poderia ser mais crítica a diminuição no nível do mineral do que, em si, a relação Ca:P. Estes autores estudaram os efeitos de baixos níveis de P na presença de diferentes níveis de Ca na dieta, em ovinos Corridale entre 22 e 31 kg PV, usando a técnica da diluição isotópica. Foi observado que a ingestão de MS foi afetada negativamente nas dietas com baixo teor de Ca ou de P, ou quando os dois minerais estavam abaixo das exigências. As dietas pobres em P ocasionaram mudanças significativas nas concentrações plasmáticas de Ca e P e na desmineralização óssea. Com relação à absorção de P, não foram observadas diferenças, porém, os autores mencionaram que os animais que receberam as

dietas com baixos teores de P por um tempo prolongado, apresentaram melhoras na eficiência de absorção de P. Isto poderia indicar a presença de um processo de adaptação metabólica no animal para tentar compensar o balanço de P.

Salviano (1996) estudou o efeito de três proporções de Ca:P (0,75:1; 1,5:1 e 3,0:1) sobre as perdas endógenas e absorção real de fósforo em ovinos machos Suffolk, usando a técnica de diluição isotópica e concluiu que as diferentes proporções utilizadas na dieta não afetaram a excreção de fósforo nem de cálcio, nem as perdas fecais endógenas de fósforo, que a relação 1,5:1 apresentou os melhores índices de absorção.

2.5 Eficiência na absorção de fósforo da dieta

A quantidade de um mineral excretado nas fezes é a soma de: (a) o mineral não disponível da dieta; (b) o mineral disponível da dieta, mas não absorvido; e (c) o mineral endógeno. O mineral da dieta, disponível para absorção é a quantidade liberada durante o processo da digestão e aparece no mesmo “pool” do mineral endógeno nos sítios de absorção no trato gastrointestinal (TGI) (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation – CISRO, 2007). Apesar da existência de diferenças entre alimentos e suplementos minerais em relação à biodisponibilidade de P (Underwood & Suttle, 2003), na maioria dos casos, estas variações ainda não são consideradas quando são definidas as exigências, já que, a maioria de comitês que trabalham em exigências nutricionais para animais adotam um coeficiente de absorção fixo para cada etapa fisiológica.

Os coeficientes de absorção verdadeira de P adotados pelo Agricultural and Food Research Council – AFRC (1991) tiveram poucas mudanças com os adotados pelo Agricultural Research Council – ARC (1980), exceto que os valores para P dependem da qualidade da dieta e não da idade dos animais. Os

coeficientes 0,68 e 0,70 foram recomendados para Ca e P, respectivamente, tanto para ovinos como para bovinos em dietas de elevado valor nutricional e o coeficiente 0,68 para Ca foi adotado pelo CSIRO (2007). Apesar do baixo coeficiente de 0,58 e 0,64 para ovinos e bovinos respectivamente, para a absorção de P de dietas volumosas, Ternouth & Budhi (1996), Ternouth et al. (1996) e Ternouth & Coates (1997) citados pelo CSIRO (2007), mostraram que os coeficientes de absorção de P foram superiores a 0,75 em ovinos e bovinos em dietas com baixa concentração de P. O CSIRO (2007) adotou, de maneira conservadora, baseados nos relatos anteriores, um valor de 0,7 para todas as categorias. O NRC (2007) utiliza o coeficiente 0,60 para calcular a exigência dietética de P em ovinos em manutenção, lactação e gestação, e 0,72 para ovinos em crescimento. Em caprinos o coeficiente 0,65 foi adotado.

Bravo et al. (2003b) observaram, estudando uma ampla base de dados, que existem diferenças nos coeficientes de absorção verdadeira de P quando comparadas espécies e estados fisiológicos. Também, foi observado que existiu uma relação quadrática entre a absorção de P e o P ingerido, representada por:

$$P_{\text{absorvido}}/\text{IMS} = 0,82(\pm 0,02) \times P_{\text{ingerido}}/\text{IMS} - 2,59 \times 10^{-2} (\pm 3,43 \times 10^{-3}) \times [P_{\text{ingerido}}/\text{IMS}]^2 \text{ (resultados de 335 tratamentos; 49 experimentos; 1228 animais; } r^2=0,96, P<0,01)$$

No mesmo estudo de Bravo et al. (2003b), a média observada para o coeficiente de absorção verdadeira foi de 0,72. É importante destacar que o coeficiente de absorção aparente de P não foi considerado por eles, porque são conhecidas as elevadas variações observadas entre animais, que fazem que as variações devidas aos aspectos do P da dieta sejam insignificantes, ou que na realidade não aconteceu.

Nos ruminantes, o P absorvido no intestino pode ser de origem dietética ou de origem microbiana, devido a que parte do P ingerido pelo animal é incorporada nos microorganismos. O P microbiano parece ser uma fonte

intermediária de P para o hospedeiro. Considerando que o P salivar se encontra na forma inorgânica, é esperada uma alta taxa de absorção de P. O coeficiente de absorção médio observado para o P da saliva é de 0,77 (Church, 1994).

O P é absorvido na forma de ortofosfato. Piro e meta fosfatos são menos disponíveis biologicamente. Os fosfatos hidratados são menos disponíveis do que as fontes anidras do mesmo tipo. As fontes mais hidrossolúveis costumam ter valores biológicos superiores. O fosfato bicálcico, o polifosfato de amônio, a farinha de ossos tratada com vapor e o fosfato sem flúor são considerados boas fontes de P, depois estariam os fosfatos de rocha (Church, 1994).

No Brasil, vários trabalhos têm sido conduzidos em ruminantes para determinar os coeficientes de digestibilidade verdadeira do P. Vitti et al. (2000), modelaram a cinética do metabolismo de P em cabras em crescimento entre 20 e 30 kg de peso vivo. Avaliaram três níveis de suplementação de P (0,42; 1,36; e 3,63 g P/dia) e observaram que a taxa de absorção incrementou-se em função do incremento na ingestão de P, sendo o maior valor observado no maior nível de suplementação.

Trabalhando com ovinos da raça Suffolk de 38 kg de peso vivo, Louvandini & Vitti (2007) não observaram efeitos de níveis crescentes de suplementação de P a partir de farinha de ossos, sobre o coeficiente de absorção verdadeira do elemento. Os valores dos coeficientes estiveram entre 0,72 e 0,75, e os níveis de suplementação avaliados entre 1 e 3 g P/animal/dia.

Apesar de que as exigências de P adotadas pelos diferentes comitês (ARC, AFRC, NRC e CSIRO) consideram coeficientes de absorção constantes para as diferentes categorias, estudos anteriores demonstraram que existem diferenças na eficiência de absorção do P dietético entre as diferentes categorias (Braithwaite, 1975). Portanto, resulta interessante considerar estas diferenças para otimizar a utilização do mineral, nas diferentes condições fisiológicas, evitando a excreção excessiva quando a capacidade de absorção é baixa, ou

incrementando o P dietético quando a capacidade de absorção está aumentada, nas etapas de reposição do mineral.

2.6 Cinética do P em tecidos de ruminantes

Na homeostase do P, o organismo utiliza mecanismos fisiológicos, visando manter o equilíbrio do mineral, por meio de hormônios e enzimas que regulam a captação do elemento no plasma e nos fluidos intersticiais e a mobilização das reservas lábeis. A utilização de radioisótopos como o ^{32}P tem contribuído para compreender melhor os mecanismos que influenciam a cinética do P nos organismos. Isso pode ser conseguido determinando a concentração, a taxa de retenção e a atividade específica padronizada e relativa nos tecidos (Carvalho, 1998).

Estudos usando a técnica da diluição isotópica têm comprovado diferenças na forma como os diferentes tecidos metabolizam o P. Podem existir, também, modificações quando a ingestão do mineral varia ou quando são comparadas diferentes fontes dietéticas do elemento.

Lobao & Crocomo (1974) encontraram que a ordem de retenção do P foi fígado, rim e coração. E que a retenção de P por parte dos tecidos depende muito da idade dos animais.

Dias et al. (2007) observaram que a retenção de ^{32}P em ovinos machos recebendo diferentes fontes de Ca e com ingestão média de P de 3,2 g/d, foi maior ($P < 0,05$) nos ossos, seguida do músculo, fígado, coração e rins. Este comportamento foi semelhante ao observado por Bueno & Vitti (1999), em caprinos da raça Alpina.

Teixeira et al. (2004) observaram que em suínos suplementados com diferentes fontes de P, fígado e rim foram os órgãos mais importantes no metabolismo do P.

2.7 Marcadores radioativos e diluição isotópica

Isótopos radioativos, como ^{32}P e ^{45}Ca , têm sido usados em estudos de absorção, cinética e balanço de minerais. Os resultados obtidos usando estes elementos têm sido considerados como muito bons, mas devem ser considerados os seguintes aspectos:

1. Absorção preferencial dos sais destes radioisótopos no trato digestivo
2. Intercambio isoiônico no tecido ósseo
3. Excreções endógenas de elemento marcado após as zonas de absorção

Algumas metodologias incluem a introdução de dois radioisótopos (ex. ^{45}Ca ou ^{47}Ca) para calcular a quantidade absorvida do elemento. Neste caso um isótopo é injetado e o outro vai via trato intestinal (Georgievskii et al., 1982).

É assumido que um traçador ou marcador radioativo comporta-se, química e fisiologicamente, de igual maneira a sua contraparte estável. Isto acontece porque as dosagens utilizadas, normalmente, são pequenas, considerando o número de átomos excitados, e não conseguem perturbar o sistema que está sendo observado (Shipley & Clark, 1972).

O primeiro propósito dos métodos com marcadores é calcular a taxa de fluxo (k) quando ela não pode ser determinada diretamente. Considerando que o objetivo de colocar um marcador em um compartimento é conhecer o valor de k , então é assumido que o marcador ou isótopo radioativo mistura-se quase que imediatamente e permanece continuamente misturado (Shipley & Clark, 1972).

O uso do radioisótopo ^{32}P como marcador de P nos organismos foi reportado pela primeira vez por Chiewits & Hevesy (1935) como citado por Pfeffer et al. (2005). Os mesmos autores citam que Kleiber et al. (1952) usaram esse isótopo do P para estudar a cinética metabólica do P nos ruminantes.

O princípio do método da diluição isotópica é que o P corporal é marcado através de uma injeção subcutânea, intramuscular ou intravenosa, do isótopo. O termo atividade específica é usado para caracterizar a relação entre o P radioativo e o P total. Desintegrações por minuto (dpm)/g de P ou contagens por minuto (cpm)/g de P podem ser usadas para dimensionar a atividade específica.

2.8 Modelos matemáticos aplicados nos sistemas agrícolas

A modelagem aplicada à agricultura pode ser utilizada como uma ferramenta para melhor compreender os sistemas. Segundo Vohnout (2003) os modelos matemáticos descrevem o sistema mediante equações matemáticas sendo necessário conhecer os valores das entradas e saídas do modelo. Os modelos matemáticos, a sua vez, são classificados como lineares e não lineares de acordo com tipo de equações que eles constituem, como empíricos e mecanicistas segundo o grau de explicação dos fenômenos que descrevem; estáticos ou dinâmicos de acordo com o seu comportamento em relação ao tempo; e como estocásticos ou determinísticos de acordo com o comportamento probabilístico de suas variáveis e parâmetros.

Um sistema compartimental é composto por um ou mais compartimentos que trabalham e interagem entre si e nos quais algum elemento ou substância está em movimento. Se o sistema se comunica com o meio ambiente através das entradas ou saídas se considera como aberto e se não acontecer esta comunicação será chamado de sistema fechado. A modelagem deste tipo de sistemas é conhecida como análise compartimental (Vohnout, 2003).

2.9 Modelos compartimentais da cinética metabólica de cálcio e fósforo

Vários modelos têm sido usados para medir os principais caminhos metabólicos dos nutrientes nos ruminantes e a análise compartimental tem sido das mais usadas. Estes tipos de modelos buscam facilitar a compreensão dos sistemas biológicos através da simulação do comportamento metabólico e a cinética dos nutrientes no organismo animal (Vitti, 2000).

O uso da análise compartimental, para estudar a absorção, foi descrita por Birge et al. (1969), que desenvolveram um modelo compartimental para estudar a absorção de cálcio. Para este tipo de análise foram definidas as seguintes premissas: 1. A cinética do sistema é linear, ou seja, a quantidade do mineral absorvida é proporcional à concentração do mineral presente; 2. O traçador mistura-se totalmente com o elemento a ser traçado presente nos compartimentos; 3. O metabolismo do animal está em equilíbrio (“steady state”).

Aubert & Milhaud (1960) desenvolveram um modelo para o estudo do metabolismo de cálcio em humanos. Nesse modelo foram estabelecidos três compartimentos, constituídos por plasma, fezes e urina, de acordo com a radioatividade excretada acumulada nas fezes e urina a qualquer tempo. A principal vantagem deste modelo é a de não haver necessidade do abate dos animais, para obter os dados. Neste modelo, o compartimento central (sangue) está ligado a outros dois compartimentos (trato gastrointestinal e tecidos), com intercâmbios bidirecionais de acordo com o fluxo. A entrada do mineral ao sistema ocorre via ingestão e, as saídas por fezes e urina.

Schneider et al. (1987) propuseram um modelo mecanístico para estudar a cinética de fósforo, representado pelos compartimentos corporais: sangue, tecidos moles, ossos, rúmen, abomaso, intestino delgado superior, intestino delgado inferior, intestino grosso e rins.

Symonds & Forbes (1993) apresentaram também um modelo da cinética do P. O modelo possui um compartimento central de fluidos corporais que inclui

o plasma e os tecidos moles, e que representa o “pool” de fósforo que é metabolizado rapidamente. Através deste compartimento o fósforo entra ou sai por um número limitado de rotas. O fósforo chega ao compartimento pela absorção no intestino como fósforo absorvido da dieta, fósforo dos sucos digestivos, e pela reabsorção nos ossos e tecidos moles. O fósforo deixa o compartimento pelas secreções nos sucos digestivos, pela excreção na urina, deposição nos ossos e tecidos, e secreção no leite.

Fernandez (1995) propôs um modelo matemático determinístico e compartimental com a finalidade de esclarecer a absorção e a utilização de Ca e de P em suínos em crescimento, estabelecer métodos padronizados para a avaliação da suplementação de Ca e P e, simultaneamente, as exigências desses minerais para o melhor desempenho dos suínos. Posteriormente, Lopes et al. (2001) adaptaram o modelo para estudar o metabolismo do P em tecidos de suínos, acrescentando ao modelo um compartimento que representava os tecidos moles. O princípio de conservação das massas é aplicado para os compartimentos do modelo, gerando equações diferenciais que descrevem a dinâmica de funcionamento do sistema. Posteriormente, Dias (2006) utilizou o modelo em ovinos.

Vitti et al. (2000) propuseram um modelo de quatro “pools” ou compartimentos para estudar a cinética de P de cabras em crescimento. Os compartimentos foram: 1) lúmen intestinal; 2) plasma; 3) osso, e 4) tecidos moles. Os compartimentos representados pelo lúmen intestinal, ossos e tecidos moles intercambiam em duas direções com o compartimento primário plasma. O fósforo entra ao sistema via alimento, e sai via fezes e urina. Neste estudo, usando ^{32}P como isótopo radiativo, o princípio de conservação das massas foi aplicado para gerar as equações diferenciais que descrevem a dinâmica do comportamento do sistema. Em conclusão, o modelo mostrou que a reabsorção óssea, a excreção de fósforo fecal endógeno e a absorção de fósforo, todos têm

um papel importante na homeostase de fósforo, e também se concluiu que o modelo pode ser usado para outras espécies ruminantes.

Dias et al. (2006) revisaram e estenderam o modelo proposto por Vitti et al. (2000) para estudar os fluxos de cálcio em ovinos em crescimento recebendo diferentes fontes de cálcio na ração. Os autores, também, estenderam o modelo para representar a absorção e excreção de fósforo na forma de fitato. O fósforo ingerido foi dividido em duas partes, para representar o fósforo fítico e o fósforo não fítico da dieta. As modificações aplicadas sobre o modelo resultaram em uma maior acurácia na representação do metabolismo do fósforo.

Kebreab et al. (2004) propuseram um modelo de simulação dinâmico e mecanístico que integra diferentes aspectos do metabolismo do fósforo em ruminantes. Nesse modelo foi integrado um maior número de compartimentos para simular os fluxos de fósforo. Nesse modelo a entrada de fósforo no trato ocorre através da dieta baseando-se na biodisponibilidade. O fósforo consumido é dividido em digestível e não digestível. O modelo separa os compartimentos digestivos (rúmen, intestino delgado e intestino grosso) e dentro destes foram criados vários compartimentos ou “pools” menores. Dentro do rúmen o fósforo digestível está formado pelo fósforo digestível da dieta e o da saliva, e existe um fluxo para outros compartimentos (fósforo bacteriano e dos protozoários). Todos estes compartimentos estão em comunicação com um compartimento que representa o fluido extracelular, do qual existem fluxos do sistema para ossos e tecidos, urina e fósforo no leite. A saída de fósforo do trato digestivo está representada pelas fezes.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. A reapraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstracts Review**: series B, Wallingford, v.61, n.9, p.573-612, Sept. 1991. (Report, 6).

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. **The nutrient requirements of farm livestock**. London, 1980. 351p.

AUBERT, J.P.; MILHAUD, G. Method for the measurement of the principal routes of calcium in man. **Biochemistry Biophysics Acta**, Amsterdam, v.39, n.1, p.122-139, Jan. 1960.

BERNDT, T.; THOMAS, L.F.; CRAIG, T.A.; SOMMER, S.; LI, X.; BERGSTRALH, E.J. Evidence for a signaling axis by which intestinal phosphate rapidly modulates renal phosphate reabsorption. **Proceedings of the National Academic of Science**, Palo alto, v.104, n.26, p.11085-11090, June 2007.

BIRGE, S.J.; PECK, W.A.; BERMAN, M.; WHEDON, D.D. Study of calcium absorption in man: a kinetic analysis and physiologic model. **Journal of Clinical Investigation**, Bethesda, v.48, n.9, p.1705-1713, Sept. 1969

BRAITHWAITE, G.D. Studies on the absorption and retention of calcium and phosphorus by young and mature Ca-deficient sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.34, n.2, p.311-324, Sept. 1975.

BRAITHWAITE, G.D. Calcium and phosphorus requirement of the ewe during pregnancy and lactation, 1 calcium. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.50, n.3, p.711-722, Nov. 1983.

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

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

BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.4, n.1, p.125-140, Jan. 1991.

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

BUSCHE, R.; SCHRÖDER, B.; HUBER, K.; SALLMANN, H.P. The effect of dietary phosphorus deficiency on surface pH and membrane composition of the mucosa epithelium in caprine jejunum. **Journal of Comparative Physiology B**, Berlin, v.177, n.1, p.135-142, Jan. 2007.

CALL, J.W.; BUTCHER, J.E.; BLAKE, J.T.; SMART, R.A.; SHUPE, J.L. Phosphorus influence of growth and reproduction in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.47, n.1, p.216-225, Jan. 1978.

CARVALHO, F.F.R. **Efeito de níveis de fósforo sobre digestibilidade, metabolismo, perdas endógenas e cinética de fósforo em cabritos Saanen**. 1998. 83p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

CHURC, C.D. **El rumiante, fisiología digestiva y nutrición**. Barcelona: Acribia, 1994. 641p.

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION. **Nutrient requirements of domesticated ruminants**. Collingwood: CSIRO, 2007. 270p.

DIAS, R.S.; KEBREAB, E.; VITTI, D.M.S.S.; ROQUE, A.P.; BUENO, I.C.S.; FRANCE, J. A revised model for studying phosphorus and calcium kinetics in growing sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.84, n.10, p.2787-2794, Oct. 2006.

DIAS, R.S.; ROQUE, A.P.; VITTI, D.M.S.S.; BUENO, I.C.; GODOY, P.B. Cinética do fósforo em tecidos de ovinos em crescimento alimentados com diferentes fontes de Ca. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.145, n.1, p.203-209, fev. 2007.

ETO, N.; TOMITA, M.; HAYASHI, M. NaPi-mediated transcellular permeation is the dominant inorganic phosphate absorption in rats. **Drug Metabolism Pharmacokinetics**, Tokio, v.21, n.3, p.217-221, 2006.

FERNANDEZ, J.A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs: a model resolution, part. III. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.41, n.1, p.255-261, Mar. 1995.

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

HILL, R.S.; KNOWLTON, K.F.; KEBREAB, E.; FRANCE, J.; HANIGAN, M.D. A Model of phosphorus digestion and metabolism in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, n.5, p.2021-2032, May 2008.

KEBREAB, E.; MILLS, J.; CROMPTON, L.A.; BANNINK, A.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W.J.; FRANCE, J. An integrated mathematical model to evaluate nutrient partition in dairy cattle between animal and environment. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.112, n.1, p.131-154, Feb. 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**, Champaign, v.91, n.1, p.241-246, Jan. 2008.

KEBREAB, E.; VITTI, D.M.S.S. Mineral metabolism. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion**, London: CABI, 2005. cap.18, p.467-486.

