

# MÉTODOS PARA O DIAGNÓSTICO DA DEFICIÊNCIA DE FÓSFORO EM RUMINANTES<sup>1</sup>

DORINHA MIRIAM S.S. VITTI<sup>2</sup>, ADIBE LUIZ ABDALLA<sup>3</sup>,  
JOSÉ CLETO DA SILVA FILHO<sup>4</sup> e EDMILSON JOSÉ AMBROSANO<sup>5</sup>

**RESUMO** - No presente experimento foram comparados níveis de fósforo inorgânico nas fezes, plasma, saliva e líquido do rúmen e a incorporação de <sup>32</sup>P pelos eritrócitos, para diagnóstico da deficiência de fósforo em bovinos. Foram utilizados dez animais, mantidos em dieta semipurificada, que receberam, ou não, suplementação de fósforo. Os resultados mostraram que a deficiência de fósforo deprimiu o nível desse elemento no plasma, rúmen e fezes. Dada a grande variação nos resultados do fósforo na saliva, esse parâmetro mostrou não ser adequado para indicar o "status" desse elemento. A incorporação de <sup>32</sup>P pelos eritrócitos não apresentou diferenças significativas entre os dois grupos.

Termos para indexação: nutrição mineral, fósforo-32, deficiência subclínica.

## METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF PHOSPHORUS DEFICIENCY IN RUMINANTS

**ABSTRACT** - In the present experiment levels of inorganic phosphorus in feces, plasma, saliva and rumen fluid, and <sup>32</sup>P incorporation by erythrocytes were compared as means for phosphorus deficiency diagnosis in cattle. Ten animals receiving a semipurified diet were divided into two groups, receiving or not phosphorus supplementation. In the experiment a variety of methods were used for phosphorus deficiency diagnosis in cattle. The results show that P deficiency depress the level of inorganic phosphorus in plasma, rumen and faeces. The uptake of <sup>32</sup>P by erythrocytes has some value in the detection of such deficiency.

Index terms: mineral nutrition, 32 - phosphorus, subclinical deficiency.

## INTRODUÇÃO

A maioria dos estudos de deficiência de fósforo em campo é relacionada à deficiência clínica, quando os animais já apresentam sintomas como: perda de apetite, pouco crescimento, baixa produtividade, e raquitismo. Frequentemente, esses animais ingerem pedaços de madeira, ou ossos, o que pode causar botulismo, e, conseqüentemente, a morte.

Entretanto, a deficiência marginal é economicamente mais prejudicial, pois, dada a falta de sinais clínicos, nenhum cuidado é tomado, com relação

aos animais, para aumentar o seu potencial de produtividade.

O desenvolvimento de métodos para a detecção e diagnóstico da deficiência subclínica é de grande valor, porque a correção desses distúrbios na fase inicial pode ser feita com dietas mais adequadas.

O nível de fósforo inorgânico no plasma é o parâmetro comumente indicado para o diagnóstico da deficiência desse elemento (Preston & Pfander 1964, Viperman et al. 1969); entretanto, em casos de jejum, ingestão inadequada de energia e proteína, excitação, esse nível tende a aumentar (Moodie 1975, Cohen 1974). De acordo com Dayrell et al. (1973), fatores como temperatura de armazenamento do sangue após coleta, e grau de hemólise, afetam o teor de fósforo inorgânico no soro. Os mesmos autores verificaram, ainda, diferentes valores entre o teor de fósforo no plasma e no soro de bovinos.

Apesar de vários pesquisadores (Cohen 1973, Little 1972) preconizarem que o nível de fósforo no osso possa ser um indicador da deficiência desse elemento, Belonge & Berg (1983) sugerem cautela ao interpretar esse tipo de análise, pois nem

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 14 de outubro de 1987.

Pesquisa financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) e Instituto de Zootecnia (IZ/Nova Odessa).

<sup>2</sup> Bióloga, M.Sc., Universidade de São Paulo (USP), Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Piracicaba, SP.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., USP/CENA.

<sup>4</sup> Químico, USP/CENA.

