

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

Perfil de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas no estado do Rio Grande do Sul

Paula Moreira da Silva

Pelotas, 2019.

Paula Moreira da Silva

Perfil de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas no estado do Rio Grande do Sul

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Charles Ferreira Martins

Co-orientador: Rogério Folha Bermudes

Pelotas, 2019

S586p Silva, Paula Moreira da

Perfil de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas no estado do Rio Grande do Sul / Paula Moreira da Silva ; Charles Ferreira Martins, orientador ; Rogério Folha Bermudes, coorientador. — Pelotas, 2019.

74 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Casco. 2. Crioulos. 3. Equinos. 4. Pastagem natural. 5. Teor mineral. I. Martins, Charles Ferreira, orient. II. Bermudes, Rogério Folha, coorient. III. Título.

CDD : 636.1

Paula Moreira da Silva

Perfil de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas no estado do Rio Grande do Sul

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 28/02/2019

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Charles Ferreira Martins (Orientador).

Médico Veterinário pela Universidade Federal de Pelotas. Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP-SP, Brasil.

Prof.^a Dr.^a Sandra Mara da Encarnação Fiala Rechsteiner

Médica Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas. Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS-RS, Brasil.

Dr. Jamir Luis Silva da Silva

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, UFV-MG, Brasil. Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Clima Temperado, EMBRAPA-CPACT.

Prof. Dr. Eduardo Schmitt

Médico Veterinário pela Universidade Federal de Pelotas. Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas, UFPEL-RS, Brasil.

Dedico esta conquista a minha família, e a memória
de meu avô Dilson Nunes Moreira.

Agradecimentos

Nenhuma batalha na vida é vencida sozinha. No transcorrer desta luta, algumas pessoas estiveram presentes ao meu lado e percorreram este longo caminho como verdadeiros parceiros, estimulando-me para que eu fosse em busca da minha vitória e conquistasse meus sonhos.

Agradeço em primeiro lugar ao Poder Superior, por todas as forças espirituais durante todo o período de mestrado principalmente no período final, sendo o mais difícil.

Agradeço a minha família, que não só neste momento, mas em toda a minha vida, estiveram comigo, se fazendo presentes nos momentos bons e ruins.

A minha mãe, por ter sido exemplo de garra e de serenidade, me ensinando sempre a ir à luta e ao encontro dos meus ideais, aquela que admiro imensuravelmente pela mulher que é e exemplo a sociedade.

Ao meu pai, por ser meu maior investidor e acreditar no meu potencial, mesmo quando nem eu acreditava, por todos os conselhos e apoios que me deste desde a graduação, sei que és um dos meus maiores fãs, e podes ter certeza que és meu maior ídolo.

Ao meu avô Dilson Moreira e em sua memória por me incentivar na escolha profissional, e dele ter herdado esse amor por esses animais fantástico, os cavalos.

Aos meus irmãos, Lucas e Gabriel, pelo companheirismo e apoio, tanto nas horas de estudo e dificuldades como na execução do projeto.

Ao meu marido Alisson Barcelos, por estar presente nos momentos mais difíceis dessa etapa, e ter passado junto a mim, por todos os sacrifícios e empecilhos que tive.

A minha amiga Rebeca Fernandes, por estar sempre ao meu lado, me apoiando, me dando suporte e o mais importante, me demonstrando o quanto eu sou capaz, pois ela acredita mais em mim que eu mesma.

A minha amiga Juliana Souza, que esteve ao meu lado durante todo o período de mestrado, nas nossas longas tardes e noites de estudos para as disciplinas, risadas, choros e alegrias compartilhadas. A ti minha amiga, o meu muito obrigado por estarmos sempre juntas nos fortificando.

Ao meu amigo Jamir, não só pelo suporte e ajuda com seu conhecimento científico, mas também, pelas palavras de tranquilidade e amizade nos momentos

mais necessários e corretos. A ti meu amigo, meu mais que obrigada, pois ajudou-me a acreditar em mim, e que sou capaz.

Ao meu amigo Rômulo, que sempre esteve me auxiliando, mesmo estando longe, teu apoio e tua amizade são ouro para mim, muito obrigada Romildo.

Ao meu orientador Charles Martins, pela ajuda e força na ideia e concretização deste projeto, desde o primeiro momento em que estive na sua sala para uma conversa informal e possível aluna de mestrado em 2016. Por ter me dado confiança e incentivo nesta caminhada. Pelo conhecimento a mim transmitido, conhecimento este que levo para a minha carreira profissional. A você professor, os meus mais sinceros agradecimentos, saibas que muitas vezes fostes mais que um orientador, como um “pai”. Muito obrigado.

Ao meu co-orientador Rogério Bermudes, pelas ideias e inúmeras ajudas que me passou durante esse período.

A Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos, pelo apoio financeiro e disponibilização, possibilitando a realização deste trabalho.

A professora Anelise Pimentel, por estar sempre disponível quando precisei de sua orientação ou até mesmo de uma conversa motivadora.

Aos Criadores Rodolfo de Santa Maria, Seu Mateus do Capão do Leão, Guilherme e Amanda de Arroio Grande e Luciano de Jaguarão, por disponibilizar os animais para estudo. Sem o auxílio de vocês esse trabalho não teria sido possível.

Aos meus pupilos, alunos de graduação e parceiros nesse projeto, Marcello e Marjana, muito obrigada por tudo.

Ao Labmequi, Professor Anderson e seus colaboradores, por toda ajuda laboratorial, que com certeza, sem a mesma não seria possível a execução desse projeto.

***“O saber a gente aprende com os mestres e os livros.
A sabedoria se aprende com a vida e com os humildes.”
(Cora Coralina)***

Resumo

SILVA, Paula Moreira. **Perfil de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas no estado do Rio Grande do Sul.** 2019. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Diante da importância do casco frente ao desempenho animal é de extrema necessidade que os equinos estejam com seu sistema digital saudável e em equilíbrio constante, sendo necessário um consumo equilibrado de nutrientes com propósito de evitar desbalanceamento no metabolismo epidermal do casco. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil dos minerais Ca, Cu e Zn nas epidermes dos cascos, nos períodos pré e pós-desmame de potros da raça Crioula criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul. Foram utilizados 41 animais oriundos de cinco criatórios de distintas regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A coleta das amostras da epiderme queratinizada foi realizada com uma grossa, na seção dorso-proximal das paredes dos cascos de ambos os membros anteriores. Foram coletadas 17 amostras das forrageiras e, posteriormente, dez (10) amostras de solo por propriedade. Todas as amostras foram avaliadas por Espectrometria de Absorção Atômica. A composição química entre casco fetal e definitivo foi determinada levando-se em consideração a localização da linha de crescimento fetal em relação a coroa do casco, considerando-se três estágios de avaliação. Variações ocorreram nos teores dos minerais Ca, Cu e Zn entre o casco fetal (Ca: $571,0 \pm 139,4$, Cu: $14,5 \pm 7,6$ e Zn: $130,0 \pm 30,5$ mg kg⁻¹; P<0,05) e definitivo (Ca: $653,0 \pm 169,2$, Cu: $33,8 \pm 11,5$, Zn: $69,3 \pm 36,8$ mg kg⁻¹; P<0,05), entre os períodos pré-desmame (Ca: $620,0 \pm 184$ mg kg⁻¹, Cu: $17,2 \pm 21,2$ mg kg⁻¹, Zn: $103,0 \pm 75,5$ mg kg⁻¹; P<0,05) e pós-desmame (Ca: $517,5 \pm 181$, Cu: 0, Zn: $79,0 \pm 41,7$ mg kg⁻¹; P<0,05), houveram variações nas concentrações de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula entre as regiões fisiográficas distintas (P<0,05), e de acordo com as estações do ano. Não houve variação nas concentrações desses minerais no casco de diferente pigmentação (P>0,05) e gênero (P>0,05) dos potros da raça Crioula. Houve correlação positiva com faixa etária dos potros no pré-desmame para Ca e Cu (r= 0,5, 0,57; P<0,05) e negativa para Zn (r=-0,69; P<0,05). Já no pós-desmame associação positiva entre Ca e Zn (r=0,36, 0,64) e negativa para Cu r=-0,39; P<0,05). Não houve correlação entre os teores de Ca (P>0,05) da epiderme dos potros tanto no pré-desmame como no pós-desmame e das pastagens nativas. Houve correlação entre as pastagens nativas e a epiderme do casco dos potros pré-desmame para Cu e Zn (r= 0,69, 0,43; P<0,05). Assim como para Cu no pós-desmame (r= 0,74; P<0,05). Portanto, este estudo determinou que as concentrações dos minerais Ca, Cu e Zn na epiderme do casco dos potros da raça Crioula são diferentes entre casco fetal e definitivo, verificando-se diferenças nas concentrações desses constituintes desde o nascimento até o pós-desmame, bem como entre as diferentes estações do ano e regiões fisiográficas do estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Palavras-chave: casco; crioulos; equino; pastagem natural; teor mineral

Abstract

SILVA, Paula Moreira. **Epidermal metabolism of Criollo foals raised in native field in different physiographic regions of RS**. 2019. 74 f. Dissertation (Master of Animal Science) – Postgraduate program in Animal Science. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2019.

In view of the importance of the hoof in relation to animal performance, it is extremely necessary that equines have a healthy digital system and in constant equilibrium, and a balanced consumption of nutrients is necessary to prevent imbalances in the epidermal metabolism of the hoof. The aim of the present study was to evaluate the metabolic profile of Ca, Cu and Zn minerals in the epidermal tissues in the pre and post-weaning periods of Criollo foals raised in the native field in different physiographic regions of Rio Grande do Sul. It was used 41 criollo foals from five farms from different regions of the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Two moments were considered: pre and post weaning. Samples of keratinized epidermal tissue were collected by means of a rasp in the dorsum-proximal section of the hoof walls of both anterior limbs, obtaining two grams of bran. Samples were collected from forages and, subsequently, ten soil samples per property. All samples were evaluated by Atomic Absorption Spectrometry. The chemical composition between fetal and definitive hull was determined taking into account the location of the fetal growth line in relation to the hull crown, considering three stages of evaluation. Variations occurred in the mineral concentrations of Ca, Cu and Zn between the fetal hull (Ca: 571.0 ± 139.4 , Cu: 14.5 ± 7.6 and Zn: 130.0 ± 30.5 mg kg⁻¹, P <0.05) and definitive (Ca: 653.0 ± 162.9 , Cu: 33.0 ± 11.5 , Zn: 69.3 ± 36.8 mg kg⁻¹; P <0,05), in pre-weaning (Ca: 620.0 ± 184.0 , Cu: 17.2 ± 21.2 , Zn: 103.0 ± 75.5 mg.kg⁻¹; P <0,05) and post-weaning (Ca: 517.5 ± 181.0 , Cu: 0, Zn: 79.0 ± 41.7 mg kg⁻¹; P <0,05). There were also variations in the concentrations of Ca, Cu and Zn in the epidermal tissue of the criollo colts between distinct physiographic regions (P <0,05), and according to the seasons. There was positive correlation with the age range pre-weaning criollo colts for Ca and Cu (r= 0,5, 0,57; P <0,05) and negative for Zn (r= -0,69; P <0,05). As for post-weaning, positive relation between Ca and Z (r= 0,36, 0,64; P <0,05) and negative for Cu (r= -0,39; P <0,05). No correlation was found between the Ca concentrations (P >0,05) in the epidermal tissue of the hull of criollo colts, in both pre- and post-weaning, and the native pasture. Correlation was found between the native pasture and the hull epidermal tissue in pre-weaning coolts for Cu and Zn (r= 0,69, 0,43; P <0,05). As for Cu in post-weaning (r= 0,74; P <0,05). Therefore, this study determined the mineral concentrations of Ca, Cu and Zn in the epidermal tissues of the hull of Criollo foals are different between fetal and definitive hull, verifying the difference in the concentrations of these constituents from birth to post-weaning, as for distinct seasons and physiographic regions in the state of Rio Grande do Sul, Brazil.

Key words: criollo; equine; hull; mineral concentration; natural pasture

Lista de Figuras

- Figura 1 Casco de potro da raça Crioula com 66 dias. Coroa (1); Linha de crescimento fetal (2) 38
- Figura 2 Cascos de potros da raça Crioula desde o nascimento até a troca do casco fetal, levando em consideração estágio da linha de crescimento fetal. Linha de crescimento fetal no 1º estágio (A); Linha de crescimento no 2º estágio (B); Linha de crescimento fetal no 3º estágio (C); CD= casco definitivo; CF= casco fetal 38
- Figura 3 Pigmentação dos cascos de potros da raça Crioula. Casco preto (A); Casco branco (B); Casco misto (C) 38

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1	Composição química (mediana) da epiderme do casco fetal e definitivo de potro (a) da raça Crioula em aleitamento (mg kg ⁻¹)	39
Tabela 2	Composição química (mediana) da epiderme do casco de potros (as) da raça Crioula lactantes desde o nascimento até a troca do casco fetal, levando em consideração a idade dos potros e a presença da linha de crescimento fetal.....	39
Tabela 3	Composição química (mediana) da epiderme do casco pré e pós-desmame de potros (as) da raça Crioula (mg kg ⁻¹)	40

Capítulo II

Tabela 1	Concentrações medianas (mg kg ⁻¹) de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros lactantes da raça Crioula em diferentes regiões fisiográficas do RS.....	52
Tabela 2	Concentrações medianas (mg kg ⁻¹) de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula no pós-desmame em diferentes regiões fisiográficas do RS.....	52
Tabela 3	Concentrações medianas (mg kg ⁻¹) de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula em diferentes estações do ano.....	53
Tabela 4	Concentrações medianas (mg kg ⁻¹) de Ca , Cu e Zn nas pastagens nativas em diferentes estações do ano.....	53
Tabela 5	Coeficientes de correlação entre os teores medianos de Ca, Cu e Zn (mg kg ⁻¹), nas plantas forrageiras dos solos Argissolo com luvisolo, Argissolo Amarelo, Argissolo Vermelho e Planossolo Háptico Eutrófico em cada região fisiográfica e estações do ano (verão, outono, inverno e primavera) e os teores medianos desses minerais na epiderme do casco de potros da raça Crioula pré e pós-desmame.....	54
Tabela 6	Composição química dos solos Argissolo com luvisolo, Argissolo Amarelo, Argissolo Vermelho e Planossolo Háptico Eutrófico em cada região fisiográfica (mg kg ⁻¹)	55

Lista de Abreviaturas e Siglas

Ca	Cálcio
CEEA	Comitê de Ética e Bem-estar Animal
cm	Centímetro
Cu	Cobre
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama
g	Gramas
HNO ₃	Ácido Nítrico
H ₂ O ₂	Água oxigenada
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGF	Fatores de crescimento semelhantes à insulina
IGF-I	Fatores de crescimento semelhantes à insulina, tipo I
IGF-IR	Receptores de fatores de crescimento semelhantes à insulina, tipo I
IGFBP	Proteínas-ligantes de fatores de crescimento semelhante à insulina
IGFBP-3	Proteínas-ligantes de fatores de crescimento semelhante à insulina, tipo III
KFAPs	Keratin Filament-Associated Proteins
Kg	Quilograma
L	Litro
LD	Limite de Detecção
mg	Miligramas
mL	Mililitros
MMP	Metalloproteinase
MS	Matéria Seca
m v ⁻¹	Metro por volume
NRC	National Research Council
SCI	Substância cementante intercelular
SPSS	Statistical Product and Service Solutions
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
V V ⁻¹	Volume por Volume
VLC	Vacas leiteiras com claudicação
VLS	Vacas leiteiras sadias
ZF	Zinc fingers
Zn	Zinco

Sumário

1	Introdução.....	16
2	Objetivos	19
2.1	Objetivo geral	19
2.2	Objetivos específicos.....	19
3	Hipótese	20
4	Revisão Bibliográfica	21
4.1	Estojo Córneo (casco)	21
4.1.1	Anatomia	21
4.1.2	Metabolismo epidermal.....	23
4.1.3	Efeito da nutrição, ambiente e pastejo sobre a epiderme do casco	28
4.1.3.1	Influências estacionais na oferta de forragem	28
5	CAPÍTULO I- Concentrações dos minerais (Ca, Cu e Zn) na epiderme do casco de potros da raça Crioula em diferentes regiões fisiográficas do RS.....	31
5.2	Material e métodos	35
5.2.1	Coleta de amostra do casco	35
5.2.2	Análise do Casco	36
5.2.2.1	Análise da composição química e da pigmentação do casco: do nascimento (casco fetal) ao casco definitivo	37
5.2.3.	Análise dos dados.....	37
5.3	Resultados	39
5.4	Discussão	40
5.5	Conclusões	44
6	CAPÍTULO II-Composição química da epiderme do casco de potros da raça Crioula em áreas de campo natural de diferentes regiões fisiográficas do RS e estações do ano	45
6.1	Introdução.....	47
6.2	Material e métodos.....	48

6.2.1 Coleta de amostra e análise do estojo córneo	49
6.2.2 Coleta de amostras da forragem e análise bromatológica	50
6.2.3 Coleta de amostras e análise de solo das diferentes regiões	51
6.2.4 Análise estatística	51
6.3 Resultados	51
6.4 Discussão	55
6.5 Conclusões	58
7 Considerações finais	60
Referências	61
Anexos	70

1 Introdução

A elevada incidência de doenças no sistema locomotor dos equinos, que causam claudicação tem grande impacto no desempenho atlético em cavalos de esportes, sendo um dos principais problemas ortopédicos na indústria equestre. Muitos cavalos reduzem a performance atlética devido a lesões crônicas irreversíveis em seu sistema podotroclear e estruturas anatômicas relacionadas, onde, grande parte dessas injúrias estão associadas a desordens da cápsula córnea. Além disso, para Mendes et al. (2013), em estudo com bovinos leiteiros, cascos de qualidade pobre ou com perda de elasticidade, dureza, alterações em suas propriedades higroscópicas, desalinhamento do estojo córneo, associadas às alterações na composição do tecido, ocasionados por fatores nutricionais e ambientais, promovem modificações nocivas ao metabolismo epidermal (estojo córneo), dando início a desequilíbrios precoces na formação do casco, com consequências irreversíveis à estrutura anatômica digital.