KOJIMA, H.; KUME, S.; NONAKA, K.; OSHITA, T.; KOZAKAI, T.; HOROOKA, H. Effects of feeding and animal performance on nitrogen, phosphorus and potassium excretion by Holstein cows. **Animal Science Journal**, Tokio, v.76, n.2, p.139-145, Apr. 2005.

LOBÃO, A.O.; CROCOMO, O.J. Retenção de P radioativo (P32) em tecidos de ovinos. **Boletim de Indústria Animal**, São Paulo, v.31, n.2, p.261-291, jul./dez. 1974.

LOPES, J.B.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; HADDAD, M.; FIGUEIREDO, A.V.; BOTEQUIO, R.C. Modelo de fluxo biológico do fósforo de fontes de fosfato em suínos, usando o ³²P como marcador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.30, n.1, p.165-173, jan./fev. 2001.

LOUVANDINI, H.; VITTI, M.S.S.V. Cinética de fósforo com modelos matemáticos em ovinos adultos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.10, p.1467-1472, out. 2007.

McDOWELL, L.R. **Minerals for grazing ruminants in tropical regions**. Florida: University of Florida, 1997. 81p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academic, 2001. 381p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington: National Academic, 2007. 362p.

PFEFFER, E.; BEEDE, D.K.; VALK, H. Phosphorus metabolism in ruminants and requirements of cattle. In: PFEFFER, E.; HRISTOV, A. **Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle: reducing the environmental impact of cattle operations**. London: CABI, 2005. cap.5, p.195-231.

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, n.1-2, p. 170-176, May 2006.

RAZZAQUE, M.S.; LANSKE, B. The emerging role of the fibroblast growth factor-23-klotho axis in renal regulation of phosphorus homeostasis. **Journal of Endocrinology**, v.194, n.1, p.1-10, Jan. 2007.

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

SCHNEIDER, K.M.; C.C. BOSTON, R.C.; LEAVER, D.D. Quantitation of phosphorus excretion in sheep by compartmental analysis. **American Journal of Physiology: regulatory, integrative and comparative, physiology**, Palo Alto, v.252, n.4, p.720-731, Apr. 1987.

SCHRODER, B.; KAUNE, R.; HARMEYER, J. Effects of calcitriol on stimulation of ion transport in pig jejuna mucosa. **Journal of Physiology**, Cambridge, v.433, n.1, p.451-465, Feb. 1991.

SCHRÖDER, B.; BREVES, G. Mechanism of phosphate uptake into brush-border membrane vesicles from goat jejunum. **Journal of Comparative Physiology B**, Berlin, v.166, n.3, p.230-240, July 1996.

SCHRÖDER, B.; KÄPPNER,.; FAILING, K.; PFEFFER, E.; BREVES, G. Mechanism of intestinal phosphate transport in small ruminants. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.74, n.5, p.635-648, Nov. 1995.

SHARRER, E. Phosphate absorption at different intestinal sites in the developing lamb. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, Cambridge, v.70, n.4, p.615-621, Oct. 1985.

SHIPLEY, R.A.; CLARK, R.E. **Tracer methods for in vivo kinetics**: theory and application. New York: American, 1972.

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

SMITH, A.H.; KLEIBER, M.; BLACK, A.L.; LUICK, J.R.; LARSON, R.F.; WEIR, W.C. Distribution of intravenously injected radioactive phosphorus (P^{32}) among sheep tissues. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.11, n.4, p.638-645, Nov. 1952.

SYMONDS, H.W.; FORBES, J.M. Mineral Metabolism. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Ed). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International, 1993. p.363-379.

TEIXEIRA, A.; LOPES, D.C.; LOPES, J.B.; VITTI, D.M.S.S.; MOREIRA, J.A.; FERREIRA, V.P.; PENA, S.; CALDERANO, A.A. Cinética do radiofósforo em tecidos de suínos em crescimento alimentados com dietas contendo diferentes fontes do fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, Viçosa, MG, p.1238-1245, set./out. 2004.

TERNOUTH, J.H.; SEVILLA, C.C. Dietary calcium and phosphorus depletion of lambs. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.41, n.1, p.413-420, Apr. 1990.

UNDERWOOD, E.J; SUTTLE, N.F. **Los minerales en la nutrición del ganado**. Zaragoza: Acribia, 2003. 637p.

VITTI, D.M.S.S. **Modelos biomatemáticos do metabolismo de fósforo em ovinos e caprinos**. 2000. 149p. Tese (Livre Docência) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.

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

VOHNOUT, K.D. **Mathematical modeling for system analysis in agricultural research**. Amsterdam: Elsevier, 2003. 437p.

YANO, F.; YANO, H.; BREVES, G. Calcium and phosphorus metabolism in ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 7., 1989, Sendai. **Proceedings...** New York: Academic, 1991. p.277-295.

XU, H.; BAI, L.; COLLINS, J.F.; GUISHAN, F.K. Age dependent regulation of rat intestinal type IIb sodium-phosphate cotransporter by 1,25-(OH)₂ vitamin D₃. **American Journal Physiology Cell Physiology**, Palo Alto, v.282, n.2, p.C487-C493, Feb. 2002.

**CAPÍTULO 2: DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SECA E ABSORÇÃO
DE Ca E P EM OVINOS ALIMENTADOS COM QUANTIDADES
DIFERENTES DO MINERAL**

RESUMO

A eficiência com que um nutriente é absorvido influencia grandemente a exigência dietética, como no caso do fósforo (P), e sua determinação é fundamental para precisar na oferta do mineral para evitar problemas de déficit ou excesso, o qual pode causar problemas ambientais. Vinte e quatro machos da raça Santa Inês, com peso médio de 33,6 kg ($\pm 1,6$), foram distribuídos a quatro tratamentos (níveis crescentes de suplementação com P: 0; 2; 4 e 6 g/animal/dia) com o objetivo de estudar o efeito do incremento na ingestão de P sobre a eficiência de absorção dos nutrientes e para caracterizar a relação entre os valores dos coeficientes de absorção real e aparente de P e Ca. Após o período de adaptação, os cordeiros foram mantidos em gaiolas por duas semanas, sendo que na primeira semana foi realizado o estudo da digestibilidade aparente da MS, MO, PB, MM, FDN, FDA e o balanço de N. Na segunda semana, após injeção de 7,4 MBq do radiofósforo ^{32}P foram determinados o balanço e os coeficientes de absorção verdadeira (CAV) e aparente (CAA) de P e Ca. O incremento no teor dietético de P não afetou ($P < 0,05$) a digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA, as retenções de N, P e Ca, nem a ingestão de água. O incremento no teor de P da dieta causou diminuição nos CAV de P e de Ca ($P < 0,05$) e na digestibilidade da MM. O CAA não foi afetado ($P = 0,10$). Foi observada relação quadrática entre a ingestão de P e o CAV ($\text{CAV} = -0,048x^2 + 0,0173x + 0,6209$; $R^2 = 0,55$) e relação linear com o CAV de Ca ($\text{CAV} = -0,0407x + 0,5871$; $R^2 = 0,78$). Apesar da correlação (0,55; $P = 0,05$) entre os CAV e os CAA os valores diferiram entre si ($P < 0,0001$). Conclui-se que os incrementos na ingestão de P não influenciaram a eficiência de absorção dos componentes da fração orgânica da dieta. Quando a ingestão de P superou cinco gramas por dia, o CAV apresentou uma queda de 17%. O CAA não foi um parâmetro confiável para determinar a eficiência de absorção de P e de Ca.

ABSTRACT

The efficiency with which a nutrient is absorbed strongly influences the dietary requirement, such as phosphorus (P), and its determination is crucial in the provision of the need to avoid problems of mineral deficiency or excess, which can cause environmental problems. Twenty-four Santa Inês lambs with average weight of 33,6 kg ($\pm 1,6$) kg were allotted to four treatments (0; 2; 4 e 6 g of supplementary P per animal per day) with the objective to study the effect of P intake increase on the nutrient absorption efficiency and to characterize the relationship between the true (TAC) and apparent absorption coefficients (AAC) of P and Ca. The lambs were kept in cages for two weeks after adaptation period. ADC of DM, OM, MM, NDF, ADF and the N balance were determined in the first week. The second week, after injection of 7.4 MBq of ^{32}P , true absorption coefficient (TAC) and balance of P and Ca were determined. Increase in dietary P content did not affect ($P < 0.05$) the digestibility of DM, OM, CP, NDF and ADF, N and P retention nor water intake, however the TAC of P and ADC of MM were reduced ($P = 0,015$). The AAC of P was not affected ($P = 0.10$). There was a quadratic relationship between P intake and TAC ($\text{TAC} = -0,048x^2 + 0,0173x + 0,6209$; $R^2 = 0,55$) and linear with TAC of Ca ($\text{TAC} = -0,0407x + 0,5871$; $R^2 = 0,78$). In spite of the correlation (0.55, $P = 0.05$) between TAC and CAA the values were different ($P < 0.0001$). It is concluded that increases in P intake did not affect the absorption efficiency of organic fraction components of the diet. When P intake exceeded five grams per day, the TAC showed the greatest drop. The AAC was not a reliable parameter to determine the efficiency of P and Ca absorption.

1 INTRODUÇÃO

Em todo sistema de produção animal a implicação da eficiência com que os nutrientes são absorvidos é muito grande. Normalmente é desejado que essa eficiência seja a maior possível.

Quando uma estratégia de alimentação é testada, um dos pontos que desperta maior interesse é como esta vai afetar a eficiência de absorção dos nutrientes ingeridos.

No caso do fósforo (P), na atualidade vários assuntos vêm sendo pesquisados. Um dos pontos principais que motivam a realização destes estudos tem a ver com o potencial poluente do P perdido através das excretas animais (Vitti, 2000). Portanto, vários aspectos relacionados com a manipulação dos fosfatos dietéticos vêm sendo testados para definir estratégias que permitam reduzir a perda do mineral ao ambiente sem afetar negativamente o desempenho animal.

Em ruminantes, quando a ingestão de P é incrementada a excreção também aparece aumentada (Vitti et al., 2000). A quantidade excretada vai depender além da ingestão de P, de outros fatores próprios do indivíduo, como a espécie e a fase fisiológica (Braithwaite, 1983), bem como das características do P da dieta (NRC, 2001).

A medida mais usada para determinar a eficiência com que um nutriente é absorvido no trato gastrintestinal é o coeficiente de absorção ou de digestibilidade, tanto real como aparente. Para alguns dos componentes nutritivos da dieta (FDN, FDA), o coeficiente de absorção aparente é usado comumente, e representa uma medida confiável (Oba & Allen, 1999). Porém, para outros componentes (N, P, Ca) esta medida poderia não ser a mais apropriada pelos aspectos que caracterizam a fisiologia e os fluxos das formas endógenas destes elementos, como acontece com o P (Bravo et al., 2003).

Segundo Block et al. (2004), um dos fatores mais críticos e que causa mais controvérsias em relação à exigência dietética de P nos ruminantes é a variabilidade o coeficiente de absorção apresenta, devido aos variados fatores que o influenciam. Porém, vários trabalhos publicados recentemente usam o coeficiente de absorção aparente como medida para estudar ou analisar a eficiência com que o P dietético é absorvido (Dove et al., 2004).

Poucos são os trabalhos publicados que avaliam o efeito do incremento na ingestão de P sobre a digestibilidade dos demais nutrientes da dieta e poucos os que comparam num mesmo trabalho os coeficientes de digestibilidade real e aparente de P quando os níveis de ingestão são elevados.

Esta pesquisa foi realizada para avaliar o efeito do incremento na ingestão de P sobre a digestibilidade da dieta em ovinos em crescimento, e para caracterizar a relação entre os valores dos coeficientes de absorção real e aparente de P e Ca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, animais e dietas experimentais

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo. Vinte e quatro ovinos machos da raça Santa Inês, com oito meses de idade e pesando em média 33,6 kg ($\pm 1,6$ kg), foram mantidos, inicialmente, em baias de alvenaria, durante sete dias, onde começaram a receber as dietas experimentais. Devido à disponibilidade de gaiolas o experimento foi conduzido em períodos de tempo diferentes, formando dois grupos (blocos) de 12 animais em cada período. Posteriormente, os cordeiros foram transferidos para gaiolas de estudo de metabolismo, equipadas com coletores para fezes e urina, cochos

de alimentação e bebedouro, onde permaneceram duas semanas. O estudo de digestibilidade aparente dos nutrientes foi realizado, durante a primeira semana, nas gaiolas, e a parte referente à absorção verdadeira de Ca e P durante a segunda semana.

Os tratamentos consistiram em quantidades crescentes de P suplementar na dieta (0; 2; 4 e 6 g/animal/dia). As quatro dietas preparadas foram isoenergéticas e isoproteicas. Excluindo a dieta do tratamento sem suplementação de P, as demais foram adicionadas com níveis crescentes de fosfato bicalcico (16% de P) para conseguir os diferentes níveis de P suplementar (Tabela 1). A dieta basal (tratamento sem suplementação) foi formulada para cobrir as exigências nutricionais para esse tipo de animais, utilizando as recomendações do NRC (2007). As demais dietas foram formuladas para prover teores de P e Ca superiores às exigências, com o nível máximo correspondendo, aproximadamente, a quatro vezes o valor do requerimento. A relação Ca:P foi semelhante em todos os tratamentos (Tabela 1).

O concentrado (300 g/d), adicionado com o fosfato, e o feno de capim “coast-cross” (*Cynodum dactylon* L. pers) foram oferecidos, diariamente, em cochos separados. O concentrado, que não apresentou sobras, era oferecido no período da manhã e o feno era fornecido duas vezes ao dia (8 e 17 h), para permitir 10% de sobras. A quantidade de água oferecida e a não bebida foram medidas. Diariamente, o consumo de alimento e água de cada animal foi calculado e registrado, considerando a oferta e as sobras.

Para determinar a digestibilidade foi utilizado o método de coleta total de fezes, usando os dados das coletas realizadas desde o segundo até o sétimo dia, da primeira semana nas gaiolas. As fezes produzidas diariamente eram coletadas em sacos plásticos adaptados às gaiolas. Depois de retirados os sacos de cada gaiola, as fezes eram pesadas e o dado registrado. Posteriormente, após

homogeneização, 10% da quantidade produzida era separada e seca a 60°C durante 48 horas. No final, foi formada uma amostra composta por cada animal, a qual foi moída e armazenada para análises posteriores.

TABELA 1 Constituição e composição bromatológica das dietas nas diferentes quantidades de fósforo (P) suplementar

CONSTITUINTES ¹ , %	Tratamentos (P suplementar, g/dia)			
	0	2	4	6
Feno de Coast Cross	71,6	70,6	69,7	68,8
Farinha de mandioca	18,8	18,5	18,3	18,1
Farelo de soja	5,7	5,6	5,6	5,5
Melaço	1,2	1,2	1,2	1,2
Ureia	1,7	1,7	1,7	1,6
Fosfato bicálcico	-	1,3	2,6	3,9
Mistura mineral*	1,0	1,0	1,0	1,0
COMPOSIÇÃO ² , %				
NDT	50,9	50,3	49,6	49,0
Proteína bruta	11,9	11,7	11,5	11,4
Extrato etéreo	1,7	1,6	1,6	1,6
Matéria mineral	7,2	8,5	9,7	10,8
FDN	59,3	58,6	57,8	57,0
FDA	32,6	32,2	31,7	31,3
P	0,16	0,37	0,58	0,79
Ca	0,35	0,78	1,22	1,64
Ca:P	2,2	2,1	2,1	2,1

¹Na matéria natural

²Na matéria seca

*Composição: Cl, 219 mg/g; Na, 145 mg/g; S, 70 mg/g; Mg, 10 mg/g; Zn, 4,6 mg/g; Mn, 1,1 mg/g; Fe, 0,50 mg/g; Cu, 0,30 mg/g; I, 80 mg/kg; Co, 40 mg/kg; e Se, 15 mg/kg.

A urina excretada diariamente era drenada em baldes plásticos contendo 100 mL de ácido sulfúrico 10%. Alíquotas correspondentes a 10% do total diário foram armazenadas em frascos plásticos e conservadas a -20°C para as análises posteriores.

Nas amostras dos ingredientes da ração, da ração oferecida, das sobras diárias de feno e das fezes produzidas foram determinados os teores de matéria

seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB), seguindo a metodologia da Association of Official Agricultural Chemists – AOAC (1995). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA), corrigidas para cinzas, foram determinadas segundo Soest & Wine (1967).

Para realizar a determinação do P inorgânico nas amostras de feno (oferecido e sobras) e concentrado estas foram inicialmente incineradas (500 °C). Após digestão clorídrica, as amostras foram filtradas e o volume foi completado para 100 mL. Em seguida, foi realizada a determinação do P na amostra, usando espectrofotômetro, pelo método colorimétrico vanadato-molibdato (Sarruge & Haag, 1974), baseada na cor amarela do complexo formado pelo ácido fosfórico, ácido vanádico e ácido molíbdico. O teor de Ca foi determinado por espectrometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979).

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, foram adicionados 40 mL de água destilada e após fervura por 5 minutos procedeu-se à filtração do material. Em seguida, foi realizada a determinação do P na amostra pelo método do vanadato-molibdato (Sarruge & Haag, 1974).

Foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, MM, FDN e FDA. No caso específico do P e do Ca foram avaliados, tanto o coeficiente de absorção aparente (CAA) como o verdadeiro (CAV). O CAA foi calculado como segue:

$$\text{CAA (P ou Ca)} = (\text{P ou Ca ingerido} - \text{P ou Ca excretado}) / \text{P ou Ca ingerido}$$

Para a determinação do CAV de P e Ca foi necessário calcular primeiro a perda fecal endógena de ambos os elementos. A metodologia usada para esta determinação será apresentada posteriormente.

Também foi calculado o balanço ou retenção de N, P e Ca:

Balanço = elemento ingerido – (elemento nas fezes + elemento na urina).

A urina produzida diariamente, adicionada com 100 mL de H₂SO₄ 10% foi medida e 10% da mesma foi coletada para a determinação do teor de N conforme AOAC (1995).

2.2 Injeção de ³²P e análise das amostras

No sétimo dia dos animais nas gaiolas foi preparada uma solução radioativa, a partir de ³²P (Na₂H³²PO₄), 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 de ³²P em 0,5 mL de solução. Simultaneamente, seguindo a mesma metodologia foi preparada, também, uma solução de ⁴⁵CaCl. Foram preparadas 24 doses de 0,5mL (7,7 MBq de ⁴⁵Ca por dose)

No oitavo dia, pela manhã, através da jugular direita, foram injetadas nos animais as doses preparadas de ³²P e ⁴⁵Ca. Amostras de sangue foram colhidas 5 minutos após a injeção, e depois a cada 24 horas, durante sete dias. O sangue foi centrifugado a 1100 × g por dez minutos, para separar o plasma. Amostras de 1 mL de plasma foram misturadas a 9 mL de ácido tricloroacético (10%) para precipitação das proteínas. Após 10 minutos, o material foi centrifugado a 1100 × g e o sobrenadante separado para análise dos teores de P por colorimetria (Fiske & Subbarow, 1925) e de Ca por espectrofotometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979).

A partir de 24 horas após a injeção do radioisótopo, até o 8º dia, as fezes e a urina produzidas, diariamente, foram coletadas. As fezes eram pesadas e homogeneizadas, e amostras correspondentes a 10% do total foram colhidas. Uma alíquota de 1 g era colocada em cadinho para secagem em estufa e depois

queimada na mufla (500°C). Posteriormente, fez-se a digestão das cinzas com 5 mL de ácido clorídrico concentrado e a leitura do P por colorimetria (Sarruge & Haag, 1974) e do Ca por meio da espectrofotometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979).

A urina foi coletada em baldes plásticos contendo 100 mL de ácido sulfúrico 10% e alíquotas correspondentes a 10% do total diário foram armazenadas.

Os teores de P e Ca inorgânico na urina foram determinados utilizando-se 30 mL da amostra para digestão a quente, em HCl 12 N, seguido de secagem a 55°C em estufa e queima a 500°C. As cinzas obtidas por esse processo foram diluídas em HCl 3 N, ajustando-se o volume em balão volumétrico de 10 mL. A determinação de P foi feita segundo Fiske & Subbarow (1925) e a de Ca segundo Zagatto et al. (1979).

A detecção da radioatividade das amostras de plasma e fezes foi feita por efeito Cerenkov para o P e para o Ca utilizou-se o método de cintilação líquida (Nascimento Filho, 1977) em espectrofotômetro de cintilação líquida (Beckman LS 5000 - TA).

Após os sete dias de coletas, os cordeiros foram sacrificados de acordo com procedimentos da Comissão de Ética em Experimentação com Animais. As carcaças foram levadas para um depósito adequado constituído de tubos de concreto enterrados, com tampa e respiro. Esta instalação foi construída sob supervisão do Serviço de Proteção Radiológica do CENA.

