

ANA FLÁVIA ROSA ROSATI

**Efeito do fosfato bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade
ruminal do feno de coast-cross.**

Pirassununga – São Paulo

2009

ANA FLÁVIA ROSA ROSATI

Efeito do fosfato bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade ruminal do feno de coast-cross.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração

Nutrição Animal

Orientador

Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues.

Pirassununga – São Paulo

2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2221
FMVZ

Rosati, Ana Flávia Rosa
Efeito do fosfato bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade ruminal do feno de coast-cross / Ana Flávia Rosa Rosati. --2009.
62 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues.

1. Fosfato monoamônico. 2. Fosfato bicálcico. 3. Digestibilidade.
4. Solubilidade. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeitos do fosfato bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade ruminal do feno de Coast-cross", utilizando 12 (doze) ovinos, protocolado sob o nº1702/2009, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 14/10/09.

We certify that the Research "Effects of dicalcium or monoammonium phosphate on ruminal degradability of Coast-cross hay", utilizing 12 (twelve) ovine, protocol number 1702/2009, under the responsibility Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/14/09.

São Paulo, 28 de outubro de 2009

Profª Dra Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP - Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: Rosati, Ana Flávia Rosa

Título: Efeito dos fosfatos bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade ruminal do feno de coast-cross.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

DATA: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos professores Paulo Henrique Mazza Rodrigues e Carlos de Sousa Lucci pela paciência e por todos os ensinamentos.

Ao professor Valter Fontolan pelo conhecimento e auxílio indispensável durante as análises laboratoriais.

À Universidade de Santo Amaro pela concessão do espaço e dos animais utilizados neste experimento.

Ao estagiário Murillo pelo apoio durante as etapas experimentais.

Aos funcionários do VNP, em especial ao João pela ajuda administrativa indispensável.

À Estela pelo apoio e “moradia” fornecida durante boa parte do curso e a Fabiana, Fernanda, Alessandra e Francine pelas palavras de incentivo.

Ao Dr. Ricardo Cazes pela motivação e incentivo que me fizeram iniciar esta caminhada.

Ao Marcelo Oliveira por ter me liberado algumas vezes do trabalho para que eu pudesse finalizar o mestrado.

Aos meus grandes amigos do Alvorada e meus irmãos Luiz Gustavo e Luiz Fernando que torceram por mim durante todos esses anos.

Por estar sempre ao meu lado, suportando as oscilações de humor e compreendendo os momentos de dedicação ao curso, agradeço ao Glauber, meu cúmplice e companheiro.

Aos meus pais, Luiz Felipe e Ana Lúcia, pelo exemplo de vida, aprendizado, incentivo, força e apoio fundamentais em todas as realizações de minha vida.

A Deus, pela oportunidade, garra e perseverança a mim fornecidos.

A todos que, direta ou indiretamente, estiveram presentes nesta etapa da minha vida.

Agradeço sinceramente!

RESUMO

Rosati, A. F. R. **Efeito do fosfato bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade ruminal do feno de coast-cross.** [Effects of dicalcium or monoammonium phosphate on ruminal digestibility *in situ* of coast-cross hay]. 2009. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

Foram avaliados os efeitos do fósforo proveniente das fontes Fosfato Bicálcico (FBC) e Fosfato Monoamônico (FMA) sobre a digestibilidade ruminal *in situ* do feno de coast-cross (*Cynodon dactylum*) e a solubilidade das mesmas fontes de P, através de estudo *in vitro*. Doze carneiros machos, castrados, mestiços da raça Sulfock, dotados de cânulas ruminais, foram empregados por um período experimental dividido em duas etapas: a primeira avaliou a solubilidade *in situ* do fósforo proveniente das duas fontes em três diluentes distintos, sendo líquido ruminal obtido de animais recebendo feno e concentrados, líquido ruminal obtido de animais recebendo apenas feno e solução de ácido cítrico a 2%. Para quantificação da solubilidade do FMA e FBC no líquido ruminal foi formado um “pool” distinto dos líquidos de cada grupo quanto aos alimentos oferecidos. Em seguida as mostras foram dissolvidas nos diluentes e determinou-se a concentração de fósforo total no meio, a partir da leitura da absorbância em espectrofotômetro. A segunda etapa foi desenvolvida para avaliar o efeito da disponibilidade do fósforo das duas fontes sobre a digestibilidade ruminal *in situ* do mesmo feno de coast-cross. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado composto por dois tratamentos: Fosfato Bicálcico e Fosfato Monoamônico. A digestibilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro foi calculada pelo emprego da técnica dos sacos de náilon incubados no rúmen durante 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. O fosfato monoamônico apresentou maior disponibilidade no líquido ruminal em relação ao bicálcico ($P < 0,05$). No entanto, essa diferença na concentração de P disponível no líquido ruminal não promoveu aumento significativo na digestibilidade *in situ* da FDN ou da MS do feno.

Palavras-chave: Fosfato monoamônico. Fosfato bicálcico. Digestibilidade. Solubilidade.

ABSTRACT

ROSATI, A. F. R. **Effects of dicalcium or monoammonium phosphate on ruminal digestibility of coast-cross hay.** [Efeito do fosfato bicálcico ou monoamônico sobre a digestibilidade ruminal do feno de coast-cross]. 2009. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

The effects of phosphorus from Dicalcium Phosphate (DCP) or Monoammonium Phosphate (MAP) sources were evaluated on in situ ruminal digestibility of coast-cross hay (*Cynodon dactylum*) and also their solubility using in vitro study. Twelve Suffolk crossbred wethers were used, fitted with ruminal cannulas. The experimental period was divided into two stages: the first one evaluated the in situ solubility of the two sources of phosphorus in three different extractors: ruminal fluid from animals receiving roughage plus concentrate-based diet; ruminal fluid from animals receiving only roughage-based diet; and 2% citric acid solution. To quantify the solubility of DCP and MAP in rumen fluid, a pool of fluid from each group, relating to the feed offered, was formed. The samples were dissolved in solvents and total phosphorus concentration was determined, by reading the absorbance in a spectrophotometer. The second stage evaluated the effect of phosphorus availability from the two sources used on in situ ruminal digestibility of the coast-cross hay. A completely randomized design was used, composed by two treatments: Dicalcium Phosphate and Monoammonium Phosphate. Digestibility of dry matter and neutral detergent fiber was calculated, applying in situ nylon bag technique, with incubation time of 0, 6, 12, 24, 48, 72 or 96 hours. Monoammonium phosphate showed higher availability in ruminal fluid than dicalcium phosphate ($P < 0,05$); however, this difference in the concentration of phosphorus available in ruminal fluid did not cause significant increase on in situ digestibility of NDF or DM of hay.

Keywords : Monoammonium phosphate, Dicalcium phosphate, Digestibility, Solubility.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Ingredientes e composição bromatológica das misturas concentradas e das dietas totais, com base na matéria seca..... | 36 |
| Tabela 2 - Solubilidade do P (em %) presente no FBC e FBA após diluição em três diluentes distintos..... | 37 |
| Tabela 3 - Degradabilidade <i>in situ</i> da matéria seca e da fibra em detergente neutro do feno de coast-cross (<i>Cynodon dactylum</i>)..... | 41 |
| Tabela 4 - Concentrações de fósforo no líquido ruminal (mg/L) após os tratamentos..... | 42 |
| Tabela 5 - Valores de pH do líquido ruminal (mg/L)..... | 46 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 10 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 12 |
| 2.1 | Importância dos minerais na alimentação animal..... | 12 |
| 2.2 | Fósforo..... | 13 |
| 2.3 | Fósforo no rúmen..... | 15 |
| 2.4 | Absorção e excreção do fósforo..... | 18 |
| 2.5 | Fontes de fósforo..... | 21 |
| 2.6 | Biodisponibilidade do fósforo..... | 23 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 29 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 36 |
| 5 | CONCLUSÃO..... | 48 |
| | REFERÊNCIAS..... | 49 |

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo o maior exportador deste tipo de carne. No entanto, os índices de produtividade são pouco expressivos, em parte pelo baixo desempenho estar relacionado ao modelo de exploração extensiva, baseado muitas vezes apenas nas pastagens. As razões para o baixo desempenho são variáveis, destacando-se as deficiências minerais como fatores importantes.

Entre as deficiências minerais, o fósforo destaca-se pela sua deficiência em nossos solos e pastagens, por suas variadas funções no organismo animal e pelo custo considerável que implica a correção de sua deficiência. Contudo, embora a suplementação fosfatada seja necessária na criação de bovinos, sua relação custo/benefício deve considerar o valor das fontes do mineral com a disponibilidade do mesmo, ganhando importância a noção de biodisponibilidade do P para suplementação animal.

Outro aspecto de interesse refere-se à solubilidade do fósforo provido por diversas fontes, quando no líquido ruminal. Tomando-se como exemplo o fosfato monoamônico (FMA) e o fosfato bicálcico (FBC) como fontes, a quantidade solubilizada no conteúdo ruminal seria um possível fator de interferência no metabolismo da microbiota do rúmen, no sentido de bactérias celulolíticas poderem exercer suas funções de maneira diferenciada.

O emprego do FBC e FMA, neste experimento, baseou-se em averiguar se diferenças de solubilidade do P dessas duas fontes resultariam em diferenças no

aproveitamento do mineral pela microbiota do rúmen, que pudessem repercutir na digestibilidade de frações fibrosas das rações.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância dos minerais na alimentação animal

Mineral é a classificação dada aos elementos inorgânicos, isto é, aqueles que não possuem em sua composição carbono, hidrogênio, oxigênio ou nitrogênio. Alguns minerais são essenciais à manutenção da homeostase do organismo dos animais domésticos, sendo parte deles exigidos diariamente e em maiores concentrações, como é o cálcio, fósforo, sódio, enxofre, potássio, cloro e magnésio e outra parte em menor concentração, como o zinco, cobre, cobalto, manganês, selênio, iodo e cromo (MCDOWELL, 1992). A ingestão contínua de dietas contendo níveis inadequados ou desequilibrados desses minerais pode desencadear distúrbios bioquímicos, prejudicando as funções biológicas, além de causar desordens estruturais. Os efeitos vão depender do tipo de mineral, da intensidade e duração da deficiência, da idade, condição sexual e espécie animal exposta (NICODEMO et al., 1990).

Por tratar-se de um grande número de elementos, com as mais variadas e complexas funções, os sintomas causados pelo desequilíbrio mineral da dieta não são específicos e são facilmente confundidos com aqueles provocados pela deficiência de energia e proteína (alimentação deficiente qualitativa e quantitativamente) ou por problemas de saúde (parasitismo, doenças infecciosas ou ingestão de plantas tóxicas) (SOUZA, 2004).

As forrageiras tropicais apresentam deficiência de alguns desses minerais e, dentre eles, o fósforo é o que mais se destaca, devido às diferentes funções que

desempenha no organismo, tornando-se indispensável a suplementação do mesmo ao rebanho brasileiro (LOPES, 1986).

2.2 Fósforo

Descoberto e isolado em 1669 por Brand, na Alemanha (SHEVE et al., 1977), o fósforo é o elemento químico cujas funções biológicas estão melhor estabelecidas.

Os primeiros estudos sobre deficiência mineral em bovinos no Brasil referem-se ao fósforo e foram realizadas na década de 40, no Estado de Minas Gerais (TOKARNIA et al., 1990). O primeiro diagnóstico clínico ligado à deficiência de fósforo em bovinos foi realizado por Giovine (1943). Menicucci (1943) foi quem deu continuidade ao estudo através da avaliação da concentração de P em amostras de sangue.

O P não é encontrado no ambiente de forma livre porque combina-se espontaneamente com o oxigênio. Pode ser ingerido na forma inorgânica, como mono, di-ou trifosfato, ou na forma orgânica, como fitatos, fosfolipídeos ou fosfoproteínas (PIZZOLANTE, 2000). É um componente estrutural dos ossos e desempenha importantes funções bioquímicas e fisiológicas, estando envolvido em quase todas as vias metabólicas (LOPES et al., 1986; BOIN, 1985).