Nesse contexto, o perfil de um cavalo atleta se dá por meio de combinações de vários fatores que são relevantes à saúde e potencialidade do animal, como: clima, manejo nutricional, treinamento, finalidade, condicionamento físico, tipo de arreamento, treinador, terreno, genética, idade, casqueamento incorreto, dentre outros (JONES, 1987; RUOHONIEMI et al., 1997; MIRANDA, 1988; MARANHÃO et al., 2006). O casco apresenta função essencial, pois, além de absorver o impacto com o solo, auxiliar na propulsão e suportar o peso do animal, atua como bomba hidráulica para o retorno sanguíneo da extremidade do membro locomotor, sendo então, essa estrutura, uma peça fundamental para a sanidade do sistema locomotor do equino (CESCON,2010).

A equinocultura na região sul da América do Sul tem grande importância socioeconômica, sendo a raça Crioula representativa dessa criação, devido ao crescimento constante de esportes da raça além de ser responsável por mais de 200 mil empregos no Brasil (LIMA e CINTRA, 2015; PIMENTEL et al., 2018).

Tradicionalmente, os criadores adotam o sistema extensivo de criação, com menor interferência sobre a estrutura anatômica digital. A crescente valorização zootécnica desses animais, decorrente do aumento de eventos esportivos, tem caracterizado demanda pelo aperfeiçoamento do sistema de criação atual, com o objetivo de qualificar o performance animal. Nesse contexto, a saúde do casco, se mostra de suma importância para o bom desempenho dos cavalos atletas, havendo necessidade de atenção redobrada durante sua formação e integridade, desde os primeiros meses de vida do cavalo, já que a relevância da dieta ofertada não só neste período, mas ao longo de toda de sua vida atlética, influencia significativamente no desenvolvimento e manutenção da integridade do estojo córneo, conseqüentemente no sistema podal dos equinos.

Alguns estudos relataram a importância do cálcio, cobre, zinco, ácidos graxos essenciais e vitaminas para a produção leiteira de equinos (CSAPÓ et al., 2009) e produção de bovinos (BARBOSA et al., 2016). Portanto, inferências dos efeitos desses macro e microelementos na integridade do casco em potros em regime distinto de criação extensiva ainda são escassos. Assim, o equilíbrio nas concentrações de minerais como Cálcio, Cobre e Zinco, nutrientes esses, de extrema relevância para a formação e resistência do estojo córneo, é indispensável para que a queratinização fisiológica das células epidérmicas seja adequada e, ocorra de modo saudável e estável, promovendo assim qualidade de casco. Neste contexto, o cálcio (macromineral) é responsável por regular os processos de queratinização e cornificação dos queratinócitos (BRAGULLA e HOMBERGER, 2007). Já o cobre (micromineral) atua com função catalítica bem como, cofator da enzima citocromo C oxidase, importante para a fosforilação oxidativa na respiração celular (LINDER, 1996), enquanto o zinco também possui funções catalíticas, além de estrutural e regulatória (COUSINS, 1996). Diante disso, esses elementos minerais, citados acima, são essenciais para o metabolismo da epiderme do casco, atuando como cofatores para diversas enzimas que agem em processos catalíticos (CINTRA, 2016).

Baseando no princípio de que solos de regiões distintas possuem composição estrutural, química e física diferentes, levando à diferenças na disponibilização nutrientes às plantas e conseqüentemente aos animais em pastejo, o que gera a consideração de que, esses ambientes afetam o perfil mineral do estojo córneo dos equinos. Neste contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o perfil mineral da

epiderme do casco de potros da raça Crioula pré e pós-desmame em diferentes regiões fisiográficas do estado do Rio Grande do Sul.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil mineral da epiderme do casco de potros pertencentes a raça Crioula pré e pós-desmame, criados em campo nativo em diferentes regiões fisiográficas do estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Objetivos específicos

Determinar as concentrações dos minerais no estojo córneo dos potros da raça Crioula pré e pós-desmame, realçando períodos de carência.

Traçar o perfil dos minerais Cálcio (Ca^{+2}), Cobre (Cu^{+2}) e Zinco (Zn^{+3}) na epiderme dos cascos fetais e definitivos de potros lactantes pertencentes a raça Crioula.

Correlacionar as concentrações de Ca, Cu e Zn com o gênero e faixa etária dos animais.

Verificar a correlação dos teores de Ca, Cu e Zn no estojo córneo com a concentração desses nutrientes nas pastagens das distintas regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul.

Avaliar a associação entre a região e os níveis minerais do estojo córneo de potros da raça Crioula pré e pós-desmame.

Quantificar e relacionar os níveis dos minerais Ca, Cu e Zn do estojo córneo com as diferentes estações do ano, em diferentes regiões fisiográficas do estado do Rio Grande do Sul.

3 Hipótese

Regiões fisiográficas distintas afetam o perfil mineral do estojo córneo de potros pertencentes á raça Crioula.

4 Revisão Bibliográfica

4.1 Estojo Córneo (casco)

Atualmente os cavalos de competição têm altos níveis de exigências funcionais, desempenham atividades de alta performance chegando muitas vezes ao seu limite, o que em certas provas ocasiona queda de desempenho, devido a alterações no aparelho locomotor (LIMA, 2016). O sistema locomotor dos equinos é de grande importância por promover a sustentação e dinâmica da locomoção, além de ser um reflexo da saúde geral do animal e das condições ambientais à que é geralmente submetido.

Um dos fatores de grande relevância na performance do cavalo é a sanidade da epiderme do casco, o qual apresenta funções essenciais para a manutenção do equilíbrio do sistema músculo-esquelético (FARIA, 2010). O casco além de absorver o impacto com o solo, auxilia na propulsão, suporta o peso do animal, resiste ao desgaste, atua como uma bomba hidráulica para o retorno sanguíneo da extremidade do membro locomotor, sendo então, essa estrutura, um elemento fundamental para a higidez do sistema locomotor (CESCON,2010).

Portanto, a preocupação com a qualidade do casco é necessária, pois segundo Mendes et al. (2013), trabalhando com bovinos leiteiros observou que cascos com carência na qualidade, elasticidade, propriedades estruturais (físicas ou químicas) são prejudiciais ao metabolismo da epiderme do casco, podendo afetar de forma irreversível na formação do casco.

4.1.1 Anatomia

O casco é uma cobertura queratinizada com uma derme modificada que é contínua à derme comum da pele, tendo como ponto de junção a região da coroa (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

A parede (muralha) é a estrutura visível do casco quando o animal se encontra em estação. Em sua extremidade dorsal encontra-se a parte mais elevada, a pinça; conforme segue, a parede decresce em tamanho nos lados (quartos) e reflete em si mesma formando os talões na extremidade palmar-plantar. As curvas formadas pelos talões adentram por uma curta distância na sola, formando as barras que são separadas da ranilha pelos sulcos lateral e medial (BUDRAS; SACK; ROCK, 2012).

A muralha é composta por três estratos: o externo, médio e interno. O estrato externo (ou tectório) é constituído pelo perioplo, uma fina faixa de tecido córneo macio que é produzido na derme perióplica. O estrato médio é constituído por túbulos e intertúbulos córneos, os quais são responsáveis pela espessura da parede do casco e que são sintetizados na derme coronária. E o estrato interno é composto por aproximadamente 600 lâminas córneas primárias que interdigitam com as lâminas da derme subjacente; e, de cada uma das lâminas, partem cerca de 100 lâminas secundárias que aumentam a área de contato e o deslizamento entre a parede e o tecido córneo (STASHAK, 2002).

A derme profunda subjacente à cápsula do casco é dividida em 5 partes: dermes perióplica, coronária, laminar, da sola e da ranilha. A perióplica envolve o dígito na altura da coroa, contém papilas curtas que se ampliam no sentido palmar-plantar, envolvendo os bulbos; e, como dito anteriormente, dá origem ao perioplo, estrutura que contribui para o estrato externo da cápsula do casco (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

A derme coronária é separada da perióplica por um sulco raso e encontra-se imediatamente distal à mesma. É constituída por papilas córneas longas que descendem distalmente (STASHAK, 2002). Entre e sobre essas papilas, existem queratinócitos cilíndricos que proliferam, forçando a substância córnea em direção ao solo, formando assim, a epiderme coronária (BUDRAS; SACK; ROCK, 2012).

A sola preenche o espaço entre a parede e a ranilha, é levemente côncava, característica importante que permite a parede e a ranilha receberem maior impacto com o solo. O “ângulo” da sola é formado no espaço entre as barras e a região dos quartos, enquanto a linha branca encontra-se na junção da sola com a parede do casco; inclui parte do estrato médio, interno e queratina pigmentada produzidas na derme lamelar (BUDRAS; SACK; ROCK, 2012).

A ranilha preenche o espaço entre os talões na parte palmar do casco, terminando mais a cima com os bulbos (DYCE; SACK; WENSING, 2010); a junção dessas duas estruturas são os homólogos ao coxim digital. Sua superfície é marcada pelo sulco central e é separada das barras pelos sulcos lateral e medial (paracuneais), como descrito anteriormente (BUDRAS; SACK; ROCK, 2012).

4.1.2 Metabolismo epidermal

Sabendo da importância do casco para o desempenho do animal, é de extrema necessidade que os equinos estejam com seu sistema digital saudável em equilíbrio constante. Para que isso ocorra é necessário que a derme, por difusão promova a nutrição da epiderme, por ser constituída de tecido conjuntivo altamente vascularizado e innervado (EURIDES et al., 2012). Por diferença de gradiente de concentração e proximidade dos vasos, a derme é responsável pela nutrição epidermal, a qual, apesar de ser composta por células vivas e por células cornificadas é avascular, recebendo os nutrientes necessários para sua manutenção, da região dermal (SISSON, 1986; TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004).

Sendo assim, a estruturação do casco é determinada pela queratinização de células epidermais vivas, processo este caracterizado pela síntese de proteínas de queratina e substâncias de cimentação intercelular (MULLING, 1993; BUDRAS et al., 1998; MULLING; BUDRAS, 1998). Diante disso, Tomlinson, Mülling e Fakler (2004) apontaram que a queratinização é uma cadeia de reações altamente específicas com a finalidade de sintetizar proteínas com características físico-químicas exclusivas.

O resultado desses processos, que ocorrem na epiderme coronária no estrato médio, contribui diretamente para o constante crescimento do casco, sua dureza e resistência (GRAVENA, 2010). Segundo este autor, embora seja contínuo, o desenvolvimento da muralha do casco é lento (8-10 mm/mês) em decorrência das diferenças nos processos mitóticos entre lâminas primárias e secundárias, pois diferentemente das primárias que se queratinizam e são empurradas em direção distal, as células da lâmina secundária são mais aderidas à derme fazendo com que não se queratinizem.

A epiderme cornificada do casco é constituída de quatro estratos, dos quais cada um representa uma diferente fase do processo de diferenciação dos queratinócitos, são eles: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso (apenas em tecidos cornificados macios) e o estrato córneo (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004; BRAGULLA; HOMBERGER, 2009).

No estrato basal encontra-se as células tronco responsáveis pela geração e multiplicação de novos queratinócitos, os quais sofrerão um processo de diferenciação, em direção à superfície, e posteriormente um processo de diferenciação terminal (cornificação) (CONSTANZO et al., 2015). Conjuntamente nesse estrato, ocorre a expressão da metaloproteinase 19 (MMP-19) (BRAGULLA; HOMBERGER, 2009). Metaloproteinasas são proteases zinco dependentes que possuem diversas funções, entre elas: a degradação de diversos componentes da matriz extracelular e ativação de fatores de crescimento (SADOWSKI et al., 2003).

Dessa forma, a MMP-19 expressa diferentes padrões de ação em relação aos outros constituintes da vasta família de metaloproteinasas (MMPs), na epiderme. Assim, sua atividade proteolítica gera a diferenciação dos queratinócitos por meio da expressão de somatomedinas, ou fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) (BECK et al., 2007). Em humanos, O IGF-I é produzido, também, na epiderme pelos queratinócitos no estrato granuloso para posteriormente se ligarem aos seus receptores (IGF-IR) no estrato basal. A expressão desses mitógenos é regulado por meio de seis proteínas-ligantes de IGF (IGFBP), inibindo sua ligação com os IGF-IR. Sabe-se que a MMP-19 cliva a IGFBP-3, diminuindo, assim, a afinidade pelos IGFs, permitindo a ativação dos IGF-IR promovendo atividade mitótica (SADOWSKI et al., 2003).

Outro componente essencial para a adesão dos queratinócitos é a proteína, laminina-5, pois compõe os hemidesmossomos (SADOWSKI et al., 2005), junções celulares presentes entre a lâmina basal dos queratinócitos e a membrana basal (POLLIT, 2004). De acordo com o estudo de Sadowski et al. (2005), a MMP-19 promove a migração dos queratinócitos para o estrato superior por meio da clivagem da laminina-5 e do colágeno IV.

Imediatamente acima da camada basal situa-se o estrato espinhoso, local caracterizado pelo início do processo de diferenciação terminal (CONSTANZO et al., 2015) e por sua espessura que apresenta, aproximadamente, 120 camadas celulares no casco (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004). Nessa camada ocorre

uma produção intensa de queratina, fortalecendo o citoesqueleto dos queratinócitos (CONSTANZO et al, 2015). Para que isso ocorra, é indispensável a interação proteína-proteína, denominados *Zinc fingers* (ZF), estudado por Van Riet et al. (2013) em suínos. Segundo o autor, o zinco é substancial nesse estágio da queratinização, pois, os ZF são proteínas que utilizam este mineral como cofator para estabilização de suas estruturas, portanto uma deficiência nas concentrações de zinco comprometeria a síntese proteica necessária para a produção dos filamentos de queratina.

Durante a produção intensa da queratina, as células epidermais basais reorientam-se para uma posição perpendicular à camada basal (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004), em conjunto, os queratinócitos unem-se por meio dos desmossomos (CONSTANZO et al., 2015). Assim, na porção final do estrato espinhoso inicia-se a produção de substância cementante intercelular (SCI), que tem como função aumentar a adesão dos queratinócitos, juntamente aos desmossomos (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004), e criará um envelope impermeável quando for exocitado no final da cornificação (CONSTANZO et al., 2015).