2.3 Perda endógena fecal de P e Ca

A porcentagem de P e de Ca de origem endógena nas fezes foi calculada utilizando a técnica da diluição isotópica, que considera a atividade específica nas fezes (AEF) e no plasma (AEP) como indicado por Portilho et al. (2006):

$$\text{P ou Ca fecal endógeno (\%)} = (\text{AEF/AEP}) \times 100$$

$AEF = [(Atividade\ da\ amostra/Atividade\ do\ padrão)]/(mg\ de\ P\ ou\ Ca/g\ fezes)$

$AEP = [(Atividade\ da\ amostra/Atividade\ do\ padrão)]/(mg\ de\ P\ ou\ Ca/mL\ plasma)$

Perda endógena fecal (g/d) = P ou Ca excretado (g) × % P ou Ca endógeno

O valor do P e Ca endógeno nas fezes foi utilizado para o cálculo do coeficiente de absorção verdadeira (CAV):

$CAV\ (P\ ou\ Ca) = [P\ ou\ Ca\ ingerido - (P\ ou\ Ca\ nas\ fezes - P\ ou\ Ca\ endógeno\ nas\ fezes)]/P\ ou\ Ca\ ingerido$

2.4 Estatística e delineamento experimental

Utilizou-se um delineamento em blocos ao acaso. Foi realizada análise de variância considerando o efeito das seguintes fontes de variação: bloco (grupo), nível de P suplementar e o erro. No modelo, a soma dos quadrados para o fator teor de P na dieta foi dividida para testar os efeitos linear, quadrático e cúbico, com 1 grau de liberdade para cada contraste. Foi feita análise de correlação. Em caso de efeito significativo do nível de P foi feita regressão usando os valores absolutos das médias de ingestão de P para cada nível de suplementação. A comparação dos valores dos coeficientes de absorção de P verdadeira e aparente foi realizada através do teste t ($P < 0,05$). A análise estatística dos dados foi realizada usando as funções GLM e correlação do programa SPSS versão 12 para Windows. Nas tabelas de resultados, em alguns casos, o valor de *P* do contraste cúbico não foi mostrado por ser não significativo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O incremento nos níveis de suplementação com fosfato bicálcico ocasionou como era esperado, um aumento ($P < 0,001$) na ingestão de P (Tabela 2).

TABELA 2 Valores médios de ingestão de matéria seca (MS), P e Ca, e coeficientes de digestibilidade (CDA), de absorção aparente (CAA) e de absorção verdadeira (CAV) em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Variável	P suplementar (g/dia)				EPM ²	Valor P ¹	
	0	2	4	6		Lin	Qua
P ingerido (g/dia)	1,47	3,53	5,52	7,47	0,02	0,000	0,206
P ingerido (mg/kg PV)	42,8	101,3	163,3	220,8	13,8	0,000	0,400
Ca ingerido (g/d)	3,75	7,19	10,56	13,64	0,05	0,000	0,100
MS ingerida (kg/dia)	0,926	0,961	0,985	0,900	0,024	0,693	0,075
CDA da MS	0,59	0,61	0,57	0,57	0,005	0,075	0,444
CDA da PB	0,64	0,65	0,62	0,64	0,006	0,723	0,729
CDA da MO	0,61	0,63	0,59	0,61	0,006	0,477	0,771
CDA da MM	0,27	0,12	-0,11	-0,36	0,012	0,000	0,142
CDA da FDN	0,46	0,49	0,47	0,51	0,007	0,290	0,678
CDA da FDA	0,45	0,49	0,44	0,43	0,014	0,352	0,362
CAA de P	0,24	0,01	0,22	0,12	0,026	0,250	0,593
CAA de Ca	0,34	0,20	0,26	0,11	0,025	0,337	0,182
CAV de P	0,66	0,55	0,64	0,45	0,027	0,015	0,356
CAV de Ca	0,55	0,38	0,42	0,26	0,027	0,002	0,969
Balanço de N (g/d)	1,63	3,34	2,88	3,34	1,1	0,640	0,781
Balanço de P (g/d)	0,37	0,34	1,22	0,57	0,14	0,209	0,240
Balanço de Ca (g/d)	1,16	1,28	2,70	1,44	0,252	0,186	0,100
Ingestão de água (L/d)	2,48	2,63	2,64	2,76	0,07	0,242	0,936

¹Valor de significância dos contrastes linear e quadrático.

²Erro padrão da média.

Não foram observados efeitos significativos ($P>0,05$) dos níveis crescentes de ingestão de P sobre a ingestão total de MS (Tabela 2), que apresentou um valor médio de 0,943 kg/animal/dia (2,8% de PV). O concentrado oferecido diariamente (300 g/animal) o qual era adicionado com o fosfato, não apresentou sobras durante o período experimental.

Os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA (Tabela 2), que apresentaram valores médios de 0,59 ($\pm 0,02$), 0,61 ($\pm 0,03$), 0,64 ($\pm 0,03$), 0,48 ($\pm 0,04$) e 0,45 ($\pm 0,07$), respectivamente, não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$). Porém, a digestibilidade da fração mineral da dieta, que foi afetada pelos tratamentos ($P<0,001$), apresentou uma queda de 56% quando a ingestão de P flutuou entre 1,47 e 3,53 g/dia e de 69% entre os níveis de ingestão de P de 5,52 e 7,47 g/dia. Deve-se considerar que este coeficiente de digestibilidade é aparente e, portanto, não considera as perdas endógenas de minerais nas fezes, sendo possível a obtenção de valores negativos.

Ternouth & Sevilla (1990) avaliaram dietas com elevadas e baixas concentrações de Ca e/ou P em cordeiros da raça Corriedale de três meses de idade. Os autores observaram que o coeficiente de digestibilidade de MS diminuiu 10%, mas em animais que haviam sofrido 12 semanas de depleção de P, condição diferente à do atual estudo.

Apesar de não serem muitos os trabalhos que avaliam digestibilidade dos nutrientes quando se fornecem quantidades diferentes de P, existem evidências que indicam que a digestibilidade da MO, normalmente, não é afetada, se não existe déficit de P (Milton & Ternouth, 1985). Porém, diferente ao acontecido no presente estudo, aqueles autores encontraram que o coeficiente de absorção da fração FDN (50% da dieta), em ovinos adultos (38 a 43 kg) foi afetado ($P<0,05$) por variações nos níveis de P (até 8 g de P/dia). Os coeficientes, por eles observados estiveram entre 0,47 e 0,49, semelhantes aos

encontrados neste estudo, que estiveram entre 0,46 e 0,51 Apesar desta variação não foi evidenciada diferença estatística (P=0,123).

Os coeficientes de digestibilidade da MO que apresentaram média de 0,61 ($\pm 0,028$) estiveram próximos aos encontrados por Milton & Ternouth (1985) com valor médio de 0,64.

O coeficiente de absorção aparente (CAA) de P não foi afetado pelos tratamentos (P>0,05), diferente do observado para o coeficiente de absorção real (CAV) que foi influenciado linearmente (P=0,015) pelos tratamentos (Tabela 2).

A menor biodisponibilidade do P correspondeu à maior ingestão de P, indicando que a eficiência de absorção tendeu a diminuir com o aumento dos teores de P da dieta. Considerando o valor de ingestão de P, se observou que a queda no CAV foi mais pronunciada (Figura 1) quando o valor de ingestão superou 5 g/d ou 0,148 mg de P/kg PV.

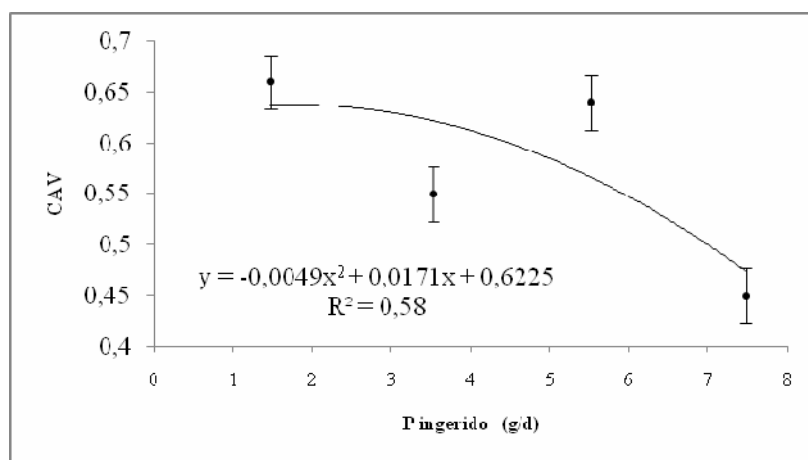


FIGURA 1 Relação entre os valores médios de ingestão de P e o coeficiente de absorção verdadeira (CAV) do mineral em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P.

O valor calculado do CAV na menor ingestão de P (1,47 g/d) foi de 0,64, para uma ingestão de 5 g de P o valor foi de 0,58, e no maior valor observado de ingestão (7,47 g/d) o CAV calculado foi de 0,48, isto indica uma queda aproximada de 9% entre 1,47 e 5 g de ingestão de P, e de 17% entre 5 e 7,47 g de P ingerido. Esta queda na eficiência de absorção poderia indicar que as duas vias que determinam a absorção de P no intestino (transcelular e paracelular) estariam sendo afetadas.

O teor de P no plasma foi influenciado pelos tratamentos, como discutido no capítulo 3. Os valores médios observados foram de 6,66; 7,92; 8,78 e 9,02 mg/100mL nos tratamentos 0, 2, 4 e 6 g de P suplementar por dia. A correlação significativa (0,51; $P < 0,01$) entre os valores do teor de P no plasma e da quantidade real de P da dieta absorvido evidenciam a presença de mecanismos homeostáticos. Correlação significativa (0,51; $P < 0,001$) foi também observada entre o teor de P no plasma e a quantidade de P presente nas fezes.

Bravo et al. (2003) analisando os resultados de 49 estudos observaram uma relação quadrática ($P < 0,01$) entre a ingestão de P e o P absorvido, porém com características diferentes entre espécies (ovinos, bovinos) e entre fases fisiológicas.

A maior parte de estudos que avaliaram níveis de ingestão crescente de P sobre a eficiência de absorção de P em ruminantes não observaram quedas tão pronunciadas como as obtidas neste estudo, porém deve-se levar em consideração que poucos estudos chegaram a níveis de inclusão de P na dieta próximos a 0,80% da MS ou 220 mg P/kg PV.

Williams & Luca (2007) observaram que o efeito da $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sobre o estímulo da absorção de P, desapareceu quando as quantidades de fosfato no intestino foram elevadas. Embora Breves & Schröder (1991) tiveram indicado que no mínimo outros dois hormônios poderiam estar participando na regulação da absorção intestinal de P, é possível que o aumento na concentração

plasmática de P, como comprovado por Silva (2008), seja o principal responsável pela diminuição nos níveis de $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ e conseqüentemente, pela diminuição da eficiência de absorção de P no intestino.

A $1,25\text{ (OH)}_2\text{ Vit.3}$ e o paratormônio participam ativamente na homeostase de P no organismo dos mamíferos. Quando a ingestão de P é incrementada, como aconteceu neste trabalho, a síntese de $1,25\text{ (OH)}_2\text{ Vit.3}$ é diminuída em função do incremento do paratormônio. Desta forma é reduzida a absorção intestinal de P (Berndt & Kumar, 2007). Se levado em consideração o grau de correlação observado entre os valores de P no plasma e as quantidades absorvidas e excretadas de P, que apesar de significativo não foi tão alto, se poderia inferir que outros estímulos estariam participando na inibição dos fluxos de P entre o trato gastrointestinal e o plasma. Os autores acima referenciados, destacam a existência de outros fatores, entre eles o FGF-7 (fator de crescimento fibroblástico), que estariam afetando a síntese de $1,25\text{ (OH)}_2\text{ Vit.3}$ e portanto a absorção de P.

Porém, as variáveis estudadas no presente trabalho não permitem concluir com precisão, quais os mecanismos que influenciaram negativamente a eficiência de absorção de P.

É importante lembrar que a dieta com o teor inferior de P (0,16%) não teve a participação de fosfato bicálcico, portanto o P dessa dieta foi fornecido pela dieta base (farelo de soja e de mandioca, melão e feno). Porém, a eficiência de absorção de P da dieta não suplementada com fosfato foi semelhante ao nível de ingestão de P de 5,52 g/dia e 32% superior ao da dieta com o maior teor de P (Tabela 2). Segundo Kincaid & Rodehutsord (2005), o P contido nas folhas de gramíneas tem boa disponibilidade, e nesse tratamento, 65% do P ingerido foi aportado pelo feno da dieta.

Apesar da correlação (0,55; $P < 0,05$) entre os valores dos CAA e os CAV de P, estes diferiram entre si ($P < 0,001$). Os valores médios foram de 0,17 e

de 0,56 para o CAA e o CAV, respectivamente. Ficou evidente que o CAA subestimou consideravelmente a eficiência real de absorção do P da dieta (Figura 2). Bravo et al. (2003) estudaram vários aspectos relacionados com a absorção de P, usando uma ampla base de dados (1228 animais) e evitaram usar o CAA, porque segundo eles, existem grandes diferenças entre animais, que fazem com que as variações devidas aos aspectos do P da dieta sejam insignificantes, ou que na realidade não acontece.

Breves & Schröder (1991) destacam a grande variabilidade na produção de saliva entre indivíduos, e esta representa a maior proporção de P endógeno que aparece nas fezes. Desta forma, o coeficiente de absorção aparente não seria um bom indicador para concluir sobre a disponibilidade do P da dieta.

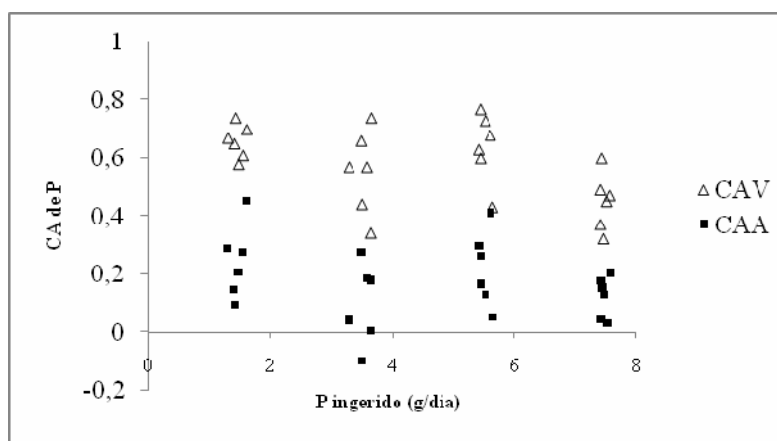


FIGURA 2 Valores observados dos coeficientes da eficiência de absorção verdadeira (CAV) e aparente (CAA) de P em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P.

Os valores dos CAV de P observados neste estudo (0,45 a 0,66) foram inferiores ao valor definido pelo CSIRO (2007) de 0,70 para todas as categorias. O NRC (2007) utiliza o coeficiente 0,60 para calcular a exigência dietética de P

em ovinos em manutenção, lactação e gestação, e 0,72 para ovinos em crescimento. Segundo esta recomendação, com exceção do coeficiente 0,45 da dieta com o maior teor de P, os demais valores estiveram mais próximos do valor indicado para manutenção.

Portilho et al. (2006) usando a técnica da diluição isotópica com ^{32}P encontrou CAV superiores aos deste trabalho, mas os autores trabalharam com cordeiros da raça Santa Inês com 22 kg de peso. O menor coeficiente (dieta sem adição de fosfato) foi de 0,58. Nas demais dietas os coeficientes estiveram entre 0,67 e 0,72. A fase fisiológica poderia estar sendo uma das causas das diferenças entre esse e o presente estudo. Braithwaite (1975) já havia indicado que animais jovens apresentam maior eficiência na absorção de P do que animais maduros. Portanto, causa controvérsia que alguns comitês considerem coeficientes de absorção constantes para todas as categorias para definir a quantidade a ingerir.

Alguns estudos usaram o coeficiente de absorção aparente de P para determinar o efeito de níveis crescentes de ingestão de P sobre alguns parâmetros relacionados aos fluxos de P, como foi o caso de Dove et al. (2004). Estes autores observaram que o P aparentemente absorvido apresentou incremento linear ($P < 0,05$) com o aumento na ingestão de P, mas este parâmetro deve ser cuidadosamente analisado quando não é possível obter o CAV e se possível evitar utilizá-lo como parâmetro único em experimentos que estudem eficiência de absorção de P.

O balanço de N, de P e de Ca, também não foi afetado ($P > 0,05$) pelo teor de P da dieta. Nos três casos, os valores de retenção foram positivos em todos os tratamentos. Isto indica que no caso do P e do Ca, a excreção destes minerais incrementou com o aumento na ingestão dos elementos, o que explica, em parte, o que sucedeu com a retenção de P e de Ca, que não mudou entre tratamentos. Silva (2008) comprovou o incremento na excreção fecal de P à

medida que aumentou sua ingestão [P fecal (g/d) = $0,86P_{ing} - 0,08$; $R^2=0,92$; $P<0,01$].

Usando a equação descrita pelo NRC (2007) e pelo CSIRO (2007) para determinar a ingestão de P, o consumo para estes animais deveria estar em torno de 1,6 g/d. Considerando a eficiência de absorção de P no menor nível de ingestão, poderia indicar-se que esta dieta foi levemente deficitária no elemento.

Os balanços de N, P e Ca não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$). De outra parte, também não foi observada correlação entre os valores destas três variáveis. Isto evidenciou que não foi verificado um acoplamento entre os fatores que determinaram a retenção desses elementos, indicando que a partição e os fluxos orgânicos foram diferentes. Neste sentido, Block et al. (2004) afirmaram que a cinética do N é diferente.

Portilho et al. (2006) que avaliaram níveis crescentes de ingestão de P, equivalentes por peso aos deste trabalho, em cordeiros da raça Santa Inês de 22 kg de PV, observaram que nos níveis inferiores de ingestão (0 e 1,5 g de P suplementar) a retenção foi negativa, e nos níveis da maior ingestão (3 e 4,5 g de P suplementar) se apresentou positiva, com incremento linear na retenção de P com o aumento na ingestão. Considerando estes resultados poder-se-ia concluir que existe diferença em relação ao balanço de P entre indivíduos em diferentes etapas de crescimento. Os autores explicaram o incremento linear na retenção de P devido às exigências para animais dessa idade em crescimento.

Em ovinos da raça Suffolk entre 38 e 40 kg de peso, Louvandini & Vitti (2007) observaram resultados semelhantes aos deste estudo em relação à retenção de P, que não apresentou variações com o aumento na ingestão de P (inferiores às deste estudo) e com valores sempre positivos. Segundo Vitti (2000) o menor nível de ingestão no presente estudo (42,8 mgP/kg PV) poderia ser considerado como marginalmente deficiente (entre 30 e 80 mg de P/kg PV),

e os demais níveis de ingestão (>100 mg P/kg PV) como excessivos. Porém, no tratamento com o menor teor de P o balanço foi também positivo.

Com relação aos coeficientes de absorção de Ca foi observada uma situação similar ao acontecido para o P. Os valores médios dos CAA e CAV foram diferentes ($P < 0,0001$) entre si apesar da correlação (0,56; $P = 0,005$) entre eles (Figura 3).

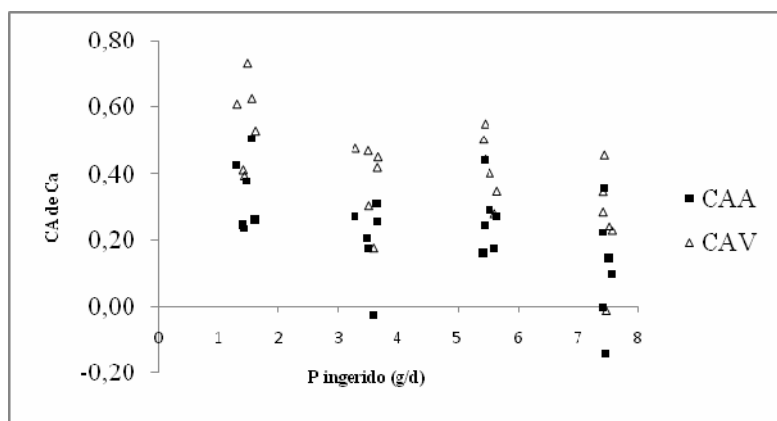


FIGURA 3 Valores observados dos coeficientes da eficiência de absorção (CA) verdadeira (CAV) e aparente (CAA) de Ca em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P.

A eficiência de absorção de Ca diminuiu linearmente ($P = 0,01$) com o aumento nos teores de P e de Ca da dieta. Ao relacionar os valores de ingestão de P com o CAV (Figura 4) observa-se, também o comportamento linear desta variável, com uma queda de 0,04 pontos na eficiência de absorção por cada 1 g de P ingerido. Como a relação Ca:P foi semelhante nos diferentes tratamentos, a explicação a este comportamento deve ser dirigida ao incremento na ingestão de P e Ca.