<sup>5</sup> Eng. - Agr., USP/CENA. Bolsista do CNPq.

sempre, em ovinos, o teor de fósforo no osso corresponde ao fósforo ingerido.

Assim sendo, no presente trabalho, objetivou-se comparar diferentes métodos utilizados para diagnosticar a deficiência de fósforo em bovinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez bezerros com peso médio de 100 kg, e que receberam, individualmente, uma dieta contendo feno de jaraguá com baixo teor em fósforo, e uma mistura semipurificada composta de farinha de mandioca, melação, uréia e minerais (Tabela 1). A análise bromatológica da dieta é mostrada na Tabela 2.

TABELA 1. Dieta fornecida diariamente aos animais do experimento.

|                                     |       |
|-------------------------------------|-------|
| Feno deficiente em P (g)            | 4.000 |
| Melaço (ml)                         | 300   |
| Farinha de mandioca (g)             | 700   |
| Uréia (g)                           | 60    |
| NaCl (g)                            | 35    |
| Ca(OH) <sub>2</sub> (g)             | 35    |
| MgO (g)                             | 6     |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (g) | 7     |
| Micronutrientes* (ml)               | 10    |

\* 1 l solução contendo 60 g ZnSO<sub>4</sub>; 15 g MnSO<sub>4</sub>; 20 g FeSO<sub>4</sub>; 0,02 KI; 3,3 g CuSO<sub>4</sub> e 0,03 CoSO<sub>4</sub>.

TABELA 2. Análise bromatológica do feno, farinha de mandioca e melaço fornecidos aos animais (% da MS).

|                    | Feno  | Farinha de mandioca | Melaço |
|--------------------|-------|---------------------|--------|
| Matéria seca (%)   | 87,62 | 87,62               | 83,87  |
| Proteína bruta (%) | 3,5   | 1,31                | 2,32   |
| Fibra bruta (%)    | 2,77  | 2,66                | 0,35   |
| Ext. etéreo (%)    | 1,85  | 0,24                | 0,91   |
| Cinzas (%)         | 6,42  | 0,58                | 4,59   |
| Fósforo (%)        | 0,01  | 0,01                | 0,06   |

Os animais foram mantidos 15 dias na dieta experimental suplementada com 35 g de fosfato bicálcico, sendo então divididos em dois grupos. O grupo-controle recebeu a suplementação de fósforo por mais nove semanas e no outro grupo essa suplementação foi retirada.

No quinquagésimo quinto dia do experimento reiniciou-se o fornecimento de fosfato bicálcico ao grupo defi-

ciente, para verificar o tempo de restabelecimento dos níveis normais de fósforo nos fluidos e nas fezes.

A pesagem dos animais foi feita a cada 15 dias, e registrou-se o consumo diário.

Coletaram-se, semanalmente, amostras de sangue, saliva e líquido do rúmen e determinou-se o teor de fósforo inorgânico (Fiske & Subbarow 1925). Amostras de fezes foram secadas e digeridas, e o teor de fósforo, determinado por colorimetria. Foram medidos o pH do rúmen e o hematócrito.

Amostras de 10 ml de sangue foram incubadas a 38°C, durante 24 horas, com solução de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> contendo 0,25 µCi de <sup>32</sup>P. As células vermelhas foram lavadas duas vezes com salina 0,85% e depois de secadas e digeridas com ácido sulfúrico, determinou-se a radioatividade incorporada. A percentagem de incorporação de <sup>32</sup>P foi calculada por fórmula estabelecida por Burk Junior et al. (1967).

Os dados foram submetidos à análise da variância, considerando-se dois tratamentos (dieta) com cinco repetições (animais) e nove semanas, de acordo com o esquema mostrado abaixo.