O estrato granuloso, presente apenas em tecido cornificado macio como o perioplo, bulbos e a linha branca, é caracterizado pela presença de grânulos basofílicos (corpos lamelares) que armazenam os KFAPs (Keratin Filament-Associated Proteins) (BRAGULLA; HOMBERGER, 2009), separados em dois grupos: os específicos e não específicos. Desse modo, os grânulos específicos contêm as proteínas profilagrina e filagrina, a última é derivada da clivagem enzimática da profilagrina; e tem como função a estabilização do citoesqueleto por meio de ligações dissulfeto. Já, os não específicos armazenam a involucrina, dentre outras, responsável pela formação do envelope córneo celular que fica aderido a superfície interna da membrana plasmática (banda marginal) (BRAGULLA; HOMBERGER, 2007). Além disso, a SCI que é sintetizada na terceira camada do estrato espinhoso, segundo Tomlinson; Mülling e Fakler (2004), é armazenado nos corpos lamelares (CONSTANZO et al., 2015).

Em potros, constatou-se a presença do estrato granuloso em todos os tecidos queratinizados do casco, dessa forma, durante o desenvolvimento desses animais acontece uma troca gradual da epiderme, perdendo o estrato granuloso quando adulto. Por esse motivo, os KFAPs não são armazenados em grânulos e sim

reticulados aos filamentos de queratina imediatamente após síntese, em cavalos adultos (BRAGULLA; HOMBERGER, 2007).

Sendo assim, na transição do estrato granuloso para o córneo, os corpos lamelares liberam os KFAPs e a SCI, posteriormente são excitados pela porção apical dos queratinócitos anterior a cornificação (BRAGULLA; HOMBERGER, 2009), onde é submetido a ação enzimática produzindo um composto de ácidos graxos, colesterol e ceramidas. Por último são organizados em um complexo de multicamadas que preenche o espaço intercelular (WERTZ, 2000).

No estrato córneo inicia-se o processo de diferenciação terminal, que é caracterizada pela degradação e substituição do núcleo e outras organelas celulares pela ocupação total de queratina, a reticulação das proteínas ao envelope córneo e a interação múltipla de células biologicamente mortas, mas funcionais (BRAGULLA; HOMBERGER, 2007).

Desse modo, para queratinização e cornificação adequadas, as células epidérmicas necessitam de uma quantidade equilibrada de nutrientes como: vitaminas, minerais, aminoácidos e elementos traços (MÜLLING et al., 1999). Neste contexto, os minerais e vitaminas são essenciais para formação e manutenção de tecido queratinizado, portanto sua insuficiência resultaria na formação de tecido de má qualidade, deixando o casco suscetível à distúrbios, ocasionando claudicação (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004).

De acordo com alguns estudos prévios realizados, o Cálcio é um mineral de extrema importância para agregar qualidade ao estojo córneo, pois está diretamente envolvido na diferenciação dos queratinócitos, bem como na deposição do envelope celular dos mesmos e na formação dos desmossomos (junção que une duas células vizinhas), além de ser responsável pela ativação das transglutaminases epidérmicas que formam o próprio envelope celular (RICE; GREEN, 1979; MÜLLING et al., 1999; ECKERT et al., 2005).

O aumento na concentração de cálcio (Ca) intracelular ativa enzimas transglutaminases responsáveis pela reticulação das proteínas dos grânulos não específicos (CONSTANZO et al., 2015) por meio da formação de um intermediário tiolester acil-enzima. Posteriormente o resíduo acil é transferido para uma amina primária (ECKERT et al., 2005) formando o estojo córneo (CONSTANZO et al., 2015), o qual é fortemente aderido aos envelopes de queratinócitos vizinhos por

meio de desmossomos que, juntamente a SCI, forma a barreira epidermal (ECKHART et al., 2013).

Da mesma forma, o zinco e o cobre são indispensáveis para todo o processo de queratinização e cornificação da epiderme do casco, pois ambos são cofatores em processos metabólicos para geração de energia. O cobre está relacionado a atividade do citocromo oxidase, enzima participante da respiração celular e fosforilação oxidativa; e também pela ativação do tiol oxidase intracelular, importante para as ligações dissulfeto proporcionando rigidez e resistência. Do mesmo modo, é componente do Cu/Zn superóxido desmutase, como dito anteriormente (VAN RIET et al., 2013).

Além disso, o cobre tem função catalítica, assim como o Zn, e relação direta com respiração celular e fosforilação oxidativa (LINDER, 1996), processos estes importantes para gerar energia às células (OTT et al., 2001). Para Linder (1996) a deficiência desse mineral, pode aumentar a fragilidade das membranas celulares visto que, os lipídios não são saturados nessa região, e ficam vulneráveis ao dano oxidativo.

O zinco regula a atividade da proteína quinase C que fosforila proteínas para gerar energia para o processo de diferenciação dos queratinócitos, como também regula o inositol fosfato, e Cu/Zn superóxido desmutase. Os dois primeiros estão associados à mobilização, transporte e ligação de cálcio e o Cu/Zn superóxido desmutase impede a oxidação dos lipídios presentes no SCI (VAN RIET et al., 2013).

Falhas na síntese de queratina ou suas ligações químicas estão associadas a distúrbios no processo de queratinização, promovendo desordem molecular e queda da resistência do tecido córneo do casco (PAES LEME et al., 2010), tornando o tecido epitelial pobre e de baixa qualidade (HENDRY et al., 1997). Além disso, o casco depende de fatores endógenos e exógenos, sendo a resistência e integridade dos tecidos queratinizados relacionada à concentração de alguns minerais (MENDES et al., 2016), conforme observado por BALLANTINE et al., (2002), que ao aumentar a biodisponibilidade de Cu e Zn, dentre outros minerais, identificou maior rigidez e resistência a doenças em cascos de bovinos leiteiros.

4.1.3 Efeito da nutrição, ambiente e pastejo sobre a epiderme do casco

Tendo em vista que a queratinização é uma ação dinâmica, sabe-se que a qualidade e resistência do casco podem ser afetadas direta ou indiretamente por inúmeros fatores, como: genética, nutrição, metabolismo, e fatores ambientais, refletindo na qualidade e resistência do casco (FERREIRA et al., 2005; MUELLING, 2009).

A alimentação adequada e equilibrada é importante para o desenvolvimento de cavalos jovens, sendo assim, excesso ou deficiência de nutrientes pode afetar o crescimento e / ou causar desenvolvimento de doenças ortopédicas (FRADINHO et al., 2012; GOBESSO et al., 2014).

Diante disso, observa-se que a nutrição está diretamente relacionada à qualidade e formação do estojo córneo, sendo este influenciado por deficiências nutricionais e condições ambientais desfavoráveis, promovendo alterações das propriedades físicas do estojo córneo, resultando em incremento de desgaste da sola, perda de resistência e viscoelasticidade, com suscetibilidade a lesões (BALLANTINE et al., 2002; BAGGOTT et al., 1988; WINKLER; MARGERISON, 2012).

Entretanto, pouco se conhece sobre o papel dos macro e microminerais no processo de queratinização da epiderme do casco de animais da espécie equina em desenvolvimento. Diante do exposto, acredita-se que a concentração mineral esteja diretamente associada à integridade dos tecidos queratinizados e, portanto, situações de desequilíbrio precoces em sua formação poderão afetar a qualidade do tecido. Assim, a biodisponibilidade em equilíbrio desses minerais beneficiará as reações metabólicas para a formação do tecido córneo saudável (BALLANTINE et al., 2002).

4.1.3.1 Influências estacionais na oferta de forragem

A importante contribuição das pastagens no incremento da produção equina, tem sido comprovada em alguns países, como, Austrália e Nova Zelândia, onde as pesquisas indicam utilizar a nutrição dos equinos visando diminuir custos e crescimento satisfatório de potros, bem como o desenvolvimento de éguas em reprodução alimentadas exclusivamente com volumoso (DITTRICH, 2002)

O Bioma Pampa no Brasil está restrito ao estado do Rio Grande do Sul, se localizando na metade sul, ocupando aproximadamente 63% (IBGE 2004) da superfície do Estado, mas tem continuidade no Uruguai e Argentina. Segundo Burkart (1975), constitui uma das regiões do mundo mais ricas em gramíneas, com mistura de espécies microtêrmicas e megatêrmicas, sendo estas últimas predominantes.

A forragem disponível ao longo do ano nas diferentes regiões do Estado, tem predomínio, em geral, de espécies de produção estival; principalmente de gramíneas e espécies das famílias *Compositae*, *Rubiaceae* e *Cyperaceae*; sendo carente de leguminosas (POTT 1974, REIS 2005, REIS et al., 2008a).

Devido aos diversos fatores restritivos, como a estacionalidade de produção e as deficiências minerais no solo, estes campos têm produção de forragem sazonal. Sendo assim, essa estacionalidade determina, relativamente, boa produção de forragem no período quente do ano, mas, inferior no inverno. Pois, em épocas frias, a quantidade e a qualidade da forragem são insuficientes para bons índices de produtividade animal, com redução do peso corporal dos mesmos (ALFAYA et al., 1997a, 1997b, MACHADO 1999; PAIM, 2003; REIS, 2005; REIS et al., 2008b). A baixa proporção de gramíneas e de leguminosas de ambas as estações, fria ou quente, que compõe os campos naturais pode estar diretamente relacionada com a acidez ou deficiência de minerais, como fósforo, do solo (REIS 2005).

Além disso, sabe-se que as estações primavera e verão apresentam maior incidência de luz solar, visto que os dias são maiores, demonstrando a influência da sazonalidade sobre o crescimento e amadurecimento das plantas, pois mais de 90% da estrutura é constituída de compostos de carbono, e menos de 10% por minerais absorvidos do solo. A maior área foliar nas pastagens disponíveis possibilita máxima interceptação da luz incidente, já que o crescimento das plantas depende da energia disponibilizada pela luz solar a qual é utilizada pela folha para realizar a fotossíntese, processo este que a planta absorve carbono do ar para formar seus tecidos (NABINGER et al., 2009).

A manutenção de maior área foliar também tem consequências sobre o solo, pois proporciona maior cobertura do mesmo, evitando erosão. Além disso, melhora as condições químico-físico-biológicas do solo através da deposição de material senescente, tanto da parte aérea como do sistema radical, determinando maior disponibilidade de nutrientes e de matéria orgânica refletindo em aumento na

capacidade de infiltração e de armazenamento de água, proporcionando maior crescimento da pastagem (NABINGER et al., 2009).

No entanto, as chuvas erosivas de inverno acarretam perdas de solo durante a época de semeadura e após os pastejos, sendo assim, perdas de nutrientes e de matéria orgânica aumentam com as perdas de solo. Estas situações podem gerar problemas na produtividade bem como na qualidade das forragens (CASSOL et al., 2002). Eltz (1977), ao trabalhar com pastagem nativa observou que no inverno, as perdas de solo e nutrientes são mais baixas, sendo o contrário em solos descobertos. Já no verão, a pastagem nativa manifestou perdas de nutrientes desprezíveis.

Sabe-se que equinos apresentam comportamento ingestivo estimulado pela disponibilidade de pasto, assim, o intervalo de pastejo, depende da necessidade nutricional de cada categoria animal nas distintas faixas etárias (SANTOS, 2014). Portanto, pastagens de qualidade superior e com oferta adequada determinaram menor tempo de pastejo, provavelmente devido à maior taxa de ingestão dos animais (DITTRICH, 2002). Segundo Dittrich (2002), a estação do ano também interfere no comportamento em pastejo, alterando a preferência devido à sucessão das espécies forrageiras ou modificando os padrões do período e do tempo das refeições. Para o autor, o tempo destinado ao pastejo pode aumentar no outono e no inverno.

A qualidade do tecido córneo e sua interação com o ambiente de criação são importantes fatores para a sanidade do estojo córneo. A baixa qualidade deste tecido é responsável por diversas injúrias do estojo córneo que promovem prejuízos ao bem-estar do equino, prejudicando a atuação do animal tanto no trabalho como na vida atlética. Fatores nutricionais interferem na qualidade durante a formação do tecido cornificado, substâncias como o cobre alteram as características estruturais do estojo córneo. Sendo assim, diante da escassez de estudos sobre a relação mineral do estojo córneo e o ambiente em que vive, o presente estudo objetivou conhecer e associar fatores nutricionais e ambientais com a formação do estojo córneo em potros da raça Crioula, visando prevenir, previamente, problemas podais na vida adulta desses animais.

5 CAPÍTULO I- Concentrações dos minerais (Ca, Cu e Zn) na epiderme do casco de potros da raça Crioula em diferentes regiões fisiográficas do RS

Capítulo formatado conforme as normas da revista Brasileira de Zootecnia

Resumo

O presente estudo avaliou o perfil mineral de Ca, Cu e Zn no estojo córneo, pré e pós-desmame, correlacionando com a pigmentação, gênero e faixa etária de potros da raça Crioula. Foram utilizados 41 potros (pré-desmame) e 28 (pós-desmame), oriundos de cinco criatórios de distintas regiões do Rio Grande do Sul, Brasil. A coleta das amostras da epiderme do casco foi realizada por groseamento na seção dorso-proximal da muralha do casco, obtendo-se duas gramas de farelo, sendo o material coletado, avaliado por espectrometria de absorção atômica. A composição química do casco no tempo, desde o nascimento até a troca do casco fetal foi determinada, levando-se em consideração a localização da linha de crescimento fetal em relação à coroa do casco, considerando-se três estágios (1° estágio: linha distanciada a 2,3cm da coroa do casco em potros de até 47 dias; 2° estágio: linha entre 2,3 a 4,6cm da coroa do casco, em potros com idades acima de 47 dias a 126 dias de vida; 3° estágio: linha distanciada em mais de 4,6cm, com potros em torno de 186 dias de vida). Variações ocorreram nos teores dos minerais Ca, Cu e Zn entre o casco fetal (Ca: $571,0 \pm 139,4$, Cu: $14,5 \pm 7,6$ e Zn: $130,0 \pm 30,5$ mg kg⁻¹; P<0,05) e definitivo (Ca: $653,0 \pm 169,2$, Cu: $33,8 \pm 11,5$, Zn: $69,3 \pm 36,8$ mg kg⁻¹; P<0,05), nos períodos pré-desmame (Ca: $620,0 \pm 184$ mg kg⁻¹, Cu: $17,2 \pm 21,2$ mg.kg⁻¹, Zn: $103,0 \pm 75,5$ mg.kg⁻¹; P<0,05) e pós-desmame (Ca: $517,5 \pm 181$, Cu: 0, Zn: $79,0 \pm 41,7$ mg kg⁻¹; P<0,05). Houve associação moderada positiva com faixa etária dos potros no pré-desmame para Ca e Cu (r= 0,5, 0,57, respectivamente; P<0,05) e negativa para Zn (r=-0,69; P<0,05). Já no pós-desmame associação positiva entre Ca e Zn (r= 0,36, 0,64, respectivamente; P<0,05) e negativa para Cu (r=-0,39; P<0,05). Não houve variação nas concentrações desses minerais no estojo córneo de diferente pigmentação (P>0,05) e gênero (P>0,05) dos potros. Portanto, o presente estudo verificou diferenças nas concentrações de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco dos potros da raça Crioula, entre casco fetal e definitivo, desde o nascimento até o pós-desmame, independente da pigmentação.

Palavras-chave: concentração química, crioulo, equino, estojo córneo, metabolismo

Abstrat

The present study evaluated the mineral profile of Ca, Cu and Zn in epidermal tissues, pre and post weaning, correlating with the pigmentation, gender and age range of Criollo foals. A total of 41 Criollo foals were used during the first moment (pre-weaning) and 28 colts in a second moment (post-weaning), originated from five farms of distinct physiographic regions of Rio Grande do Sul, Brazil. The collection of samples of the epidermal tissue of the hoof was performed by rasping the dorsal-proximal section of the wall of the hoof obtaining two grams of bran; later evaluated by atomic absorption spectrometry. The chemical composition of the hull, from birth to fetal hull exchange, was determined taking into account the location of the fetal growth line in relation to the hoof crown, considering three stages (1° stage: growth line distanced up until 2,3cm of the hull crown in foals of until 47 days of age; 2° stage: growth line between 2,3 and 4,6cm from the hoof crown in foals of over 47 days until 126 days of age; 3° stage: growth line distanced at over 4,6cm, with colts with around 186 days of age). Variations occurred in the Ca, Cu and Zn mineral concentrations between the fetal hoof (Ca: 571.0 ± 139.4 , Cu: 14.5 ± 7.6 , Zn: 130.0 ± 30.5 mg kg⁻¹; P<0.05) and definitive hoof (Ca: 653.0 ± 169.2 , Cu: 33.8 ± 11.5 , Zn: 69.3 ± 36.8 mg kg⁻¹; P<0.05), in the pre- (Ca: 620.0 ± 184 mg kg⁻¹, Cu: 17.2 ± 21.2 , Zn: 103.0 ± 75.5 mg kg⁻¹; P<0,05) and post-weaning (Ca: 517.5 ± 181 , Cu: 0, Zn: 79.0 ± 41.7 mg kg⁻¹; P<0,05).