Pfeffer et al. (2005) observaram que na maioria de estudos que utilizaram simultaneamente isótopos de P e Ca, os valores dos CAV foram maiores para o P e menores para o Ca. Se analisada a maneira como cada mineral foi afetado pelo incremento na ingestão, então resulta claro que a mobilização destes minerais através do epitélio intestinal não esteve completamente acoplada, devido a que os sistemas de transporte transmembrana seriam afetados diferentemente pelos hormônios que participam nos processos de homeostase. Isto é explicado pela relação decrescente entre o Ca absorvido e o P absorvido, que foi de 2,1:1; 1,4:1; 1,2:1 e 1,05:1 nos níveis de suplementação 0; 2; 4 e 6 g/dia, respectivamente.

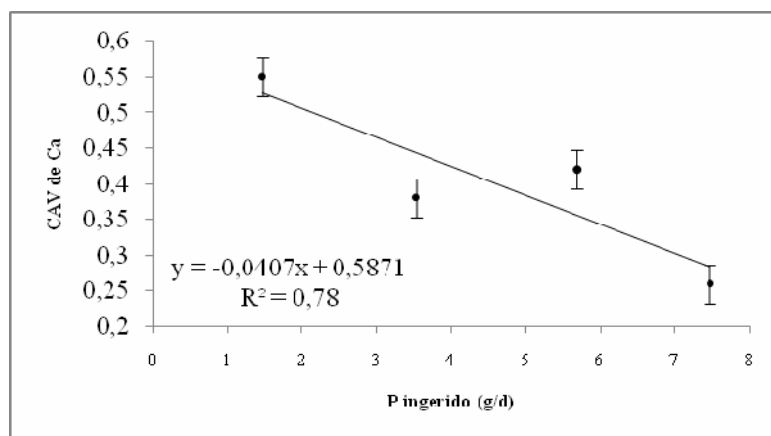


FIGURA 4 Relação entre os valores médios de ingestão de P e o coeficiente de eficiência de absorção verdadeira de Ca em ovinos em crescimento suplementados com diferentes quantidades de P.

Um valor constante de 0,68 para o coeficiente de absorção de Ca, para bovinos e ovinos de todas as idades, é considerado pelo CSIRO (2007) para calcular a exigência dietética de Ca. O NRC (2007) adota o mesmo valor anterior (0,68) para ovinos em crescimento, sem considerar a idade, e um

coeficiente de 0,40 para animais em manutenção. O valor do CAV de Ca obtido no menor nível de P na dieta (0,55) está mais próximo do indicado pelo NRC (1985) de 0,60 para animais em crescimento.

Se consideradas as indicações de outros comitês (ARC, 1980; AFRC, 1991) e outros autores (Braithwaite, 1983; Crisp & Sykes, 1989; Ternouth & Coates, 1997; Roque et al., 2006) em relação aos coeficientes de absorção de Ca e P, torna-se evidente que ainda persistem diferenças que poderiam causar inconsistências na determinação da exigência dietética. Como concluído por Block et al. (2004), que analisaram as exigências de P para gado de corte, estas devem ser mais refinadas e os vários aspectos fisiológicos que as influenciam devem ser considerados.

A ingestão de água (Tabela 2) não foi afetada pelos tratamentos ($P=0,665$). Vários fatores influenciam a ingestão de água, entre eles a ingestão de MS. A relação entre ingestão de água e de MS foi de 2,7 nos três primeiros níveis de suplementação avaliados. No maior nível de suplementação (6 g/d) a relação foi de 3:1. Segundo Forbes (1968) citado pelo NRC (2007) o consumo de água é explicado pela equação: $\text{Ingestão de água} = 3,86 \times \text{IMS} - 0,99$. Calculando a ingestão de água a partir desta equação foram obtidos valores muito próximos aos observados. O valor médio observado de ingestão de água foi de 2,63 L e o valor calculado foi de 2,65 L, indicando a precisão do modelo.

4 CONCLUSÃO

Incrementos na ingestão de P não influenciaram a eficiência com que os componentes da fração orgânica da dieta foram absorvidos no TGI. Porém, no caso do fósforo, quando a ingestão superou cinco gramas por dia o coeficiente de absorção verdadeira apresentou queda de 17%. Os coeficientes de absorção

aparente de P e de Ca não foram parâmetros confiáveis para conhecer a eficiência com que o P e Ca dietético foram absorvidos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. A reapraisal of the calcium and phosphorus requirements of sheep and cattle. **Nutrition Abstracts Review**: series B, Wallingford, v.61, p.573-612, Sept. 1991. (Report, 6).

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. **The nutrient requirements of farm livestock**. London, 1980. 351p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. v.1.

BERNDT, T; KUMAR, R. Phosphatonins and the regulation of phosphorus homeostases. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v.69, n.1, p.341-369, Jan./Dec. 2007.

BLOCK, H.C.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, T.J. Review: re-evaluation of phosphorus requirements and phosphorus retention of feedlot cattle. **Professional Animal Scientist**, Champaign, v.20, n.4, p.319-329, Aug. 2004.

BRAITHWAITE, G.D. Studies on the absorption and retention of calcium and phosphorus by young and mature Ca-deficient sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.34, n.2, p.311-324, Sept. 1975.

BRAITHWAITE, G.D. Calcium and phosphorus requirement of the ewe during pregnancy and lactation, 1 calcium. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.50, n.3, p.711-722, Nov. 1983.

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

BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.4, n.1, p.125-140, Jan. 1991.

CHRISP, J.S.; SYKES, A.R. Faecal endogenous loss of calcium in young sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.61, n.1, p.59-65, Jan. 1989.

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION. **Nutrient requirements of domesticated ruminants**. Collingwood: CSIRO, 2007. 270p.

DOVE, H.; CHARMLEY, E. Relationships between phosphorus intake, plasma phosphorus and fecal and urinary phosphorus excretion in young sheep. **Animal Production in Australia**, Victoria, v.25, n.1, p.37-40, July 2004.

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

LOUVANDINI, H.; VITTI, M.S.S.V. Cinética de fósforo com modelos matemáticos em ovinos adultos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.10, p.1467-1472, out. 2007.

MILTON, J.T.B.; TERNOTH, J.H. Phosphorus metabolism in ruminants. II. Effects of inorganic phosphorus concentration upon food intake and digestibility. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.36, n.4, p.647-654, Aug. 1985

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of sheep**. 6.ed. Washington: National Academic of Sciences, 1985. 72p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle** 7.ed. Washington: National Academic of Sciences, 2001. 408 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington: National Academic, 2007. 362p.

NASCIMENTO FILHO, V.F. **Utilização do efeito Cerenkov na detecção de radionuclídeos emissores de radiações beta**. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1977. 35p.

OBA, M.; ALLEN, M.S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.1, p.589-596, Jan. 1999.

PFEFFER, E.; BEEDE, D.K.; VALK, H. Phosphorus metabolism in ruminants and requirements of cattle. In: PFEFFER, E.; HRISTOV, A. **Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle: reducing the environmental impact of cattle operations**. London: CABI, 2005. cap.5, p.195-231.

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, n.1-2, p.170-176, May 2006.

ROQUE, A.P.; DIAS, R.S.; VITTI, D.M.S.S.; BUENO, I.C.; Da CUNHA, E.A.; SANTOS, L.E.; BUENO, M.S. True digestibility of calcium from sources used in finishing Lamb diets. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.71, n.1-3, p.243-249, Aug. 2007.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.

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

SOEST, P.J. van; WINE, R.H. Use of detergent in the analysis of farmers feed. IV. Determination of plant cell wall constituents. **Journal of Association of Analytical Chemistry**, Durant, v.50, n.1, p.50-55, Jan. 1967.

TERNOUTH, J.H.; COATES, D.B. Phosphorus homeostasis in grazing breeder cattle. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.128, n.3, p.331-337, May 1997.

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**, Melbourn, v.41, n.1, p. 175-184, Feb. 1990.

VITTI, D.M.S.S. **Modelos biomatemáticos do metabolismo de fósforo em ovinos e caprinos**. 2000. 149p. Tese (Livre Docência) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.

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

WILLIAMS, K.B.; LUCA, H.F. Characterization of intestinal phosphate absorption using a model in vivo method. **American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism**, Palo alto, v.292, n.6, E1917-E1921, June 2007.

ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; JORGENSON, S.S.; REIS, B.F. Merging zones in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic absorption and flame emission spectrometry. **Analytical Chemical Acta**, Amsterdam, v.104, n.1, p.279-284, Jan. 1979.

**CAPÍTULO 3: CINÉTICA DE FÓSFORO EM TECIDOS DE OVINOS
ALIMENTADOS COM QUANTIDADES DIFERENTES DO MINERAL**

RESUMO

Avaliou-se o efeito do incremento na concentração de fósforo (P) dietético sobre a cinética do mineral nos tecidos (fígado, rins, coração, testículos, músculo e ossos) de cordeiros. Vinte e quatro machos da raça Santa Inês com peso médio de 34,5 kg foram distribuídos a quatro tratamentos, que consistiram em níveis crescentes de suplementação com P (0; 2; 4 e 6 g/animal/dia). Foi utilizado um delineamento em blocos ao acaso com parcelas subdivididas. Os cordeiros foram injetados com 7,4 MBq de ^{32}P e abatidos oito dias depois. Foram determinadas a concentração de P, a retenção, a atividade específica relativa (EAR) e a padronizada (AEP) do ^{32}P nos tecidos. O incremento na ingestão de P afetou linearmente a concentração plasmática de P, a atividade metabólica dos tecidos (AER) e a retenção de ^{32}P . Para a AER a relação foi negativa. A AEP (substituição do P estável por ^{32}P) foi afetada quadraticamente pelo aumento na ingestão de P. O fígado apresentou AER, AEP e retenção de ^{32}P superior aos demais tecidos, com comportamento diferente em relação ao incremento na ingestão de P. O osso teve a maior concentração de P. Foi verificada a influência da variação na ingestão de P sobre a cinética do mineral nos tecidos.

ABSTRACT

The effect of increased phosphorus (P) levels in diet on P kinetics in lambs tissues (liver, kidneys, heart, testis, muscle and bone) was studied. Twenty-four Santa Inês lambs with average weight of 34.5 kg were allotted to four treatments (0; 2; 4 e 6 g of supplementary P per animal per day). A randomized blocks with split plots design was used. Lambs were injected with 7.4 MBq of ^{32}P and slaughtered eight days later. P concentration, retention, relative specific activity (RSA) and standardized (SSA) of ^{32}P in tissues were determined. P plasma concentration, metabolic activity of tissues (RSA) and ^{32}P retention were affected linearly with the increase in P intake. For the RSA the relationship was negative. SSA (substitution of P stable for ^{32}P) decreased with the increase in P intake, showing a quadratic effect. Liver showed RSA, SSA and ^{32}P retention higher than the other tissues, with different tendency in relation to the increase in intake of P. The bone had the highest concentration of P. The influence of P intake on the P kinetics in lambs tissues were verified.

1 INTRODUÇÃO

O P é um elemento essencial, envolvido no desenvolvimento ósseo e na maioria dos processos metabólicos do corpo (Kebreab & Vitti, 2005).

Na atualidade, o P está sendo o foco de novos estudos, por ser considerado um poluente do ambiente (Hill et al., 2008), devido à contaminação de fontes de água por P de origem animal, liberado através das excretas. Melhor compreensão dos processos metabólicos e dos demais fatores que influenciam a liberação de P ao ambiente é fundamental para poder definir estratégias que permitam reduzir sua excreção (Kojima et al., 2005).

A incorporação do fósforo nos vários tecidos e órgãos é variável e dependente da taxa de renovação e da fase de crescimento do animal. A troca desse mineral nos tecidos decresce com a idade e aumenta durante os períodos de atividade reprodutiva, sendo essas trocas mais intensas no fósforo lábil do esqueleto e na matéria esponjosa do osso (Georgievskii, 1982).

O radiofósforo ^{32}P tem sido usado como marcador plasmático para estudar o metabolismo do P no organismo (Kebreab & Vitti, 2005; Dias et al., 2007). A concentração, taxa de retenção e atividade específica padronizada (AEP) e relativa (AER) do ^{32}P permitem estudar a cinética de P nos tecidos (Teixeira et al., 2004).

A taxa de retenção do ^{32}P representa a fração da dose de radiofósforo incorporado por cada grama de tecido. A AEP avalia a incorporação do ^{32}P nos tecidos, ou seja, a substituição do P estável pelo P radioativo, levando em consideração a correção da dose da atividade injetada para o peso dos animais (Lopes et al., 1999; Moreira et al., 2004).

A AER é um índice que expressa a taxa de troca de ^{32}P entre plasma e tecidos.

Dias et al. (2007) observaram que a retenção de ^{32}P em ovinos foi maior ($P < 0,05$) nos ossos, seguida do músculo, fígado, coração e rins, semelhante ao observado por Bueno & Vitti (1999), em caprinos da raça Alpina. Resultados diferentes foram observados por Lobão & Crocomo (1974) em ovinos, onde os ossos apresentaram a menor retenção.

Smith (1952) constatou que a AEP e AER do ^{32}P , em ovinos, decresceu na seguinte ordem: fígado, rim, coração e músculo. Resultados obtidos por Bueno & Vitti (1999) indicaram que a atividade específica padronizada do ^{32}P diminuiu com o aumento na ingestão de P.

Mais estudos são necessários para poder entender os fatores que causam estas diferenças no metabolismo de P nos tecidos, incluindo o testículo que não tem sido muito estudado.

Este estudo foi desenvolvido para estudar a cinética do P, em termos de distribuição, taxa metabólica e intercâmbio de P, em tecidos de ovinos em crescimento recebendo diferentes níveis de P na dieta, utilizando o radiofósforo ^{32}P como traçador.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, animais e dietas experimentais

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo. Vinte e quatro ovinos machos da raça Santa Inês, com oito meses de idade e pesando em média 34,5 kg ($\pm 1,4$ kg), foram mantidos, inicialmente, em baias de alvenaria, durante sete dias, onde começaram a receber as dietas experimentais. Devido à disponibilidade de gaiolas o experimento foi conduzido em períodos de tempo diferentes, formando dois grupos (blocos) de 12 animais em cada período. Posteriormente, os cordeiros foram transferidos para gaiolas

de estudo de metabolismo, equipadas com coletores para fezes e urina, cochos de alimentação e bebedouro, onde permaneceram duas semanas. O estudo de digestibilidade aparente dos nutrientes foi realizado durante a primeira semana nas gaiolas, e a parte referente à absorção verdadeira de Ca e P durante a segunda semana.

Os tratamentos (Tabela 3) consistiram em quantidades crescentes de P suplementar na dieta (0; 2; 4 e 6 g/animal/dia).

TABELA 3 Constituição e composição bromatológica das dietas nas diferentes quantidades de fósforo (P) suplementar

CONSTITUINTES ¹ , %	P suplementar (g/dia)			
	0	2	4	6
Feno de Coast Cross	71,6	70,6	69,7	68,8
Farinha de mandioca	18,8	18,5	18,3	18,1
Farelo de soja	5,7	5,6	5,6	5,5
Melaço	1,2	1,2	1,2	1,2
Ureia	1,7	1,7	1,7	1,6
Fosfato bicálcico	-	1,3	2,6	3,9
Mistura mineral*	1,0	1,0	1,0	1,0
COMPOSIÇÃO ² , %				
NDT	50,9	50,3	49,6	49,0
PB	11,9	11,7	11,5	11,4
EE	1,7	1,6	1,6	1,6
MM	7,2	8,5	9,7	10,8
FDN	59,3	58,6	57,8	57,0
FDA	32,6	32,2	31,7	31,3
P	0,16	0,37	0,58	0,79
Ca	0,35	0,78	1,22	1,64
Ca:P	2,2	2,1	2,1	2,1

¹Na matéria natural

²Na matéria seca

*Composição: Cl, 219 mg/g; Na, 145 mg/g; S, 70 mg/g; Mg, 10 mg/g; Zn, 4,6 mg/g; Mn, 1,1 mg/g; Fe, 0,50 mg/g; Cu, 0,30 mg/g; I, 80 mg/kg; Co, 40 mg/kg; e Se, 15 mg/kg.

As quatro dietas preparadas foram isoenergéticas e isoproteicas. Excluindo a dieta do tratamento sem suplementação de P, as demais foram adicionadas com níveis crescentes de fosfato bicalcico (16% de P) para conseguir os diferentes níveis de P suplementar (Tabela 3). A dieta basal (tratamento sem suplementação) foi formulada para cobrir as exigências nutricionais para esse tipo de animais, utilizando as recomendações do NRC (2007). As demais dietas foram formuladas para teores de P e Ca superiores às exigências, com o nível máximo correspondendo, aproximadamente, a quatro vezes o valor do requerimento. A relação Ca:P foi semelhante em todos os tratamentos (Tabela 3).

O concentrado (300 g/d), adicionado com o fosfato, e o feno de capim “coast-cross” (*Cynodum dactylon* L. pers) foram oferecidos, diariamente, em cochos separados. O concentrado, que não apresentou sobras, era oferecido no período da manhã e o feno era fornecido duas vezes ao dia (8 e 17 h), para permitir 10% de sobras. A quantidade de água oferecida e a não bebida foram medidas. Diariamente, o consumo de alimento e água de cada animal foi calculado e registrado, considerando a oferta e as sobras.

O concentrado, que não apresentou sobras, era oferecido no período da manhã e o feno era fornecido duas vezes ao dia, para permitir 10% de sobras. Diariamente foram registrados o consumo de alimento e as sobras.

Amostras dos ingredientes da ração e das sobras foram coletadas para a determinação da matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo e proteína bruta, segundo AOAC (1995). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas, segundo Van Soest & Wine (1967) e o teor de P por colorimetria (Sarruge & Haag, 1974), e o de Ca por espectrofotometria de absorção atômica (Zagatto et al., 1979).

2.2 Injeção de ^{32}P e análise das amostras

Após um período de adaptação de sete dias nas gaiolas, foram injetados em cada animal 7,4 MBq de ^{32}P (em 0,5 mL de solução salina 0.85%) na vaia jugular direita e amostras de sangue foram colhidas pela jugular esquerda, usando tubos a vácuo contendo anticoagulante. As colheitas foram 5 minutos após a injeção, e depois a cada 24 horas, durante sete dias.

O sangue foi centrifugado a $1100 \times g$ por dez minutos, para separar o plasma. Amostras de 1 mL de plasma foram misturadas a 9 mL de ácido tricloroacético (10%) para precipitação das proteínas. Após 10 minutos, o material foi centrifugado a $1100 \times g$ e o sobrenadante separado para análise dos teores de P inorgânico por colorimetria (Fiske & Subbarow, 1925).

No oitavo dia, após a injeção do ^{32}P , os cordeiros foram sacrificados de acordo com procedimentos da Comissão de Ética em Experimentação com Animais.

Após a sangria dos animais, fígado, coração, rins e testículos foram separados e pesados. Uma amostra de tecido muscular foi obtida realizando um corte transversal, de aproximadamente 5 cm de largura, no membro posterior direito, agrupando os músculos bíceps femoral, gastrocnêmio, gracillis, semimembranoso e semitendinoso. A amostra de osso foi representada pela 12^a costela, que foi retirada do lado direito do animal. O restante das carcaças foi levado para um depósito adequado constituído de tubos de concreto enterrados, com tampa e respiro. Esta instalação foi construída sob supervisão do Serviço de Proteção Radiológica do CENA.

As amostras dos tecidos foram limpas e preparadas para a determinação do teor de matéria seca, seguida de uma pré-queima com ácido nítrico 50%. As cinzas obtidas por incineração (500°C), foram solubilizadas em ácido clorídrico, e o teor de P inorgânico determinado segundo Sarruge & Haag (1974).

A detecção da radioatividade de ^{32}P nos tecidos e no plasma foi realizada em espectrômetro de cintilação líquida por efeito Cerenkov (Nascimento Filho & Lobão, 1977).

Para todos os tecidos coletados, calculou-se, a concentração de P (mg/g MS), a retenção do ^{32}P , a atividade específica padronizada (AEP) e a atividade específica relativa (AER), como descrito a seguir:

Retenção de ^{32}P = [(cpm amostra tecido/g MS)/cpm dose injetada]/(mg P/g MS);

AEP = [(cpm amostra tecido/g MS)/(mg P/g MS)]/(cpm dose injetada/kg PV) e

AER = Atividade específica do tecido/Atividade específica do plasma.

Além das anteriores variáveis foi determinada, também, a concentração de P no plasma.

A detecção da radioatividade de ^{32}P foi realizada em espectrômetro de cintilação líquida por efeito Cerenkov (Nascimento Filho & Lobão, 1977).

2.3 Estatística e delineamento experimental

Utilizou-se um delineamento em blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas. O fator níveis de P da dieta foi alocado nas parcelas e os tecidos nas subparcelas (seis tecidos). Foi realizada análise de variância utilizando as seguintes fontes de variação no modelo: grupo (como bloco, 1 gl); P suplementar, com soma dos quadrados dividida para testar os efeitos linear, quadrático e cúbico, com 1 grau de liberdade para cada contraste; erro 1; tecido (5 gl); a interação entre P suplementar e tecido (15 gl) e o erro 2, totalizando 143 graus de liberdade para o n total. Dentro de bloco cada tratamento teve três repetições. A comparação das médias dos tecidos foi feita utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi feita análise de correlação de Pearson entre as variáveis em estudo. A análise estatística dos dados foi realizada usando as funções GLM e Correlação do programa SPSS versão 12 para Windows.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma relação linear positiva ($P < 0,05$) e correlação (0,52; $P < 0,01$) entre os níveis de ingestão de P e os teores de P no plasma (Tabela 4) devido ao incremento nas quantidades absorvidas de P.