Trata-se do segundo mineral mais abundante na composição dos tecidos animais, compondo aproximadamente 1% do peso corporal, dos quais 80% presente em ossos e dentes e 20% distribuídos nos tecidos moles e envolvidos no metabolismo de maneira geral, principalmente nas células vermelhas do sangue, músculos e sistema nervoso (SIGNORETTI et al., 1999; UNDERWOOD, 1999).

Inúmeras funções são atribuídas ao fósforo, dentre elas, as principais são a formação da estrutura óssea, participação na formação de membranas celulares, utilização e transferência de energia na forma de ATP (LEHNINGER, 1994). Também participa na atuação da composição de ácidos nucleicos (DNA e RNA), essenciais para o crescimento e diferenciação nuclear, atua na manutenção da pressão osmótica e equilíbrio ácido-base, utilização e transferência de energia nas formas de adenosina mono, di- e tri-fosfato e formação de fosfolipídios, tendo como consequência a participação no transporte de ácidos graxos, absorção e deposição de gorduras, formação de proteínas, além de influenciar o apetite e a eficiência alimentar (RUNHO et al., 2001). Está envolvido na formação de colágeno e mineralização óssea, aumentando a resistência tênsil dos ossos e acelerando a cicatrização de fraturas. Atua no metabolismo de glicídios e protídeos, sendo componente de hexafosfatos, lecitina, caseína, pepsina e creatina-fosfato. Participa das etapas de fosforilação da glicose, componente do AMP-cíclico, ativador de coenzimas para o funcionamento de vitaminas do complexo B, além da função tamponante no líquido intracelular e nos fluídos dos rins (PIZZOLANTE, 2000).

Para ruminantes, além das variadas funções citadas, o fósforo é essencial ao metabolismo e desenvolvimento da microbiota ruminal (BREVES & SCHRODER, 1991).

No Brasil, os solos são conhecidamente deficientes em P e, portanto, distúrbios provocados pela sua ausência na dieta são comuns e economicamente muito importantes, principalmente ao rebanho mantido em regime exclusivo de pastagem (TOKARNIA et al., 2000).

2.3 Fósforo no rúmen

Ospina et al. (1999), em extensa revisão sobre o desafio de otimizar a fermentação ruminal através da suplementação mineral, afirmaram que os minerais atuam como catalisadores dos processos de multiplicação celular dos microorganismos ruminais, sendo importantes para síntese de proteína microbiana. De outra forma, os minerais também assumem funções importantes no ambiente ruminal, afetando a pressão osmótica, a capacidade de tamponamento e a taxa de diluição.

Barcellos (1998) citou que diversos autores têm demonstrado a importância do fósforo sobre a atividade dos microorganismos do rúmen, salientando a diminuição na produção de ácidos graxos voláteis, na população de protozoários, do rendimento de ATP e da atividade das bactérias celulolíticas quando ocorre sua deficiência, por tratar-se de um elemento essencial ao metabolismo e ao desenvolvimento da microbiota ruminal.

No rúmen são encontradas altas concentrações de fósforo, que variam de 200 a 600 mg/L (WITT & OWENS, 1983). Cerca de 50% a 70% do mineral presente neste órgão tem origem endógena, secretado principalmente pela saliva. Nesta situação, ele possui duas importantes funções: atuar como tampão, evitando a queda do pH ruminal resultante da produção de ácidos orgânicos, além de fornecer P para a microbiota do rúmen, já que este é constituinte das paredes das células microbianas. Segundo Hungate (1966), as células desses microorganismos contêm cerca de 20 a 60 g de P/kg de matéria seca presentes como ácidos nucleicos (80%) e fosfolipídios (10%). Taxas mínimas de crescimento microbiano são obtidas quando a concentração de fósforo no meio está entre 40 e 80 mg de P/L (CHICO et al., 1965; HALL et al., 1966).

Trabalhos de pesquisa indicam que os microorganismos ruminais são responsáveis por 59% da proteína que chega ao intestino delgado (CLARK et al., 1992), denotando a importância do estudo dos mecanismos de síntese microbiana (VALADARES FILHO, 1995), definida como a proporção de substrato energético que é fixado como célula microbiana (DEHORITY, 1995).

Segundo Barcellos (1998), a exigência das bactérias celulolíticas por fósforo pode ser tão elevada quanto as exigências do animal hospedeiro. No entanto, Franzolin (1996), em revisão de literatura sobre o assunto, observou que existem poucas evidências para garantir que o crescimento microbiano no rúmen seja aumentado pela suplementação adicional de fósforo, quando a mesma encontra-se adequada aos níveis mínimos exigidos. Este autor, porém, ressalva que a presença do fósforo em materiais fibrosos tem promovido uma melhora na digestão da celulose.

Para Breves e Holler (1987), a deficiência de fósforo no rúmen leva a redução da digestibilidade da matéria orgânica, promovendo efeitos sobre a fermentação, tanto no rúmen quanto no intestino, sugerindo que os microorganismos sejam afetados pela deficiência do mineral independente do setor do TGI. Esta informação concorda com a obtida por Raun et al. (1956), que encontraram aumento da digestibilidade *in vitro* com adição de P orgânico ou inorgânico no meio de incubação.

Komisarczuk et al. (1987) avaliaram os efeitos de diferentes níveis de fósforo sobre a fermentação ruminal *in vitro* utilizando líquido ruminal de carneiro. Os autores notaram que ao diminuir as concentrações de P no meio de cultura, ocorreu diminuição da produção de ácidos graxos voláteis totais, aumento do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal, bem como redução da concentração de ATP. Neste mesmo trabalho foi observado que a necessidade de suplementação de P para a

digestão da celulose foi maior em relação à necessidade para digestão do amido e da hemicelulose. Young et al. (1966) encontraram resultados semelhantes a Komisarczuk et al. (1987), constatando que a redução da concentração de fósforo no líquido ruminal resultou em queda na produção de ácidos graxos voláteis totais e alteração dos valores do pH de 6,06 para 6,56.

Ao estudar a resposta de cabras em lactação suplementadas com níveis diferentes de P, Petri et al. (1988) também observaram aumento do pH e queda da concentração de fósforo e amônia no líquido ruminal, quando os níveis de inclusão do mineral na dieta estiveram abaixo do recomendado.

Milton e Ternouth (1985) induziram, em um experimento, baixa concentração de P no rúmen e no sangue, alta concentração de P no rúmen e no sangue e baixa concentração do mineral no rúmen mas alta no sangue. Os autores observaram que os coeficientes de digestibilidade da fibra em detergente neutro nos tratamentos com baixa concentração de fósforo no rúmen foram 5% inferiores quando comparados aos tratamentos com altas concentrações do mineral. Esses dados corroboram os resultados encontrados por Witt & Owens (1983), que não encontraram diferenças significativas quanto à digestibilidade da matéria orgânica (64,8% e 66,9%), matéria seca (64,8% e 67,0%) e fibra em detergente neutro (62,3% e 65,3%) quando a concentração do mineral no rúmen passou de 6,7 para 12,8 mmol/L, concluindo que a digestão dos alimentos no rúmen não foi afetada pelas diferentes proporções de fósforo suplementadas.

De acordo com Gratner et al. (1982), a suplementação de 12 g diárias de fósforo pode levar ao aumento do consumo da matéria seca e da digestibilidade ruminal de bovinos. Entretanto, Agarwala e Nath (1980) não observaram diferença significativa

sobre a digestibilidade ruminal de bovinos suplementados com níveis variáveis de fósforo na dieta, em torno de 7 a 19 gramas diárias por animal. Ekelund et al. (2003) também não observaram diferenças significativas sobre a digestibilidade aparente, composição e produção de leite ao empregarem fontes com concentrações distintas de fósforo à dieta de vacas de alta produção. Ainda, segundo Sevilha et al. (1982), o nível de fósforo inorgânico no rúmen raramente é inferior a 200 mg P/L, concluindo que a concentração do mineral no interior do rúmen e retículo dificilmente é inadequada à atividade microbiana, mesmo que a dieta seja altamente deficiente.

2.4 Absorção e excreção do fósforo

A quantidade de P absorvida depende da proporção entre cálcio e fósforo da fonte, do pH intestinal e dos níveis dietéticos de cálcio, fósforo, vitamina D, ferro, alumínio, manganês e gorduras (HIBBS et al., 1983; HORST, 1986). Ele é ingerido pelo animal na forma de compostos orgânicos (fitatos, fosfoproteínas ou fosfolipídeos) ou inorgânicos (mono, di ou trifosfatos). Os fosfatos solúveis, alguns insolúveis e o ácido fosfórico dos compostos orgânicos são dissolvidos pelo suco gástrico. Os fitatos são dissolvidos no rúmen pela ação das fitases produzidas pelos microorganismos existentes nesse órgão.

Enquanto a absorção aumenta em relação direta ao consumo, a eficiência de absorção decresce nos altos níveis de ingestão de fósforo (CHALLA et al., 1989), concluindo-se haver uma relação inversa entre consumo de fósforo e coeficiente de absorção (CHALLA et al., 1989).

Com a suplementação, o fluxo de fósforo no duodeno aumenta, levando a maior absorção intestinal. Entretanto, a eficiência líquida pode ser menor devido ao aumento da excreção pelas fezes (CHALLA & BRAITHWAITE, 1988).

Alcade et al. (2004) ressaltaram ser o sinergismo entre cálcio e o fósforo um dos principais fatores que alteram a absorção de fósforo no intestino delgado dos ruminantes. Estes, por sua vez, toleram grandes variações na razão Ca:P da dieta, sem apresentar depressão no desempenho, desde que se forneça a quantidade de fósforo mínima adequada. Entretanto, um longo período de deficiência do mineral e o fornecimento de elevadas quantidades de cálcio podem reduzir a absorção do mesmo no intestino delgado (NICODEMO et al., 1998).

Graças à capacidade da microbiota ruminal em produzir fitases, os ruminantes são capazes de aproveitar cerca de 85% do fósforo presente nos grãos. Pode-se considerar, em média, que 70% do fósforo na forma de fitato presente nos grãos é aproveitado por essa categoria animal (CARVALHO et al., 2003).

Após entrar na corrente sanguínea, o fósforo circula, parte ligado a uma proteína transportadora, parte complexado e parte na forma ionizada, seguindo pela circulação até o fígado, onde é redistribuído aos diferentes tecidos alvos, e parte para saliva, integrando-se ao circuito de reciclagem. O balanço do fósforo é finalmente estabelecido entre a retenção líquida de fósforo nos ossos e tecidos moles, a retenção no útero gravídico e o fósforo necessário para produção de leite (FORBES, 1983).

Nos tecidos moles ele aparece complexado geralmente na forma orgânica, como componente de membranas, de DNA e RNA, além de participar do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (TERNOUTH, 1990).

Segundo Underwood (1981), níveis plasmáticos normais de P variam entre 4,5 e 6,5 mg P/dL. Níveis abaixo de 4,5 mg P/dL podem indicar deficiência do mineral. No entanto, Ternouth (1990) afirmou que os teores de P no plasma podem variar de 2 a 8 mg P/dL sem que ocorram desordens metabólicas importantes em curto prazo.

Scott et al. (1985) observaram efeito do P ingerido sobre os teores plasmáticos do mineral em ovinos que receberam 2 ou 4 g P/dL. Outros autores verificaram correlação positiva entre o consumo de P e as concentrações no plasma (BRAITHWAITE, 1984; TERNOUTH et al., 1990; BORGES, 2007), embora essa relação não tenha sido observada quando os níveis do mineral na dieta estavam elevados. Contrastando com esses resultados, outros autores não observaram correlação entre o P ingerido e o teor no plasma (LOUVANDINI, 1994).