79.0±41.7 mg kg⁻¹; P<0.05). There was moderate positive association with age range of pre-weaning foals for Ca and Cu (r = 0.5, 0.57, respectively; P<0.05) and negative for Zn (r= -0,69; P<0,05). As for post-weaning, positive correlation between Ca and Zn (r = 0.36, 0.64, respectively; P<0.05) and negative for Cu (r= -0,39; P<0,05). There was no variation of Ca, Cu and Zn in the hooves of different pigmentation (P>0,05) and genus (P>0.05) of the criollo foals. Therefore, this study determined that the concentrations of Ca, Cu and Zn in the epidermal tissues of the hoof of the Criollo foals are different between fetal and definitive hooves from birth to post-weaning.

Key words: chemical concentration, criollo, equine, hoof capsule, metabolism

5.1 Introdução

A formação e resistência do estojo córneo de potros está fortemente relacionada com a composição química da cápsula do casco, estando esta associada as condições nutricionais recebidas pela égua, durante o período gestacional, lactacional, somados ao aporte forrageiro durante a amamentação. Além disso, vários outros fatores podem afetar o metabolismo mineral epidermal do casco de potros, incluindo genética, regime de criação, estação do ano e a composição química do solo. Em torno de 65 dias de gestação, os cascos do feto equino já podem ser observados radiograficamente no útero da mãe (Curtis, 2017). Após o nascimento, inicia-se um período de quatro meses de crescimento intenso do casco (Souza et al., 2017), sendo possível observar um anel ou linha de crescimento que circunda toda a muralha. Tal linha demarca o desenvolvimento de um casco definitivo que substituirá o casco fetal (Curtis, Martin e Hobbs, 2014).

Desde o nascimento, as diferenças de pigmentações são observadas no estojo córneo do casco desses indivíduos e variações foram reportadas em alguns estudos quanto as concentrações de minerais de Ca, Cu e Zn em equinos das raças Pantaneira, Mangalarga Marchador (Faria et al., 2005) e campeiro (Mendes et al., 2017).

Dessa forma, a epiderme, por ser um tecido avascular, é nutrida por difusão e diferença de gradiente de concentração através da derme, tecido altamente vascularizado e innervado, localizado imediatamente abaixo da mesma (Sisson, 1986; Tomlinsson, Müller e Fakler, 2004). Acredita-se que, a concentração mineral esteja intimamente associada à integridade e qualidade da epiderme queratinizada (Ballantine et al., 2002), ou seja, a qualidade do tecido queratinizado da epiderme depende da nutrição (Mülling et al., 1999). Os elementos minerais são essenciais

para o metabolismo do organismo e são cofatores para diversas enzimas que atuam em processos catalíticos (Cintra, 2016), pois são substâncias inorgânicas que compõem os alimentos e estão divididos em dois grupos: macrominerais, àqueles necessários em concentrações relativamente altas (g.dia^{-1}); e os microminerais, que são necessários em pequenas concentrações (mg.dia^{-1}).

Sendo assim, alguns minerais desempenham papel fundamental na nutrição do casco, como o cálcio (Ca^{2+} , macromineral), que regula os processos de queratinização e cornificação dos queratinócitos. Esse mineral regula as transglutaminases, enzimas que são ativadas no final do processo de queratinização na transição entre o estrato granuloso e córneo. São responsáveis pela reticulação dos filamentos de queratina com proteínas para formação do envelope córneo, reforçando o citoesqueleto dos queratinócitos (Bragulla e Homberger, 2007).

Já o cobre (Cu^{2+}), tem relevante função catalítica como cofator do citocromo C oxidase, enzima terminal da cadeia transportadora de elétrons, apresentando relação direta com a respiração e a fosforilação oxidativacelular. O cobre é componente do complexo Cu/Zn superóxido desmutase, uma importante enzima que previne a oxidação dos lipídios da substância cementante intercelular do tecido queratinizado (Van Riet et al., 2013).

Outro nutriente chave à queratinização é o zinco (Zn^{3+} , micromineral) (Smart & Cymbulak, 1997; Mülling et al., 1999). Estruturalmente o Zn é indispensável, pois é cofator dos *Zinc Fingers*, proteínas que utilizam o zinco para estabilização de suas estruturas e que tem relação direta com a síntese proteica necessária para a formação dos filamentos de queratina (Van Riet et al., 2013). Este micromineral catalisa diversas enzimas participantes do processo de queratinização como a RNA polimerase, fosfatase alcalina, álcool desidrogenase, dentre outras (Tomlinson et al., 2004), regulando a proteína quinase C para a geração de energia, a calmodulina, responsável pelo transporte do Ca, indiretamente a atividade das transglutaminases e participa da composição da enzima superóxido desmutase, conforme citado anteriormente (Van Riet et al., 2013).

Baseado na hipótese de que há variação nas concentrações dos minerais na epiderme do casco de potros pertencentes à raça Crioula, criados em pastagens nativas, o presente estudo avaliou o perfil dos minerais Ca, Cu e Zn na epiderme dos cascos fetais e definitivos, pré e pós-desmame analisou as diferenças na

composição química quanto as características de pigmentação, e sua associação com gênero e faixa etária dos potros pertencentes a raça Crioula.

5.2 Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), sob o nº 101973/2017.

Quarenta e um potros da raça Crioula descendentes de 12 ganhões da raça Crioula, nascidos de setembro a janeiro nas estações de primavera/verão, foram selecionados de cinco (5) criatórios distribuídos em cinco (5) cidades do Rio Grande do Sul, Brasil (Capão do Leão, Jaguarão, Arroio Grande, Dilermando de Aguiar e Santa Maria). Os potros foram mantidos com as éguas em pastagens naturais, principalmente compreendendo, *Paspalum notatum* (grama forquilha), *Desmodium incanum* (pega pega), *Axonopus compressus* (grama tapete) *Paspalum dilatatum* (grama melador), *Cynodon dactylon* (grama bermudas) e, tiveram acesso *ad libitum* água.

Os solos destas regiões foram classificados como: Litorânea (**Argissolo com luvisolo- Arroio Grande**) e (**Argissolo Amarelo – Capão do Leão**), Depressão Central (**Argissolo Vermelho - Dilermando de Aguiar e Santa Maria**) e Escudo Rio Grandense (**Planossolo Háptico Eutrófico – Jaguarão**), com geografia distinta na região Sul do Rio Grande do Sul.

O estudo foi realizado no período de dezembro de 2017 a novembro de 2018 e consistiu em dois momentos de coleta (pré e pós-desmame). No Pré-desmame utilizou-se 41 potros, 16 machos e 25 fêmeas, do nascimento a 186 dias de vida nas estações verão e outono. No pós-desmame foram utilizados 28 potros (já avaliados no pré-desmame), a partir de 60 dias pós o desmame.

A redução no número de animais utilizados no estudo durante o período de pós-desmame ocorreu por óbito ou comercialização.

5.2.1 Coleta de amostra do casco

Antes da coleta, os cascos foram lavados com detergente isento de minerais e secos com álcool absoluto. As amostras retiradas da epiderme do casco dos potros da raça Crioula foram realizadas na face dorso proximal de ambos os

membros anteriores, por intermédio de uma grosa (Nicholson[®], 14" 350 mm), no qual se obteve pelo menos, duas gramas (2g) de farelo da muralha do casco. Para essa coleta, foi descartada a porção superficial do caso, a fim de evitar contaminação de minerais do ambiente, posteriormente sendo acondicionadas em tubos de polipropileno tipo Falcon de 50 ml, devidamente identificados e lacrados.

5.2.2 Análise do Casco

Os teores de Cálcio, Cobre e Zinco foram determinados através da coleta de aproximadamente 250 mg de amostra da epiderme do casco, seguindo-se a metodologia utilizada no Exercício Colaborativo CRM-Agro FT_012016 (2016), com modificações para melhorar a decomposição das amostras. As amostras foram acondicionadas diretamente em tubos de borosilicato. Logo, adicionou-se 5,0 mL de HNO₃ 65% v v⁻¹ bidestilado, acoplou-se o sistema de refluxo aos tubos e colocou em bloco digestor a 150 °C por duas horas. Após esse período as amostras apresentavam uma coloração intensa, característica da decomposição da amostra. Para deixar a solução mais límpida, após esfriar, adicionou-se 1,0 mL de H₂O₂ e levou-se ao bloco digestor por mais 30 minutos na mesma temperatura. Posteriormente, as amostras foram transferidas para frascos de polipropileno e aferidas à 20 mL com água deionizada. Os elementos Ca, Cu e Zn foram quantificados pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (F AAS).

As soluções padrões utilizadas na calibração instrumental foram obtidas de suas respectivas soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ para Ca e Cu e 10000 mg L⁻¹ para Zn, preparada sem meio de HNO₃ a 1% (v v⁻¹). Para a determinação de Ca por F AAS uma solução de cloreto de cézio 1% (m v⁻¹) e cloreto de lantânio 10% (m v⁻¹) foi adicionada as amostras como supressor de ionização e formação de óxidos, respectivamente. Onde se obteve o limite de detecção (LD) para Cálcio de 0,048 mg L⁻¹, Cobre de 0,012 mg.L-1 e para Zinco de 0,0045 mg L⁻¹.

5.2.2.1 Análise da composição química e da pigmentação do casco: do nascimento (casco fetal) ao casco definitivo

A composição química do casco no tempo, desde o nascimento até a troca do casco fetal foi determinada levando-se em consideração a localização da linha de crescimento fetal (Figura 1) em relação à coroa do casco. Foram considerados três estágios de avaliação de estojo córneo (Figura 2), sendo o primeiro quando a linha se distanciava até 2,3 cm da coroa do casco (Figura 2; A), em potros com idade até 47 dias; no segundo estágio, com a presença da linha ocupando mais de 2,3 a 4,6 cm (Figura 2; B), com idade acima de 47 dias até 126 dias de vida; e o terceiro estágio com a linha distanciada em mais de 4,6 cm da coroa do casco (Figura 2; C), com os potros apresentando idade em torno de 186 dias de vida.

Para análise da coloração dos cascos utilizou-se como metodologia a observação visual da pigmentação do casco, sendo consideradas três (3) cores: preto (Figura 3; A), branco (Figura 3; B) e misto (cascos que continham as duas cores e rajados) (Figura 3; C).

5.2.3. Análise dos dados

Para verificar se os teores de Ca, Cu e Zn seguiam distribuição normal, foi realizado teste de Shapiro-Wilk. Como os dados não seguiram normalidade (não paramétrico), as comparações dos teores entre casco fetal e definitivo e sua relação com a pigmentação foram feitas pelo teste de Kruskal-Wallis, utilizando a mediana como método de análise. Já a relação entre os nutrientes, gênero e faixa etária foi determinada por meio do teste de correlação de Spearman. Todas as análises foram feitas por meio do software SPSS 20.0 considerando um nível mínimo de confiança de 95% ($P < 0,05$).



Figura1- Casco de potro da raça Crioula com 66 dias. Coroa (1); Linha de crescimento fetal (2)

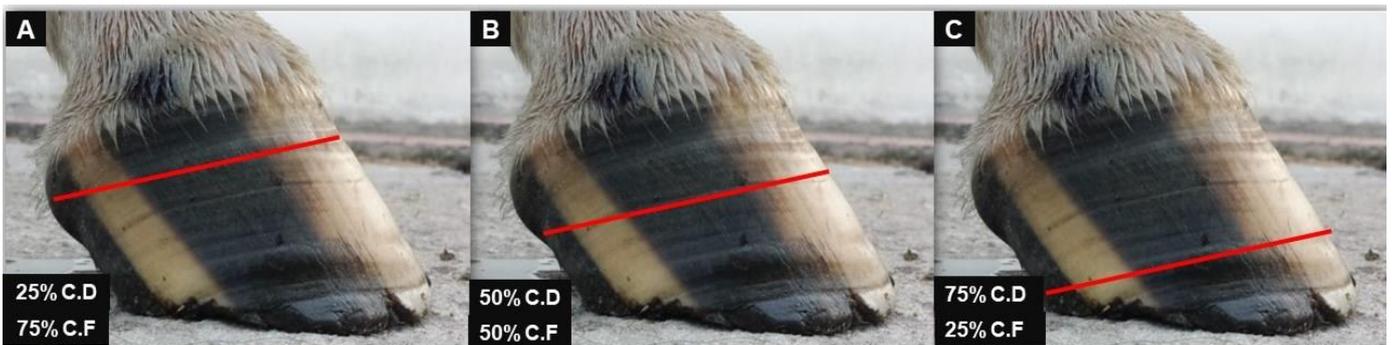


Figura 2 - Cascos de potros da raça Crioula desde o nascimento até a troca do casco fetal, levando em consideração estágio da linha de crescimento fetal. Linha de crescimento fetal no 1º estágio (A); Linha de crescimento no 2º estágio (B); Linha de crescimento fetal no 3º estágio (C); CD= casco definitivo; CF= casco fetal



Figura 3 – Pigmentação dos cascos de potros da raça Crioula. Casco preto (A); Casco branco (B); Casco misto (C).

5.3 Resultados

Variações ocorreram nas concentrações minerais do Ca, Cu e Zn entre o casco fetal e definitivo ($P < 0,05$) (Tabela 1). As concentrações de Ca e Cu no casco fetal foram inferiores ($P < 0,05$) às concentrações na epiderme do casco definitivo. Resultado inverso foi verificado para as concentrações de Zn.

Tabela 1- Composição química (mediana) da epiderme do casco fetal e definitivo de potro (a) da raça Crioula em aleitamento (mg kg^{-1}).

	Cálcio (mg kg^{-1})	Cobre (mg kg^{-1})	Zinco (mg kg^{-1})
Casco fetal	571 ^b \pm 139,4	14,5 ^b \pm 7,6	130 ^a \pm 30,5
Casco definitivo	653 ^a \pm 169,2	33,8 ^a \pm 11,5	69,3 ^b \pm 36,8

Medianas seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

A composição química da epiderme do casco variou com a idade dos potros, desde o nascimento até a troca do casco fetal para o casco definitivo ($P < 0,05$; Tabela 2). A concentração de Ca e Cu foram semelhantes quando a linha de crescimento estava localizada no 1° e 2° terço do casco, mas diferenças foram registradas quando a mesma atingiu seu terço inferior. Já as concentrações de Zn variaram entre as diferentes fases de desenvolvimento dos cascos dos potros da raça Crioula ($P < 0,05$; Tabela 2).

Tabela 2 - Composição química (mediana) da epiderme do casco de potros (as) da raça Crioula lactantes desde o nascimento até a troca do casco fetal, levando em consideração a idade dos potros e a presença da linha de crescimento fetal.

Estágios	Idade (dias)	Cálcio (mg kg^{-1})	Cobre (mg kg^{-1})	Zinco (mg kg^{-1})
1°(25%CD;75%CF)	Até 47	571 ^b \pm 112,7	15,3 ^b \pm 2,2	151 ^a \pm 11,4
2°(50%CD;50%CF)	47 ^a até 126	581 ^b \pm 145,2	12,5 ^b \pm 8,7	105,5 ^b \pm 21,4
3°(75%CD;25%CF)	186	714 ^a \pm 181,6	34,3 ^a \pm 0,4	58,5 ^c \pm 35,5

Medianas seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

%CD= percentagem casco definitivo; %CF= percentagem casco fetal

Variações ocorreram na composição mineral do estojo córneo dos potros nos períodos pré e pós-desmame dos potros ($P < 0,05$; Tabela 3). Houve variações

significativas nas concentrações dos minerais Ca e Cu, entre os períodos pré e pós-desmame ($P < 0,05$). No pós-desmame as concentrações do micromineral Cu estiveram muito reduzidas, não sendo possível sua mensuração pela metodologia de espectrometria atômica. Já o Zn, não variou entre os períodos estudados (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição química (mediana) da epiderme do casco pré e pós-desmame de potros (as) da raça Crioula (mg.kg^{-1}).