TABELA 4 Valores médios de ingestão de P e matéria seca (MS), e da concentração de P no plasma em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Variável	P suplementar (g/dia)				EPM ²	Valor P ¹	
	0	2	4	6		Lin	Qua
P ingerido (g/dia)	1,47	3,53	5,52	7,47	0,02	0,001	0,21
P no plasma (mg/100mL)	6,66	7,92	8,78	9,02	0,34	0,016	0,46

¹Valor de significância dos contrastes linear (Lin) e quadrático (Qua). Contrastes cúbicos não significativos.

²Erro padrão da média.

A concentração de P no plasma foi afetada linearmente ($P=0,016$) pelo incremento na ingestão de P, porém os valores situaram-se dentro de uma faixa (6 e 9 mg/100mL) considerada normal para ruminantes jovens (Underwood & Suttle, 2003). Silva (2008) apresenta uma discussão detalhada desta variável. Esta variável sofre os efeitos do sistema fisiológico, pois, é o centro da mobilização, recebendo o P reciclado dos ossos e dos tecidos e excretando via urina, saliva e TGI, sendo considerada por alguns pesquisadores como um indicador pobre para estudos desta natureza.

O incremento nos teores de P no plasma inibe a síntese de $1,25(\text{OH})_2$ Vit. D₃ devido ao incremento na produção do paratormônio. A redução desta vitamina ocasiona uma diminuição na absorção intestinal de P, processo

necessário para manter a homeostase do elemento no organismo (Berndt & Kumar, 2007).

A concentração de P inorgânico diferiu ($P < 0,001$) entre os tecidos estudados, mas sem efeito ($P > 0,05$) da suplementação com P, nem da interação entre os dois fatores (Tabela 5).

TABELA 5 Valores de concentração de P inorgânico (mg/g MS) em tecidos de em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Tecido	P suplementar (g/dia)				Média ²
	0	2	4	6	
Osso	83,85	83,41	80,80	83,46	82,88c
Músculo	7,03	7,06	7,70	7,99	7,44a
Rim	11,58	10,97	12,76	12,63	11,99b
Coração	7,74	7,71	8,63	9,24	8,33a
Fígado	10,11	9,84	12,23	11,82	11,00b
Testículo	12,28	12,60	13,98	13,44	13,08b
Média ¹	22,10	21,93	22,69	23,06	

¹Contrastes linear, quadrático e cúbico não significativos ($P > 0,10$).

^{1,2}Valor de significância de: Tecido ($P < 0,0001$); Nível de P suplementar*Tecido ($P = 0,933$).

²Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM=0,250

O osso apresentou a maior concentração de P, seguido em ordem decrescente pelo testículo, rim e fígado, que não diferiram entre si, e pelo coração e o músculo que apresentaram as menores concentrações ($P < 0,05$).

Em estudo prévio, com animais de 32 kg PV e do mesmo grupo genético, Dias et al. (2007) estudando o efeito de diferentes fontes de Ca sobre a cinética de P nos tecidos, não observaram diferenças ($P > 0,05$) entre as concentrações de P nos tecidos moles. Rins e fígado apresentaram concentrações de P mais baixas (45 e 9%, respectivamente) e os ossos, concentração 7% mais elevadas que as observadas no presente estudo.

Smith et al. (1952) obtiveram valores de concentração de P semelhantes às observadas neste estudo, exceto no fígado, que foi 30% maior. O testículo apresentou concentração idêntica.

Em caprinos de 34 kg de PV alimentados com níveis crescentes de P, Bueno (1997) observou maior concentração de P no osso ($P < 0,05$), seguido do fígado, rim e coração, e finalmente músculo, todos com valores superiores aos do atual estudo.

Os resultados de Bueno (1997) indicaram que o aumento na ingestão de P influenciou linearmente ($P < 0,05$) a concentração de P no coração, músculo e rim, sem serem afetadas as concentrações no fígado e no osso, divergindo dos resultados encontrados no atual trabalho, onde não houve efeito dos níveis de P na dieta sobre a concentração de P em nenhum tecido.

A correlação negativa ($-0,57$; $P < 0,01$), entre a concentração de P no tecido e a AER pode ser um indício de que tecidos com menor concentração de P apresentam velocidades de troca maiores com os fluidos extracelulares.

Os estudos referenciados evidenciam a variabilidade na concentração de P inorgânico nos tecidos e a resposta diferencial destes em relação à quantidade ingerida de P. Landsman et al. (2005) indicaram que fatores, como a fase fisiológica, ritmo de crescimento, além das variações na ingestão de P, são, em parte, responsáveis pelas variações no metabolismo do mineral nas diferentes espécies. Esses autores comprovaram que a alteração nos fosfatos dietéticos, em ratos, produziu efeitos específicos no tecido hepático e no adiposo.

Em relação à retenção de ^{32}P a presença de interação ($P < 0,001$) entre os fatores tecido e nível de P suplementar, indicou que os tecidos apresentaram diferenças no seu comportamento (Tabela 6; Fig. 3.1) porém, foi comprovada a diminuição na retenção de ^{32}P conforme aumento a ingestão de P.

No fígado foi observada a queda mais drástica na retenção de ^{32}P (59,5%) considerando o menor e o maior valor de ingestão de P. Testículo e osso

apresentaram as quedas menos notórias (44 e 48%, respectivamente). Os demais tecidos apresentaram quedas com valores intermédios em relação aos tecidos mencionados. Apesar de que os tecidos responderam de maneira diferenciada ao incremento na ingestão de P, sempre o fígado apresentou valores numericamente superiores de retenção de P.

TABELA 6 Valores de ^{32}P retido (%) em tecidos de ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Tecido	P suplementar (g/dia)				Média ²
	0	2	4	6	
Osso	0,0033	0,0020	0,0022	0,0017	0,0023
Músculo	0,0055	0,0041	0,0029	0,0027	0,0038
Rim	0,0134	0,0095	0,0071	0,0059	0,0090
Coração	0,0119	0,0086	0,0060	0,0051	0,0080
Fígado	0,0153	0,0120	0,0073	0,0062	0,0102
Testículo	0,0113	0,0093	0,0070	0,0063	0,0084
Média ¹	0,0101	0,0080	0,0054	0,0046	

^{1,2}Valor de significância de: Tecido ($P < 0,001$); Nível de P suplementar*Tecido ($P = 0,001$). EPM=0,001.

Dias et al. (2007), avaliando o efeito de diferentes fontes de P, observaram um comportamento diferente da retenção de ^{32}P nos tecidos de ovinos. Segundo estes autores a ordem decrescente foi: osso, músculo, fígado coração e rins. Resultados parecidos foram encontrados por Bueno & Vitti (1999) em caprinos recebendo dietas com níveis crescentes de P.

Lobão & Crocomo (1974) em ovinos de 114 e 208 dias de idade, Lopes et al. (1999) em suínos recebendo níveis crescentes de P na dieta e Teixeira et al. (2004) avaliando o fornecimento de diferentes fontes de fosfato a suínos, encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo, com os ossos e músculos apresentando menor retenção de ^{32}P que os demais tecidos. Porém, nestes estudos, não foi estudada a interação entre ingestão de P e retenção de ^{32}P .

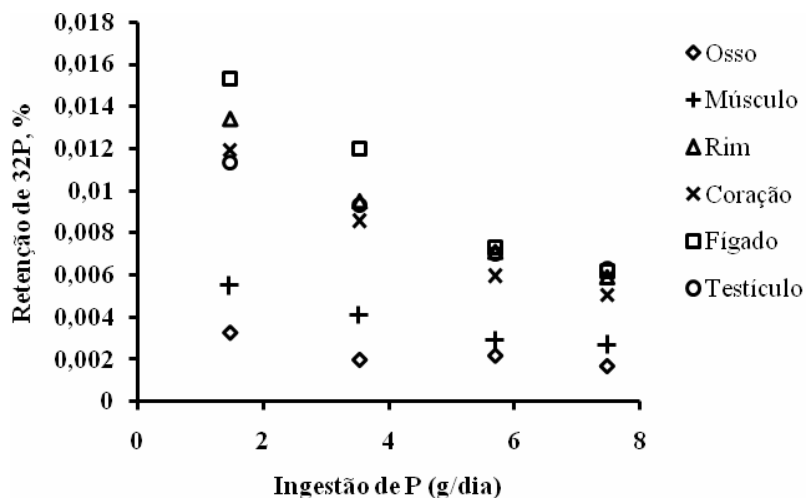


FIGURA 5 Relação entre a ingestão de P e a retenção de ³²P em tecidos de ovinos suplementados com diferentes quantidades de P.

A divergência entre os estudos poderia ser explicada pelo tempo ocorrido entre a injeção do radioisótopo e o abate dos animais. Nos estudos de curta duração (sete dias), a incorporação de ³²P nos ossos poderia ser mais tardia. Porém, o atual estudo teve a mesma duração do realizado por Dias et al. (2007) e mesmo assim as diferenças foram marcantes. O ritmo de crescimento poderia explicar talvez essas diferenças. Animais com ganhos de peso elevados, naturalmente, deverão incorporar maiores quantidades de tecido ósseo e muscular e, portanto a retenção do ³²P poderia ser maior.

Dias et al. (2007), apesar de não terem trabalhado com níveis crescentes de ingestão de P, formularam dietas para obter ganhos diários de peso de aproximadamente 250 g comparada aos ganhos esperados no presente estudo que foram de 100 g/dia. No presente estudo os ganhos esperados foram

inferiores (100 g/dia), o que poderia explicar parte desta variação, devido à incidência dos processos de formação óssea.

A correlação significativa (-0,52; $P < 0,01$) entre a ingestão de P e a retenção de ^{32}P nos tecidos confirmou o efeito da ingestão de P sobre a atividade dos tecidos em relação à mobilização de P.

A AER foi diferente ($P < 0,001$) entre os tecidos avaliados e com incremento linear ($P = 0,005$) à medida que aumentou a ingestão de P. Não houve interação entre os dois fatores ($P > 0,05$). Fígado, rim e testículo apresentaram maior ($P < 0,05$) AER, seguidos do coração, e por último osso e músculo, com os menores valores (Tabela 7).

TABELA 7 Valores da atividade específica relativa (AER) do ^{32}P em tecidos de ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Tecido	Tratamentos (P suplementar, g/dia) ¹				Média ²
	0	2	4	6	
Osso	0,1259	0,1138	0,1936	0,1839	0,1543 ^a
Músculo	0,2219	0,2373	0,2425	0,2646	0,2416 ^a
Rim	0,5142	0,5635	0,6303	0,5803	0,5720 ^{bc}
Coração	0,4596	0,5096	0,5500	0,5154	0,5064 ^b
Fígado	0,6061	0,7074	0,6282	0,6204	0,6405 ^c
Testículo	0,4331	0,5496	0,6000	0,6188	0,5504 ^{bc}
Média ¹	0,3935	0,4468	0,4726	0,4639	

¹Valor de Significância dos contrastes: linear ($P = 0,005$); quadrático ($P = 0,13$); cúbico ($P = 0,34$).

^{1,2}Valor de significância: Tecido ($P < 0,001$); Nível de P suplementar*Tecido ($P = 0,824$).

²Valores com letras diferentes diferem segundo o teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM=0,009.

A AER nos tecidos apresentou correlação positiva (0,43; $P < 0,01$) com a AEP e a retenção de ^{32}P (0,65; $P < 0,001$), e negativa (-0,57; $P < 0,01$) com a concentração de P. Os resultados revelam a especificidade dos tecidos na troca do P existente no interior da célula, uma vez que esta variável representa a troca de ^{32}P entre plasma e tecidos. Entre mais perto de 1 esteja o valor, maior será a

troca entre plasma e tecidos. O fígado mostrou-se como o órgão metabolicamente mais ativo, seguido pelos rins e o testículo, e o osso e o músculo os menos ativos.

Dias et al. (2007) observaram que os tecidos que apresentaram a maior retenção de ^{32}P não foram os que apresentaram as maiores AER e AEP, diferente do atual estudo.

A presença de interação ($P < 0,001$) indicou um comportamento diferente dos tecidos em relação à AEP conforme aumentaram os níveis de ingestão de P (Tabela 8; Figura 6).

TABELA 8 Valores da atividade específica padronizada (AEP) em tecidos de ovinos suplementados com diferentes quantidades de P na dieta

Tecido	P suplementar (g/dia) ¹				Média ²
	0	2	4	6	
Osso	0,0727	0,0435	0,0516	0,0384	0,0516
Músculo	0,0510	0,0365	0,0263	0,0248	0,0346
Rim	0,0906	0,0604	0,0445	0,0366	0,0580
Coração	0,1000	0,0728	0,0536	0,0410	0,0667
Fígado	0,1513	0,1161	0,0723	0,0611	0,1002
Testículo	0,0658	0,0527	0,0402	0,0340	0,0482
Média ¹	0,0880	0,0640	0,0480	0,0390	

^{1,2}Valor de significância: Tecido ($P < 0,001$); Nível de P suplementar*Tecido ($P < 0,001$). EPM=0,001.

A ordem decrescente da AEP nos tecidos apresentou-se da seguinte forma: fígado, coração e rim, testículo e osso, sem diferenças entre eles, e músculo, com os menores valores. O comportamento do fígado foi diferente aos demais tecidos, o que evidencia a interação (Figura 6) entre o fator tecido e o nível de P suplementar, principalmente pela queda pronunciada (52%) entre o nível 0 (1,47 g de P ingerido) de suplementação e o nível 4 (5,52 g de P ingerido). Já os demais tecidos apresentaram quedas inferiores a 28%, entre os níveis de suplementação acima mencionados.

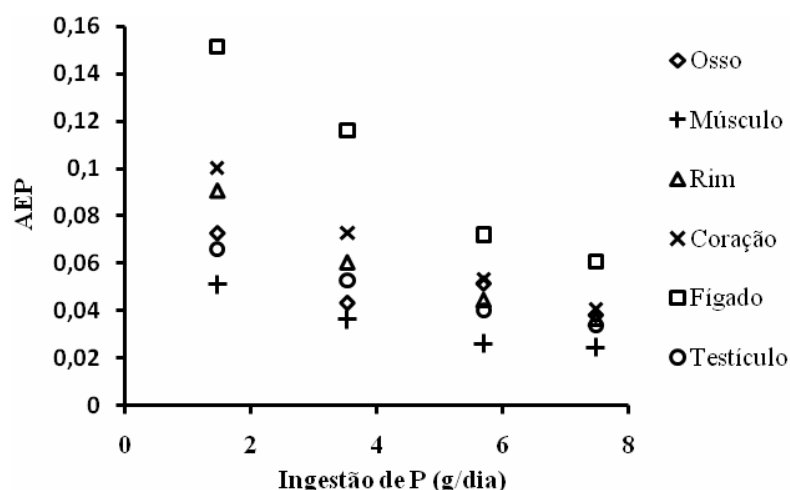


FIGURA 6 Relação entre a ingestão de P e a atividade específica padronizada (AEP) em tecidos de ovinos em crescimento suplementados com diferentes quantidades de P.

Os resultados de AER e AEP obtidos neste estudo foram semelhantes aos encontrados por Bueno (1997) em caprinos suplementados com níveis crescentes de P. Os tecidos tiveram ordem semelhante e a diminuição na AEP dos tecidos com o aumento na ingestão de P também foi verificada.

As diferenças observadas entre os tecidos poderiam indicar que além da participação do paratormônio e da $1,25(\text{OH})_2\text{Vit. D}_3$ na homeostase de P, outras substâncias poderiam estar influenciando a captação de P pelas células. Os mecanismos de transporte nas membranas celulares seriam diferenciados segundo o tecido. Berndt & Kumar (2007) indicaram que vários fatores (FGF-7; FGF-23; SFRP-4; MEPE, além de outros como os teores séricos de Ca) poderiam influenciar a captação de P no epitélio intestinal e nos rins. Porém, os resultados deste trabalho indicam que existe a possibilidade de que para os demais tecidos, existam outros fatores que influenciem a captação celular de P.

4 CONCLUSÃO

Os níveis crescentes do P ingerido afetaram a cinética do P em alguns tecidos, sendo o fígado o órgão metabolicamente mais ativo no intercâmbio e captação de P, e ossos e os músculos os menos ativos. Os níveis de P no plasma mantiveram a seqüência crescente do P ingerido. Entretanto, devido aos intercâmbios simultâneos do P no plasma com os ossos e os tecidos moles as diferenças foram diluídas. A hipótese provável é que tanto as deficiências quanto os excessos de P no plasma foram corrigidos pelo sistema fisiológico sem serem detectados pelas variáveis estudadas.

Outros estudos devem ser conduzidos para tentar identificar os fatores que estão modificando a retenção e as trocas celulares de P nos diferentes tecidos. Hormônios, níveis séricos de Ca, relação catiônica e aniônica das dietas, e outros fatores poderiam ser estudados futuramente.

Os resultados obtidos no presente trabalho, como os encontrados em trabalhos anteriores, poderão ser utilizados para definir estratégias nutricionais que tentem diminuir as perdas de P ao ambiente por parte dos ruminantes, pois os resultados evidenciaram que níveis de ingestão acima das exigências reais afetam negativamente a atividade metabólica dos tecidos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. v.1.

BERNDT, T; KUMAR, R. Phosphatonins and the regulation of phosphorushomeostases. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v.69, n.1, p.341-369, Jan./Dec. 2007.

BUENO, M.S. **Níveis de fósforo para caprinos: metabolismo, cinética e digestibilidade aparente**. 1997. 57p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.

BUENO, M.S.; VITTI, D.M.S.S. Níveis de P para caprinos: perda endógena fecal e exigência líquida para manutenção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.4, p.940-942, abr. 1999.

DIAS, R.S.; ROQUE, A.P.; VITTI, D.M.S.S.; BUENO, I.C.; GODOY, P.B. Cinética do fósforo em tecidos de ovinos em crescimento alimentados com diferentes fontes de Ca. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.145, n.1, p.203-209, fev. 2007.

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

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

HILL, R.S.; KNOWLTON, K.F.; KEBREAB, E.; FRANCE, J.; HANIGAN, M.D. A Model of phosphorus digestion and metabolism in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, n.5, p.2021-2032, May 2008.

KEBREAD, E.; VITTI, D.M.S.S. Mineral metabolism. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion**, London: CABI, 2005. cap.18, p.467-486.

- KOJIMA, H.; KUME, S.; NONAKA, K.; OSHITA, T.; KOZAKAI, T.; HOROOKA, H. Effects of feeding and animal performance on nitrogen, phosphorus and potassium excretion by Holstein cows. **Animal Science Journal**, Tokio, v.76, n.2, p.139-145, Apr. 2005.
- LANDSMAN, A.; LICHTSTEIN, D.; ILANI, A. Distinctive features of dietary phosphate supply. **Journal of Applied Physiology**, Palo Alto, v.99, n.3, p.1214-1219, Sept. 2005.
- LOBÃO, A.O.; CROCOMO, O.J. Retenção de P radioativo (P32) em tecidos de ovinos. **Boletim de Industria Animal**, São Paulo, v.31, n.2, p.261-291, jan./dez. 1974.
- LOPES, J.B.; VITTI, D.M.S.S.; FIGUEIREDO, A.V.; BARBOSA, H.P. Cinética de fósforo em tecidos de suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.28, n.4, p.779-784, jul./ago. 1999.
- MOREIRA, J.A.; VITTI, D.M.S.S.; LOPES, J.B.; TRINDADE NETO, M.A. Cinética do fósforo em tecidos de suínos alimentados com dietas contendo enzima fitase. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.1, p.74-80, fev. 2004.
- 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: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1977. 25p. (Boletim Científico, 48).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington: National Academic, 2007. 362p.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.
- SILVA, T.S. **Utilização de fósforo por ovinos: efeitos de diferentes concentrações na absorção real e perdas fecais**. 2008. 76p. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.

SMITH, A.H.; KLEIBER, M.; BLACK, A.L.; LUICK, J.R.; LARSON, R.F.; WEIR, W.C. Distribution of intravenously injected radioactive phosphorus (P^{32}) among sheep tissues. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.11, n.4, p.638-645, Nov. 1952.

SOEST, P.J. van; WINE, R.H. Use of detergent in the analysis of farmers feed. IV. Determination of plant cell wall constituents. **Journal of Association of Analytical Chemistry**, Durant, v.50, n.1, p.50-55, Jan. 1967.

TEIXEIRA, A.; LOPES, D.C.; LOPES, J.B.; VITTI, D.M.S.S.; MOREIRA, J.A.; FERREIRA, V.P.; PENA, S.; CALDERANO, A.A. Cinética do radiofósforo em tecidos de suínos em crescimento alimentados com dietas contendo diferentes fontes do fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, Viçosa, MG, p.1238-1245, set./out. 2004.