Nos ruminantes, a principal via de excreção do mineral é as fezes, correspondendo a 70% do P consumido (ABDALLA et al., 1991). A excreção por essa via possui duas frações: uma exógena, que é a fração do elemento de origem alimentar que não foi disponível para a absorção ou que foi disponível e não absorvido (FURTADO, 1996), e outra endógena, composta principalmente pela saliva, pelo suco gástrico e debrís celulares (BRAVO et al., 2003). Conforme Barcellos (1998), a fração da dieta que é absorvida constitui a absorção verdadeira, enquanto que a diferença entre o fósforo consumido e o fósforo nas fezes, representa a absorção aparente.

Portillo et al. (2006), suplementando cordeiros com peso médio de 22,6 kg com 1,5, 3,0 e 4,5 g de P ao dia tendo o fosfato bicálcico como fonte, observaram relação linear entre o total de fósforo excretado e o ingerido. Silva Filho et al. (2000), ao suplementarem novilhos com 0,12, 0,24 e 0,36% de fósforo na dieta (com base na dieta basal), encontraram níveis de excreção do mineral nas fezes de 4,5, 6,35 e 8,05 g/dia,

respectivamente. A suplementação de fósforo causou aumento linear na excreção fecal do mineral de acordo ao consumo.

Segundo Mudd et al. (1981), a excreção endógena pode ocorrer pelas fezes ou urina. No entanto, a excreção pela urina acontece em quantidades muito pequenas (BRAITHWAITE, 1985; TERNOUTH et al., 1990). Os rins possuem habilidade de reter fosfatos, sendo menos de 1% perdido pela urina. Porém, quando a concentração sanguínea de P ultrapassa 6 mg P/dL, a capacidade de reabsorção dos túbulos renais é excedida, havendo uma perda significativa do mineral pela urina (FIELD et al., 1983; SCOTT et al., 1984; FIELD et al., 1985).

Segundo Challa et al. (1989), as perdas urinárias de P não são relacionadas à ingestão do mineral, mas sim à eficiência de absorção. Salviano (1996) verificou que ovinos que consumiram 3 g de P/dL, a partir do fosfato bicálcico, excretaram menos de 11 mg P/dL via urina. Borges (2007) encontrou valores médios de excreção em ovinos por essa mesma via menores que 5,4 mg P ao dia, quando o consumo diário do mineral estava entre 1,87 e 3,24 g de P.

2.5 fontes de fósforo

Fontes de origem mineral

Os fosfatos inorgânicos são sais de ácido fosfórico e apresentam diferentes propriedades dependendo de sua estrutura química, cristalinidade, tamanho de partículas, pH e concentração de elementos contaminantes, além de muitos fosfatos comerciais serem subprodutos ou submetidos a um tipo de processamento industrial

considerados fatores relevantes na qualidade da fonte escolhida para alimentação animal (LIMA et al., 1999).

As fontes de fósforo inorgânico comumente encontradas são: ácido fosfórico (24% P), fosfato bicálcico (18,5% P), fosfato de rocha (9% P), fosfato de rocha defluorinado (18% P), fosfato diamônico (20-23% P), fosfato dissódico (20,5% P), fosfato monocálcico (21% P), fosfato monosódico (22,4% P), trifosfato de sódio (25,3% P), fosfato supertriplo (17,5% P), fosfato monoamônico (21% P) e fosfato termomagnésio (7,5% P) (LIMA et al., 1999).

O fosfato bicálcico comercial é um produto industrial resultante da neutralização do ácido sulfúrico, produzindo o ácido fosfórico que, neutralizado com o calcário ou cal hidratada, origina o fosfato bicálcico comercial (CARDOSO, 1991). No Brasil, é a fonte de fósforo tradicionalmente utilizada pela indústria, com participação de 30 a 50% nos suplementos e o maior volume de vendas (CARDOSO, 1991).

Produtos comerciais possuem proporções variadas de fosfato monocálcico e bicálcico, dependendo do processamento empregado (HUYGHEBAERT et al., 1980).

Segundo Gill (1997) e Lima (1995), a qualidade do fosfato bicálcico depende do controle no processamento industrial empregado para sua obtenção e também das matérias primas utilizadas, sendo que as fontes de fósforo utilizadas na alimentação não são homogêneas.

Fontes de origem orgânica

O fósforo presente na natureza aparece amplamente distribuído, sendo encontrado em todos os alimentos de origem vegetal. O maior percentual do P presente

nos vegetais encontra-se ligado ao ácido fítico e o fósforo nessa condição é denominado de fósforo fítico, um composto não hidrolisado pelas enzimas digestivas de animais não ruminantes (HAYS et al.,1988; SOARES JR., 1990; LIMA, 1994; FERNANDES, 1996; GARZILLO, 1996).

O fitato ou hexafosfato de mio-inositol ($C_6H_{18}O_{24}P_6 - IP_6$), descoberto por Pfeffer em 1872 (BILLINGTON, 1993), é a forma primária de armazenamento do fósforo nos vegetais, principalmente cereais, legumes e sementes oleaginosas (MAENZ, 1998). Sua natureza aniônica de seis grupos fosfatados e peso molecular de 659,86 apresenta grande potencial para ligar-se a cátions mono e divalentes, formando complexos quelatados com minerais, principalmente zinco, cálcio, ferro e manganês, proteínas, lipídios (COSGROVE, 1966), bem como com o amido (THOMPSON, 1984).

2.6 Biodisponibilidade do fósforo

A biodisponibilidade de um nutriente é a proporção ou porcentagem do seu consumo que pode ser absorvida pelo intestino, tornando-se disponível para uso no metabolismo ou para estocagem nos tecidos. Geralmente expressa em porcentagem, ela é definida como a proporção do nutriente que pode ser utilizada para garantir os processos fisiológicos do animal (VELOSO, 1991). Também pode ser expressa em termos relativos que compara o ingrediente considerado a outro tomado como padrão, ao qual é atribuído um valor de 100% (LOPES & TOMICH, 2001).

Nenhum composto fosfatado apresenta o fósforo completamente disponível. Assim, supõem-se que a biodisponibilidade varia entre as diversas fontes de fósforo e

que essas variações, quando medidas, tem alta importância na seleção das fontes mais convenientes (VELOSO, 1991).

Diante da variedade de fontes de fósforo existentes, tem-se trabalhado muito na determinação da biodisponibilidade do elemento, como também o uso em dietas de animais. O aproveitamento é medido pela biodisponibilidade e refere-se à proporção, dentro de um composto, que pode ser empregada para garantir os processos fisiológicos do animal (VELOSO, 1996).

Considerando ser o aproveitamento do fósforo dependente da solubilidade que apresenta no ponto de contato com as membranas onde é absorvido e dos fatores que agem para mantê-lo em solução (MACIEL & LEBOUTE, 1978), a fração absorvida é diretamente proporcional à quantidade do mineral ingerida e solubilizada (FIELD, 1981). A determinação de solubilidade é, desta forma, muito importante na avaliação da biodisponibilidade de fontes utilizadas na alimentação animal.

Entre as fontes de fósforo inorgânico mais comumente encontradas estão o fosfato bicálcico (18,5%) e fosfato monoamônico (21%) (LIMA et al., 1999).

Segundo Fernandes et al. (1996), devido à existência de ampla variação na disponibilidade biológica de fósforo em suplementos comerciais economicamente importantes, é fundamental conhecer esta disponibilidade de forma a permitir a suplementação segura para os animais, como também em extensão ao meio ambiente, através da diminuição da excreção do mesmo pelos animais.

A portaria brasileira MAA/SDR nº 20 de 1997, vigente até o ano 2000, determinava a obrigatoriedade da indicação de solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% para as fontes utilizadas na composição básica dos suplementos minerais, sendo 90% o valor mínimo aceitável. No entanto, a portaria SDR nº 06 de 04/02/2000 revogou

os artigos 2º e 3º da portaria nº 20, suspendendo essa obrigatoriedade e permitindo o uso de fontes não convencionais de fósforo, como o fosfato de rocha e fosfatos supertriplos, na alimentação animal.

A biodisponibilidade do fósforo varia principalmente com a forma da molécula de fosfato. No entanto, fatores como a proporção de Ca:P e interação com outros elementos podem afetá-la. Assim, dois fosfatos podem ser equivalentes no teor de fósforo, porém, diferirem na disponibilidade (VITTI et al., 1991). SULLIVAN et al. (1992) ressaltam que o valor de disponibilidade varia também com o método empregado para determiná-lo e com o tipo de fosfato testado.

O conteúdo total de um determinado elemento na fonte necessita ser qualificado por um fator que indique sua disponibilidade biológica. O elemento precisa passar pelos processos de digestão, absorção e transporte até ficar disponível para exercer suas funções (MCGILLIVRAY, 1978). A concentração de fósforo em um alimento tem pouco significado nutricional, a não ser que seja acompanhada de informações sobre sua disponibilidade biológica (MABE, 1997).

A biodisponibilidade, expressa em porcentagem, indica quanto do elemento é efetivamente destinado a uma função biológica, comparado a um fosfato padrão (LOPES, 1986). Sua variação em alimentos vegetais depende de fatores como tipo de dieta adotada (GILLIS, 1962), nível de vitamina D (FRITZ et al., 1968), relação cálcio e fósforo (Waldroup et al., 1965), duração do período experimental (AMMERMAN et al., 1961), tamanho da partícula da ração (GRIFFITH, 1970), diferenças no estado físico de hidratação e modificação cristalina dos fosfatos (PEELER, 1972), escolha do fosfato utilizado como padrão (NELSON et al., 1964) e metodologia empregada para a análise do fósforo disponível (SULLIVAN, 1990).

Existe discordância na correlação entre valores de solubilidade e biodisponibilidade (GILLIS et al., 1962; SULLIVAN et al., 1992). Além disso, manuais de fertilizantes, como o do LANARV (Laboratório Nacional de Referência Vegetal; Análise, 1983), apresentam para cada diluente uma rotina diferente quanto à diluição e ao tempo de extração. Por isso, torna-se incorreto comparar a eficiência de um diluente quando existem tantas variáveis envolvidas.

De acordo com Guéguen (1995), a diversidade de métodos e formas de expressão da biodisponibilidade de fósforo é motivo de discussão pelos técnicos e pela indústria de rações. Este problema deve ser resolvido como primeiro passo para se regular a oferta alimentar à necessidade do animal (JACKSON et al., 1988). Os métodos para avaliação da biodisponibilidade de fósforo nos alimentos e nas fontes de suplementação podem, segundo Guéguen (1995) e Nicodemo et al. (1998), serem classificados como *in vivo* e *in vitro*. Estudos *in vivo* sobre o valor biológico não são usados como provas de rotina na indústria de suplementos minerais. Assim, são tomados valores comparativos com base na reatividade e solubilidade de diferentes fosfatos usados na alimentação animal.

As técnicas *in situ* utilizam soluções químicas e fluídos biológicos como diluentes, sendo comumente utilizadas soluções de ácido cítrico a 0,5% (YOSHIDA et al., 1979) e 2% (GUÉGUEN, 1970), ácido clorídrico, líquido abomasal e ruminal (NICODEMO et al., 1995), além da técnica de rúmen artificial (ANDERSON et al., 1956).

A solubilidade em ácido cítrico a 2%, de acordo com o método convencional, proposto por Guéguen, vem sendo a mais utilizada para predizer o valor biológico dos fosfatos (DUARTE et al., 2003). No entanto, Yoshida et al. (1979) recomendam o uso

de ácido cítrico a 0,5% como um procedimento válido, simples, rápido e prático para a determinação da solubilidade de fosfatos alimentares.

Os métodos *in vivo* mensuram os parâmetros biológicos e/ou o desempenho zootécnico, tais como absorção verdadeira, alternando retirada e fornecimento do elemento ao animal (AMMERMAN et al., 1965), digestibilidade verdadeira (O'DONOVAN et al., 1965), nível sérico e teor de cinzas na costela (WISE et al., 1961), atividade da fosfatase alcalina, exame radiológico, resistência à quebra e densidade do osso, peso da tíbia, velocidade de crescimento (ROSA et al., 1986; LOPES et al., 2001), bem como pela técnica de diluição isotópica, com uso de radioisótopos (BELLAVAR et al., 1984; VITTI et al., 1991).