	Cálcio (mg kg^{-1})	Cobre (mg kg^{-1})	Zinco (mg kg^{-1})
Pré-desmame	620 ^a \pm 184	17,2 ^a \pm 21,2	103 ^a \pm 75,5
Pós-desmame	517,5 ^b \pm 181	LD ^b	79 ^a \pm 41,7
Mediana	571 \pm 253	12,7 \pm 33	89 \pm 63

* Medianas seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$).
LD= limite de detecção.

As concentrações de microminerais na epiderme do casco dos potros da raça Crioula de pigmentação distinta, durante a fase fetal e definitiva foram semelhantes ($P > 0,05$), não havendo diferença também entre gêneros ($P > 0,05$).

Foram significativos os coeficientes de correlação entre faixa etária dos potros e a composição química mineral do estojo córneo ($P > 0,05$). Pode-se verificar coeficientes positivos para Ca e Cu ($r = 0,50$ e $r = 0,57$, respectivamente, $P < 0,05$) e negativo para Zn ($r = -0,69$; $P < 0,05$), ou seja, os teores de Ca e Cu aumentaram com o desenvolvimento dos potros durante o período lactacional, enquanto, os teores de Zn reduziram.

Já, durante período pós-lactacional, destaca-se, porém, a associação negativa do mineral Cu. Neste período pós desmame, Ca e Zn apresentaram correlação positiva ($r = 0,36$ e $r = 0,64$, respectivamente, $P < 0,05$), enquanto que, os teores de Cu ($r = -0,39$; $P < 0,05$) diminuíram conforme os potros foram se desenvolvendo.

5.4 Discussão

O conhecimento das concentrações e variabilidade desses minerais, responsáveis pela formação da epiderme do casco de equinos, mais precisamente potros da raça Crioula, criados em sistema extensivo, durante e pós seu período

lactacional, pode fornecer importantes subsídios na fundamentação do uso de suplementos e auxiliar no manejo nutricional desses potros durante o crescimento.

Neste estudo, pode-se inferir que ocorreu variabilidade nas concentrações dos minerais na epiderme do casco definitivo, em relação ao fetal (Tabela 1). Informações relevantes e desconhecidas até o atual momento, e que provavelmente estejam vinculadas a variação na disponibilidade de micronutrientes nas fontes nutricionais, que foram distintas entre os períodos durante e pós lactacional. Ao nascimento, o potro deixou de ser nutrido via placenta e passou a receber, como principal fonte de alimentação o leite materno, somados ao consumo de volumoso (campo nativo), nos meses subsequentes. Essas variações denotam a importância do equilíbrio nutricional desses indivíduos em desenvolvimento, que se expostos a condições inadequadas, caracterizam possibilidade de falhas na formação estrutural do estojo córneo precocemente, com implicações na performance, injúrias e claudicações, quando esses animais se tornarem adultos e atletas. Problemas estes identificados por Barbosa et al. (2016), que apesar de ter realizado estudo em vacas leiteiras, associou variabilidade na composição química da epiderme dos cascos de vacas lactantes com incidência de claudicação.

Considerando o NRC para equinos, levando-se em consideração peso, idade e categoria, há exigências para suprir a necessidade de potros até dois meses, de Ca (4gdia^{-1}), Cu (20mgdia^{-1}) e Zn (80mgdia^{-1}). Neste estudo verificou-se, que o estojo córneo dos potros (com mesma idade), apresentaram 571 mg kg^{-1} de Ca, $15,3\text{ mg kg}^{-1}$ de Cu e 151 mg kg^{-1} de Zn (Tabela 2), representando 4,7, 2,5 e 6,3%, respectivamente, das exigências mensais para manutenção desses animais, dessa forma, oportunizando essas informações, para o aperfeiçoamento dos regimes alimentares desta categoria em desenvolvimento.

Após o nascimento, inicia-se um período de quatro meses de crescimento intenso do casco (SOUZA et. al., 2017), sendo possível observar um anel ou linha de crescimento que circunda toda a muralha. Tal linha demarca o desenvolvimento de um casco definitivo que substituirá o casco fetal (casco desenvolvido no útero) (CURTIS, MARTIN & HOBBS, 2014). Em um estudo realizado por Faria et al. (2005), em cascos de equinos da raça Pantaneira, os autores não verificaram diferenças entre os teores de Ca, Cu e Zn analisados, resultados distintos dos observados nesse estudo, que apesar de semelhança nas concentrações de Ca e Cu quando a linha de crescimento estava localizada no 1º e 2º terço do casco (Tabela 2),

diferenças na composição química da epiderme do casco foram observadas quando a mesma atingiu o terço inferior (potros acima de 127 dias de vida ($P < 0,05$; Tabela 2).

Já as concentrações de Zn variaram entre as diferentes fases de desenvolvimento dos cascos dos potros da raça Crioula ($p < 0,05$; Tabela 2). A variabilidade nas concentrações dos minerais na epiderme do casco definitivo, em relação ao fetal, caracteriza as diferenças em sua constituição, que provavelmente esteja vinculada as mudanças nutricionais ao longo do período lactacional dos potros da raça Crioula, que até 60 dias, fundamenta-se, principalmente, à ingestão de leite, pois o consumo de volumoso (Bolzan, 2016) começa com mais propriedade, entre 60 e 80 dias, momento em que os mesmos consomem mais matéria seca (MS). Portanto, as variações nas concentrações dos minerais estudados no estojo córneo de potros da raça Crioula em desenvolvimento confirmam a importância e participação dos minerais na constituição e fortalecimento dos tecidos epidérmicos em formação (HINTZ, 1983; MÜLLING et al., 1999; BALLANTINE et al., 2002).

Schryver et al. (1986) observaram redução de 41% na concentração de zinco no leite de éguas Puro-sangue nas primeiras cinco semanas de lactação. Lonnerdal (1991) estudou a concentração mineral no leite materno em humanos e também relatou diminuição progressiva dos teores de zinco ao longo do período lactacional. Quarenta e cinco dias pós-parto, esse autor observou que os teores de zinco do leite atingiram um valor de 25% dos valores iniciais da lactação e após seis meses, 60% dos teores médios apresentados nos primeiros 15 dias de lactação. Apesar de não terem sido monitoradas as concentrações minerais no leite materno das éguas da raça Crioula, resultados dos estudos mencionados podem explicar a redução das concentrações desta variável (Zn) durante o período lactacional dos seus descendentes (Tabela 2).

As diferenças nas concentrações minerais entre os períodos pré e pós-desmame (Tabela 3) estão vinculadas a nutrição e fatores ambientais, considerando as diferenças fisiográficas das regiões que os animais foram criados, pois fatores como: a heterogeneidade, diversidade de espécies forrageiras e estágio de crescimento dos pastos, vinculados às características físico-químicas do solo e às estações do ano, são razões de diversidade regional que impactam oscilações na concentração desses minerais nos alimentos oferecidos a esses potros (DITTRICH et al., 2010). Isso não quer dizer que os animais estão sofrendo restrição alimentar,

mas há variação na composição de sua dieta, refletindo no tecido epidérmico do casco. No período de aleitamento, as amostras foram coletadas nas estações de verão e outono; enquanto que, após desaleitamento as coletas foram realizadas nas estações de inverno e primavera, justificando as diferenças observadas (Tabela 3). O maior teor do mineral Ca no estojo córneo durante a lactação (620 mg kg^{-1}) quando comparado com o pós-desmame ($517,5 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabela 3), caracteriza o leite materno, que apresenta elevadas concentrações de Ca (média de 850 mg kg^{-1} de Ca) (Rangel et al., 2015), como principal fonte desse nutriente a dieta, refletindo positivamente nas concentrações desse mineral na epiderme do casco. Mesmo que, as variáveis associadas ao leite não tenham sido consideradas neste estudo, isso não impossibilita a determinação do real efeito sobre as concentrações dos minerais no estojo córneo.

Faria et. al. (2005), analisando os teores de minerais do casco de éguas da raça Mangalarga Marchador e Pantaneira de 5 a 10 anos de idade, criadas a pasto, no estado de Minas Gerais, observaram teores médios no casco de $232,7 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ca, $4,42 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu e $67,16 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn para a raça Mangalarga Marchador e $567,65 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ca, $23,56 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu e $116,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn, para a raça Pantaneiro, resultados esses, considerando os teores dos minerais Ca e Zn, próximos aos encontrados nesse estudo (valores medianos de 571 mg kg^{-1} de Ca, $12,7 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu e 89 mg kg^{-1} de Zn; Tabela 3), apesar das diferenças de grupo genético, faixas etárias, bem como, regiões distintas. Mendes et al. (2016), ao avaliar as concentrações minerais de Ca, Cu e Zn, oriundos da muralha dos cascos de equinos adultos da raça Campeiro encontrou $178,79 \pm 137,16 \text{ mg kg}^{-1}$, $3,51 \pm 1,61 \text{ mg kg}^{-1}$ e $163,88 \pm 36,7 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, não corroborando com os valores verificados no presente estudo (571 ± 253 , $12,7 \pm 33$ e $89 \pm 63 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, Tabela 3). Diante disso, a variação de faixa etária e grupo genético entre os estudos científicos poderia explicar a diferença dos valores encontrados, sem descartar as interferências dos níveis nutricionais dos campos nativos disponibilizados serem distintos.

Estudando a diferença de pigmentação do casco de equinos nas raças Pantaneiro e Mangalarga Marchador Faria et al., (2005) e Mendes et al. (2017), na raça Campeiro, verificaram que não há influência da concentração dos minerais na epiderme do casco em relação a pigmentação do casco equino. Os achados determinados no presente estudo compartilham de mesma opinião, podendo-se

inferir que não há diferenças nas concentrações de microminerais na epiderme do casco dos potros da raça Crioula lactantes de pigmentação distinta, tanto fetal, como definitivos ($P>0,05$), independente da diferença entre raças e localidade geográfica de criação.

Em um estudo com leite equino da raça Puro-sangue Inglês, as concentrações de Ca ($930 \text{ mg kg}^{-1}\text{dia}^{-1}$) e Cu ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}\text{dia}^{-1}$) foram insuficientes no leite materno para as necessidades do potro durante a lactação (Grace et al., 1999), tendo que o organismo mobilizar outras fontes (ossos, rim) de absorção de Ca. Quando o potro torna-se herbívoro, os teores desses minerais tendem a aumentar, se as forragens forem de boa qualidade (Pereira et al., 2017). No presente estudo, houve aumento das concentrações de Ca e Cu na epiderme do casco, com o aumento da faixa etária dos potros ($r=0,50$ e $r=0,57$, respectivamente; $P<0,05$), provavelmente relacionada à maior ingestão de sólidos (volumoso).

Considerando os aspectos analisados, o atual estudo providenciou informações essenciais que facilitarão decisões quanto à necessidade de ingestão de minerais como Ca, Cu e Zn para prevenção de possíveis injúrias ao casco de equinos da raça Crioula.

5.5 Conclusões

A concentração dos minerais Ca, Cu e Zn é diferente entre casco fetal e casco definitivo de potros da raça Crioula e entre períodos pré e pós-desmame, sendo independente de sua pigmentação.

As concentrações dos minerais Ca e Cu na epiderme do casco de potros da raça Crioula aumenta com o desenvolvimento do potro, enquanto o de Zn reduz.

Não há diferença das concentrações dos minerais Ca, Cu e Zn no casco de potros da raça Crioula entre gêneros.

6 CAPÍTULO II - Composição química da epiderme do casco de potros da raça Crioula em áreas de campo natural de diferentes regiões fisiográficas do RS e estações do ano

Capítulo formatado conforme as normas da revista Brasileira de Zootecnia

Resumo

Este estudo avaliou os teores de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula, pré e pós-desmame, correlacionando-os com as concentrações desses minerais no solo e na vegetação. Foram utilizados 41 potros em um primeiro momento (pré-desmame) e 28 potros, pós-desmame (segundo momento). A coleta das amostras do estojo córneo foi realizada, por intermédio de uma grossa, na face dorso proximal das muralhas dos membros anteriores, no qual se obteve duas gramas de farelo. Foram coletadas 17 amostras das forrageiras, em quatro estações do ano, posteriormente 10 amostras de solo por propriedade em cinco regiões fisiográficas distintas (Santa Maria, Dilermando de Aguiar, Jaguarão, Arroio Grande e Pelotas). Todas as amostras foram analisadas por Espectrometria de Absorção Atômica. Houve variabilidade nas concentrações de Ca, Cu e Zn no estojo córneo de potros da raça Crioula entre as regiões fisiográficas distintas ($P < 0,05$), e entre estações do ano. Não houve associação entre os teores de Ca ($P > 0,05$) da epiderme do casco dos potros nos períodos de pré-desmame e pós-desmame com as forragens de campo nativo coletadas nas distintas regiões fisiográficas. Entretanto, as concentrações dos minerais Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula apresentaram associação positiva ($r = 0,69, 0,43; P < 0,05$) com as pastagens nativas nas distintas regiões fisiográficas no período de pré-desmame. Já durante o período pós-lactacional, apenas o Cu ($r = 0,74; P < 0,05$) foi associado positivamente. Portanto, o presente estudo determinou diferenças nas concentrações dos minerais Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula entre as diferentes regiões fisiográficas e estações do ano, no estado do Rio Grande do Sul.

Palavras-chave: casco, crioulo, equino, minerais, pastagem nativa

Abstract

This study evaluated the levels of Calcium (Ca), Copper (Cu) and Zn (Zn) in the epidermal tissue of the hoof wall of pre- and post-weaning Criollo foals, correlating them with concentrations in soil and vegetation. A total of 41 foals were used at pre-weaning (first moment) and post-weaning (second moment). The collection of epidermal tissue samples was performed by a rasp on the proximal dorsum section of the walls of the anterior limbs, in which 2 grams of bran were obtained. Seventeen samples of forage were collected, in four seasons of the year, posteriorly 10 samples of soil were collected per property in five distinct physiographic regions (Santa Maria, Dilermando de Aguiar, Jaguarão, Arroio Grande and Pelotas). All samples were analyzed by Atomic Absorption Spectrometry. Variations occurred in the concentrations of Ca, Cu and Zn in the epidermal tissue of Criollo foals between the different physiographic regions ($P < 0,05$), and according to the seasons. There was no association between the Ca ($P > 0,05$) content of the epidermal tissue of foals of both pre-weaning and post-weaning and the forage of the native pastures collected in the distinct physiographic regions. However, the mineral concentration for Cu and Zn presented positive association ($r = +0,69, +0,43; P < 0,05$) with native pastures of the distinct physiographic regions in pre-weaning; as in post-weaning, only Cu ($r = +0,74; P < 0,05$) was correlated positively. Therefore, the present study determined the different concentrations of Ca, Cu and Zn in the epidermal tissue of the hoof of Criollo foals between different physiographic regions in the state of Rio Grande do Sul, as well as between seasons.

Key words: criollo, equine, hoof, minerals, native pasture

6.1 Introdução

A elevada incidência de doenças no sistema digital dos equinos, que causam claudicação tem promovido grande impacto ao desempenho atlético em cavalos de esportes, sendo um dos maiores problemas ortopédicos na indústria equestre. Neste sentido, o casco desempenha papel fundamental, pois, além de absorver o impacto com o solo, auxilia na propulsão, suporta o peso do animal, resiste ao desgaste, atua como uma bomba hidráulica para o retorno sanguíneo da extremidade do membro locomotor, sendo então, essa estrutura uma peça fundamental para a higidez do equino (Cescon, 2010).

Sendo assim, estudo com vacas leiteiras, evidenciam que cascos pobres em qualidade ou com perda de elasticidade, dureza, alterações de propriedades higroscópicas, desalinhamento da cápsula córnea, associadas às alterações na composição do tecido, ocasionadas por fatores nutricionais e ambientais, promove modificações nocivas ao metabolismo epidermal (estojo córneo), o que dá início a desequilíbrios precoces na formação do mesmo, desencadeando assim, consequências irreversíveis à estrutura anatômica digital (Mendes et al., 2013).