UNDERWOOD, E.J; SUTTLE, N.F. **Los minerales en la nutrición del ganado**. Zaragoza: Acribia, 2003. 637p.

ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; JORGENSON, S.S.; REIS, B.F. Merging zones in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic absorption and flame emission spectrometry. **Analytical Chemical Acta**, Amsterdam, v.104, n.1, p.279-284, Jan. 1979.

**CAPÍTULO 4: CINÉTICA DE FÓSFORO EM OVINOS: APLICAÇÃO E
COMPARAÇÃO DE DOIS MODELOS MATEMÁTICOS**

RESUMO

Foram usados vinte e quatro machos da raça Santa Inês com peso médio de 34,5 kg ($\pm 1,4$ kg) distribuídos em quatro tratamentos (níveis crescentes de P suplementar: 0; 2; 4 e 6 g/animal/dia), com o objetivo de estudar o fluxo do P no metabolismo de ovinos em crescimento alimentados com dietas contendo níveis crescentes do elemento, por meio da aplicação e comparação de dois modelos matemáticos. Foi utilizado um delineamento em blocos ao acaso. Após 14 dias, foram injetados 7,4 MBq de ^{32}P na jugular direita e os animais abatidos oito dias depois. O metabolismo do P foi avaliado comparando-se os modelos Vitti-Dias (V-D) e Fernandez-Lopes (F-L). O aumento no teor de P da dieta incrementou de maneira linear ($P < 0,001$) a ingestão e a excreção fecal do mineral. A quantidade de P no plasma e tecidos moles foi afetada linearmente ($P < 0,03$) com o aumento na ingestão de P, não sendo observado efeito sobre a quantidade nos ossos. Os fluxos de P entre trato digestivo (TGI) e plasma e vice-versa, foram afetados quadraticamente ($P < 0,03$) pelos tratamentos, sendo observada queda nestes fluxos após o nível de ingestão de 5,5 g de P na MS. Os valores obtidos para os fluxos supracitados, nos dois modelos, tiveram as mesmas tendências e as médias absolutas não diferiram entre si. Foi observada correlação entre os valores dos fluxos entre TGI e plasma, e plasma e TGI ($r^2 = 0,98$; $P < 0,001$). Aplicando o modelo V-D foi observado um efeito linear ($P < 0,02$) do incremento na ingestão de P sobre os fluxos entre plasma e ossos, ossos e plasma, plasma e tecidos moles, e tecidos moles e plasma. Foi verificada correlação ($r^2 = 0,98$; $P < 0,001$) entre os valores dos fluxos do plasma a ossos e vice-versa, e entre plasma e tecidos moles e vice-versa ($r^2 = 0,87$; $P < 0,001$), mas não foram observados efeitos dos tratamentos sobre o balanço final de P em ossos e tecidos moles. Quando aplicado o modelo F-L não foi observado efeito do incremento na ingestão de P sobre os fluxos entre plasma e ossos, e tecidos moles, nem nos fluxos contrários, ficando evidente a diferença entre os dois modelos nestes fluxos. O incremento na ingestão de P até níveis de 222 mg/kg PV (7,47 g/dia) em ovinos modificou a cinética metabólica do mineral no organismo. Foram evidenciadas diferenças na cinética quando comparados os modelos V-D e F-L, devido talvez, as características próprias de cada modelo e à forma como se usam os valores médios da atividade específica.

ABSTRACT

Twenty-four Santa Inês lambs with average weight of 34.5 kg were allotted to four treatments (0; 2; 4 e 6 g of supplementary P per animal per day). A randomized blocks was used. Lambs were injected with 7.4 MBq of ^{32}P and slaughtered eight days later. The experiment was conducted to study the kinetics of phosphorus metabolism in growing sheep fed diets containing increasing levels of the element using two compartmental models. After 14 days, the animals were intravenously injected with 7.4 MBq of ^{32}P and slaughtered eight days later. P metabolism was assessed comparing the models Vitti adapted by Dias (V-D) and Fernandez adapted by Lopes (F-L). The increase in P content in diet increased linearly ($P < 0.001$) the intake and fecal excretion of the mineral. Similarly, the amount of P in plasma and tissues was affected linearly ($P < 0.03$) with the increase in intake of P, without effect on the amount in bone. P flows between the digestive tract (TGI) and plasma and vice versa, were affected ($P < 0.03$) by treatments, and a decrease was observed for P levels up to 5,5 g in P intake. The values obtained for this flows cited above showed the same trend for the two models. A relationship between TGI and plasma, and plasma and TGI flows was observed ($r_2 = 0.98$, $P < 0.001$). Applying the model VD it was observed a linear effect ($P < 0.02$) of P intake on plasma and bone, bone and plasma, plasma and soft tissues and soft tissues and plasma flows. It was observed a relationship ($r_2 = 0.98$, $P < 0.001$) between the values of plasma flow to bones and vice versa, and between plasma and soft tissues and vice versa ($r_2 = 0.87$, $P < 0.001$) but no effects were observed of treatments on the balance of P in bones and soft tissues. Using F-L model it was not observed effect of P intake on plasma flows between the bones and soft tissues and vice-versa, with a clear difference between the two models in those flows. The increase of P intake to levels of 222 mg / kg BW (7,47 g per animal per day) in sheep modified the kinetics of mineral metabolism in the body. Differences in kinetics were observed when compared the models V-D and F-L, due to the characteristics of each model and how the average values of specific activity is used.

1 INTRODUÇÃO

O P é considerado um elemento vital para os animais, pois além da sua participação no metabolismo de energia é parte integrante do tecido ósseo.

Nos últimos anos, os estudos sobre os diversos problemas, que relacionam produção animal e o seu impacto sobre o ambiente são numerosos, e o P têm recebido principal atenção por ser considerado um agente contaminante, que propicia o processo de eutrofização. Neste contexto, diversos estudos foram desenvolvidos para avaliar as exigências dos animais neste nutriente. Dietas balanceadas corretamente podem reduzir os impactos provocados pelo P no ambiente quando os dejetos não são manejados adequadamente.

A compreensão dos aspectos que regem o metabolismo de P no organismo dos ruminantes tem melhorado devido à utilização da técnica da diluição isotópica (Pfeffer et al., 2005) e à aplicação de diversos modelos que representam a cinética deste mineral (Vitti, 2000). É apreciável o aporte histórico que os modelos de simulação têm oferecido à ciência da nutrição animal (Dumas et al., 2008), que nos últimos tempos tem apresentado grandes avanços, em todas as espécies animais de importância social e econômica.

Os modelos compartimentais têm sido bastante usados para sintetizar modelos mais simples, que simulam o comportamento relacionado ao metabolismo e à cinética de nutrientes no organismo animal (Sauvant et al., 1996). Segundo Grace (1981) os compartimentos podem não representar a estruturas anatômicas como tal, mas estão relacionados com os processos metabólicos.

Vitti et al. (2000) propuseram um modelo de quatro “pools” ou compartimentos (trato gastrointestinal, plasma, ossos e tecidos moles) para estudar a cinética de P em cabras em crescimento. Neste estudo, usando fósforo

marcado (^{32}P), o princípio de conservação das massas foi aplicado para gerar as equações diferenciais que descrevem a dinâmica do comportamento do sistema. Dias et al. (2006) revisaram o modelo anterior, e realizaram algumas modificações para melhorar a acurácia do mesmo. Esse modelo corrigido, normalmente, se identifica como o modelo Vitti-Dias.

Fernandez (1995) utilizou dados combinados de estudos de balanço e absorção de P com estudos de cinética em suínos para formular modelo do metabolismo de Ca e P, para avaliar as implicações metabólicas do incremento na ingestão desses minerais. Este modelo foi baseado em princípios semelhantes aos utilizados no modelo Vitti et al. (2000) adaptado por Dias et al. (2006). Lopes et al. (2001) adaptaram o modelo de Fernandez (1995) para avaliar os fluxos biológicos de P em suínos e acrescentaram um novo compartimento para representar os tecidos. O modelo resultante foi identificado como modelo de Fernández modificado por Lopes et al. (2001). Tanto o modelo Vitti-Dias como o modelo de Fernández modificado por Lopes et al. (2001) apresentam os mesmos compartimentos.

Vários estudos têm sido feitos em ovinos para avaliar os efeitos do incremento da ingestão de P sobre o metabolismo do mineral (Portilho et al. 2006; Louvandini & Vitti, 2007; Dias et al., 2007). Nesses estudos foram avaliados diferentes níveis de ingestão de P em animais de diferentes idades e de diferente grupo racial, porém por causa dos resultados obtidos, são necessárias informações complementares para níveis de ingestão de até 220 mg/kg PV em animais com peso próximo de 35 kg.

De outra parte, faltam estudos que comparem os resultados obtidos pela aplicação dos modelos Vitti et al. (2000) adaptado por Dias et al. (2006) e o modelo Fernández (1995) adaptado por Lopes et al. (2001) para estudar a cinética de P em ovinos alimentados com níveis crescentes do mineral,

utilizando uma ampla faixa de consumo, considerando que estes modelos têm sido utilizados para estudar a cinética de P e Ca em ruminantes.

O experimento foi realizado com o objetivo de estudar o fluxo do fósforo no metabolismo de ovinos em crescimento, alimentados com dietas contendo níveis crescentes do elemento, por meio da aplicação e comparação de dois modelos matemáticos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, animais e dietas experimentais

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo. Vinte e quatro ovinos machos da raça Santa Inês, com oito meses de idade e pesando em média 33,6 kg ($\pm 1,6$ kg), foram mantidos, inicialmente, em baias de alvenaria, durante sete dias, onde começaram a receber as dietas experimentais. Devido à disponibilidade de gaiolas o experimento foi conduzido em períodos de tempo diferentes, formando dois grupos (blocos) de 12 animais em cada período. Posteriormente, os cordeiros foram transferidos para gaiolas de estudo de metabolismo, equipadas com coletores para fezes e urina, cochos de alimentação e bebedouro, onde permaneceram duas semanas. O estudo de digestibilidade aparente dos nutrientes foi realizado durante a primeira semana nas gaiolas, e a parte referente à absorção verdadeira de Ca e P durante a segunda semana.

Os tratamentos consistiram em quantidades crescentes de P suplementar na dieta (0; 2; 4 e 6 g/animal/dia). As quatro dietas preparadas foram isoenergéticas e isoproteicas. Excluindo a dieta do tratamento sem suplementação de P, as demais foram adicionadas com níveis crescentes de

fosfato bicálcico (16% de P) para conseguir os diferentes níveis de P suplementar (Tabela 9). A dieta basal (tratamento sem suplementação) foi formulada para cobrir as exigências nutricionais para esse tipo de animais, utilizando as recomendações do NRC (2007). As demais dietas foram formuladas para prover teores de P e Ca superiores às exigências, com o nível máximo correspondendo, aproximadamente, a quatro vezes o valor do requerimento. A relação Ca:P foi semelhante em todos os tratamentos (Tabela 9).

TABELA 9 Constituição e composição bromatológica das dietas nos diferentes níveis de suplementação de P

CONSTITUINTES ¹ , %	P suplementar (g/dia)			
	0	2	4	6
Feno de Coast Cross	71,6	70,6	69,7	68,8
Farinha de mandioca	18,8	18,5	18,3	18,1
Farelo de soja	5,7	5,6	5,6	5,5
Melaço	1,2	1,2	1,2	1,2
Ureia	1,7	1,7	1,7	1,6
Fosfato bicálcico	-	1,3	2,6	3,9
Mistura mineral*	1,0	1,0	1,0	1,0
COMPOSIÇÃO ² , %				
NDT	50,9	50,3	49,6	49,0
Proteína bruta	11,9	11,7	11,5	11,4
Extrato etéreo	1,7	1,6	1,6	1,6
Matéria mineral	7,2	8,5	9,7	10,8
FDN	59,3	58,6	57,8	57,0
FDA	32,6	32,2	31,7	31,3
P	0,16	0,37	0,58	0,79
Ca	0,35	0,78	1,22	1,64
Ca:P	2,2	2,1	2,1	2,1

¹Na matéria natural

²Na matéria seca

*Composição: Cl, 219 mg/g; Na, 145 mg/g; S, 70 mg/g; Mg, 10 mg/g; Zn, 4,6 mg/g; Mn, 1,1 mg/g; Fe, 0,50 mg/g; Cu, 0,30 mg/g; I, 80 mg/kg; Co, 40 mg/kg; e Se, 15 mg/kg.

O concentrado (300 g/d), adicionado com o fosfato, e o feno de capim “coast-cross” (*Cynodum dactylon* L. pers) foram oferecidos, diariamente, em cochos separados. O concentrado, que não apresentou sobras, era oferecido no período da manhã e o feno era fornecido duas vezes ao dia (8 e 17 h), para permitir 10% de sobras. A quantidade de água oferecida e a não bebida foram medidas. Diariamente, o consumo de alimento e água de cada animal foi calculado e registrado, considerando a oferta e as sobras.

2.2 Injeção de ^{32}P e análise das amostras

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 ($\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$) 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 a dose 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 borossilicato (especialmente utilizados 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).

Os períodos de colheitas de sangue foram 5 minutos após a injeção, e depois a cada 24 horas, durante sete dias.

Amostras dos ingredientes e das sobras da ração foram coletadas para a determinação de matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo e proteína bruta,

seguindo a metodologia da AOAC (1995). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas, segundo Soest & Wine (1967). A determinação de P nas mesmas amostras foi feita por colorimetria (Sarrugue & Haag, 1974) e a de Ca segundo Zagatto et al. (1979).

O sangue foi centrifugado a $1100 \times g$ por dez minutos, para separar o plasma. Amostras de 1 mL de plasma foram misturadas a 9 mL de ácido tricloroacético (10%) para precipitação das proteínas. Após 10 minutos, o material foi centrifugado a $1100 \times g$ e o sobrenadante separado para análise dos teores de P inorgânico por colorimetria (Fiske & Subbarow, 1925).

Diariamente, foram coletadas amostras de fezes e colocadas em sacos plásticos, homogeneizadas e alíquotas correspondentes a 10% do total diário excretado foram colhidas e congeladas (-20°C). As amostras de fezes (10% do total) foram maceradas e homogeneizadas. Alíquota de 1g foi colocada em cadinho para secagem em estufa e após, queimada na mufla (500°C). Posteriormente, fez-se a digestão das cinzas com 5 mL de ácido clorídrico concentrado. O teor de P foi determinado por colorimetria (Sarrugue & Haag, 1974).

A detecção da radioatividade das amostras de plasma, fezes e urina foi feita por efeito Cerenkov para o P.

A porcentagem de P de origem endógena nas fezes foi calculada utilizando a técnica da diluição isotópica, que considera a atividade específica nas fezes (AEF) e no plasma (AEP), como indicado por Portilho et al. (2006):

$$\text{P fecal endógeno (\%)} = (\text{AEF/AEP}) \times 100$$

$$\text{AEF} = [(\text{Atividade da amostra/Atividade do padrão})]/(\text{mg de P/g fezes})$$

$$\text{AEP} = [(\text{Atividade da amostra/Atividade do padrão})]/(\text{mg de P/mL plasma})$$

$$\text{Perda endógena fecal (g/d)} = \text{P ou Ca excretado (g)} \times \% \text{ P ou Ca endógeno}$$

O valor do P endógeno nas fezes foi utilizado para o cálculo do coeficiente de absorção verdadeira (CAV):

$$\text{CAV (P ou Ca)} = \frac{[\text{P ingerido} - (\text{P nas fezes} - \text{P endógeno nas fezes})]}{\text{P ingerido}}$$

A urina foi coletada em frascos plásticos contendo 100 mL de ácido sulfúrico 10% e alíquotas correspondentes a 10% do total diário foram armazenadas. Os teores de P e Ca inorgânico na urina foram determinados utilizando-se 30 mL da amostra para digestão a quente, em HCL 12 N, secagem a 55°C em estufa, seguindo-se a queima a 500°C. As cinzas obtidas por esse processo foram diluídas em HCL 3 N, ajustando-se o volume em balão volumétrico de 10 mL (Morse et al., 1992).

Para a determinação da radioatividade da urina, 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.

Após os sete dias de coletas (168 horas após a injeção do material radioativo), os cordeiros foram sacrificados de acordo com procedimentos da Comissão de Ética em Experimentação com Animais do CENA.

Após a sangria dos animais, fígado, coração, rins e testículos foram separados e pesados. Uma amostra de tecido muscular foi obtida realizando um corte transversal, de aproximadamente 5 cm de largura, no membro posterior direito, agrupando os músculos bíceps femoral, gastrocnêmio, gracillis, semimembranoso e semitendinoso. A amostra de osso foi representada pela 12ª costela, que foi retirada do lado direito do animal. O restante das carcaças foi levado para um depósito adequado constituído de tubos de concreto enterrados, com tampa e respiro. Esta instalação foi construída sob supervisão do Serviço de Proteção Radiológica do CENA.

As amostras dos tecidos foram limpas e preparadas para a determinação do teor de matéria seca, seguindo-se de uma pré-queima em chapa aquecedora com gotas de ácido nítrico 50%. As cinzas obtidas por incineração (500°C), foram solubilizadas em ácido clorídrico, e o teor de fósforo inorgânico determinado pelo método vanadato-molibdato (Sarruge & Haag, 1974).

A detecção da radioatividade de ^{32}P nos tecidos foi realizada em espectrômetro de cintilação líquida por efeito Cerenkov (Nascimento Filho & Lobão, 1977).

2.3 Modelo Vitti-Dias

Vitti et al. (2000) apresentaram um modelo compartimental do metabolismo de P em ruminantes, que foi posteriormente revisado por Dias et al. (2006). Este modelo (Figura 7) foi um dos utilizados neste trabalho. Os símbolos usados no modelo podem ser observados na Tabela 10.

O modelo possui quatro compartimentos ou “pools”: Trato digestivo (1), plasma (2), osso (3) e tecidos moles (4). Está representado por setas o fluxo do P entre os compartimentos, assim como as entradas e as saídas do sistema. O trato digestivo, ossos e tecidos moles apresentam trocas bi-direcionais com o plasma. O P entra ao sistema via consumo (F_{10}) e sai através das fezes (F_{01}) e urina (F_{02}). O radioisótopo (^{32}P) foi administrado como uma dose única (D cpm), no tempo zero e o tamanho do compartimento, que corresponde à quantidade de P de cada compartimento, e atividade específica no plasma, ossos e tecidos moles foram medidos após oito dias. O esquema assume que não há re-entrada de marcador de outras fontes externas.

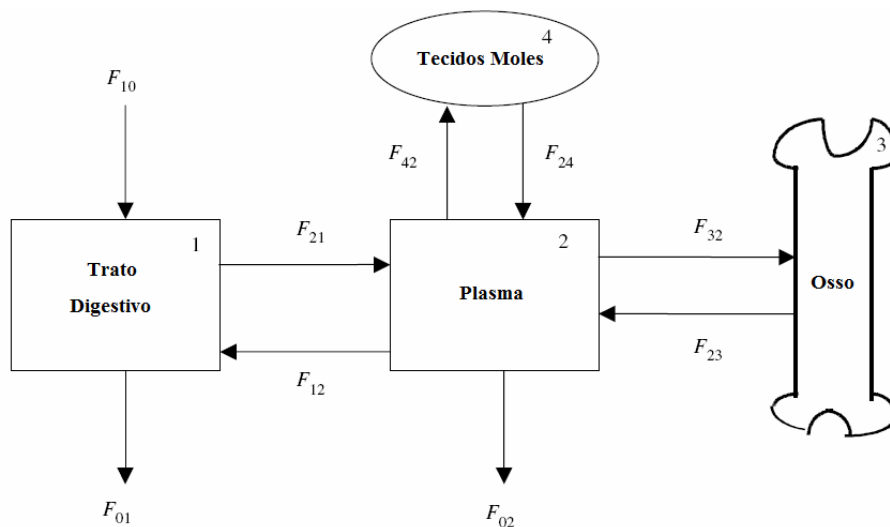


FIGURA 7 Representação esquemática do modelo Vitti-Dias do metabolismo de P. F_{ij} representa o fluxo total de P para o compartimento i desde j , F_{10} indica a ingestão de P, F_{01} a excreção fecal de P e F_{02} a excreção de P na urina.