A porcentagem de solubilidade não deve ser confundida com o potencial de absorção, mas compreendida simplesmente como um método de classificação de fosfatos com valor biológico de médio a baixo, não identificando diferenças entre fosfatos de alta qualidade (GILLIS et al., 1962). No entanto, Sullivan et al. (1992) encontraram alta correlação entre os métodos de avaliação de solubilidade e a biodisponibilidade da fonte.

Alcarde & Ponchio (1979) classificaram os fosfatos cálcicos em função da solubilidade em ácido cítrico como fosfatos de alta solubilidade (fosfatos bi e tricálcicos), de solubilidade mediana (hiperfosfato) e de baixa solubilidade (fosfato de Patos de Minas, fosfato de Araxá e fosfato de Jacupiranga).

Ao estudar a solubilidade ruminal do fosfato bicálcico em relação ao fosfato de sódio, Witt et al. (1983) observaram que o fosfato bicálcico foi 60 a 80% mais solúvel em líquido ruminal em comparação a outra fonte. Entretanto, não houve diferença significativa no abomaso e intestino.

Considerando o fosfato tricálcico como padrão (100%), a biodisponibilidade do fósforo verificada por vários autores foram de 85,8% a 139% para o fosfato monoamônico, 105 a 115% para os fosfatos monocálcicos e bicálcicos e 95,7 a 112,9% para os supertriplos (ROSA et al., 1986; VITTI et al., 1992; LOPES et al., 1997; SILVA FILHO et al., 2000).

Avaliando o efeito de diferentes fontes de fósforo comerciais e da farinha de osso, utilizando ácido cítrico a 2% e fluído ruminal como diluentes, Hall et al. (1978) observaram que a proporção de fósforo solubilizada aumentou de acordo ao maior tempo de incubação e com o tipo de extrator utilizado, ocorrendo uma ligeira queda de solubilização das fontes comerciais quando o meio passou de ácido cítrico para fluído ruminal, ao passo que a farinha de ossos teve sua solubilidade aumentada.

Rosa et al. (1986), avaliando a solubilidade de diferentes fontes inorgânicas de fósforo, utilizando como diluentes líquidos ruminal e abomasal de bovinos e bubalinos, concluíram que a solubilidade do P em líquido abomasal foi superior em relação à solubilidade do P observada em líquido ruminal, independentemente da fonte de fósforo empregada. Nicodemo e Barrocas (1995) compararam a solubilidade de diferentes fontes em líquido ruminal, abomasal, em ácido cítrico a 0,5% e a 2% (método oficial e francês) e concluíram que as técnicas *in vitro* não foram apropriadas para avaliação de diferentes fosfatos alimentares. No entanto, o ácido cítrico mostrou-se o diluente mais confiável.

A solubilidade do fósforo presente em seis fontes por meio da utilização de diferentes diluentes (água, diferentes concentrações de ácido cítrico, ácido clorídrico e citrato neutro de amônio), utilizando procedimento laboratorial padronizado, foi maior em ácido cítrico na proporção a 10%. Esta técnica demonstrou que o ácido cítrico foi o

melhor diluente, pois solubilizou 80% das fontes de média a alta biodisponibilidade (fosfato bicálcico, monoamônico, supertriplo, farinhas de ossos autoclavada e farinha de ossos calcinada) e menos de 50% da fonte cujo fósforo é reconhecidamente de baixo valor biológico, como fosfato de roxa do Araxá (LANGWINSKI, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no centro experimental da Universidade Santo Amaro - Campus I, localizado na cidade de São Paulo, SP. Foram empregados doze carneiros machos, castrados, mestiços da raça Sulfock, dotados de cânulas ruminais, com pesos entre 35 kg e 40 kg e idades de aproximadamente 15 a 18 meses. Os animais foram mantidos em regime de estabulação permanente, em boxes individuais de piso concretado revestido por maravalha de madeira.

O período experimental foi dividido em duas etapas. A primeira destinou-se à avaliação *in vitro* da solubilidade do fósforo do fosfato bicálcico (FBC) e do fosfato monoamônico (FMA). A segunda foi desenvolvida com a finalidade de avaliar, através da digestibilidade ruminal *in situ* do feno de coast-cross (*Cynodon dactylum*), os possíveis efeitos da disponibilidade do fósforo proveniente daquelas fontes sobre a atividade das bactérias celulolíticas.

1º Etapa experimental – Avaliação da solubilidade *in vitro* de duas fontes de P

O delineamento experimental escolhido foi o inteiramente casualizado (HALL et al., 1978), segundo esquema fatorial 2 x 3 (fontes de fósforo x tipo de diluente). Os animais foram previamente divididos em dois grupos de seis, com acesso a dietas distintas quanto à proporção volumoso/concentrado: um grupo foi alimentado com 50% de feno de gramíneas e 50% de concentrados, sendo o outro alimentado apenas com feno de gramíneas (*Cynodon dactylum*). Para quantificação da solubilidade do FMA e FBC no líquido ruminal foi formado um “pool” distinto dos líquidos de cada grupo quanto aos alimentos oferecidos.

Alíquotas de 100 mL de cada “pool” dos líquidos ruminais e outra alíquota de 100 mL de uma solução de ácido cítrico a 2% foram separadas para serem utilizadas como três meios de diluição distintos. Um grama de FBC ou um grama de FMA foram adicionados aos meios de diluição formando um fatorial 2 x 3 de tratamentos, correspondendo às duas fontes (FBC e FMA) e 3 diluentes (líquido ruminal de dieta com concentrados e volumoso, dieta somente com volumoso e solução de ácido cítrico a 2%). Os seis tratamentos foram repetidos três vezes, totalizando 18 análises.

A seqüência da metodologia seguida para determinação de solubilidade de P foi como abaixo descrita.

Balões com 100 mL do solvente contendo 1 g de amostra foram submetidos a agitação (120 rpm), a 37°C, por 30 minutos. Em seguida, os conteúdos dos balões foram filtrados em gaze (três gazes sobrepostas), e alíquotas de 200 µL de cada filtrado foram transferidas para outros balões de 100 mL e diluídas em água destilada até completar o volume do balão. Uma alíquota de 100 µL de cada amostra diluída foi

transferida para outro balão de 50 mL, ao qual foram acrescentados 20 mL de água destilada, 5 mL de solução ácida de molibdato de amônio, 2 mL de vitamina C a 2% (preparada recentemente) e água destilada até completar o volume do balão.

As amostras foram homogeneizadas e 5 minutos após homogeneização foi efetuada a leitura da absorbância em espectrofotômetro com comprimento de ondas de 725 nm, usando água destilada como branco para calibrar o aparelho em absorbância (0). Com as leituras obtidas, construiu-se a curva padrão da concentração de fósforo, através da concentração de P em ppm (X) e a absorbância (Y) determinada pela equação da regressão linear $y=a+bx$.

A concentração de fósforo presente no líquido ruminal de ambos os grupos antes da adição das fontes (FMA e FBC) foi determinada da mesma forma para que o valor encontrado antes da adição da amostra fosse subtraído do resultado final.

A concentração de fósforo das fontes foi calculada a partir da solubilização de 1 g da amostra (FBC ou FMA) em 20 mL de ácido clorídrico para desidratar a sílica e liberar o mineral. A solução permaneceu em repouso por 20 minutos, sendo em seguida transferida para um balão de 100 mL para que o cadinho fosse lavado com água destilada diversas vezes até completar o volume do balão. Após a diluição, foi efetuada a leitura da absorbância no espectrofotômetro.

Os resultados de solubilidade foram analisados de acordo ao seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijl} = \mu + F_i + E_j + FE_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ijl} = observação l, relativa a fonte de fósforo i e diluente j

μ = média geral

F_i = efeito da fonte de fósforo (i= 1 e 2)

E_j = efeito do diluente j (j= 1, 2 e 3)

FE_{ij} = interação dos efeitos da fonte i com o diluente j

ϵ_{ij} = erro aleatório associado à observação

Os dados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1998), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). Os dados que não atenderam a esta premissa foram submetidos à transformação logarítmica [$\text{Log}(x + 1)$] ou pela raiz quadrada [$\text{RQ}(X = 1/2)$]. Para análise de variância dos dados utilizou-se o procedimento General Linear Model (PROC GLM), que separou como causas de variação efeito de fonte de fósforo, efeito de diluente e efeito de interação fonte x diluente. Na presença de interação, o efeito de fonte foi estudado dentro de cada diluente. Já o efeito de diluente foi estudado dentro de cada fonte, utilizando-se o teste de Tukey para separar o efeito de diluente. Adotou-se o nível de 5% de significância para todos os testes realizados.

2º Etapa experimental – Avaliação do efeito das fontes de P sobre a digestibilidade ruminal *in situ* e pH ruminal

O delineamento experimental escolhido foi o inteiramente casualizado (HALL et al., 1978) composto por dois tratamentos: fosfato bicálcico (FBC) com 19% de fósforo e fosfato monoamônico (FMA) com 23% de fósforo. Os doze animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos e tiveram acesso à mesma dieta, composta por mistura concentrada (Tabela 1) na quantidade diária de 400 gramas por animal por dia, além de feno de coast-cross (*Cynodon dactylon*) *ad libitum*, consumido na quantidade média de 800 g/animal/dia. As rações foram fornecidas diariamente em duas partes iguais, oferecidas às 8 horas e às 16 horas. As dietas diferiram quanto a fonte de fósforo (FMA ou FBC) e a concentração de uréia pois, foram incorporados 6 g de uréia por animal/dia ao tratamento FBC e 2 g por animal/dia ao tratamento FMA. Desta maneira, evitou-se possível interferência das fontes sobre os resultados, já que o fosfato monoamônico, devido à sua composição, contribuía com o equivalente a 4 g de uréia por animal por dia. A suplementação de fósforo obedeceu às exigências de animais com peso médio de 40 kg e necessidade de ingestão diária de 3,7 g de fósforo

O período experimental compreendeu 25 dias, dos quais os primeiros 20 foram destinados à adaptação dos animais às dietas. Entre o 20º e 25º dia foi feita avaliação da digestibilidade *in situ* da MS e FDN, medidas através da técnica de sacos de náilon (MEHREZ & ORSKOV, 1977). Um dia antes da preparação das amostras, os sacos de náilon medindo 10 x 20 cm, com porosidade de 50 µm, foram colocados em estufa a 55°C, a fim de retirar umidade, e pesados em balança analítica de precisão. Antes do enchimento dos sacos, o feno foi moído em moinho com peneira de 2 mm e

aproximadamente 5 g desse feno *in natura* foram colocados em cada saco de náilon, que foi novamente pesado.

Os sacos foram incubados no rúmen durante 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. O desaparecimento no tempo zero foi tomado mergulhando-os em recipiente contendo água a temperatura de 39°C durante 10 minutos. A ordem de incubação ocorreu de maneira que os sacos fossem colocados em tempos diferentes e retirados em conjunto, no mesmo horário. Após o período de incubação, os sacos eram imediatamente lavados em água corrente até que o líquido de lavagem fluísse incolor, sendo então colocados em estufa a 65°C por 72 horas para serem pesados e submetidos a análises bromatológicas.

Para estimativa dos parâmetros de degradação foi utilizado o modelo proposto por Orskov e McDonald (1979): $p = a + b (1 - e^{-ct})$, em que “p” é a degradação obtida em cada tempo; “a” é a fração solúvel; “b” é a fração potencialmente degradável da fração insolúvel que seria degradada a uma taxa “c”; “c” é a taxa de degradação da fração “b” e “t” é o tempo de incubação em horas.