Logo, entre os principais elementos que influenciam a qualidade do casco estão: a nutrição, a hereditariedade, o ambiente e o casqueamento (Faria, 2005). A dieta ofertada ao animal afeta diretamente a saúde, qualidade e formação do mesmo, sendo a epiderme influenciada por deficiências nutricionais, pois promovem alterações nas suas propriedades físicas, resultando em desequilíbrios precoces na sua formação, com consequências irreversíveis à estrutura anatômica digital (Mendes et al., 2013).

Além disso, a deficiência de minerais, proteínas e vitaminas na dieta afeta a queratogênese e o aspecto exterior do casco. Entretanto, fatores como o ambiente também influenciam na saúde e qualidade do casco, o que exige por parte do produtor, uma avaliação do sistema como um todo, considerando o conhecimento da real necessidade de suplementação mineral em função de deficiências neste ambiente: no solo, na planta e na alimentação dos animais.

Dentre os minerais o cálcio, cobre e o zinco são elementos passíveis de se apresentar deficientes no solo, na vegetação e em animais em pastejo em campo nativo de diferentes regiões fisiográficas do estado do Rio Grande do Sul. Por isso é

fundamental que estes minerais sejam alvo de um estudo mais detalhado, uma vez que estes são, provavelmente, os minerais que desempenham o maior número de funções metabólicas de formação da epiderme do casco.

Apesar da existência de alguns estudos (Gavillon e Quadros, 1970; Gavillon e Quadros, 1976; Wunsch et al., 2005), que se concentraram em determinar os teores de cálcio, cobre e o zinco no solo e na vegetação de campo nativo no estado do Rio Grande do Sul, os mesmos analisaram poucas épocas de observação e jamais foram correlacionados com a concentração mineral do estojo córneo de potros da raça Crioula, sendo inexistentes as investigações sobre o comportamento destes elementos quando se considera a função solo-planta-animal nas distintas épocas do ano, em nível do Rio Grande do Sul.

Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar os teores medianos de Cálcio (Ca^{2+}), Cobre (Cu^{2+}) e Zinco (Zn^{3+}) na epiderme do casco de potros da raça Crioula pré e pós-desmame, associando com os teores dos mesmos minerais no solo/planta, em condições de campo natural, em cinco (5) solos representativos das distintas regiões fisiográficas (Litorânea, Depressão Central e Escudo Rio Grandense), do estado do Rio Grandedo Sul, Brasil, ao longo de quatro estações de observação. Este estudo teve por finalidade obter dados basais que propiciem melhor entendimento do comportamento destes elementos em áreas de campo natural, possibilitando futuras indicações de melhoramento destas áreas e o conseqüente incremento da produtividade animal.

6.2 Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar (CEEA) local, sob o nº 101973/2017. Todas as técnicas utilizadas neste estudo não foram invasivas.

Quarenta e um potros da raça Crioula descendentes de 12 garanhões da raça Crioula, nascidos de setembro a janeiro nas estações de primavera/verão, foram selecionados de cinco (5) criatórios das regiões do Rio Grande do Sul, Brasil: Capão do Leão, Jaguarão, Arroio Grande, Dilermando de Aguiar e Santa Maria. Os potros foram mantidos com suas mães em pastagens naturais de *Paspalum notatum* (grama forquilha), *Desmodium incanum* (pega pega), *Axonopus compressus* (grama tapete) *Paspalum dilatatum* (grama melador), *Cynodon dactylon* (grama bermudas) e tiveram acesso *ad libitum* água.

Os solos destas regiões foram classificados como: Litorânea (**Argissolo com luvissoleto - Arroio Grande**) e (**Argissolo Amarelo – Capão do Leão**), Depressão Central (**Argissolo Vermelho - Dilermando de Aguiar e Santa Maria**) e Escudo Rio Grandense (**Planossolo Háptico Eutrófico – Jaguarão**), com geografia distinta na região Sul do Rio Grande do Sul.

O estudo foi realizado de dezembro de 2017 a novembro de 2018 e consistiu em dois momentos de coleta (pré e pós-desmame). No pré-desmame utilizou-se 41 potros do nascimento a 186 dias de vida. No pós-desmame foram utilizados 28 potros (já avaliados no pré-desmame) a partir de 60 dias após o desmame. Em quatro estações do ano (verão: dezembro a fevereiro; outono: março a maio; inverno: junho a agosto; primavera: setembro a novembro), com propósito de averiguar os efeitos do desaleitamento sobre a constituição mineral do estojo córneo.

A redução no número de animais no pós-desmame ocorreu por óbito e comercialização.

6.2.1 Coleta de amostra e análise do estojo córneo

A coleta de amostras do estojo córneo, dos cascos dos potros, foi realizada na face dorso proximal, de ambos os membros anteriores, por intermédio de uma grossa (Nicholson®, 14" 350 mm), no qual se obteve duas gramas (2g) de farelo oriundo da muralha do casco.

Este protocolo foi realizado em duas etapas: pré-desmame (potros do nascimento a 186 dias de vida; no verão e outono) e pós-desmame (potros de 187 a 353 dias de vidas; no inverno e primavera).

Logo, o material coletado foi conservado a temperatura ambiente em tubos falcon de 50 ml, esterelizados e encaminhados ao Laboratório de Química da UFPel (LabMequi). Os minerais Ca, Cu e Zn das amostras do casco foram determinados, seguindo a metodologia utilizada no Exercício Colaborativo CRM-Agro FT_012016 (2016), com modificações para melhorar a decomposição das amostras.

Foram pesados aproximadamente 250 mg de amostra diretamente em tubos de borossilicato. Posteriormente, adicionou-se 5,0 mL de HNO₃ 65% v v⁻¹ bidestilado, acoplou-se o sistema de refluxo aos tubos e colocou em bloco digestor a 150 °C por duas horas. Após esse período as amostras apresentavam uma coloração intensa,

característica da decomposição da amostra. Para deixar a solução mais límpida, após esfriar, adicionou-se 1,0 mL de H_2O_2 e levou-se ao bloco digestor por mais 30 minutos na mesma temperatura. Posteriormente, as amostras foram transferidas para frascos de polipropileno e aferidas à 20 mL com água deionizada. Os elementos Ca, Cu e Zn foram quantificados pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (F AAS).

As soluções padrões utilizadas na calibração instrumental foram obtidas de suas respectivas soluções estoque de 1000 mg L^{-1} para Ca e Cu e 10000 mg L^{-1} para Zn, preparada sem meio de HNO_3 a 1% (v v^{-1}). Para a determinação de Ca por F AAS uma solução de cloreto de céscio 1% (m v^{-1}) e cloreto de lantânio 10% (m v^{-1}) foi adicionada as amostras como supressor de ionização e formação de óxidos, respectivamente. Onde se obteve o limite de detecção (LD) para Cálcio de $0,048 \text{ mg L}^{-1}$, Cobre de $0,012 \text{ mg L}^{-1}$ e para Zinco de $0,0045 \text{ mg L}^{-1}$.

6.2.2 Coleta de amostras da forragem e análise bromatológica

A coleta de amostras das pastagens nativas foi efetuada durante dez meses (dezembro 2017 a novembro 2018) e consistiu em duas (2) etapas (pré-desmame e pós-desmame dos potros), afim de correlacionar os teores minerais das pastagens com os da epiderme do casco dos potros da raça Crioula, considerando os efeitos do desmame sobre o teor mineral de Ca, Cu e Zn.

Para determinação da concentração dos nutrientes nas pastagens, coletou-se material para análise bromatológica, conforme a metodologia de Genro e Orqis (2008), a qual consistia em coletar 17 subamostras da vegetação disponível às éguas e potros, homogeneizadas e compostas em uma amostra de um (1) kg de massa verde, durante as quatro estações do ano e em cada propriedade estudada. As subamostras eram colhidas em punhados com corte acima do mantilho, utilizando tesouras de amostragens, em caminhamento regular que cobria todo o poteiro a disposição dos animais. Na sequência, essas amostras eram desidratadas em forno elétrico a 100°C , durante quatro horas, sendo posteriormente, moídas em mixer com potência de 400 watts (Philips Walita, Brasil) com peneiras de um (1) mm e embaladas em sacos plásticos sem a presença de ar. Na sequência, essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de química da Universidade Federal de Pelotas-UFPEL, RS, para análise de Cálcio (Ca^{2+}), Cobre (Cu^{2+}) e Zinco (Zn^{3+})

por metodologia de espectrometria de absorção atômica, conforme descrito anteriormente para análise das concentrações minerais da epiderme do casco.

6.2.3 Coleta de amostras e análise de solo das diferentes regiões

Foram coletadas 10 subamostras de solo por propriedade, por ocasião da primeira amostragem dos animais, foi feita por caminhamento regular da área em que os animais permaneciam, a uma profundidade de 15 cm com trado tipo calador de aço inoxidável. Posteriormente foram misturadas e homogeneizadas, para obtenção de uma amostra representativa de aproximadamente um (1) kg. Para a determinação das concentrações de Ca, Zn e Cu foi utilizada metodologia de espectrometria de absorção atômica (Tedesco et al., 1985, Tedesco et al., 1995), no Laboratório de análise de solos da UFPel.

6.2.4 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram submetidas a testes de normalidade de Shapiro-wilk. Após, observada ausência de normalidade na distribuição dos dados, as comparações nos teores de Ca, Cu e Zn entre as regiões e entre as estações do ano foi feita por meio de testes de Kruskal-Wallis, seguidos de testes de comparação múltipla de Dunn. Já a relação entre os nutrientes no estojo córneo dos potros com análise bromatológica das plantas forrageiras nas distintas regiões fisiográficas foi avaliada por meio de testes de correlação de Spearman. Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do software SPSS 20.0, considerando um nível mínimo de confiança de 95% ($P < 0,05$).

6.3 Resultados

Variações ocorreram nas concentrações minerais do Ca, Cu e Zn dos cascos de potros lactantes entre as regiões fisiográficas estudadas ($P < 0,005$) (Tabela 1). Maior variabilidade nas concentrações dos teores de Ca e Cu foi observada entre as regiões de Capão do Leão e Arroio Grande, assim como, entre Jaguarão e Arroio Grande para Cu e Zn e entre, Santa Maria e Arroio Grande e Arroio Grande e Dilermano de Aguiar para o mineral Zn.

Tabela 1- Concentrações medianas (mg kg^{-1}) de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros lactantes da raça Crioula em diferentes regiões fisiográficas do RS.

Tecido epidermal no pré-desmame (mg kg^{-1})			
Regiões	Cálcio	Cobre	Zinco
Santa Maria	511,5 ^{ab} ±88,5	14,9 ^{abc} ±0,76	147 ^{ab} ±13,14
Capão do Leão	425 ^b ±138,4	7,3 ^{bc} ±10,46	103 ^{abc} ±15,99
Jaguarão	615 ^{ab} ±121,79	13,5 ^{bc} ±1,46	113 ^{ab} ±23,47
Arroio Grande	698 ^a ±158,21	34,3 ^a ±0,69	58,5 ^c ±34,38
Dilermando	595,5 ^{ab} ±157,74	17,5 ^{abc} ±0,67	147,5 ^{ab} ±10,66

Medianas seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Também, ocorreram variações nas concentrações minerais de Ca, Cu e Zn na epiderme dos cascos de potros pós-desmame entre as regiões fisiográficas estudadas ($P < 0,005$) (Tabela 2). Maior variabilidade nas concentrações dos teores de Ca, Cu e Zn foi observada entre as regiões Capão do Leão e Dilermano de Aguiar, assim como, entres as regiões de Santa Maria e Capão do Leão para Cu e Zn, Capão do Leão e Arroio Grande para Cu e Santa Maria e Arroio Grande e Arroio Grande e Dilermano de Aguiar para o mineral Zn.

Tabela 2- Concentrações medianas (mg kg^{-1}) de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula no pós-desmame em diferentes regiões fisiográficas do RS.

Tecido epidermal pós-desmame (mg kg^{-1})			
Regiões	Cálcio	Cobre	Zinco
Santa Maria	607,5 ^{ab} ±221,81	0 ^b	117 ^a ±10,11
Capão do Leão	438 ^b ±80,2	34,7 ^a ±0,32	70 ^b ±16,42
Arroio Grande	521 ^{ab} ±135,67	0 ^b	75 ^b ±8,91
Dilermando	750,5 ^a ±146,63	0 ^b	127,5 ^a ±7,85

Medianas seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Variações ocorreram nas concentrações minerais de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula em função das diferentes estações do ano ($P < 0,001$) (Tabela 3). Maiores concentrações de Ca foram observadas na primavera e outono, enquanto que as concentrações de Cu foi superiores no outono. No verão e primavera, as concentrações de Zn foram superiores aos outros minerais.

Tabela 3 - Concentrações medianas (mg kg^{-1}) de Ca, Cu e Zn na epiderme do casco de potros da raça Crioula em diferentes estações do ano.

Tecido epidermal (mg kg^{-1})			
Estação	Cálcio	Cobre	Zinco
Verão	573 ^c ± 132,06	13,9 ^b ± 3,87	126 ^a ± 21,86
Outono	677 ^b ± 176,34	34,3 ^a ± 0,67	58,5 ^c ± 33,48
Inverno	471 ^d ± 136,44	0 ^c	74,1 ^b ± 11,28
Primavera	729 ^a ± 187,08	0 ^c	125,5 ^a ± 10,88

Medianas seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Houve variação nas concentrações de Ca, Cu e Zn nas pastagens nativas em função das diferentes estações do ano ($P < 0,001$) (Tabela 4). Maiores concentrações de Ca foram observadas no inverno, Cu no outono, enquanto que, no verão e primavera, a concentração de Zn foi superior aos outros minerais.

Tabela 4- Concentrações medianas (mg kg^{-1}) de Ca, Cu e Zn nas pastagens nativas em diferentes estações do ano.

Pastagens Nativas (mg kg^{-1})			
Estação	Cálcio	Cobre	Zinco
Verão	1704 ^b ± 589,12	3,9 ^b ± 0,37	66 ^a ± 33,09
Outono	1904 ^b	41,7 ^a	3,89 ^c
Inverno	2780 ^a ± 23,54	0 ^c	23,3 ^b ± 6,66
Primavera	1434 ^b ± 148,59	0 ^c	58,8 ^a ± 6

Medianas seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Quando considerada a relação entre composição química mineral do estojo córneo com a composição bromatológica da pastagem, não houve correlação para o mineral Ca, o Cu foi correlacionado positivamente nos períodos de pré-desmame e pós-desmame ($r=0,69$; $r=0,74$ respectivamente; $P<0,05$), sendo o Zn somente no período lactacional ($r=0,43$; $P<0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5- Coeficientes de correlação entre os teores medianos de Ca, Cu e Zn (mg kg^{-1}), nas plantas forrageiras dos solos **Argissolo com luvisolo, Argissolo Amarelo, Argissolo Vermelho e Planossolo Háptico Eutrófico** em cada região fisiográfica e estações do ano (verão, outono, inverno e primavera) e os teores medianos desses minerais na epiderme do casco de potros da raça Crioula pré e pós-desmame.

Estações	Estojo córneo no pré-desmame (mg kg^{-1})			Estojo córneo no pós-desmame (mg kg^{-1})		
	Verão/Outono			Inverno/Primavera		
	Ca	Cu	Zn	Ca	Cu	Zn
Pastagens naturais Argissolos com luvisolo, Argissolo Amarelo, Argissolo Vermelho, Planossolo Háptico Eutrófico em cada região fisiográfica (mg.kg^{-1})	Ca	-0,23 ^{ns}	-	-	-0,2 ^{ns}	-
	Cu	-	0,69*	-	-	0,74*
	Zn	-	-	0,43*	-	-

ns: não significativo. * $P < 0,05$, pelo teste de correlação de Spearman; Ca= teor de cálcio; Cu= teor de cobre; Zn= teor de zinco

Quando considerada a relação entre composição química mineral dos solos com composição bromatológica da pastagem, não houve correlação para o mineral Cu, enquanto houve correlação positiva dos teores de Ca e Zn nas pastagens nativas em relação aos teores dos mesmos minerais no solo de cada região ($r=0,96$, $r=0,60$ respectivamente; $P<0,05$).