TABELA 10 Principais símbolos usados no desenvolvimento do modelo

F_{ij}	Fluxo total de P para o “pool” i a partir do j , F_{i0} denota fluxo externo dentro do “pool” i e F_{0j} o fluxo de saída do sistema a partir do “pool” j , os fluxos F_{01} , F_{10} e F_{02} foram (Figura 7) medidos experimentalmente: g/d.
D	Dose de ^{32}P administrada no sangue no tempo zero: cpm
Q_i	Quantidade total de P no “pool” i : g
q_i	Quantidade de ^{32}P no “pool” i : cpm
s_i	Atividade específica do “pool” i ($= q_i/Q_i$): cpm/g
T	Tempo: d

Após sete dias da introdução do material radioativo assume-se que o compartimento 1 (trato digestivo) está em equilíbrio (equilíbrio isotópico e não isotópico) e o compartimento 2 (plasma) em estado não-isotópico. A solução algébrica do modelo (na Tabela 10 e Figura 7 podem ser observadas as

principais notações matemáticas) descrita de acordo com Dias et al., 2006, são apresentadas nas seguintes equações:

$$F_{12} = s_1 \tilde{F}_{10} / (s_2 - s_1) \quad (1)$$

$$F_{21} = \tilde{F}_{10} + F_{12} - \tilde{F}_{02} \quad (2)$$

$$F_{32} = s_3 R_2 Q_3 / [s_2 (s_2 - s_3)] \quad (3)$$

$$F_{42} = s_4 R_2 Q_4 / [s_2 (s_2 - s_4)] \quad (4)$$

$$|F_{23} + F_{24}| = \tilde{F}_{02} + F_{12} + F_{32} + F_{42} - F_{21} \quad (5)$$

$$F_{24} = (s^* - s_3) \times |F_{23} + F_{24}| / (s_4 - s^*) \quad (6)$$

$$F_{23} = |F_{23} + F_{24}| - F_{24} \quad (7)$$

onde a notação \tilde{F} indica um fluxo determinado experimentalmente, e a atividade específica da combinação dos compartimentos 3 e 4 foi

$$s^* = (s_3 Q_3 + s_4 Q_4) / (Q_3 + Q_4) \quad (8)$$

e a taxa de troca da atividade específica do compartimento 2 foi

$$R_2 = ds_2/dt \quad (9)$$

Os valores de s_2 e R_2 aos sete dias foram obtidos após o ajuste da equação da curva de decaimento da atividade específica do plasma:

$$s_2(t) = ae^{-bt} \quad (10)$$

onde t (dia) é o tempo desde a aplicação da dose, e a (dpm/g) e t (dia) são parâmetros. A taxa de troca resultante quando se diferencia a equação em relação ao tempo é igual a:

$$ds_2(t)/dt = -abe^{-bt} \quad (11)$$

a qual permite o cálculo de R_2 para o sétimo dia.

2.4 Modelo Fernández modificado por Lopes et al. (2001)

Fernández (1995) construiu um modelo para estudar o metabolismo de Ca e P em suínos, no qual o osso é o único compartimento considerado na mobilização desses minerais. O modelo foi adaptado por Lopes et al. (2001), que incluíram os tecidos moles como novo compartimento (Figura 8). Portanto o

modelo possui os mesmos compartimentos do modelo Vitti-Dias, apresentado anteriormente (trato gastrointestinal, plasma, osso e tecidos moles).

Para a comparação entre os modelos Vitti-Dias e Fernández modificado por Lopes foram avaliadas as trocas bidirecionais entre o plasma e os demais compartimentos, representadas pelas variáveis V_{aT} , V_{IT} , V_{o+} , V_{o-} , V_{Te+} e V_{Te-} , conforme indicado por Dias (2006).

Os fluxos foram computados (V_F , V_f , V_I , e V_u medidos experimentalmente) usando as seguintes equações:

$$V_{aa} = V_I - (V_F - V_f) \quad (12)$$

$$V_{IT} = V_f / 1 - (V_{aa} / V_f) \quad (13)$$

$$V_{aT} = V_{aa} + V_{IT} - V_f \quad (14)$$

$$\text{Balanço de P (Ba)} = V_I - V_f - V_u \quad (15)$$

V_{o+} = atividade acumulada nos ossos / atividade específica no plasma

$$V_{o-} = V_{o+} - \text{Ba} \quad (16)$$

V_{te+} = atividade acumulada nos tecidos / atividade específica no plasma

$$V_{te-} = V_{te+} - \text{Ba} \quad (17)$$

2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

Utilizou-se delineamento em blocos ao acaso, com três repetições por tratamento dentro de cada bloco, para um total de seis repetições por tratamento. Foi realizada análise de variância com o modelo considerando os efeitos das seguintes fontes de variação: grupo (como bloco); teor de P da dieta, com soma dos quadrados dividida para testar os efeitos linear, quadrático e cúbico, com 1 grau de liberdade para cada contraste e o erro. A comparação dos valores médios das variáveis comuns para os dois modelos foi realizada usando um teste *t* a 5% de probabilidade. A análise estatística dos dados foi realizada usando as funções Comparação de Médias, GLM e Correlação de Pearson do programa SPSS

versão 12 para Windows. Valores de probabilidade entre 0,05 e 0,15 para o fluxo F_{O_2} foram considerados como uma tendência.

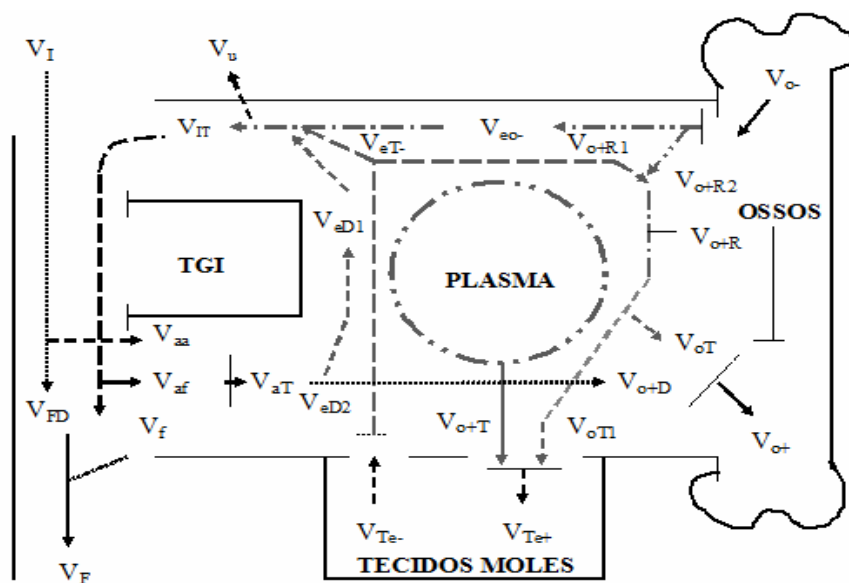


FIGURA 8 Representação esquemática do modelo Fernández modificado por Lopes et al. (2001) usado para o metabolismo de P em cordeiros (Dias, 2006). Trato gastrointestinal (TGI); P ingerido (V_I); P total nas fezes (V_F); P endógeno fecal (V_f); P nas fezes de origem dietética (V_{FD}); P na urina (V_u); P absorvido de origem alimentar (V_{aa}); P de origem endógena que chega ao trato gastrointestinal (V_{IT}); P endógeno reabsorvido no trato gastrointestinal (V_{af}); P total absorvido (V_{aT}); P incorporado no osso (V_{o+}); P reabsorvido do osso (V_{o-}); P do osso reciclado para osso e tecidos moles (V_{o+R2}); P reabsorvido do osso que retorna ao trato gastrointestinal (V_{eO}); P do V_{aT} incorporado no osso (V_{o+D}); P incorporado nos tecidos moles (V_{Te+}); P reabsorvido dos tecidos moles (V_{Te-}); P dos tecidos moles reciclado para osso e tecidos moles (V_{o+R1}); P total reciclado para osso e tecidos moles (V_{o+R}); P reabsorvido dos tecidos que retorna ao trato gastrointestinal (V_{eT}); P do V_{aT} que retorna para o trato gastrointestinal (V_{eD1}); P do V_{aT} distribuído para o osso e tecidos moles (V_{eD2}); P do V_{o+R} incorporado nos tecidos moles (V_{oT1}); P do V_{o+R} reincorporado no osso (V_{oT2}). Adaptado de Dias (2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de P da dieta afetou de maneira linear ($P < 0,001$) a ingestão do mineral (Tabela 11), como era esperado, devido a que a intenção com os tratamentos era incrementar o consumo de P.

TABELA 11 Consumo e excreção de P, atividades específicas (ATE), e teores de P no plasma, nas fezes e nos ossos em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Variável (Símbolo)	P suplementar (g/dia)				EPM ²	Valor P ¹		
	0	2	4	6		Lin	Qua	Cub
Fluxos de P (g/dia)								
Consumo (F_{10}, V_1)	1,47	3,53	5,52	7,47	0,21	0,001	0,206	0,786
Fezes (F_{01}, V_F)	1,09	3,18	4,40	6,55	0,09	0,001	0,861	0,336
Urina (F_{02}, V_u)	0,003	0,01	0,07	0,36	0,08	0,117	0,374	0,142
P da dieta absorvido	0,98	1,77	3,53	3,36	0,10	0,001	0,039	0,007
P endógeno absorvido	1,32	1,59	5,25	2,25	0,39	0,078	0,048	0,009
ATE (cpm/g P)								
Fezes (s_1)	13,93	8,42	6,45	3,72	0,83	0,001	0,024	0,106
Plasma (s_2)	26,63	17,12	12,12	10,23	1,48	0,001	0,013	0,825
Ossos (s_3)	3,33	1,95	2,23	1,73	0,17	0,001	0,074	0,030
Tecidos (s_4)	6,53	4,75	3,43	3,10	0,37	0,001	0,065	0,370
Quantidade de P (g)								
Plasma (Q_2)	0,10	0,13	0,14	0,13	0,06	0,030	0,294	0,892
Ossos (Q_3)	147,4	148,9	149,2	149,9	3,24	0,812	0,957	0,959
Tecidos moles (Q_4)	18,90	18,64	21,61	21,26	0,75	0,007	0,948	0,050

¹Valor de probabilidade dos contrastes linear, quadrático e cúbico.

²EPM: Erro padrão da média.

Houve também um efeito linear ($P < 0,001$) positivo do teor de P da dieta sobre a excreção fecal de P (F_{01}, V_F). A correlação entre a ingestão de P e a excreção fecal de P foi explicada pela equação:

$$F_{01} = 0,88F_{10} - 0,14 \quad (r^2 = 0,95, n = 24, P < 0,001)$$

Relações semelhantes foram observadas em trabalhos anteriores (Chapuis-Lardy et al., 2004; Louvandini & Vitti, 2007; Dias et al., 2007) com ovinos e vacas leiteiras. Os resultados confirmaram a importância das fezes como rota de excreção de P.

Com relação à excreção de P através da urina (Tabela 11), foi observada uma tendência linear ($P=0,11$) de aumento da excreção de P quando aumentou a ingestão. Na urina apareceram 0,2; 0,3; 1,2 e 4,8% do P ingerido, respectivamente, para as dietas com teores de P na MS de 0,16; 0,37; 0,58 e 0,79%, respectivamente. A urina representou 0,27; 0,31; 1,57 e 5,2% do total de P excretado. Portanto, as fezes representaram a principal saída de P do sistema (mínimo 94,8% do P excretado).

A urina não é considerada via importante de excreção de P em ruminantes, mas sim uma via alternativa (Bravo et al., 2003). Louvandini & Vitti (2007) observaram uma relação linear positiva ($P=0,02$) entre a ingestão de P e a excreção do mineral na urina em ovinos adultos (38 kg de PV) com ingestão de P entre 1,8 e 4,5 g/dia, que foi uma faixa menor de consumo à observada no presente estudo. Naquele estudo, os valores médios de excreção de P na urina estiveram entre 0,02 e 0,06 g/dia, sendo estes valores semelhantes aos observados no presente estudo quando a ingestão de P esteve entre 3,5 e 5,5 g/dia, já que no nível maior de ingestão (7,47 g/dia) a excreção foi cinco vezes superior à observada no consumo de 5,5 g/dia.

Dove et al. (2004), em ovinos de 37 kg de PV, observaram um efeito linear ($P<0,05$) positivo da ingestão de P sobre excreção de urina. Quando a ingestão de P foi de 4,7 g/animal/dia a perda de P na urina foi de 0,65 g/dia, valor superior ao do presente estudo, mas com comportamento semelhante desta variável.

Vitti et al. (2000), em caprinos, e Dias et al. (2007), em ovinos, não observaram efeitos ($P>0,2$) da ingestão de P sobre a excreção na urina, porém,

nos dois trabalhos, que também testaram níveis crescentes de ingestão, os valores médios de excreção foram inferiores aos observados no presente estudo. Os autores encontraram faixas de excreção de P na urina entre 0,003 e 0,006 g/animal/dia, com consumos de P entre 0,4 e 6,6 g de P por animal/dia. Estes valores de excreção corresponderam a 0,13 e 0,25 mg de P/kg PV, respectivamente. No presente estudo os valores estiveram entre 0,09 e 10,6 mg de P/kg PV.

A atividade específica, em fezes, plasma, osso e tecidos moles, foi afetada ($P < 0,001$) pela concentração de P na MS, diminuindo conforme aumentou a quantidade de P ingerida (Tabela 11). Efeito quadrático ($P < 0,025$) foi observado na atividade específica em fezes e plasma, diferente à atividade em ossos e tecidos moles, que apresentou um efeito linear ($P < 0,001$) do incremento da ingestão sobre estas variáveis. Os dados da atividade específica nas fezes são coerentes com a afirmação de Kleiber et al. (1951), que observaram que à medida em que aumentava a quantidade de P da dieta presente nas fezes o P radiativo era diluído, portanto os valores da atividade específica diminuía. A mesma afirmação poderia ser considerada no caso da atividade específica no plasma, como indicado também por Dias et al. (2007).

Dias et al. (2007) explicaram o efeito quadrático da ingestão de P sobre a atividade específica no plasma, indicando que a atividade no plasma não varia quando são ingeridas grandes quantidades de P.

A quantidade de P em plasma e tecidos moles foi afetada linearmente ($P < 0,03$) com o aumento na ingestão de P (Tabela 11), não sendo observado efeito sobre a quantidade de P nos ossos ($P > 0,812$). Dias et al. (2007) que estudaram a cinética de P em ovinos do mesmo grupo racial usado no presente trabalho, não observaram efeitos do incremento na ingestão de P sobre a quantidade de P no plasma, ossos e tecidos.

A atividade específica no plasma correlacionou-se negativamente ($r^2=-0,72$; $P<0,001$; $n=24$) com a quantidade de P no plasma (Q_3), e a atividade nas fezes com a quantidade de P do alimento nas fezes ($r^2=-0,88$; $P<0,001$; $n=24$), que apresentou valores médios de 0,50; 1,58; 1,99 e 4,12 g/dia, para as quantidades P suplementar de 0, 2, 4 e 6 g/dia, respectivamente. A atividade nos tecidos apresentou correlação negativa ($r^2=-0,69$; $P<0,001$; $n=24$) com a quantidade de P nos tecidos. As correlações anteriores indicam o grau de associação que existe entre a atividade específica e a quantidade de P nos diferentes compartimentos e nas fezes, dando validade ao afirmado por Kleiber et al. (1951), como se indicou anteriormente.

Vitti et al. (2000) que estudaram a cinética metabólica de P em cabras em crescimento, usando a técnica da diluição isotópica, observaram que a atividade específica foi afetada quando os animais ingeriram níveis crescentes do elemento. Naquele estudo, também foi verificado o efeito dos tratamentos sobre a quantidade de P em plasma e tecidos, de maneira semelhante ao acontecido no presente estudo.

Na Tabela 12 aparecem os dados dos fluxos de P entre os diferentes compartimentos, usando os modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes. Os dados obtidos aplicando o modelo Vitti-Dias permitiram verificar um efeito significativo das quantidades de P suplementar sobre os fluxos biológicos de P no organismo.

Os fluxos F_{21} e F_{12} , que representam os fluxos de P entre TGI e plasma e vice-versa, respectivamente, foram afetados quadraticamente ($P<0,03$) pelos tratamentos (Tabela 12).

TABELA 12 Médias dos fluxos de P em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P de acordo com os modelos Vitti-Dias e Fernández modificado por Lopes et al. (2001)

Fluxos (Símbolo)	P suplementar (g/dia)				EPM	Valor P ³		
	0	2	4	6		Lin	Qua	Cub
Modelo Vitti-Dias (g P/dia)								
TGI - Plasma (F_{21})	2,16	4,29	8,68	5,60	0,47	0,01	0,03	0,94
Plasma - TGI ² (F_{12})	1,80	3,93	7,56	4,67	0,44	0,006	0,011	0,06
Plasma - Osso (F_{32})	3,60	4,11	8,90	9,59	0,94	0,01	0,96	0,33
Osso - Plasma (F_{23})	3,81	4,70	8,68	9,92	0,95	0,02	0,93	0,50
Plasma - TM ³ (F_{42})	1,06	1,50	2,11	2,43	0,18	0,008	0,86	0,77
TM - Plasma (F_{24})	0,48	0,58	1,28	1,52	0,15	0,01	0,81	0,45
Balanço osso ($F_{32}-F_{23}$)	-0,21	-0,59	0,22	-0,33	0,17	0,77	0,81	0,12
Balanço TM ($F_{42}-F_{24}$)	0,58	0,92	0,84	0,90	0,09	0,29	0,46	0,48
Modelo Fernández-Lopes (g P/dia)								
TGI - Plasma (V_{aT})	2,30	3,36	8,78	5,61	0,48	0,002	0,039	0,007
Plasma - TGI (V_{IT})	1,92	3,01	7,66	4,68	0,46	0,006	0,041	0,015
Plasma - Osso (V_{o+})	6,34	6,38	6,20	6,21	0,126	0,618	0,440	0,728
Osso - Plasma (V_{o-})	5,99	6,37	5,21	5,67	0,213	0,280	0,935	0,112
Plasma - TM ² (V_{Te+})	0,37	0,31	0,40	0,36	0,025	0,753	0,747	0,232
TM - Plasma (V_{Te-})	0,35	0,31	0,33	0,39	0,024	0,493	0,340	0,862
Balanço osso ($V_{o+}-V_{o-}$)	0,35	0,01	0,99	0,54	0,117	0,157	0,830	0,015
Balanço TM ($V_{Te+}-V_{Te-}$)	0,02	0,0	0,06	-0,03	0,008	0,194	0,838	0,028

¹TGI=Trato gastrintestinal

²TM=Tecidos moles

³Valor de probabilidade dos contrastes linear, quadrático e cúbico.

Em todos os níveis de P suplementar os valores de F_{21} foram, numericamente, superiores aos de F_{12} e significativamente correlacionados ($r^2=0,98$; $P<0,001$; $n=24$). Após o nível de suplementação de 0,58% de P na MS, os fluxos F_{12} e F_{21} diminuíram, indicando que no maior nível de ingestão de P (7,47 g/animal/dia; 220 mg/kg PV) houve uma inibição na absorção intestinal do elemento, isto explicado pelo menor valor do fluxo do TGI para plasma no maior nível de ingestão (6 g de P suplementar) quando comparado ao valor de ingestão do tratamento com 4 g de P suplementar (Tabela 12).

No presente trabalho, se considerada a quantidade ingerida de P, a ingestão de MS, e os valores observados dos coeficientes de absorção verdadeira (0,66; 0,55; 0,64 e 0,45 para os tratamentos 0; 2; 4 e 6 g de P suplementar, respectivamente) se poderiam comparar as exigências de P para os animais usados experimentalmente. Aplicando o modelo apresentado pelo NRC (2007), a exigência dietética de P seria de 1,63 g/dia, portanto, os animais não suplementados (ingestão de P de 1,47 g/d) estariam apresentando uma leve deficiência (9% abaixo da exigência) e os demais tratamentos estariam aportando P acima da exigência. O menor coeficiente de absorção (0,45), no maior nível de ingestão, coincide com a queda no fluxo entre TGI e plasma (F_{21}) neste tratamento.

Se considerada a quantidade de P absorvida, tanto de origem dietético como endógeno, observa-se (Tabela 11) que a diminuição nos fluxos de P de TGI para plasma está sendo explicada, principalmente, pela queda na absorção de P endógeno, que caiu em 57%, quando comparados o maior nível de ingestão de P (7,47 g/d) e o nível 5,52 g/d. Observando-se a absorção do P dietético, nos mesmos níveis de ingestão, a queda na quantidade absorvida foi só de 4,8%. Uma possível explicação do acontecido poderia estar relacionada com a quantidade de P excretada na urina, que foi superior no tratamento com 6 g P/d de suplementação (máxima ingestão). A maior quantidade de P na urina poderia ter causado variações na reciclagem de P, considerando, também, a alta correlação (0,98) entre os fluxos F_{12} e F_{21} .

Dove et al. (2004) encontraram resultados semelhantes, que confirmaram a variação da cinética do P e a participação da urina como meio de excreção importante de P quando a absorção de P superou 43 mg/kg PV. Porém, nesse trabalho não foram diferenciadas as frações dietéticas e endógenas.