Os parâmetros “a”, “b” e “c” da equação exponencial foram utilizados para calcular a degradabilidade potencial ($D_p = a + b$), representada pela quantidade de alimento que pode se solubilizar ou degradar dentro do rúmen se o tempo não for um fator limitante. A degradabilidade ruminal efetiva (D_e), que representa a quantidade de alimento realmente degradado, é definida pelo tempo no qual o alimento está realmente no rúmen. Foi calculada segundo o modelo matemático proposto por Orskov e McDonald (1979): $D_e = a + [(b \times c) / (c + k)]$, em que k é a taxa de passagem de sólidos pelo rúmen. No presente estudo, utilizou-se taxa de passagem de MS de 2,0; 5,0 e 8,0 %/h.

Determinações de valores de pH foram executadas colhendo-se amostras de aproximadamente 100 mL de líquido ruminal, via cânula, nos tempos 0, 2, 4 e 6 horas após o fornecimento da primeira alimentação do dia. O tempo zero correspondeu a amostras coletadas imediatamente antes da 1ª refeição. Em seguida às coletas, um potenciômetro portátil foi empregado para as leituras desta variável.

Essas mesmas amostras serviram para determinar as concentrações de P no líquido ruminal, separando-se aleatoriamente amostras de líquido ruminal de 4 animais de cada grupo, às 2, 4 e 6 horas após a alimentação. O processo analítico empregado foi o mesmo utilizado na primeira etapa deste trabalho, para determinação da concentração de P no líquido ruminal.

Os dados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1998), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). Os dados que não atenderam a esta premissa foram submetidos à transformação logarítmica [$\text{Log}(x + 1)$] ou pela raiz quadrada [$\text{RQ}(X = \frac{1}{2})$]. Para os dados de degradabilidade, utilizou-se o procedimento General Linear Model (PROC GLM). Os dados referentes aos valores de pH e concentrações de P no líquido ruminal foram analisados conforme o descrito, porém adicionados do fator medidas repetidas no tempo, referentes aos diferentes momentos de amostragem. Tal análise foi realizada utilizando-se os procedimentos mistos (PROC MIXED do SAS), sendo estudado neste modelo o efeito de fonte, de tempo e de interação entre tempo x fonte. Adotou-se o nível de significância de 5% para todos os parâmetros analisados.

Tabela 1 - Ingredientes e composição bromatológica das misturas concentradas e das dietas totais, com base na matéria seca

| Mistura Concentrada | | |
|----------------------------|--|--|
| Ingredientes | Tratamento A (%) | Tratamento B (%) |
| FMA | 3,70 | 0 |
| FBC | 0 | 5,10 |
| Farelo de soja | 5,00 | 5,00 |
| Feno Coast-cross picado | 8,00 | 8,00 |
| Milho triturado | 40,00 | 40,00 |
| Polpa cítrica | 43,30 | 41,90 |
| Total | 100 | 100 |
| Composição (%) | | |
| P (%) | 1,066 | 1,149 |
| MS (%) | 81,00 | 80,02 |
| PB (%) | 20,87 | 9,52 |
| Dieta Total | | |
| Ingredientes | Tratamento A (g/animal/dia) | Tratamento B (g/animal/dia) |
| Ração | 400 g | 400 g |
| Feno de coast-cross | 800 g | 800 g |
| Uréia | 2 g | 6 g |
| Total | 122 g | 126 g |
| Composição (%) | | |
| P (%) | 0,36 | 0,38 |
| MS (%) | 31,50 | 32,00 |
| PB (%) | 14,30 | 14,34 |

MS: Matéria Seca; PB: Proteína Bruta; P: fósforo, FMA: Fosfato Monomônico; FBC = Fosfato Bicálcico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças nas solubilidades das fontes de fósforo FBC e FMA já indicadas na literatura (ROSA et al., 1986; VITTI et al., 1992; SILVA FILHO et al., 2000) conduziram à expectativa de um melhor aproveitamento do mineral pelas bactérias do rúmen e, portanto, de um possível reflexo na eficiência dessas bactérias sobre a digestibilidade

de alimentos no interior do órgão. A tabela 2 do presente trabalho apresenta resultados de solubilidade do P contido nas fontes FMA e FBC quando submetido a três diluentes: líquido ruminal proveniente de animais consumindo dieta composta por 50% de volumoso e 50% de concentrados, consumindo apenas volumoso, ou ácido cítrico a 2%, sendo este último escolhido por ser considerado um bom solvente para a situação em pauta (GUÉGUEN, 1970).

Tabela 2 - Solubilidade do P (em %), presente no FBC e FBA após diluição em três diluentes distintos

| Diluyente | Tratamentos | | CV | Prob. |
|------------------|---------------------|--------------------|-------|--------|
| | FMA | FBC | | |
| Volumoso+conc. | 72,6 ^{Aa} | 44,41 ^B | 26,62 | 0,0001 |
| Volumoso | 70,18 ^{Aa} | 40,73 ^B | 29,34 | 0,0001 |
| Ácido cítrico 2% | 46,15 ^b | 43,53 | 8,10 | 0,2794 |
| Média | 62,99 | 42,89 | ----- | ----- |
| CV | 20,35 | 7,77 | ----- | ----- |
| Prob. | 0,0001 | 0,2865 | ----- | ----- |

CV: coeficiente de variação (%); Prob.: Probabilidade; FMA: Fosfato Monoamônico; FBC: Fosfato Bicálcico.

Efeito de fonte: 0,0001; Efeito de diluyente: 0,0001; Efeito de fonte x diluyente: 0,0001

^{a,b} Colunas com letras minúsculas sobrescritas diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

^{A,B} Linhas com letras maiúsculas sobrescritas diferente diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Observa-se, assim, efeito de interação entre fonte de P e diluyente. Ao analisar o efeito de fonte dentro dos diluentes, o FMA apresentou maior solubilidade quando se utilizou líquido ruminal como diluyente, fosse o animal alimentado com volumoso e concentrado ou apenas volumoso, embora essa diferença entre fontes não fosse observada quando o diluyente utilizado foi o ácido cítrico a 2%. Da mesma forma, a solubilidade do P proveniente da fonte FMA foi maior para os diluentes compostos por líquido ruminal de animais alimentados com volumoso e concentrado ou alimentados

apenas com volumoso, em relação ao diluente ácido cítrico a 2%. Já para o FBC, não observou-se qualquer efeito de diluente em relação a solubilidade do P.

Os resultados em líquido ruminal confirmam aqueles encontrados por Rosa et al. (1986), Rosatagno et al. (1986) e Guerreiro (2004), que avaliaram a solubilidade *in vitro* de diferentes fontes comerciais utilizando líquido ruminal como diluente, e concluíram ser a solubilidade ruminal do FMA superior a do FBC.

Taxas de solubilidade do P contido na fonte FBC, obtidas por Guerreiro (2004), após diluição em líquido ruminal, ficaram entre 75,38% a 79,48%, valores semelhantes aos obtidos por Rosa et al. (1986) e Rosatagno et al. (1986) de 79,6% e 78,79%, respectivamente, neste mesmo diluente. Estes dados são superiores aos do presente trabalho, porém inferiores aos encontrados por Day et al. (1973), Sullivan et al. (1992) e Potter (1988) de 99,5%, 95,5% e 98,6%, assim como os indicados por Hall e Lee Jr. (1978) entre 94,74% e 99,24% para solubilidades do FBC após 20 horas de incubação em líquido ruminal. A solubilidade do mineral proveniente do FBC obtida neste trabalho, inferior às supracitadas, é condizente com alguns dos números obtidos por Moreira et al. (1988) que variaram entre 22,7% a 59,3% de solubilidade em líquido ruminal, semelhantes aos obtidos por Witt & Owens (1983) e Freitas et al. (1989) de 29,7% e 42,7% respectivamente. Como pode ser observado, valores de solubilidade variam bastante entre autores devido, provavelmente, à falta de homogeneidade entre técnicas empregadas durante as análises.

No caso do FMA, Guerreiro (2004) encontrou 85,86% e 100% de solubilidade quando diluído em líquido ruminal e ácido cítrico respectivamente, valores próximos aos observados por Nicodemo e Barrocas (1995) de 98% e 100% de solubilidade nestes mesmos extratores. Rosa et al. (1986), ao encontrarem maior solubilidade para o FMA

em relação ao FBC, justificou ser essa diferença relacionada à ausência de cálcio em sua constituição.

Na presente situação, quando comparada a solubilidade do FMA no ácido cítrico a 2%, em relação aos diluentes biológicos, a diferença foi significativa ($P = 0,0001$), mostrando-se pouco solúvel no ácido (46,15%). Este achado discorda dos resultados encontrados por vários autores, como Langwinski (2001), Guéguen (1970) e Duarte et al. (2003), que relataram taxas de solubilidade mais elevadas tanto para fonte FMA como FBC, quando dissolvidas em ácido cítrico a 2%.

Os resultados de solubilidade obtidos neste trabalho tornam aparente o efeito da fonte do mineral empregada, já que o FMA apresentou maior solubilidade em relação ao FBC, independentemente do diluente utilizado. Esses resultados conduzem à expectativa de um possível melhor desempenho de bactérias ruminais em relação à digestibilidade de alimentos volumosos, quando em meio mais rico no mineral, dada a diferença de solubilidade entre as fontes.

Segundo Barcellos (1998), a exigência das bactérias celulolíticas por fósforo pode ser tão elevada quanto as exigências do animal hospedeiro. Essa exigência foi comprovada por alguns autores ao demonstrarem aumento da eficiência digestiva da celulose, quando adicionaram fósforo a suspensões de microorganismos coletados a partir do líquido ruminal de animais com acesso a dieta deficiente em P (BURROUGHS et al., 1951; BONILLA, 1976; DURAND et al., 1983). Em concordância com o exposto, Milton e Ternouth (1985) observaram redução de 5% do coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro em carneiros que apresentavam baixa concentração de P no conteúdo ruminal. Adicionalmente, Anderson et al. (1956) e Hall et al. (1961)

concluíram ser o fósforo de grande importância para os processos de digestão da celulose no interior do rúmen.

No entanto, Agarwala e Nath (1980) não encontraram diferenças significativas na digestibilidade de nutrientes após suplementarem bovinos com níveis crescentes de fósforo na dieta. Franzolin (1996), em revisão de literatura sobre o assunto, observou que existem poucas evidências para garantir que o crescimento microbiano no rúmen seja limitado pela suplementação de fósforo, quando a mesma encontra-se adequada aos níveis mínimos exigidos. Este autor, porém, ressalva que a presença do fósforo em materiais fibrosos tem promovido melhora na digestão da celulose.

A Tabela 3 contém os dados obtidos nas provas de digestibilidade *in situ*, ao avaliar a degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro do feno de coast-cross (*Cynodon dactylum*).

Tabela 3- Degradabilidade *in situ* da matéria seca e da fibra em detergente neutro do feno de coast-cross (*Cynodon dactylum*)

| Degradabilidade da MS | | | | |
|------------------------------|------------|--------|-------|--------|
| Variável | Tratamento | | | Prob. |
| | FBC | FMA | CV | |
| Fração a | 3,75 | 4,13 | 40,15 | 0,6732 |
| Fração b | 55,11 | 55,84 | 6,40 | 0,7422 |
| Taxa c | 0,0567 | 0,0696 | 45,49 | 0,4632 |
| De 2% | 42,91 | 46,13 | 9,65 | 0,2076 |
| De 5% | 31,58 | 35,23 | 15,28 | 0,2318 |
| De 8% | 25,49 | 28,96 | 17,90 | 0,2334 |
| DP | 58,87 | 59,97 | 6,11 | 0,6237 |

| Degradabilidade da FDN | | | | |
|-------------------------------|------------|--------|-------|--------|
| Variável | Tratamento | | | Prob. |
| | FBC | FMA | CV | |
| Fração a | 2,09 | 2,69 | 32,46 | 0,2345 |
| Fração b | 56,29 | 59,22 | 7,38 | 0,2792 |
| Taxa c | 0,0432 | 0,0423 | 47,43 | 0,9482 |
| De 2% | 38,79 | 41,54 | 11,86 | 0,3920 |
| De 5% | 26,82 | 29,39 | 19,88 | 0,4996 |
| De 8% | 20,85 | 23,17 | 23,00 | 0,5031 |
| DP | 58,37 | 61,17 | 7,26 | 0,3354 |

a, b e c: referem-se aos parâmetros de Orskov & McDonald (1979); De: Degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,02, 0,05 e 0,08 por hora; DP: degradabilidade potencial; CV: coeficiente de variação; Prob.: Probabilidade; FDN: Fibra em detergente neutro; MS: Matéria Seca; FMA: Fosfato Monoamônico; FBC: Fosfato Bicálcico.