As concentrações de Ca, Cu e Zn nos solos das diferentes regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul são distintas (Tabela 6).

Tabela 6 - Composição química dos solos **Argissolo com luvisolo, Argissolo Amarelo, Argissolo Vermelho e Planossolo Háplico Eutrófico** em cada região fisiográfica (mg kg⁻¹).

Teor mineral nos solos (mg kg⁻¹)			
	Cálcio	Cobre	Zinco
Santa Maria (Argissolo Vermelho)	1,3	0,6	2,2
Capão do Leão (Argissolo Amarelo)	3,5	0,8	1,9
Jaguarão (Planossolo Háplico Eutrófico)	2,2	0,8	2,3
Arroio Grande (Argissolo com luvisolo)	3,9	0,6	4,5
Dilermando (Argissolo Vermelho)	1,5	0,6	1,2

6.4 Discussão

A variação das concentrações de minerais na epiderme do casco de potros, tanto no pré como no pós-desmame (Tabela 1 e 2), entre as regiões aponta a necessidade de avaliar o sistema de produção como um todo, antes de suplementar equinos. Sabe-se que, em muitos casos de problemas podais, ou até mesmo para a prevenção desses problemas, suplementa-se potros com produtos comerciais para deficiência mineral, porém não se averigua, se o animal realmente necessita.

Com essas observações infere-se que a suplementação mineral pode estar sendo utilizada de forma inadequada, e o produtor investindo em métodos que desconsideram particularidades do animal e do ambiente, visto que potros criados em regiões distintas tem concentrações de minerais na epiderme do casco diferentes ($P > 0,05$; Tabela 1 e 2), assim como necessidades nutricionais divergentes.

A diferença entre os ambientes de criação está relacionada ao fato de que os potros encontravam-se em campos compostos por inúmeras espécies forrageiras (Vinet e Zhedanov, 2010), importante fonte de nutrientes para os herbívoros (Villalba e Provenza, 2007), de regiões fisiográfica distintas. Neste contexto, é um ambiente com heterogeneidade de pastos, associada as características físicas e químicas do solo, das espécies que o compõe, do estágio de desenvolvimento das plantas e da estação do ano (Dittrich et al., 2010). Sendo assim, o fato de haver associação

positiva dos teores de Ca e Zn nas pastagens nativas em relação aos teores dos mesmos minerais no solo (Tabela 6) de cada região ($r=0,96$, $r=0,60$ respectivamente; $P<0,05$), indica que a composição da pastagem nativa, bem como a qualidade da forragem é influenciada pelo tipo de solo (Silveira et al., 2005), refletindo nas concentrações minerais do estojo córneo dos potros pertencentes a raça Crioula.

Os dados caracterizaram teores inferiores de Cálcio no estojo córneo (Tabela 3) mediana de 471mg kg^{-1} no inverno e 573 mg kg^{-1} no verão e nas plantas (Tabela 4) mediana de 1434 mg kg^{-1} na primavera e mediana de 1704mg kg^{-1} no verão. Tendência semelhante nas pastagens foram observadas por Gavillon e Quadros (1970) que identificaram concentrações inferiores (2700mg.kg^{-1}) em pastagens naturais do Rio Grande do Sul, também na estação do verão. Essa variabilidade estacional produtiva e nutritiva, nas plantas nativas, também foi identificada anteriormente por Reis (2007). O estágio avançado de lactação das éguas pode explicar os baixos teores de Ca no casco dos potros nessa época, pois os mesmos se encontravam com mais de 90 dias de idade e lactação. Portanto, apesar do leite ser um alimento rico em Ca (Rangel et al, 2015), o estágio de lactação influencia na composição deste mineral (Cosentino et al., 2015). Segundo Grace et al. (1999), as concentrações de Ca presente no leite equino, até o quinto mês de lactação, não são suficientes para suprir às necessidades durante o crescimento do potro, pois, está em desenvolvimento e necessita de concentrações adequadas de Ca para funções metabólicas vitais. Apesar do casco receber seus nutrientes por difusão ou diferença de gradiente de concentração da derme para epiderme (Eurides et al., 2012), em estágios intermediários a avançados de lactação, será necessário, outras fontes para reposição de suas necessidades, como da forragem que consome para repor suas exigências. Estando os teores reduzidos na planta, somadas as exigências metabólicas necessárias ao seu desenvolvimento, o casco acaba sofrendo consequências, fato este observado neste estudo, com os baixos teores de Ca no casco.

Sendo assim, a ausência de associação entre teores de Ca (mediana 620 mg kg^{-1}) no estojo córneo de potros em amamentação e a pastagem nativa ($9,4\text{ mg kg}^{-1}$) ($P>0,05$; Tabela 5), caracteriza o leite materno, como sendo a principal fonte de cálcio disponível (média de 876 mg kg^{-1}) (Pardini, 2013), de potros até o primeiro terço lactacional (Bolzan, 2016). Porém, no pós-desmame, apesar desses animais já

serem caracterizados como herbívoros, pois apresentavam mais de 190 dias de vida, com comportamento ingestivo de consumo de matéria seca crescente, começando aos dois meses de idade, com diminuição do tempo de mamada (Bolzan, 2016), os níveis de cálcio na epiderme dos cascos dos potros da raça Crioula seguiram os resultados observados no período lactacional (Tabela 5, $P > 0,05$), caracterizando que existem outros fatores interferindo nesta associação e não foram mensurados criteriosamente neste estudo, como genética, qualidade e disponibilidade dos pastos e quantidade de leite produzida pela égua (Santos et al., 2005). Esta ausência de associação significativa pode estar vinculada a qualidade da forragem no período da coleta, visto que ocorreram no inverno, estação considerada crítica para o desenvolvimento das plantas, com altos índices de precipitação, baixas temperaturas e deficiência mineral no solo (ALFAYA et al., 1997a, 1997b, MACHADO 1999; PAIM, 2003; REIS, 2005; REIS et al., 2008b).

Por outro lado, os baixos níveis de Cu no estojo córneo (Tabela 3) e nas pastagens (Tabela 4) no inverno e na primavera, contradizem com o encontrado por Adams e Elphick (1956) que determinaram concentrações superiores para esse mineral nas pastagens durante a primavera. Já Gavillon e Quadros (1976) observaram baixos níveis de Cu ($5,7 \text{ mg kg}^{-1}$) no verão, em pastagens nativas do Rio Grande do Sul. Tendências estas, próximas aos verificados no presente estudo ($3,9 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabela 4), apesar das concentrações deste mineral (Cu) ter seu menor valor, no inverno e primavera (Tabela 4). Entretanto, embora os baixos níveis desse mineral (Cu) houve correlação positiva, tanto no período de aleitamento quanto no pós-desmame ($r=0,69$ e $0,74$, respectivamente; $P < 0,05$; (Tabela 5)), quando considerada a relação entre composição química mineral do estojo córneo com a composição bromatológica da pastagem.

Os maiores níveis de zinco, na epiderme (Tabela 3), no verão (126 mg kg^{-1}) e primavera ($125,5 \text{ mg kg}^{-1}$), seguiram as maiores concentrações na planta nas estações correspondentes de verão (66 mg kg^{-1}) e primavera ($58,8 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tabela 4). Nas estações outono ($58,5 \text{ mg kg}^{-1}$) e inverno ($74,1 \text{ mg kg}^{-1}$) obteve-se os menores teores desse mineral no casco (Tabela 3) e nas pastagens nativas, $3,89 \text{ mg kg}^{-1}$ no outono e $23,3 \text{ mg kg}^{-1}$ no inverno (Tabela 4), diferentes dos resultados observados por Wunsch et al. (2005) que determinaram teores mais baixos de zinco no verão ($15,4 \text{ mg kg}^{-1}$) e os mais altos no inverno ($23,4 \text{ mg kg}^{-1}$).

Cosentino et al. (2015) determinaram o teor de alguns constituintes lácteos, dentre eles os minerais, verificando associação com o estágio de lactação. Os autores identificaram concentrações superiores de minerais no leite materno no início da lactação, caracterizando o período lactacional, como principal fator fisiológico para a variação nos constituintes do leite (Voutsinas et al., 1990; Rota et al., 1993; Zeng et al., 1997; Gomes et al., 2004; Cosentino et al., 2012). Em um outro estudo, na mesma linha de análise (Csapó et al., 2009) os autores observaram, que os níveis de zinco reduziram continuamente após o quinto dia de lactação, não sendo diferente do observado no presente estudo, que identificou associação moderada e positiva ($r=0,43$; $P<0,05$ (Tabela 5), entre os teores de zinco presentes no casco dos potros e análise bromatológica das pastagens (verão e outono). Portanto, à medida que o potro se desenvolve, os valores desse mineral (Zn) no leite decaem, tornando-se a principal fonte de Zn, o pasto, que pela ausência de associação em estações como inverno e primavera ($P>0,05$) deficiências poderão ser estabelecidas. E por apresentar o zinco participação estrutural, regulatória e possuir funções catalítica na epiderme do casco, falhas na formação do tecido córneo poderão acontecer.

Portanto, a deficiência ou a abundância mineral no solo e pastagens de específicas regiões apontam respostas equivalentes no animal, explicando esses teores no tecido córneo dos potros, distintos entre as regiões. Assim como a estação do ano, pois, a mesma influencia diretamente no desenvolvimento das plantas devido a incidência de luz e ocorrência de chuvas, bem como a perda de nutrientes, consequentemente disponibilidade mineral para o animal. Além disso, as diferenças nas dietas como nas necessidades metabólicas entre potros no pré-desmame e no pós-desmame explicitam os resultados encontrados. Neste contexto, o presente estudo forneceu dados inerentes aos profissionais da área agrária que facilitará a tomada de decisões para com a saúde e manejo de equinos, principalmente potros da raça Crioula.

6.5 Conclusões

Há variabilidade nas concentrações de Ca, Cu e Zn da epiderme do casco de potros da raça Crioula entre regiões fisiográficas distintas e estações do ano.

Não houve associação entre os teores de Ca do estojo córneo de potros da raça Crioula e análise bromatológicas das pastagens nativas nas diferentes regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul, apesar da concentração dos minerais Cu no pré-desmame e pós-desmame, e Zn, no pré-desmame, serem positivamente associadas.

7 Considerações finais

Os objetivos gerais e específicos definidos neste estudo foram atingidos. Potros criados em sistema de pastejo natural estão expostos a diferentes ofertas nutricionais, neste caso, minerais (Ca, Cu, Zn), sendo dependentes da região, tipo de solo e estação do ano, possuindo necessidades minerais diversas.

Os dados estudados possibilitaram dar respaldo técnico científico aos criadores de cavalo da raça Crioula e profissionais das áreas agrárias quanto à tomada de decisões, saúde dos cascos e manejo de potros pertencentes à raça Crioula, visando a prevenção de injúrias ao estojo córneo, desde o nascimento do animal até o pós-desmame, para assim, garantir vida saudável e futuro atlético promissor.

Proporcionou afirmar que a análise do ambiente em que os animais vivem é de extrema importância, podendo evitar investimentos desnecessários com suplementação animal, quando apenas a correção e adubação de solos e pastagens atingem as necessidades nutricionais de potros pertencentes a raça Crioula.

Referências

- ADAMS, A.F.R.;ELPHICK, B.L. The copper contentof some soils and pastures in Canterbury-Aspergillus Níger method for available copper in soils. **New Zealand Journaul of Science and Tecnology**, Lincoln, n.38, p.345-358, 1956.
- ALFAYA, H.; EICHELBERGER, L.; DIAS, A. C. A.; REIS, J. C. L.; SIQUEIRA, O. J. W. D. Produção de matéria seca e nutrientes da pastagem natural no inverno e primavera na Encosta do Sudeste – Rio Grande do Sul. In: 34 Reunião Anual da Sociedade Brasileira Zootecnia. Sociedade Brasileira Zootecnia, Juiz de Fora, pp. 304-306, 1997a.
- ALFAYA, H.; EICHELBERGER, L.; DIAS, A. C. A.; REIS, J. C. L.; SIQUEIRA, O. J. W. D. Desenvolvimento ponderal de novilhas em campo nativo no inverno e primavera na Encosta o Sudeste, Rio Grande do Sul. In: 34 Reunião Anual da Sociedade Brasileira Zootecnia. Sociedade Brasileira Zootecnia, Juiz de Fora, pp. 307-309, 1997b.
- BAGGOTT, D. G.; BUNCH, K. J.; GILL, K. R. Variations in some inorganic components and physical properties of claw keratin associated with claw disease in the british friesland cow. **British Veterinary Journal**, London, v. 144, n. 6, p. 534-542, 1988.
- BALLANTINE, H. T.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; JOHNSON, A. B.; FIELDING, A. S.; SHEARER, J. K., VAN AMSTEL, S. R. Effect of feeding complexed zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction and lactation performance. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 8, n. 3, p. 211-218, 2002.
- BARBOSA, A. A; LUZ, G. B.; RABASSA, V.R.; CORRÊA, M.N.; MARTINS, C.F; FRANCISCO DEL PINO, A.B. Concentration of minerals in the hoof horny capsule of healthy and lame dairy cows. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v.37, n.3, p.1423-1430, 2016.
- BECK, I. M.; MÜLLER, M.; MENTLEIN, R.; SADOWSKI, T.; MUELLER, M. S.; PAUS, R.; SEDLACEK, R. Matrix Metalloproteinase-19 Expression in Keratinocytes Is Repressed by Transcription Factors Tst-1 and Skn-1a: Implications for Keratinocyte Differentiation. **Journal of Investigative Dermatology**, 127, 1107-1114, 2007.
- BOLZAN, A. M. S. **Aprendizado do forrageamento e desenvolvimento da dieta de potros**. 2016. 89f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- BRAGULLA, H. H.; HOMBERGER, D. G. The role of the specific, profilaggrin-containing keratohyalin granules in the developing epidermis of the fetal horse hoof. **Pferdeheilkunde**, 23, 5-20, 2007.

BRAGULLA, H. H.; HOMBERGER, D. G. Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. **Journal of Anatomy**, 214, 516-559, 2009.

BUDRAS, K.L.; GEYER, H. ; MAIERL, J.; MÜLLING, C. Anatomy and structure of hoof horn. Proceedings of the 10th International Symposium on Lameness in Ruminants. Lucerne, p. 176-182, 1998.

BUDRAS, K. D.; SACK, W. O.; RÖCK, S. **Anatomy of the Horse**. 5 ed. Alemanha: Schluetersche, 2012.

BURKART, A. Evolution of grasses and grasslands in South America. **Taxon**.n.24, p.53-66. 1975.

CASSOL, E. A.; LEVIEN, R.; ANGHINONI, I.; BADELUCCI, M.P. Perdas de nutrientes por erosão em diferentes métodos de melhoramento de pastagem nativa no Rio Grande do Sul. **Revista brasileira de ciência do solo**, Campinas, Vol. 26, n. 3, p. 705-712, 2002.

CESCON, G. T. Avaliação do equilíbrio podal na espécie equina (*Equus caballus*). Salão de Extensão (11.: 2010: Porto Alegre, RS). Caderno de resumos. Porto Alegre: UFRGS/PROEXT, 2010.

CINTRA, A. G. C. **Alimentação Equina: Nutrição, Saúde e Bem-estar**. Roca, 2016.

COSENTINO, C.; PAOLINO, R.; FRESCHI, P.; CALLUSO, A. M. Short communication: jenny milk production and qualitative characteristics. *J Dairy Sci*. 2012;95 (6):2910-5.

COSENTINO, C.; PAOLINO, R.; MUSTO, M.; FRESCHI, P. Innovative Use of Jenny Milk from Sustainable Rearing. In: Vastola A (Ed). *The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin*. Springer Open: 2015. Cunha TJ. *Horse feeding and nutrition*. 2th ed. San Diego:Academic Press: 1991.

CONSTANZO, A.; FAUSTI, F.; SPALLONE, G.; MORETTI, F.; NARCISI, A.; BOTTI, E. Programmed cell death in the skin. **The International Journal of Developmental Biology**, 59, 73-78, 2015.