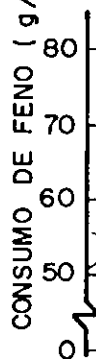
| Causas da variação | G.L. |
|--------------------|------|
| Nível P (NI)       | 1    |
| Dias (DI)          | 8    |
| Interação NI x DI  | 8    |
| Resíduo            | 72   |
| Total              | 89   |

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 1 ilustra o ganho de peso e o consumo de feno durante o experimento. Não houve diferenças significativas para ganho ( $F = 2,03$ ); entretanto, observa-se que os valores foram mais baixos para o grupo deficiente. Ao nível de 5%, houve efeito dos tratamentos no consumo de feno ( $F = 5,95$ ), o que concorda com Little (1970). Verifica-se, para o grupo deficiente, que houve praticamente uma estabilização na ingestão, e não ocorreu uma depressão significativa. Esse resultado confirma aqueles observados por Gartner et al. (1980) mostrando que na deficiência subclínica esse efeito só foi evidente após um período longo (19 semanas).

Os valores médios do fósforo inorgânico no plasma, rúmen, saliva e fezes são mostrados na Tabela 3 e Fig. 2, e os resultados da análise estatís-

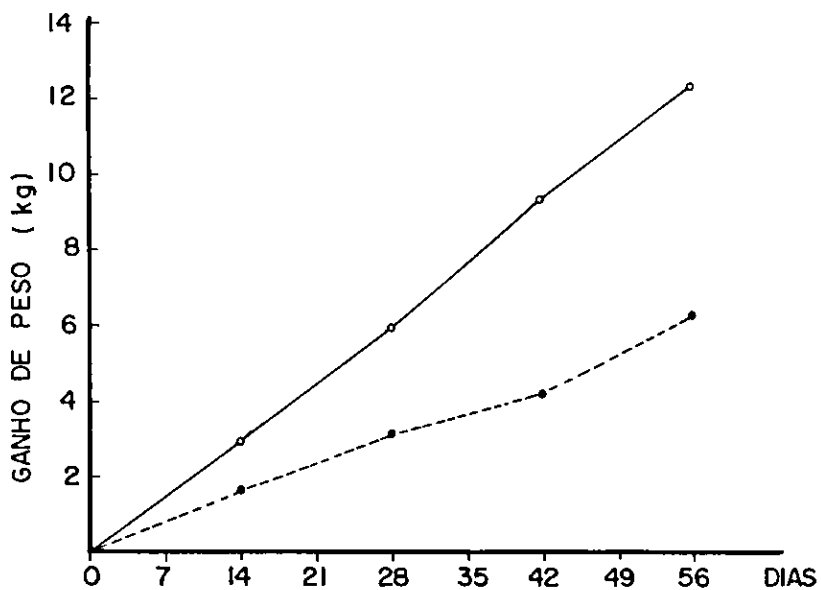
CONSUMO DE FENO ( g / kg W<sup>0.75</sup> )



○—○ GRUPO CONTROLE

●- - - ● GRUPO DEFICIENTE

GANHO DE PESO ( kg )



i. 1. Ganho de peso e consumo de feno, de bovinos que receberam, ou não, suplementação com fósforo.

TABELA 3. Valores médios do fósforo inorgânico (mg/100 ml) no plasma, saliva, líquido do rúmen e fósforo total (%) nas fezes de bovinos durante o experimento.

|                               | Dias de experimento |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-------------------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                               | 0                   | 7     | 14    | 21    | 28    | 35    | 42    | 49    | 56    | 57    | 59    |
| <b>P inorgânico no plasma</b> |                     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| (1) gr. controle              | 6,77                | 6,27  | 6,74  | 6,14  | 6,47  | 7,34  | 5,95  | 6,09  | 7,24  | —     | 6,89  |
| (2) gr. deficiente            | 5,85                | 3,73  | 3,92  | 3,07  | 3,70  | 3,32  | 3,61  | 3,27  | 4,92  | 6,14  | 7,85  |
| <b>P inorgânico na saliva</b> |                     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| (1) gr. controle              | 17,87               | 10,22 | 10,93 | 18,35 | 23,19 | 23,27 | 24,73 | 25,01 | 25,63 | —     | 18,80 |
| (2) gr. deficiente            | 16,40               | 6,71  | 8,21  | 13,09 | 11,00 | 10,18 | 12,18 | 9,20  | 23,51 | 24,46 | 28,30 |
| <b>P inorgânico no rúmen</b>  |                     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| (1) gr. controle              | 23,26               | 25,92 | 27,71 | 29,75 | 31,53 | 30,88 | 25,99 | 30,70 | 30,12 | —     | 29,49 |
| (2) gr. deficiente            | 25,39               | 8,84  | 9,58  | 9,52  | 9,05  | 10,00 | 8,27  | 11,24 | 14,53 | 25,76 | 34,60 |
| <b>P nas fezes</b>            |                     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| (1) gr. controle              | 0,071               | 0,124 | 0,111 | 0,084 | 0,104 | 0,095 | 0,098 | 0,090 | 0,092 | 0,081 | 0,085 |
| (2) gr. deficiente            | 0,096               | 0,058 | 0,049 | 0,045 | 0,050 | 0,049 | 0,051 | 0,046 | 0,054 | 0,070 | 0,060 |