Como observado na Tabela 3, os parâmetros “a”, “b” e “c” não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. A degradabilidade efetiva (De) foi estimada considerando as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/hora. A mensuração da degradabilidade no rúmen, sem considerar a taxa de passagem, pode superestimar a extensão da degradação, já que as partículas dos alimentos estão sujeitas à passagem para o compartimento seguinte, antes de serem completamente degradadas. No entanto, não se observou diferença estatística significativa para os valores de De, bem como os valores de Dp entre as fontes de fósforo, mesmo sendo a solubilidade do FMA em líquido ruminal reconhecidamente superior ao FBC. Talvez essa ocorrência possa

ser suportada pelas colocações de Nel et al. (1964) e Durand et al. (1980), de serem os microorganismos do rúmen menos sensíveis que o hospedeiro aos diferentes níveis de solubilidade apresentados pela fonte do mineral.

Dados de experimentos *in vitro* sugerem que concentrações próximas a 100 mg/L de fósforo sejam as mais adequadas para síntese de bactérias e de suas atividades celulolíticas (DURAND & KAWASHIMA, 1980). No entanto, Chicco et al. (1965) notaram aumento da digestão da celulose com 60 mg/L de P ou mais disponível no líquido ruminal, enquanto que Anderson et al. (1956) obtiveram a digestão máxima da celulose quando os valores de fósforo no líquido ruminal ficaram entre 20 a 80 mg/L.

A concentração de P presente no líquido ruminal após a alimentação pode ser observada na tabela 4.

Tabela 4 - Concentrações de fósforo no líquido ruminal (mg/L) após os tratamentos

| Tempos | Tratamento | | CV | Prob. |
|---------|------------|--------|-------|--------|
| | FBC | FMA | | |
| 2 horas | 86,86 | 100,64 | 11,16 | ----- |
| 4 horas | 94,19 | 103,63 | 12,83 | ----- |
| 6 horas | 84,80 | 89,49 | 6,17 | ----- |
| Média | 88,62 | 97,92 | 11,51 | 0,1412 |

CV: Coeficiente de variação (%); Prob.: Probabilidade; FMA: Fosfato Monoamônico; FBC: Fosfato Bicálcico.

Efeito de tratamento: 0,1412; Efeito de tempo: 0,0215; Efeito de interação tempo x tratamento: 0,4723.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto à concentração de fósforo presente no líquido ruminal, bem como não observou-se efeito de interação entre tempo e tratamento. No entanto, o efeito do tempo, como já esperado, foi significativo, observando-se a máxima concentração de P 4 horas após a alimentação.

A concentração média de P presente no conteúdo ruminal dos animais, conforme observado na tabela 4, foi de 97,9 mg/L para os animais alimentados com FMA e de 88,6 mg/L para o grupo alimentado com FBC, permanecendo dentro do considerado pelos autores citados como ideal para máxima eficiência da digestão pelas bactérias do rúmen. Essas concentrações talvez possam explicar os resultados semelhantes de degradabilidade ruminal do feno de coast-cross entre os tratamentos, já que Anderson et al. (1956) e Chicco et al. (1965) não encontraram diferenças significativas na digestibilidade da celulose, após adição de níveis superiores a 60 ou 80 mg/L de fósforo no líquido ruminal.

Esses resultados concordam com os observados por Hall et al. (1961), ao avaliarem a disponibilidade do P de diferentes fontes orgânicas e inorgânicas *in vitro*, utilizando suspensão de bactérias de líquido ruminal de bovinos adultos alimentados a pasto. Esses autores submeteram a suspensão de bactérias a níveis crescentes de fósforo (0, 20, 40, 60, 70, 80, 90, e 100 µg de fósforo por mL) e encontraram diferença significativa ($P < 0,05$) na digestão da celulose, medida pela degradação da mesma nos tubos de fermentação. Resultados significativos foram observados após adição de 20 µg de P no meio, independente da fonte. Entretanto, quando adicionadas concentrações do mineral superiores a 20 µg/mL de P no meio basal, não foram observados aumentos significativos sobre a atividade microbiana quando comparado aos resultados obtidos após a adição de 20 µg/mL de P.

Resultados observados por Anderson et al. (1956) e Hall et al. (1961) mostraram que a maior resposta obtida pelas bactérias, demonstrada através dos efeitos da suplementação de fósforo quanto à digestibilidade da celulose, ocorreu quando os animais apresentavam deficiência do mineral no meio. No entanto, efeitos

insignificantes foram observados após adição de concentrações distintas de P no meio já suplementado, permitindo concluir que, ao atingir o nível adequado de fósforo para atividade bacteriana, o excesso é utilizado por outras vias ou excretado pelo organismo.

Raun et al. (1956) e Anderson et al. (1956) consideram importante a diferença de disponibilidade das distintas fontes do mineral. Porém, concluem que tanto o fósforo fornecido por ortofosfatos quanto os fitatos induzem a uma melhora significativa da atividade microbiana ruminal, independentemente da fonte utilizada, desde que o teor de fósforo disponível no interior do rúmen seja adequado à atividade microbiana.

Gillis et al. (1962) também consideram que existem discordâncias entre os valores de solubilidade e biodisponibilidade de uma fonte, devido aos processos metabólicos que envolvem o animal, como, por exemplo, a reciclagem de P. A colocação de Gillis et al. (1962) pode ser sustentada pelos resultados obtidos no presente trabalho, já que não foi observada concordância entre as solubilidades das fontes FMA e FBC nos estudos *in vitro* e efeito das mesmas sobre a digestibilidade ruminal no ensaio *in situ*.

Witt & Owens (1983), alimentando bovinos adultos com dietas contendo alto e baixo teor de P (0,118% e 0,227% de P, respectivamente), não encontraram diferenças nas digestibilidades da matéria orgânica, matéria seca ou fibra em detergente neutro, concluindo que a digestão dos alimentos no rúmen não foi afetada pela suplementação de diferentes proporções de fósforo. Da mesma forma, Nicodemo et al. (2000), ao suplementarem novilhos com diferentes níveis de fósforo e um grupo recebendo 50% da quantidade do mineral recomendada pelo NRC (1984), não encontraram diferenças na digestibilidade da matéria seca ou matéria orgânica da dieta, colocando assim em

dúvida a probabilidade de que diferentes concentrações do mineral no conteúdo do rúmen possam resultar em melhor eficiência bacteriana na digestão dos alimentos.

É interessante notar que Coneglian et al. (2006), ao trabalharem com bovinos adultos suplementados com 8 g de P por animal/dia, conforme recomendação do NRC (1996), através das fontes FBC e fosfato de rocha, qual seja uma fonte de fósforo reconhecidamente de menor disponibilidade do mineral, registraram diferença de absorção de fósforo a favor do FBC. No entanto, não observaram diferenças para digestibilidade ruminal da matéria orgânica ou matéria seca.

Barreto et al. (2006), avaliando os efeitos do FBC e FMA sobre os parâmetros do meio ruminal de bovinos adultos fistulados e fornecendo os mesmos 8 g de P/animal/dia, de acordo com a indicação do NRC (1996), também não encontraram diferenças significativas ($P > 0,05$) quanto à síntese de proteína microbiana, digestibilidade da matéria seca, da matéria orgânica ou da fibra em detergente neutro, concordando com os resultados obtidos neste trabalho. Talvez a colocação de Komisarczuk et al. (1987), de que a síntese microbiana somente é afetada quando a suplementação de fósforo for insuficiente, explique a ocorrência. Assim, segundo Agarwala et al. (1980), resultados significativos entre tratamentos em relação a digestibilidade ruminal são observados somente quando a ingestão do mineral não atinge a exigência mínima para atividade bacteriana ruminal e, ainda, quando os microorganismos ficam expostos a essa baixa concentração de P no meio por um período prolongado, o que não ocorreu neste experimento, uma vez que as concentrações de fósforo das dietas foram superiores às exigências mínimas de manutenção de 3,7 g recomendada pelo NRC à categoria animal empregada. Na presente situação, a ingestão diária de P pelos animais foi de 4,32 g ao tratamento FMA e 4,58 g

ao tratamento FBC, quantidades superiores àquelas descritas pelo NRC, quando consideradas as ingestões de P nas dietas totais.

Fica a questão se caso tivesse sido utilizada dieta basal mais pobre em fósforo para ambos os tratamentos e por um período prolongado, os resultados não seriam diferentes, no presente experimento, para a digestibilidade ruminal da MS e do FDN, tendo em vista a maior solubilidade de P no líquido ruminal quando empregado FMA, comparativamente ao FBC.

Não houve diferença significativa sobre os valores de pH ruminal entre os tratamentos, tão pouca interação do efeito de tempo x tratamento como observado na tabela 5.

Tabela 5 - Valores de pH do líquido ruminal (mg/L)

| Tempos | Tratamento | | CV | Prob. |
|---------|------------|------|------|--------|
| | FBC | FMA | | |
| 0 hora | 6,50 | 6,47 | 6,42 | ----- |
| 2 horas | 6,22 | 6,01 | 5,42 | ----- |
| 4 horas | 5,75 | 5,79 | 4,09 | ----- |
| 6 horas | 5,71 | 6,00 | 5,88 | ----- |
| Média | 6,04 | 6,07 | 7,15 | 0,8647 |

CV: Coeficiente de variação; Prob.: Probabilidade; FMA: Fosfato Monoamônico; FBC: Fosfato Bicálcico.

Efeito de tratamento: 0,8647; Efeito de tempo: 0,0001; Efeito de interação tempo x tratamento: 0,1530.

Não foi observado efeito de interação de tempo x tratamento. No entanto, o efeito de tempo foi significativo devido à queda do pH ao longo do período de amostragem, como apresentado na figura 1. Essa queda é resultante do intenso processo de fermentação e ao conseqüente aumento das concentrações de ácidos graxos voláteis (ORSKOV, 1988).