Dias et al. (2007) aplicaram o modelo Vitti-Dias para estudar a cinética metabólica do P em ovinos do mesmo grupo racial utilizado no presente

trabalho, também recebendo dietas com níveis crescentes de P. Nesse estudo observou-se um efeito linear dos tratamentos sobre o fluxo de TGI para plasma (F_{21}). Eles avaliaram quatro níveis de ingestão de P (desde 39,5 até 286,5 mg/kg de PV) faixa mais ampla que a usada no presente trabalho, onde o nível máximo foi de 220,8 mg/kg de PV. As principais diferenças entre as condições experimentais dos dois trabalhos foram a idade e peso dos animais. Os animais utilizados por Dias et al. (2007) eram de menor idade e peso (23 kg) comparados com os utilizados no presente estudo (34 kg). Nesse experimento não foi verificada uma queda nos fluxos de P de TGI para plasma, nos níveis testados, sugerindo que podem existir diferenças na absorção de P entre animais de diferentes categorias ou em diferentes fases do crescimento, como concluído, também por Braithwaite (1975) que observou diferenças entre ovinos jovens e adultos em relação à absorção de P. Segundo o autor, os animais jovens apresentaram maiores coeficientes de absorção.

Quando comparados os valores médios dos fluxos entre TGI e plasma e vice-versa (F_{21} vs V_{aT} e F_{12} vs V_{IT}), resultantes da aplicação dos modelos Vitti-Dias e Fernandez-Lopes, não foram verificadas diferenças significativas ($P>0,05$), indicando a confiabilidade destes modelos (Tabela 13).

TABELA 13 Comparação dos valores médios dos fluxos de fósforo comuns dos modelos Vitti-Dias e Fernández modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos suplementados com diferentes quantidades de P

Modelo	Fluxos de fósforo entre compartimentos ^{1,2}					
	F_{21} V_{aT}	F_{12} V_{IT}	F_{32} V_{o+}	F_{23} V_{o-}	F_{42} V_{Te+}	F_{24} V_{Te+}
Vitti –Dias	5,27a	4,54a	6,55a	6,74a	1,76a	0,96a
Fernández-Lopes	5,01a	4,31a	6,28a	5,80a	0,36b	0,34b

¹Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem segundo o teste t ($P<0,05$).

²Símbolo superior (Modelo Vitti-Dias), símbolo inferior (Modelo Fernández modificado por Lopes et al. (2001)).

Vitti et al. (2006) também não observaram diferenças nos valores médios dos fluxos destes dois modelos quando estudaram a cinética de Ca em ovinos alimentados com diferentes fontes do mineral.

Segundo o modelo Vitti-Dias os fluxos de P entre plasma e ossos ou tecidos moles e vice-versa (F_{32} e F_{23} ; F_{42} e F_{24}) foram influenciados pelos tratamentos. O incremento na ingestão de P resultou em aumento linear dos fluxos F_{32} , F_{23} , F_{42} e F_{24} ($P < 0,02$). Foi verificada uma correlação significativa ($r^2=0,98$; $P < 0,001$; $n=24$) entre os fluxos F_{32} e F_{23} , e entre F_{42} e F_{24} ($r^2=0,87$; $P < 0,001$; $n=24$). Apesar do efeito dos tratamentos sobre a retenção e resorção de P nos ossos e tecidos, não houve efeito ($P > 0,05$) sobre a retenção de P (balanço de P) nesses locais (Tabela 12).

Resultados semelhantes foram observados por Dias et al. (2007). Porém, estes autores observaram efeito do incremento na ingestão de P sobre o balanço de P nos ossos, devido, possivelmente, à fase de crescimento (menor idade) dos animais deste experimento, como mencionado anteriormente. Indicando mais uma vez as diferenças na partição metabólica do mineral em animais de diferentes idades.

Louvandini & Vitti (2007) suplementaram dietas para ovinos de 38 kg de PV com níveis crescentes de P (com farinha de ossos), mas com um nível máximo muito menor (79 mg/kg de PV) ao utilizado no presente trabalho (220 mg/kg PV), e com dietas de composição semelhantes. O modelo por eles utilizado reuniu ossos e demais tecidos só em um compartimento, e observaram um incremento linear na retenção de P.

Vitti et al. (2000) em cabras em crescimento observaram incrementos nos fluxos entre plasma o ossos e tecidos, como nos fluxos contrários, evidenciando também as variações na cinética do mineral quando a ingestão é variada.

Quando aplicado o modelo Fernandez-Lopes, a situação dos fluxos, entre plasma e osso (V_{o+}), osso plasma (V_{o-}), plasma tecidos moles (V_{Te+}) e tecidos moles a plasma (V_{Te-}), foi diferente à observada nos dados do modelo Vitti-Dias. Neste caso não foram detectadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre os valores desses fluxos. Quando comparadas os valores absolutos das médias dos dois modelos (Tabela 13), para cada fluxo, não houve diferença nos fluxos de plasma para ossos e vice-versa e sim para os valores dos fluxos equivalentes entre plasma e tecidos moles. Mas, estas médias devem ser observadas com cautela, porque entre tratamentos, estas variáveis apresentaram efeitos diferenciados.

As diferenças entre os dois modelos podem ser atribuídas às características próprias e à estrutura cada um. A explicação pode concordar com a de Vitti et al. (2006) quando comparou os dois modelos estudando o metabolismo de Ca em ovinos. Segundo os autores, o modelo Vitti utilizou médias diretas de atividade específica (análises químicas e contagens radioativas) incluídas na maioria das equações para o cálculo dos fluxos. O modelo de Fernandez foi desenvolvido de modo menos estruturado e mais empírico, não utilizando tantas médias experimentais diretas.

4 CONCLUSÃO

Os níveis crescentes de P nas dietas interferiram no fluxo do P no metabolismo de ovinos. Os modelos matemáticos demonstraram ser eficientes para o estudo da cinética do mineral nos tecidos, entretanto, alguns valores foram diferentes, atribui-se esta ocorrência ao formato e estruturação dos modelos estudados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. v.1.
- BRAITHWAITE, G.D. Studies on the absorption and retention of calcium and phosphorus by young and mature Ca-deficient sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.34, n.2, p.311-324, Sept. 1975.
- BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C; MESCHY, F. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants, part. III. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v.43, n.3, p.285-300, May/June 2003.
- CHAPUIS-LARDY, L.; FIORINI, J.; TOTH, J.; DOU, Z. Phosphorus concentration and solubility in dairy feces: variability and affecting factors. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, n.12, p.4334-4341, Apr. 2004.
- DIAS, R.S. **Estudo do metabolismo do fósforo utilizando modelos matemáticos**. 2006. 104p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.
- DIAS, R.S.; KEBREAB, E.K.; 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, n.5, p.509-516, Aug. 2007.
- DIAS, R.S.; KEBREAB, E.K.; VITTI, D.M.S.S.; ROQUE, A.P.; BUENO, I.C.S.; FRANCE, J. A revised model for studying phosphorus and calcium kinetics in growing sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.84, n.10, p.2787-2794, 2006.
- DOVE, H.; CHARMLEY, E. Relationships between phosphorus intake, plasma phosphorus and fecal and urinary phosphorus excretion in young sheep. **Animal Production in Australia**, Victoria, v.25, n.1, p.37-40, July 2004.
- DOVE, H.; CHARMLEY, E. Relationships between phosphorus intake, plasma phosphorus and fecal and urinary phosphorus excretion in young sheep. **Animal Production in Australia**, Victoria, v.25, n.1, p.37-40, July 2004.

FERNANDEZ, J.A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs: a model resolution, part. III. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.41, n.1, p.255-261, Mar. 1995.

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

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

LOPES, J.B; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; HADDAD, M.; FIGUEIREDO, A.V.; BOTEQUIO, R.C. Modelo de fluxo biológico do fósforo de fontes de fosfato em suínos, usando o ^{32}P como marcador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.30, n.1, p.165-173, jan./fev. 2001.

LOUVANDINI, H.; VITTI, M.S.S.V. Cinética de fósforo com modelos matemáticos em ovinos adultos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Viçosa, MG, v.42, n.10, p.1467-1472, out. 2007.

MORSE, D.; HEAD, H.H.; WILLOX, C.J.; VAN HORN, H.H.; HISSEM, C.D.; HARRIS JUNIOR, B. Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.11, p.3039-3049, Nov. 1992.

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: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1977. 25p. (Boletim Científico, 48).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington: National Academic, 2007. 362p.

PFEFFER, E.; BEEDE, D.K.; VALK, H. Phosphorus metabolism in ruminants and requirements of cattle. In: PFEFFER, E.; HRISTOV, A. **Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle: reducing the environmental impact of cattle operations**. London: CABI, 2005. cap.5, p.195-231.

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, n.1-2, p. 170-176, May 2006.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.

SAUVANT, D.; BAUMONT, R.; FAVERDIN, P. Development of a mechanistic model of intake and chewing activities of sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.12, p.1785-2802, Dec. 1996.

SOEST, P.J. van; WINE, R.H. Use of detergent in the analysis of farmers feed. IV. Determination of plant cell wall constituents. **Journal of Association of Analytical Chemistry**, Durant, v.50, n.1, Jan. p.50-55, 1967.

VITTI, D.M.S.S. **Modelos biomatemáticos do metabolismo de fósforo em ovinos e caprinos**. 2000. 149p. Tese (Livre Docência) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.

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

VITTI, D.M.S.S.; ROQUE, A.P.; DIAS, R.; LOPES, J.; BUENO, I.C.; BUENO, M.; NOZELLA, E. Metabolismo de cálcio em ovinos em crescimento sob suplementação com diferentes fontes de cálcio: aplicação e comparação de dois modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.35, n.6, p.2487-2495, nov./dez. 2006.

ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; JORGENSON, S.S.; REIS, B.F. Merging zones in flow injection analysis. Part 2. Determination of calcium, magnesium and potassium in plant material by flow injection atomic absorption and flame emission spectrometry. **Analytical Chemical Acta**, Amsterdam, v.104, n.1, p.279-284, Jan. 1979.

ANEXOS

ANEXO A

Tabela 1A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade de MS em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	106
Tabela 2A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade da PB em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	106
Tabela 3A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade de MM em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	106
Tabela 4A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade da fração FDN em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	107
Tabela 5A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável consumo de água (mL/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	107
Tabela 6A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	107
Tabela 7A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade verdadeira do P dietético em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	107
Tabela 8A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade aparente do P dietético em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	108
Tabela 9A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável ingestão de Ca (g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	108

Tabela 10A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de absorção aparente de Ca em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	108
Tabela 11A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de absorção verdadeira de Ca em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	109
Tabela 12A	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável balanço de Ca em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	109

ANEXO B

Tabela 1B	Resumo da análise de variância da variável atividade específica padronizada em tecidos em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	110
Tabela 2B.	Resumo da análise de variância da variável retenção de ³² P em tecidos em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	110
Tabela 3B	Resumo da análise de variância da variável concentração de P nos tecidos (mg/g) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	111
Tabela 4B	Resumo da análise de variância da variável atividade específica relativa em tecidos em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	111

ANEXO C

Tabela 1C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável ingestão de P (F_{10} , V_i , g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	112
Tabela 2C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre trato gastrintestinal e plasma (F_{21} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	112

Tabela 3C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre plasma e trato gastrointestinal (F_{12} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	112
Tabela 4C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre plasma e ossos (F_{32} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	113
Tabela 5C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre plasma e tecidos moles (F_{42} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	113
Tabela 6C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre tecidos moles e plasma (F_{24} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	113
Tabela 7C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre ossos e plasma (F_{23} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	113
Tabela 8C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável retenção ou balanço de P (g/dia) nos ossos do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	114
Tabela 9C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável retenção ou balanço de P (g/dia) nos tecidos moles do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	114
Tabela 10C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável quantidade de P no plasma (Q_2 , g) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	114
Tabela 11C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável quantidade de P nos ossos (Q_3 , g) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	114

Tabela 12C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável quantidade de P nos tecidos moles (Q_4 , g) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	115
Tabela 13C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica nas fezes (cpm, s_1) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	115
Tabela 14C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica no plasma (cpm, s_2) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	115
Tabela 15C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica nos ossos (cpm, s_3) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	115
Tabela 16C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica nos tecidos moles (cpm, s_4) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	116
Tabela 17C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P na urina (F_{02} , V_u , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	116
Tabela 18C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P fecal endógeno (g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	116
Tabela 19C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P do alimento nas fezes (g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	117
Tabela 20C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P incorporado nos ossos (VO+, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	117
Tabela 21C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P balanço geral de P (g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro	

	níveis de fósforo.....	117
Tabela 22C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P reabsorvido dos ossos (VO-, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	118
Tabela 23C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável balanço de P nos ossos do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	118
Tabela 24C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P incorporado nos tecidos (VeT+, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	118
Tabela 25C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P reabsorvido dos tecidos (VeT-, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	119
Tabela 26C	Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável balanço de P nos tecidos moles do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo.....	119

ANEXO A

Tabela 1A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade de MS em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,005	3	0,002	2,491	0,091
Erro	0,013	19	0,001		

Tabela 2A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade da PB em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,003	3	0,001	1,086	0,379
Erro	0,015	19	0,001		

Tabela 3A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade de MM em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	1,393	3	0,464	133,116	0,000
Erro	0,066	19	0,003		

Tabela 4A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade da fração FDN em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,008	3	0,003	2,184	0,123
Erro	0,022	19	0,001		

Tabela 5A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável consumo de água (mL/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	231845,06	3	77281,686	0,533	0,665
Erro	2753420,93	19	144916,891		

Tabela 6A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,003	3	0,001	1,341	0,291
Erro	0,015	19	0,001		

Tabela 7A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade verdadeira do P dietético em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,164	3	0,055	4,508	0,015
Erro	0,230	19	0,012		

Tabela 8A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de digestibilidade aparente do P dietético em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,093	3	0,031	2,435	0,096
Erro	0,242	19	0,013		

Tabela 9A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável ingestão de Ca (g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	327,532	3	109,177	1791,576	0,000
Erro	1,158	19	0,061		

Tabela 10A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de absorção aparente de Ca em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,171	3	0,057	3,740	0,029
Erro	0,289	19	0,015		

Tabela 11A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável coeficiente de absorção verdadeira de Ca em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,264	3	0,088	5,066	0,010
Erro	0,330	19	0,017		

Tabela 12A Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável balanço de Ca em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	9,235	3	3,078	2,021	0,145
Erro	28,944	19	1,523		

ANEXO B

Tabela 1B Resumo da análise de variância da variável atividade específica padronizada em tecidos em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte		Soma de quadrados tipo III	gl	Media quadrática	F	Signif.
P suplementar	Hipótese	0,050	3	0,017	11,18	0,020
	Erro	0,006	4	0,001(a)		
Grupo (Psuplementar)	Hipótese	0,006	4	0,001	7,247	0,000
	Erro	0,024	116	0,000(b)		
Tecido	Hipótese	0,060	5	0,012	58,61	0,000
	Erro	0,024	116	0,000(b)		
Tecido * Psuplementar	Hipótese	0,013	15	0,001	4,226	0,000
	Erro	0,024	116	0,000(b)		

a MS(Grupo(Psuplem))

b MS(Erro)

Tabela 2B Resumo da análise de variância da variável retenção de ³²P em tecidos em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte		Soma de quadrados tipo III	gl	Media quadrática	F	Signif.
P suplementar	Hipótese	0,001	3	0,000	13,79	0,014
	Erro	6,311E-05	4	1,578E-05(a)		
Grupo (Psuplementar)	Hipótese	6,311E-05	4	1,578E-05	6,813	0,000
	Erro	0,000	116	2,316E-06(b)		
Tecido	Hipótese	0,001	5	,000	101,9	0,000
	Erro	0,000	116	2,316E-06(b)		
Tecido * Psuplementar	Hipótese	0,000	15	1,122E-05	4,847	0,000
	Erro	0,000	116	2,316E-06(b)		

Tabela 3B Resumo da análise de variância da variável concentração de P nos tecidos (mg/g) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte		Soma de quadrados tipo III	gl	Media quadrática	F	Signif.
P suplementar	Hipótese	31,211	3	10,404	0,090	0,962
	Erro	460,678	4	115,170(a)		
Grupo (Psuplementar)	Hipótese	460,678	4	115,170	12,83	0,000
	Erro	1041,033	116	8,974(b)		
Tecido	Hipótese	105707,121	5	21141,424	2355,7	0,000
	Erro	1041,033	116	8,974(b)		
Tecido * Psuplementar	Hipótese	68,272	15	4,551	0,507	0,933
	Erro	1041,033	116	8,974(b)		

a MS(Grupo(Psuplem))

b MS(Error)

Tabela 4B Resumo da análise de variância da variável atividade específica relativa em tecidos em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte		Soma de quadrados tipo III	gl	Media quadrática	F	Signif.
P suplementar	Hipótese	0,136	3	0,045	0,352	0,791
	Erro	0,514	4	0,129(a)		
Grupo (Psuplementar)	Hipótese	0,514	4	0,129	10,19	0,000
	Erro	1,463	116	0,013(b)		
Tecido	Hipótese	4,683	5	0,937	74,28	0,000
	Erro	1,463	116	0,013(b)		
Tecido * Psuplementar	Hipótese	0,124	15	0,008	0,654	0,824
	Erro	1,463	116	0,013(b)		

a MS(Grupo(Psuplem))

b MS(Error)

ANEXO C

Tabela 1C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável ingestão de P (F_{10} , V_i , g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	101,954	3	33,985	7,244	0,002
Erro	89,136	19	4,691		

Tabela 2C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre trato gastrointestinal e plasma (F_{21} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	133,748	3	44,583	8,404	0,001
Erro	100,790	19	5,305		

Tabela 3C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre plasma e trato gastrointestinal (F_{12} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	101,954	3	33,985	7,244	0,002
Erro	89,136	19	4,691		

Tabela 4C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre plasma e ossos (F_{32} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	176,385	3	58,795	2,771	0,070
Erro	403,172	19	21,220		

Tabela 5C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre plasma e tecidos moles (F_{42} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	6,711	3	2,237	3,014	,056
Erro	14,101	19	,742		

Tabela 6C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre tecidos moles e plasma (F_{24} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	4,717	3	1,572	2,773	0,070
Erro	10,775	19	0,567		

Tabela 7C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável fluxo de P entre ossos e plasma (F_{23} , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	159,748	3	53,249	2,411	0,099
Erro	419,584	19	22,083		

Tabela 8C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável retenção ou balanço de P (g/dia) nos ossos do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	1,970	3	0,657	0,915	0,452
Erro	13,628	19	0,717		

Tabela 9C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável retenção ou balanço de P (g/dia) nos tecidos moles do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,456	3	0,152	0,759	0,531
Erro	3,804	19	0,200		

Tabela 10C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável quantidade de P no plasma (Q_2 , g) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,005	3	0,002	2,222	0,119
Erro	0,013	19	0,001		

Tabela 11C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável quantidade de P nos ossos (Q_3 , g) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	19,195	3	6,398	0,021	0,996
Erro	5710,979	19	300,578		

Tabela 12C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável quantidade de P nos tecidos moles (Q_4 , g) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	43,232	3	14,411	4,917	0,011
Erro	55,683	19	2,931		

Tabela 13C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica nas fezes (cpm, s_1) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	336,365	3	112,122	57,709	0,000
Erro	36,915	19	1,943		

Tabela 14C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica no plasma (cpm, s_2) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	336,365	3	112,122	57,709	0,000
Erro	36,915	19	1,943		

Tabela 15C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica nos ossos (cpm, s_3) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	9,091	3	3,030	9,325	0,001
Erro	6,175	19	,325		

Tabela 16C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável atividade específica nos tecidos moles (cpm, s_4) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	43,718	3	14,573	17,702	0,000
Erro	15,641	19	0,823		

Tabela 17C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P na urina (F_{02} , V_u , g/dia) do modelo Vitti-Dias em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,612	3	0,204	0,629	0,605
Erro	6,162	19	0,324		

Tabela 18C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P fecal endógeno (g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	13,935	3	4,645	21,294	0,000
Erro	4,145	19	0,218		

Tabela 19C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P do alimento nas fezes (g/dia) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	40,737	3	13,579	44,052	0,000
Erro	5,857	19	,308		

Tabela 20C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P incorporado nos ossos (VO+, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,148	3	0,049	0,129	0,941
Erro	7,234	19	0,381		

Tabela 21C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P balanço geral de P (g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	3,420	3	1,140	3,066	0,053
Erro	7,065	19	0,372		

Tabela 22C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P reabsorvido dos ossos (VO-, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	4,368	3	1,456	1,341	0,291
Erro	20,630	19	1,086		

Tabela 23C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável balanço de P nos ossos do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	3,067	3	1,022	3,106	0,051
Erro	6,255	19	0,329		

Tabela 24C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P incorporado nos tecidos (VeT+, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,025	3	0,008	0,577	0,637
Erro	0,275	19	0,014		

Tabela 25C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável P reabsorvido dos tecidos (VeT-, g/dia) do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,021	3	0,007	0,493	0,692
Erro	0,268	19	0,014		

Tabela 26C Resumo da análise de contrastes polinomiais da variável balanço de P nos tecidos moles do modelo Fernandez modificado por Lopes et al. (2001) em ovinos em crescimento suplementados com quatro níveis de fósforo

Fonte	Soma de quadrados	gl	Media quadrática	F	Significância
Contraste	0,011	3	0,004	2,514	0,089
Erro	0,027	19	0,001		