tica indicaram que houve diferenças significativas (1%) para o grupo suplementado e deficiente, sendo que os valores dos respectivos F foram 99,91; 262,04 e 28,01 para o plasma, rúmen e saliva.

Dois dias após o reinício da suplementação, o fósforo no plasma, no rúmen e na saliva atingiu níveis normais, evidenciando o dinamismo da homeostase desse elemento e a interrelação entre esses fluidos.

Os valores do fósforo inorgânico no plasma dos animais que receberam a suplementação estão dentro dos limites normais, que, segundo Donald et al. (1973), variam de 4-12 mg/100 ml. Os resultados obtidos no grupo que não recebeu a suplementação são considerados indicadores de deficiência. Esses dados estão em concordância com as pesquisas de vários autores (Benzie et al. 1959, Preston & Pfander 1964, Vipperman et al. 1969), que mostraram o efeito do fósforo ingerido no nível do elemento no plasma.

Os resultados do teor de fósforo na saliva estão próximos dos citados no trabalho de Clark (1953), que obteve, respectivamente para bovinos suplementados e deficientes, valores médios de 18 e 10 mg/100 ml. No presente experimento, houve grande variação entre os animais.

As glândulas salivares têm papel importante na manutenção da homeostase do fósforo em carneiros (Tomas & Somers 1974) e possivelmente em bovinos. Sendo o rúmen um órgão não-glandular, a maior parte do fósforo presente neste órgão provém da saliva. Isso explica a correlação ( $r = 0,70$ ) obtida no presente trabalho, entre o fósforo na saliva e no rúmen, e está em concordância com os resultados de Tomas et al. (1967). Verificou-se, também, correlação ( $r = 0,68$ ) entre o nível do elemento no plasma e na saliva - resultados semelhantes aos obtidos pelos autores acima citados ( $r = 0,64$ ), e no plasma e no rúmen ( $r = 0,95$ ).

A importância do efeito da dieta deficiente em fósforo na concentração do mineral na saliva seria a limitação da quantidade disponível aos microrganismos, reduzindo a eficiência da digestão.

Muitos autores registraram mudanças no fósforo do rúmen em proporção ao dietário, (Preston & Pfander 1964), como no presente experimento enquanto Clark (1953) aponta para o fato de que alta concentração de fósforo solúvel foi mantida, independentemente da dieta.

A alta correlação ( $r = 0,95$ ) observada entre o teor de fósforo no plasma e no rúmen confirma os