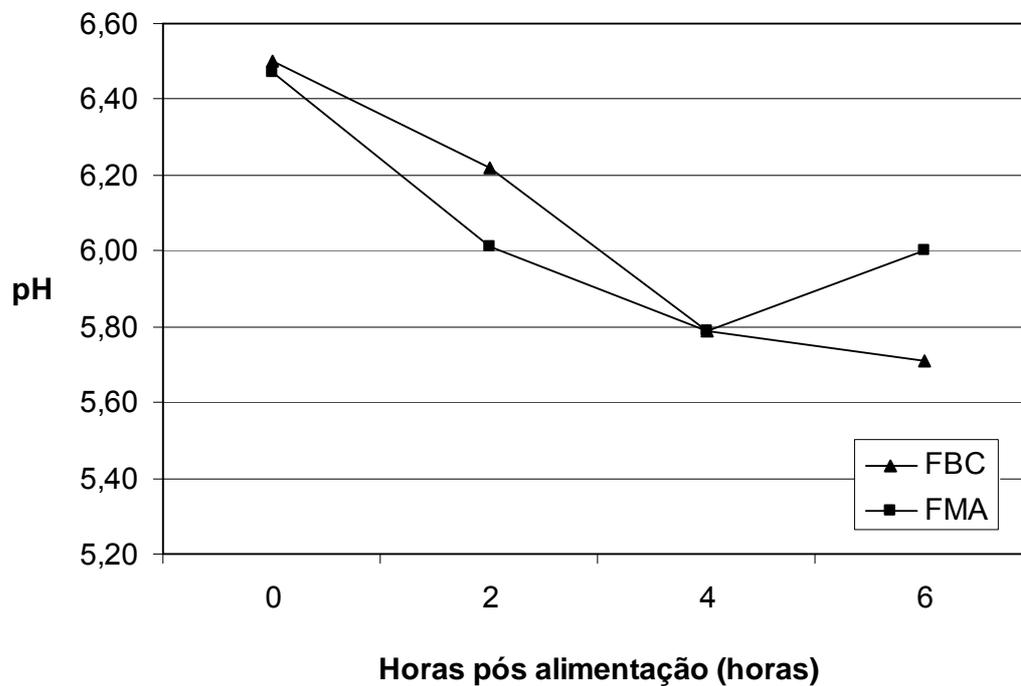


Figura 1 - Valores de pH durante um período de 6 horas

Barreto (2006), avaliando a ação de diferentes fontes de fósforo no líquido ruminal, encontrou variação no pH de 6,12 a 6,86, sendo que o pH mais baixo foi obtido quando os animais foram suplementados com fosfato monoamônico. Hoover e Stokes (1991) consideram a redução do pH ruminal de 6,5 para 5,5 prejudicial à síntese microbiana, enquanto que Hoover (1986) e Orskov (1988) consideram 6,2 como limite mínimo de pH para não serem prejudicados os microorganismos celulolíticos. No presente experimento, a queda acentuada no pH ruminal às 4 e 6 horas após a alimentação, quando a mesma permaneceu abaixo do limite mínimo recomendado, pode ter influenciado os resultados de digestibilidade *in situ* do feno, uma vez que as bactérias celulolíticas são bastante sensíveis a essa variação.

5 CONCLUSÃO

Nas condições do presente experimento, com ingestão de P em quantidades superiores as exigências, pode-se concluir que o fosfato monoamônico, apesar de sua maior solubilidade em líquido ruminal comparativamente ao fosfato bicálcico, não resultou em aumento da digestibilidade da fração fibrosa do alimento volume, indicando não melhorar a atividade celulolítica das bactérias ruminais.

REFERÊNCIAS

ABDLAA, A. L.; VITTI, D. M. S. S.; SILVA FILHO, J. C. Tratamento do bagaço de cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. In: REUNIÃO DA SBZ, 23., 1986, Campo Grande. **Anais...**Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1986. p. 153.

AGARWALA, O. N.; NATH, K. Note on the effect of level and source supplements on feed intake, digestion of nutrients and energy utilization in buffalo bulls. **Indian Journal Animal Science**, v. 50, p. 993-995, 1980.

ALCADE, C. R.; RAIMUNDO, P. C.; GARCIA, J.; SAKAGUTI, E. S.; SIQUEIRA, G. B.; PRADO, I. N.; RIGOLON, L. P.; DIAS, F. J. Comportamento das concentrações de cálcio e fósforo no trato digestivo. In: REUNIÃO DA SBZ, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...**Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. CD-ROM.

ALCARDE, J. C.; PONCHIO, C. O. A ação solubilizante das soluções de citrato de amônio e de cálcio cítrico sobre fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 3, p. 173-178, 1979.

AMMERMAN, C. B.; DOUGLAS, C. R.; DAVIS, G. K.; HARMS, R. H. Comparison of phosphorus availability assay techniques for chicks. **Poultry Science**, v. 40, p. 548-553, 1961.

AMMERMAN, C. B.; CHICCO, C. F.; MASRI, N. N.; MOORE, J. E.; SHIRLEY, R. L. Availability of inorganic phosphates to calves and to cellulolytic rumen microorganism in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 24, p. 872, 1965.

ANDERSON, R.; CHENG, R.; BURROUGHS, W. **Journal of Animal Science**, v. 15, p. 489-495, 1956.

ANDERSON, R.; CHENG, E.; BURROUGHS, W. A laboratory technique for measuring phosphorus availability of feed supplements fed to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 15, p. 489-495, 1985.

BARCELLOS, J. O. J. **O papel do fósforo na nutrição de bovinos de corte**. In: DIAZ GONZALEZ, F.H.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J. O. J. (Ed.). Nutrição mineral em ruminantes. 2ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998. p. 23-72.

BARRETO, S. L. T.; ARAÚJO, M. S.; UMIGI, R. T. et al. Exigência nutricional de lisina para codornas européias machos de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 750-753, 2006.

BASS, J. M.; FISHWICK, G.; HEMINGWAY, R. G.; PARKINS, J. J.; RITCHIES, N. S. **Journal of Agricultural Science**, v. 97, p. 365-372, 1981.

BELLAVER, C.; GOMES, P. C.; FIALHO, E. T. et al. Absorção e disponibilidade de fósforo de fosfatos naturais em rações para suínos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, p.1513-515, 1984.

BEN-GHEDALIA, D.; ZAQARI H.; ZOMWELL, S. et al. Solubility and net exchange of calcium, magnesium and phosphorus in digest flowing along the gut of the sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 33, p. 87, 1985.

BOIN, C. Exigências de minerais pelas categorias de rebanho bovino e funções desses nutrientes. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 1985, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1985, p. 15-46.

BONILLA, S. E. **Phosphorus in the nutrition of sheep: composition of body fluids, microbial fermentation and feed intake**. 1976. PhD Thesis, University of California, Davis.

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

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

BRAVO, D., MESCHY, F. Towards revised dietary phosphorus recommendation for ruminants. **Productions Animales**, v. 16, p. 19-26, 2003.

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

BURROUGHS, W.; LATONA, A.; DEPAUL, P.; GELAUGH, P.; BETHKE, R. M. **Journal of Animal Science**, v. 10, p. 693-705, 1951.

CARDOSO, J. L. A. Produção, processamento e perspectiva do fosfato na alimentação animal. In: SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6., 1991, Campinas. **Anais...**Campinas:CBNA, 1991, v. 6, p. 35-52.

CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A.; MCDOWELL, L. R. **Nutrição de Bovinos a Pasto**. 1ª edição, Belo Horizonte: PapelForm, 2003. p. 428.

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

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

CHICCO, C. F.; AMMERMAN C. B.; GAY, L. C. et al. Utilization of inorganic ortho-, meta-, and pyrophosphates by lambs and by cellulolytic rumen micro-organisms in vitro. **Journal Animal Science**, v. 24, p. 355-363, 1965.

CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H., CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2304-2323, 1992.

CONEGLIAN, S. M. **Diferentes proporções de fosfato bicálcico e fosfato de rocha em dieta de bovinos**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Nutrição e Produção Animal, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2006.

CONRAD, J. H.; McDOWELL, L. R.; ELLIS, G. L. et al. **Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais**. Campo Grande: CNPGC/EMBRAPA. 1985. p.91.

COSGROVE, D. J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. **Review in Pure & Applied Chemistry**, v. 16, p. 209-224, 1966.

DAY, E. J.; McNAUGHTON, J.; DILWORTH, B. C. Chemical versus chick bioassay for phosphorus availability of feed grade sources. **Poultry Science**, v. 52, p. 393-395, 1973.

DEHORITY, B. A. Methodology for measuring microbial growth in the rumen. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Departamento de Zootecnia, 1995. v. 6, p.121-138.

DUARTE, H. C.; GRAÇA, D. S.; BORGES, F. M. O.; DI PAULA, O. J. Comparação de métodos in vitro para determinação da biodisponibilidade do fósforo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 5, 2003. p. 436-441.

DURAND, M.; KAWASHIMA, R. Influence of minerals in rumen microbial digestion. In: RUCKSBUCH, Y.; THIVEND, P. (Edt) **Digestive physiology and metabolism in ruminants**. Lancaster:MTP Press, 1980. p. 375-408.

DURAND, M., BOXEBELD, A., DUMAY, C.; BEAUMATIN, P. H. **Protein Metabolism and Nutrition**, v. 2, p. 263-266, 1983.

EKELUND, A.; SPORNDLY, R.; VALK, H. et al. Influence of feeding various phosphorus source on apparent digestibility of phosphorus in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 109, p. 95-104, 2003.

FERNANDES, J. I. M.; LIMA, F. R.; HAYS, V. W.; et al. Available phosphorus in agriculture grade phosphorus for broiler. **Poultry Science**, v. 75, p. 43, 1996.

FIELD, A. C. Some problems in determining dietary allowances of macroelements for ruminants. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 4., 1981, St. Petersburg. **Proceedings...** Mundelein: IMCC, 1981. p. 1-11.

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

FIELD, A. C.; WOOLIAMs, J. A.; DINGWALL, R. A. The effect of dietary intake of calcium and dry matter on the absorption and excretion of calcium and phosphorus by growing lambs. **Journal of Agricultural Science**, v. 105, p. 237-243, 1985.

FRANZOLIN, R. Características fisiológicas do sistema digestivo e da digestão microbiana em ruminantes. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM NUTRIÇÃO MINERAL DE BOVINOS, 1996, Pirassununga. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP, 1996. p. 3-10. Apostila.

FREITAS, E.A.G. de; DUFLOTH, J.H.; GOMES, L.P.O. Solubilidade *in vitro* ruminal e abomasal de fontes de cálcio e fósforo para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, v. 26, 1989. p.117.

FRITZ, J. G.; ROBERTS, T.; BOEHNE, J. W.; HOVE, E. L. Factors affecting the chicks requirements of phosphorus. **Poultry Science**, v. 48, p. 307-320, 1968.

FURTADO, C. E. **Avaliação da disponibilidade biológica e da perda endógena fecal de fósforo para eqüinos em crescimento. Efeitos de fontes e níveis de fósforo.** 1996. 146 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

GARTNER, J. H.; MURPHY, G. M.; HOEY, W. A. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency, on feed intake and growth of beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 98, p. 23-29, 1982.

GARZILLO, J. M. F. **Parâmetros biológicos usados na avaliação da biodisponibilidade do fósforo para frangos de corte em fosfatos comerciais e em fosfatos de rocha.** 1996. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GILL, C. Phosphorus be careful white cheap P. **Feed International**, September, 1997, p.19-26.

GILLIS, M. B.; EDWARDS JR., H. M.; YONG, R. J. Studies on the availability of calcium orthophosphates to chicken and turkeys. **Journal of Nutrition**, v. 78, p. 155-161, 1962.

GIÓVINE, N. Estudo clínico da deficiência de fósforo nos bovinos de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.1, p. 17-23, 1943.

GRIFFITH, M.; SCHEXNAILDER, R. The relation of dietary particle size to phosphorus availability in purified diets. **Poultry Science**, v. 49, p. 1271-1274, 1970.

GUÉGUEN, L. Les critères de qualité nutritionnelle des compléments minéraux en alimentation animale. **Bulletin Society Scientist Aliments**, v. 58, p. 115-129, 1970.

GUÉGUEN, L. **Determination of availability**. Feed mix, p. 12-15, special issue, 1995.

GUERREIRO, J. S. D. **Solubilidade cítrica, ruminal e abomasal do fósforo de fosfatos comerciais**. 2004. 54 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 2004.

HALL, O. G.; BAXTER, H. D.; HOBBS, C. S. Effect of phosphorus in different chemical forms on vitro cellulose digestion by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, v. 20, p. 817-819, 1961.

HALL, G. A. B.; LEE JR. Efeito da fonte de fósforo e tempo de incubação na solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2%, e em fluído de rúmen. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 7, n. 1, p.14-25, 1978.

HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerais e ossos. In: SWENSON, M.J. (Ed). **DUKES/ Fisiologia dos animais domésticos**. 10. ed. Rio de Janeiro. Guanabara, 1988. p.397-427.

HIBBS, J. H.; CONRAD, H. R. The relation of calcium and phosphorus intake and digestion ant the effects of vitamin D feeding on the utilization of calcium and phosphorus by lacting dairy cows. **Research Bulletin**, Ohio Agricultural Experimental Station, Wooster, p. 1150, 1993.