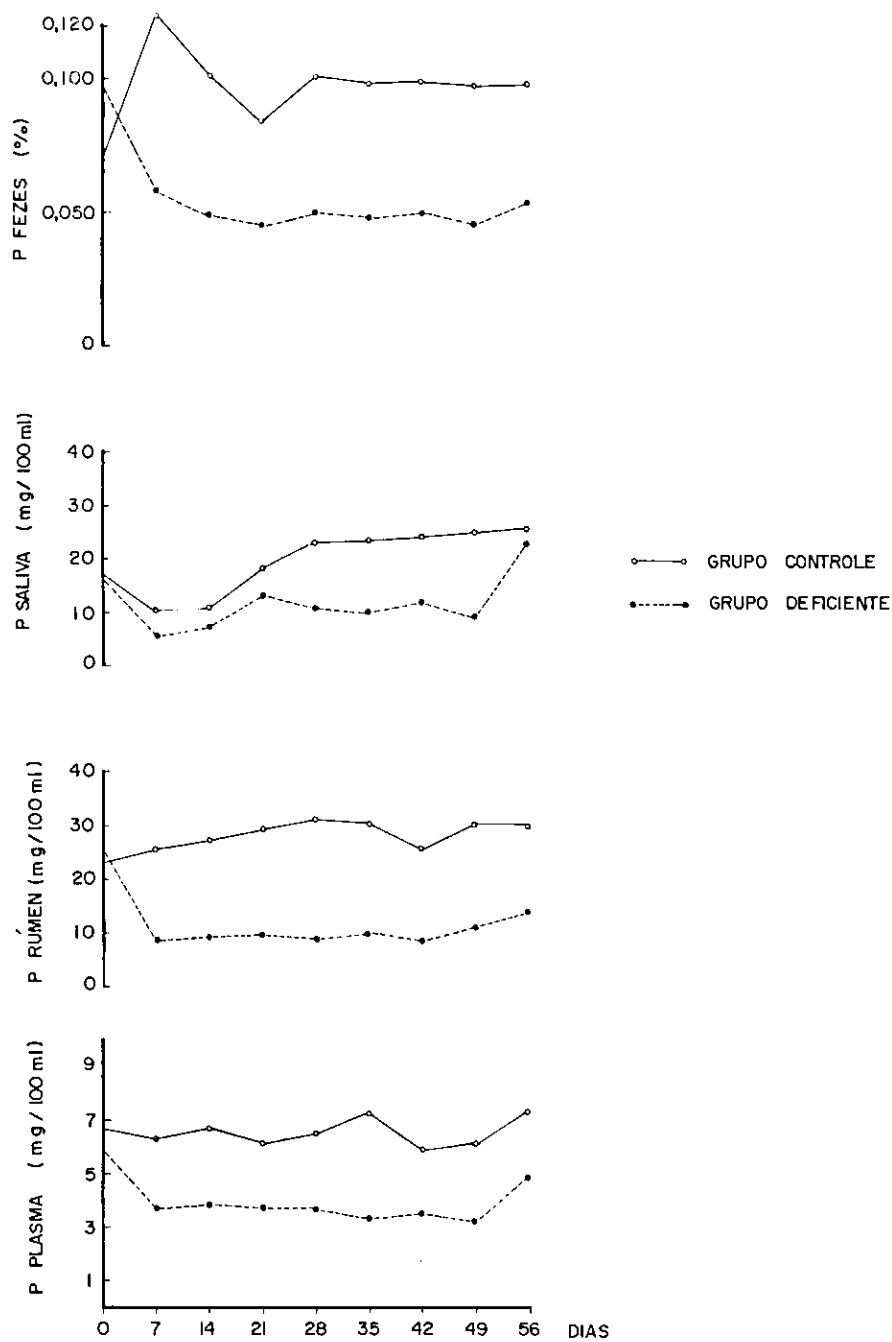


FIG. 2. Nível de fósforo no plasma, saliva, líquido do rúmen e fezes de bovinos que receberam, ou não, suplementação com fósforo.

resultados do trabalho de Tomas et al. (1967), e indica que pode ter havido passagem do mineral do plasma, através da parede do rúmen, para esse órgão, e vice-versa (Parthasarathy et al. 1952).

Não se verificaram diferenças significativas entre os valores do pH do rúmen ( $F = .00$ ), que estão acima da faixa usualmente observada (5-7); isto pode ter ocorrido pela natureza da dieta fornecida.

Com relação ao fósforo fecal, os dados estão coerentes com a literatura (Bromfield & Jones 1970), que afirma existir relação entre a ingestão e a excreção desse elemento.