HOOVER, W. H., Chemical Factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2755-2766, 1986.

HOOVER, W. H., STOKES, S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3630-3644, 1991.

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

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, p. 346-347. 1966.

HUYGHEBAERT, G.; De GROOTE, G.; KEPPENS, L. The relative biological availability of phosphorus in feed phosphates for broilers. **Annales de Zootechnie**, v. 29, p. 245-263, 1980.

JACKSON, J. A.; LANGER, D. L.; HEMKEN, R. W. Evaluation of contented source of phosphorus fed to dairy calves. **Journal Dairy Science**, v. 71, p. 2187-2192, 1988.

KOMISARCZUK, S.; MERRY, R. J.; McALLAN, A. B. Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique. **British Journal of Nutrition**, v.57, p. 279-290, 1987.

LEHNINGER, A. L. **Princípios da Bioquímica**. São Paulo: Sarvie, 1994. p. 37.

LIMA, I. F. **Disponibilidade de fósforo e de flúor de alguns alimentos e exigência nutricional de fósforo para frangos de corte**. 1995. 121 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 1995.

LIMA, F. R.; FERNANDES, J. I. M; OLIVEIRA, E. Laboratory evaluations of feed-grade an agricultural-grade phosphates. **Poultry Science**, v.78, p.1717-1728, 1999.

LOPES, H. O. S.; PEREIRA, E. A. Fontes alternativas de fosfato na suplementação alimentar de animais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ROCHA FOSFÁTICA, 2., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: IBRAFÓS, 1986. v. 2, p. 435-450.

LOPES, H. O.; PEREIRA, E. A.; SOARES, W. W.; COSTA, M.; SANCHES, R. L. Avaliação dos níveis de metais pesados e do flúor em amostras de fosfato bicálcico e superfosfato triplo para nutrição animal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1996. v. 1, p. 462-464.

LOPES, H. O. S. Avanços recentes na nutrição mineral de bovinos. In: A produção animal na visão dos brasileiros. **Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Piracicaba: FEALQ, p. 927. 2001.

LOPES, H. O. S. **Fontes alternativas de fósforo para redução do custo do sal mineral para bovinos**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2001, 44p. (Documentos, 45).

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

MABE, I. **Biodisponibilidade de fósforo para poedeiras em fosfatos de cálcio puros, fosfatos bicálcicos comerciais e fosfato de rocha.** 1997. 153 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1997.

MACDOWELL, R.L. **Minerals for grazing ruminants in tropical regions.** Academic Press Inc., New York, 1992. 542 p.

MACIEL, M.L.C.; LEBOUTE, E.M. Avaliação de farinhas de osso por métodos indiretos e biológicos. In: ANUÁRIO TÉCNICO DO INSTITUTO DE PESQUISAS ZOOTÉCNICAS “FRANCISCO OSÓRIO”, 5., 1978, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 1978. v. 5, p. 609-658.

MAENZ, D. D.; CLASSEN, H. L. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. **Poultry Science**, v. 77, p. 557-563, 1998.

McGILLIVRAY, J. J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 1., 1978, St. Petesburg Beach. **Proceedings...** St. Petersburg Beach:International Minerals and Chemical Corporation, 1978. p. 73-86.

MEHREZ, A. Z.; ORSKOV, E. R.; McDONALD, I. Rate of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v. 38, p. 437-443, 1977.

MENICUCCI, L. Carência de fósforo e cálcio nos bovinos. **Arquivo da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais**, v.1, p. 9-23, 1943.

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

MOREIRA, V. R.; PRATES, E. R.; LEBOUTE, E. M. Disponibilidade de várias fontes de fósforo para ruminantes avaliada por técnica *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25., 1988, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, v. 25, p. 116.

MUDD, A. J., STRANKS, W. C., ARMSGTRONG, D. G. The influence of dietary concentration of calcium and phosphorus on their retention in the body of the growing pig. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 89-198, 1981.

NEL, J. W.; MOIR, R. J. The effect of ruminal and duodenal application of different levels of calcium and phosphorus to sheep on semi-purified diets. **South African Journal of Animal Science**, v. 4, p. 1-20, 1974.

NELSON, T. S.; WALKER, A. C. The biological evaluation of phosphorus compounds. **Poultry Science**, v. 43, p. 94-98, 1964.

NICODEMO, M. L. F. Diagnóstico de deficiências minerais em bovinos. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE REPRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE. 1., 1999, Goiânia, **Anais...** Goiânia: CBNA, 1990. v. 4, p. 57-80.

NICODEMO, M. L. F.; BARROCAS, G. E. G. Métodos "in vitro" para avaliação de fontes de fósforo destinadas a bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 24, p. 49-60, 1995.

NICODEMO, M. L. F.; SOUZA, J. C.; GOMES, R. F. et al. Fontes de fósforo em misturas minerais para novilhas em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, p. 801-808, 1998.

NICODEMO, M. L. F.; MORAES, S. S.; ROSA, I. V. et al. Avaliação de níveis de fósforo na dieta de novilhos Nelore em crescimento: efeito no desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1191-1195, 2000.

O'DONOVAN, J. P.; PLUMLEE, M. P.; SMITH, W. H; BEESON, W. M. Availability of phosphorus in dicalcium phosphates and defluorinated phosphate for steers. **Journal of Animal Science**, v. 24, p.981-985, 1965.

OSPINA, H.; PRATES, E. R.; BARCELLOS, J. O. J. A suplementação mineral e o desafio de otimizar o ambiente ruminal para digestão da fibra. In: BARCELLOS, J. O. J.; OSPINNA, H.; PRATES, E.R. (Ed.). **Suplementação de bovinos de corte**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p. 37-60.

ORSKOV, E. R. **Protein nutrition in ruminants**. London: Academic Press, 1982. 160 p.

ORSKOV, E. R. **Nutrition proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988. 178 p.

PEELER, H. T. Biological availability of nutrition in feeds: Availability of major mineral ions. **Poultry Science**, v. 35, p. 695 -712, 1972.

PETRI, A.; UM·SCHEN, H.; BREVES, G. Response of lactating goats to low phosphorus intake 2. Nitrogen transfer from the rumen ammonia to rumen microbes and proportion of milk protein derived from microbial amino acids. **Journal of Agricultural Science**, v.111, p. 265-271, 1988.

PIZZOLANTE, C. C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. 2000. 117 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 2000.

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

POTTER, L. M. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and to ash measurements. **Poultry Science**, v. 67, p. 96-102, 1988.

RAUN, A. E.; CHENG E. W.; BURROUGHS, D. Pytate phosphorus hydrolysis and availability to rumen microorganisms. **Agricultural and Food Chemical**, v. 4, p. 869, 1956.

ROSA, L. C. A; SILVA, J. F. C; ANDRADE, A. T. Solubilidade abomasal e ruminal de fontes inorgânicas de fósforo em bovinos e bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 15, p. 364-371, 1986.

ROSTAGNO, H. S.; SILVA, J.F.C.; ANDRADE, A.T. Solubilidade abomasal e ruminal de fontes inorgânicas de fósforo em bovinos e bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 15, p. 364-371, 1986.

RUNHO, R. C.; GOMES, P. C.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; LOPES, P. S.; POZZA, P. C. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 187-196, 2001.

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

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. 7. ed. Cary: SAS Institute, 1998.

SCHNEIDER, K. M.; BOSTON, R. C.; LEAVER, D. D. Quantification of phosphorus excretion in sheep by compartmental analysis. **American Journal Physiology**, v. 252, p. 720-731, 1987.

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

SCOTT, D. F.G; WHITELAW, W; BUCHAN, L.A. The effect of variation in phosphorus intake on salivary phosphorus secretion net intestinal phosphorus absorption and faecal endogenous phosphorus excretion in sheep. **Journal Agricultural Science**, v. 7, p. 271, 1985.

SEVILLA, C. C; TERNOUTH, J.H. Effects of calcium and phosphorus depletion and repletion in lambs. **Australian Society of Animal Production**, v. 14, p. 633, 1982.

SHEVVE, R. N.; BRINK JR, J. A. Phosphorus Industries. **Chemical process industries**. 4. ed. Tokio: McGraw Hill, 1977. cp. 16, p. 244-265.

SIGNORETTI, R. D.; SILVA, J. F. C.; VALDARES FILHO, S. C. Composição corporal e exigências líquidas e dietéticas de microelementos inorgânicos (Ca, P Mg, K e Na) de bezerros da raça Holandesa alimentados com dietas contendo diferentes níveis de volumoso. **Revista Brasileira de Zootécnica**, v. 28, p. 205-213, 1999.

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

SOARES JR, J. H. An overview of calcium and phosphorus in feedstuffs. In: GEORGIA NUTRITION CONFERENCE, **Proceedings...** Athens:University of Georgia, 1990, p. 194-200.

SOUZA, N.H. **Metabolismo ruminal e balanço de minerais em bubalinos com diferentes níveis de ingestão de fósforo**. 2004. 53 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. Pirassununga. 2004.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. **SAS user's guide**: statistics. Cry: SAS Institute, 1998. v.5.

SULLIVAN, T.W.; DOUGLAS, J.H. Phosphorus bioassay: developments in five decades. In:NUTRITION FOR THE NINETIES, 1990, Mundellein. **Proceedings...** Mundellein: Pitman-Moore, 1990. v. 3, p.18-37.

SULLIVAN, T. W.; DOUGLAS, J. H.; GONZALES, N. J.; BOND JR, P. L. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, dilute hydrogen chloride, dilute citric acid, and neutral ammonium citrate. **Poultry Science**, v. 71, p. 2065-2074, 1992.

TERNOUTH, J. H.; SEVILLA, C. L. Dietary calcium and phosphorus repletion in lambs. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 41, p. 413-420, 1990.

THOMPSON, L. U.; YOON, J. H. Starch digestibility as effects by polyphenols and phytic acid. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1228-1229, 1984.

TOKARNIA C. H.; PEIXOTO P. V.; DÖBEREINER J. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 10, p. 1-10, 1990.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, p.127-138, 2000.

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

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford: Cabi, 1999. p. 105-148.

VALADARES FILHO, S. C. Eficiência da síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta em bovinos. Inc:ANAIS DO SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO, 1995. p.355-388.

VELOSO, J. A. F.; FURTADO, M. A. O.; BORGES, F. M. O. Avaliação de fontes de fósforo. I - Biodisponibilidade do fósforo de dez fontes para frango de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 28., 1991, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, v.28, 1991. p.325.

VELOSO, J. A. F.; BORGES, F. M. O.; FURTADO, M. A. F. et al. Fósforo disponível de dez fontes sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, p. 741-753, 1996.

VELOSO, J. A. F.; MEDEIROS S. L. S. Avaliação nutricional do fósforo disponível de quatro fontes de fósforo para suínos em fase de terminação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnica**, v. 51, p. 568-579, 1999.

VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C. Avaliação da disponibilidade biológica do fósforo do fosfato de rocha para ovinos uso de radiofósforo (P32) como marcador. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 113-118, 1991.

VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L.; MEIRELLES, C. F. Absorção real do fósforo de diferentes fontes para ovinos através do uso de radiofósforo (P-32). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 1405-1408, 1992.

YOSHIDA, M.; ISHIKAWA, M.; NAKAJIMA, H et al. Solubility of phosphorus in citric acid solution as index of biological availability. **Japanese Poultry Science**, v. 16, p. 209-292, 1979.

YOUNG, V. R.; LOFGREN, G. P.; LUICK, J. R. The effects of phosphorus depletion, and of calcium and phosphorus intake, on the endogenous excretion of these elements by sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 20, p. 795-805, 1966.

WALDROUP, P. W.; AMMERMAN, C. B.; HARMS, R. H. A. A comparison of phosphorus assay techniques with chicks. **Poultry Science**, v. 44, p.1086-4089, 1965.

WITT, K. E.; OWENS, F. M. Phosphorus ruminal availability and effects on digestion. **Journal of Animal Science**, v. 56, p. 930-937, 1983.