Métodos *in vitro* para a diagnose de deficiência de minerais foram desenvolvidos para o Zn e Se (Berry et al. 1965, Burk et al. 1967), e baseiam-se na incorporação do isótopo radioativo pelos eritrócitos. Demonstrou-se que essa relação é inversamente proporcional ao nível dietário e ao observado no plasma.

Com o  $^{32}\text{P}$ , poucas tentativas têm sido feitas para se relacionar essa medida ao teor de fósforo em animais (Lobão et al. 1982).

Embora sem significância estatística ( $F = 1,92$ ), os valores da incorporação para o grupo deficiente foram maiores (Fig. 3), sugerindo a possibilidade de se usar essa metodologia na detecção da deficiência.

### CONCLUSÕES

1. Os dados obtidos sugerem que o nível de fósforo no plasma, no líquido do rúmen e nas fezes pode ser usado no diagnóstico de deficiência de fósforo em bovinos.

2. O método da incorporação de  $^{32}\text{P}$  pelos eritrócitos merece ser estudado com mais detalhes para se verificar o seu valor como indicador de deficiência de fósforo.

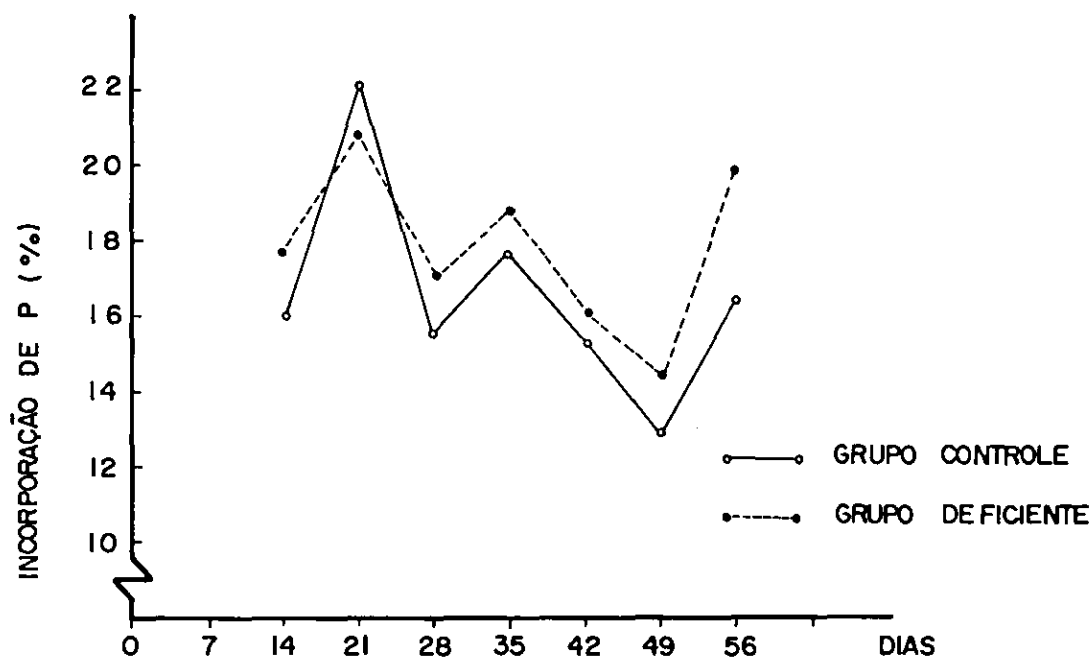


FIG. 3. Incorporação de fósforo pelos eritrócitos de bovinos que receberam, ou não, suplementação com fósforo.

## REFERÊNCIAS

- BELONGE, P.C. & BERG, A. van den. Failure of bone phosphorus levels to indicate dietary intake of phosphorus by sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 50: 1-2, 1983.
- BENZIE, D.; BOYNE, A.W.; DALGARNO, A.C.; DUCKWORTH, J.; HILL, R. Studies of the skeleton of the sheep. III. The relationship between phosphorus intake and resorption and repair of skeleton in pregnancy and lactation. *J. Agric. Sci.*, 52:1-12, 1959.
- BERRY, R.K.; BELL, M.C.; WRIGHT, P.L. Influence of dietary calcium, zinc and oil upon the *in vitro* uptake of zinc-65 by porcine blood cells. *J. Nutr.*, 88: 284-90, 1965.
- BROMFIELD, S.M. & JONES, O.L. The effect of sheep on the recycling of phosphorus in hayed-off pastures. *Aust. J. Agric.*, 21:699, 1970.
- BURK JUNIOR, R.F.; PEARSON, W.N.; WOODII, R.P.; VITERI, F. Blood-selenium levels and *in vitro* red blood cell uptake of <sup>75</sup>Se in kwashiorkor. *Am J. Clin. Nutr.*, 20:723-33, 1967.
- CLARK, R. A study of water-soluble phosphate concentration or ruminal contents in normal and phosphorus deficient animals. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 26:137-40, 1953.
- COHEN, R.D.H. Phosphorus nutrition of beef cattle. 2. Relations of pasture phosphorus to phosphorus concentration of blood, hair and bone of grazing steers. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 13:5-8, 1973.
- COHEN, R.D.H. Phosphorus nutrition of beef cattle. 4. The use of faecal and blood phosphorus for the estimation of phosphorus intake. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 14(71):709-15, 1974.
- DAYRELL, M. de S.; LOPES, H.O. da S.; SAMPAIO, I.B. M.; DOBEREINER, J. Fatores a serem considerados na interpretação de valores analíticos de fósforo inorgânico no soro sanguíneo de bovinos. *Pesq. agropec. bras., Sér. Vet.*, 8(6):43-7, 1973.
- DONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALG, J.F.D. *Animal nutrition*. 2 ed. London, Longman, 1973. cap. 6, p.89-112.
- FISKE, C.H. & SUBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66(2):375-400, 1925.
- GARTNER, R.J.W.; MCLEAN, R.W.; LITTLE, D.A.; WINKS, L. Minerals deficiencies limiting production of ruminants grazing tropical pastures in Australia. *Trop. Grassl.*, 14:266-72, 1980.
- LITTLE, D.A. Bone biopsy in cattle and sheep for studies of phosphorus status. *Aust. Vet. J.*, 48:668-70, 1972.
- LITTLE, D.A. Factors of importance in the phosphorus nutrition of beef cattle in Northern Australia. *Aust. J.*, 46:242-8, 1970.
- LOBÃO, A.O.; MARCONDES, D.M.S.S.V.; LEMOS, J. W.; ESCUBEDO, M.I.B.P.; OLIVEIRA, A.A.D. de; BINNERTS, W.T. The use of phosphorus-32 in the diagnosis of phosphorus deficiency in sheep. In: THE USE of isotopes to detect moderate mineral imbalances in farm animals. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1982. p.33-48. (IAEA-TECDOC, 267)
- MOODIE, E.W. Mineral metabolism. In: BLUNT, M.H. *The blood of sheep: composition and function*. Berlin, Springer, 1975. p.63-99.
- PARTHASARATHY, D.; GARTON, G.A.; PHILLIPSON, A.T. The passage of phosphorus across the rumen epithelium of sheep. *Biochem. J.*, 52(4):16, 1952.
- PRESTON, R.L. & PFANDER, W.H. Phosphorus metabolism in lambs fed varying phosphorus intake. *J. Nutr.*, 83(4):369-78, 1964.
- TOMAS, F.M.; MAOIR, R.J.; SOMERS, M. Phosphorus turnover in sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 18(4):635-45, 1967.
- TOMAS, F.M. & SOMERS, M. Phosphorus homeostasis in sheep. I. Effect of ligation of parotid salivary ducts. *Aust. J. Agric. Res.*, 25(3):475-83, 1974.
- VIPPERMAN, P.E.; PRESTON, R.L.; KINTER, L.D.; PFANDER, W.H. Role of calcium in the nutritional aetiology of a metabolic in ruminants fed a high grain ration. *J. Nutr.*, 97(4):449-62, 1969.