CRM-AGRO MATERIAIS DE REFERÊNCIA PARA AGRICULTURA, PECUÁRIA E TOXICOLOGIA. Exercício Colaborativo CRM-Agro FT_012016. Universidade de São Paulo – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Laboratório Radioisótopos, Piracicaba, SP. 2016.

CSAPÓ, J.; SALAMON, Sz.; LOKI, K., CSAPO-KISS, Zs. Composition of mare's colostrum and milk II. Protein content, amino acid composition and contents of macro- and micro-elements. **An International Scientific Journal of Sapientia Hungarian University of Transylvania**, v.2, n.1, p.133-148, 2009.

CURTIS, S.; MARTIN, J.; HOBBS, S. Hoof renewal time from birth of Thoroughbred foals. **The Veterinary Journal**, Reino Unido, abril. 2014. Disponível em : <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24821362>>. Acessado em: 14 jan. 2019.

CURTIS, S.J. **The effect of loading upon hoof wall growth and hoof shape in the Thoroughbred foal**. 2017. Tese (Doutorado em Filosofia) – School of Sport, Tourism and the Outdoors, University of Central Lancashire.

DITTRICH, J. R. Relações entre a estrutura das pastagens e a seletividade de equinos em pastejo. **Scientia Agraria**, 3.1-2 (2002): 128.

DITTRICH, J.R.; MELO, H.A.; AFONSO, A.M.F.; DITTRICH, R.L. Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem-estar dos animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.130-137, 2010.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Elsevier Editora Ltda., 2010.

ECKERT, R. L.; STURNIOLO, M. T.; BROOME, A. M.; RUSE, M.; RORKE, E. A. Transglutaminase function in epidermis. **Journal Investigative Dermatology**, n.124, v.3, p. 481-92, 2005.

ECKHART, L.; LIPPENS, S.; TSCHACHLER, E.; DECLERCQ, W. Cell death by cornification. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2013.

ELTZ, F. L. P. **Perdas por erosão sob precipitação natural em diferentes manejos de solo e coberturas vegetais**. I. Solo da unidade de mapeamento São Jerônimo – primeira etapa experimental. 1977. 97p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1977.

EURIDES, D.; BORGES, N. C.; FERREIRA, D. R.; SOUZA, L. A.; BERTÃO, A. C. S. **Aspectos estruturais do dígito bovino**. In: Silva LAF, Eurides D, Noronha Filho ADF, editores. Complexo acidose ruminal e laminite. Goiânia: Kelps; p. 65-74, 2012.

FARIA, G. A.; REZENDE, A. S. C.; SAMPAIO, I. B. M.; LANA, A. M. Q.; MOURA, R. S.; MADUREIRA, J. S.; RESENDE, M. C. Composição química dos cascos de equinos das raças Pantaneira e Mangalarga Marchador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 57, n. 5, p. 697-701, 2005.

FARIA, M.B. Avaliação do equilíbrio podal na espécie equina (*Equus caballus*). 2010. 41p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, RS-BR,2010.

FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. V.; PACURY, E. J. F.; COELHO, S. G.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. G. **Sistema locomotor dos ruminantes**. Minas Gerais: EdUFMG, 2005.

FRADINHO, M. J.; CORREIA, M. J.; BEJA, F.; ROSA, A.; PERESTRELLO, F.; BESSA, R. J. B.; FERREIRA-DIAS, G.; CALDEIRA, R. M. Effects of foaling season

on grow thand development of Lusitano suckling foals raised on extensive grazing systems. In: **Forages and grazing in horse nutrition**. n.132, p.315–318, 2012.

GAVILLON, O.; QUADROS, A. T. O cálcio e o fósforo em pastagens nativas do Rio Grande do Sul: constatação de deficiências na primavera e no verão. **Boletim técnico**, 17. Porto Alegre: DPA, 1970, p. 18.

GAVILLON, O.; QUADROS, A. T. F. O cobre, o molibdênio e o sulfato inorgânico em pastagens nativas do Rio Grande do Sul. In: **Anuário Técnico IPZFO, 1976 Anais...** Porto Alegre: Instituto de Pesquisa Zootécnicas Francisco Osório, 1976. v.3, p. 423-453.

GENRO, T. C. M.; ORQIS, M. G. **Informações básicas sobre coleta de amostras e principais análises químico-bromatológicas de alimentos destinados à produção de ruminantes**. Manual da Embrapa 1ª ed.. Embrapa Pecuária Sul, Bagé-RS, p.10, 2008.

GOBESSO, A. A. O.; SOARES, A.; RIBEIRO, R. M.; TAMAS, W. T.; GONZAGA, I. V. F. Deposição óssea de cálcio e fósforo, densidade radiográfica e desenvolvimento corporal em potros alimentados com minerais orgânicos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, n.51, p.142–148, 2014.

Gomes V, Libera AMMPD, Madureira KM, Araújo WP. Influência do estadio de lactação na composição do leite de cabras (*Capra hircus*). *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2004;41(5);340-2.

GRACE, N. D.; PEARCE, S. G.; FIRTH, E. C.; FENNESSY, P. F. Concentrations of macro- and micro-elements in the milk of pasture-fed Thoroughbred mares. **Australian Veterinary Journal** v.77, n.3, p.177-180, 1999.

GRAVENA, K. A. **Avaliação da integridade dos tecidos dérmico e epidérmico do casco de equinos colhidos pelo acesso trans-mural dorsal**. 2010. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2010.

HENDRY, K. A. K.; MACCALLUM, A. J.; KNIGHT, C. H.; WILDE, C. J. Laminitis in the dairy cow: A cell biological approach. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 475–486, 1997.

HINTZ, H.F. **Horse Nutrition**. New York: Arco, 1983.

JONES, W.E. **Genética e criação de cavalos**. São Paulo: Roca, 1987. 666p.

LINDER, M. C. Copper. **Present Knowledge in Nutrition**. 7th ed. E. E. Ziegler and L. J. Filer, Jr., ed. ILSI Press, Washington, DC, p. 307–319, 1996.

LIMA, T. K. L. **Avaliação dos aprumos na seleção de cavalos de competição da modalidade de três tambores**. Maranhão, EdEFM, 2016.

LIMA, R. A. S.; CINTRA, A. G. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo**. Ministério da Agricultura, Brasília, DF, 2015.

LONNERDAL, Bo. **Concentrations, Compartmentation and bioavailability of trace elements in human milk and infant formula**. In: TRACE ELEMENTS IN NUTRITION OF CHILDREN – II, 23, 1991, CHANDRA, **Nestlé nutrition workshop series...** CHANDRA: Editora Vevey/Raven Press, 1991. p.153-171,

MACHADO L.A.Z. (ed.) 1999. **Manejo da pastagem nativa**, Guaíba, 158 p.

MARANHÃO, R. P. A.; PALHARES, M. S.; MELO, U. P.; REZENDE, H. H. C.; BRAGA, C. E.; SILVA FILHO, J. M.; VASCONCELOS, M. N. F. A. Afecções mais frequentes do aparelho locomotor dos equídeos de tração no município de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.1, P.21-27, 2006.

MENDES, H. F.; CASAGRANDE, F. P.; LIMA, I. R.; SOUZA, C. H.; GONTIJO, L. D.; ALVES, G. E. S.; VASCONCELOS, A. C.; FALEIROS, R. R. Histopathology of dairy cows hooves with signs or naturally acquired laminitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 33, n. 5, p. 613-619, 2013.

MENDES, R. P.; SOUZA, A. F.; LAUS, R.; MOREIRA, M.A.; FONTEQUE, J.H. Composição química dos cascos de equinos da raça campeiro. In: XXVI Seminário de Iniciação Científica, 2016. Florianópolis. **Anais...**, 2016.

MENDES, R. P.; SOUZA, A. F.; LAUS, R.; MOREIRA, M. A.; FONTEQUE, J. H. Biometria do equilíbrio podal e composição química dos cascos de equinos da raça Campeiro. In: XXVII Seminário de Iniciação Científica, 2017. Florianópolis. **Anais...**, 2017.

MIRANDA, R.M. Genética e melhoramento dos eqüinos. **Eqüinos**, n.85, p.11-33, 1988.

MUELLING, C. K. W. Nutricional influences on horn quality and hoof health. **WCDS Advances in Dairy Technology**, 21: 283-291, 2009.

MÜLLING, C. **Struktur, Verhornung und Hornqualität in Ballen, Sohle und weisser Linie der Rinderklaue und ihre Bedeutung für Klauenerkrankungen**. Freie Universität Berlin, Dissertation, p.285, 1993.

MÜLLING, C.; BUDRAS, K.D. **Influence of enviromental factors on horn quality of the bovine hoof**. Proceedings of the 10th International Symposium on Lameness in Ruminants. Lucerne, p. 214-215, 1998.

MÜLLING, C. K.; BRAGULLA, H. H.; REESE, S.; BUDRAS, K. D.; STEINBERG, W. How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. **Anatomia, Histolgia, Embryologia**, v.28, n. 2, p.103—108, 1999.

NABINGER, C.; FERREIRA, E. T.; FREITAS, A. K.; CARVALHO, P. C. F.; SANT'ANNA, D. M. Produção animal com base no campo nativo: aplicações de resultados de pesquisa. **Campos Sulinos**, cap. 13, p.175-198, 2009.

OTT, E. A.; JOHNSON, E.L.Effect of trace mineral proteinates on growth and skeletal and hoof development in yearling horses. **Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-06387**, Volume 21, Number 6, P. 287, 2001.

PAES LEME, F. O.; BONNA, F. A. B.; DE MARVAL, C. A.; XAVIER, S. H. N.; SANTOS, R. L.; FALEIROS, R. R.; ALVES, G. E. S. Histopatologia das lâminas do casco de equinos com laminite aguda induzida e tratados com ketoprofeno, fenilbutazona e flunixinmeglumine. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.241-250, 2010.

PAIM, N. R. Pastagens nativas da região Sul do Brasil. In: **Federação dos Clubes de Integração e Troca de Experiências**. As pastagens nativas gaúchas. Ideograf, pp. 23-77, 2003.

PEREIRA, J. D. B.; VILANOVA, M. S.; GIACOMET, C. D. B.; ANDELIERI, C. B.; PERIN, W. Comportamento ingestivo de potros da raça Crioula com 5 meses de idade na fase de cria. **Revista Acadêmica Ciência Animal**. N.15, (supl.1):S, p: 195-196, 2017.

PIMENTEL, A. M. H.; SOUZA, J. R. M.; BOLIGON, A. A.; PIMENTEL, C. A.; MARTINS, C. F. Biometric evaluation of Criollo horses participating in the Freio de Ouro competition, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.

POLLIT, C. C. Anatomy and Physiology of the Inner Hoof Wall. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.3, p.3-21, 2004.

POTT, A. Levantamento ecológico da vegetação de um campo natural sob três condições: pastejado, excluído e melhorado. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 168. 1974.

RANGEL, A. H. N.; GALVÃO JUNIOR, J. G. B.; SIMPLICIO, A. A.; FREIRE, R. M. B.; NOVAES, L. P. Aspectos composicionais e nutricionais do leite de jumenta: uma revisão. **Revista Institucional Laticínios Cândido Tostes**. v. 70, n. 3, p. 160-171, 2015.

REIS, J. C. L. Dinâmica sazonal da pastagem e do fósforo no sistema solo-pastagem-animal em campos naturais da Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado em Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 169 p. 2005.

REIS, J. C. L. Suplementação fosfatada para bovinos de corte em campos naturais da serra do sudeste, Rio Grande do Sul. **Embrapa Clima Temperado - Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

REIS, J. C. L.; ALFAYA JÚNIOR, H.; EICHELBERGER, L.; SILVA J. G. C. Composição e dinâmica florística em campos naturais da Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha** 14: 125-133. 2008a.

REIS, J. C. L.; ALFAYA JÚNIOR, H.; SILVA, J. G. C.; DIAS, A. E. A.; EICHELBERGER, L. Dinâmica sazonal da pastagem e do desenvolvimento corporal de novilhas em campos naturais da Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha** 14: 151-160, 2008b.

RICE, R. H.; GREEN, H. Presence in human epidermal cells of a soluble protein precursor of the cross-linked envelope: activation of the cross-linking by calcium ions. **Cell**, v.18, n.3, p.681-94, 1979.

Rota AM, Rodríguez P, Rojas A, Martín L, Tovar J. Evolucion de la cantidad y calidad de la leche de cabra Verata a lo largo de la lactacion. **Arch Zootec.** 1993;42(157):137-46.

RUOHONEMI, M.; LAUKKANEN, H.; OJALA, M. Effects of sex and age on the ossification of the collateral cartilages of the distal phalanx of the Finnhorse and relationships between ossification and bodysize and type of horse. **Res. Vet. Sci.**, v 62, p 34-38, 1997.

SADOWSKI, T.; DIETRICH, S.; KOSCHINSKY, F.; SEDLACEK, R. Matrix Metalloproteinase 19 Regulates Insulin-like Growth Factor-mediated Proliferation, Migration, and Adhesion in Human Keratinocytes through Proteolysis of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3. **Molecular Biology of the Cell**, 14, 4569-4580, 2003.

SADOWSKI, T.; DIETRICH, S.; KOSCHINSKY, F.; LUDWIG, A.; PROKSCH, E.; TITZ, B.; SEDLACEK, R. Matrix metalloproteinase 19 processes the laminin 5 gamma 2 chain and induces epithelial cell migration. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 62, 870-880, 2005.

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A.; PINTO, L. F. B.; CORASSA, A.; PIMENTEL, R. R. M.; SILVA, V. P.; GALZERANO, L. Lactação em éguas da raça Mangalarga Marchador: produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.627 – 634, 2005.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M. Lactação em éguas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.101, n.557-558, p.17-23, 2006.

SANTOS, Caroline da Silva. **Comportamento ingestivo de éguas com potro ao pé e ganhões da raça crioula em campo nativo do bioma pampa.** 2014. 37f. Dissertação (Mestrado em Medicina Animal: Equinos)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

SCHRYVER, H. F.; OFTEDAL, O. T.; WILLIAMS, J.; SODERHOLM, L. V.; HINTZ, H. F. Lactation in the Horse: The Mineral Composition of Mare Milk. **The Journal of Nutrition**, 116 (11), 2142-2147, 1986.

SILVEIRA, V. C. P.; VARGAS, A. F. C.; OLIVEIRA, J.O.R., GOMES, K.E.G.; MOTTA, A.F. Qualidade da pastagem obtida por diferentes métodos de amostragem e em diferentes solos na Apa do Ibirapuitã, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.582-588, 2005.

SISSON S. Tegumento comum. In: **Getty R, editor. Sisson & Grossman: anatomia dos animais domésticos**. 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 681-8, 1986.

SOUZA, J. R. M.; PIMENTEL, A. M. H.; FOLLE, V. A.; PFEIFER, J. P. H.; SCHUSTER, A. B. G.; SEGABINAZZI, L. G. T. M.; LAU, L. C.; MARTINS, C. H. Morphometric changes in the hoof capsule of Criollo foals from birth to weaning. **Ciência Rural**, v.47, n.7, e20160945, 2017.

SMART, M.; CYMBULAK, N. F. Role of nutritional supplements in bovine Lameness – Review of nutritional toxicities. In: GREENOUGH, P.R. e WEAVER, A.D. **Lameness in Cattle**. WB Saunders Company, 1997. Cap. 10, p.145-161.

STASHAK, T. S. **Adams' Lameness in Horses**. 5 ed. Estados Unidos da América: John Wiley Professio, 2002.

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J. E.; BOHNEN, H. Análises de solo, planta e outros materiais. UFRGS/Faculdade de Agronomia. Departamento de Solos. Porto Alegre. **Boletim Técnico**, v.5, p.95, 1985.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. UFRGS/Faculdade de Agronomia. Departamento de Solos. Porto Alegre. **Boletim Técnico**, v.5 p.147 1995.

TOMLINSON, D. J.; MÜLLING, C. H.; FAKLER, T. M. Invited review: formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. **Journal Dairy Science**, v.87, n.4, p.797-809, 2004.

VAN RIET, M. M. J.; MILLET, S.; ALUWÉ, M.; JANSSENS, G. P. J. Impact of nutrition on lameness and claw health in sows. **Livestock Science**, 156, 24-35, 2013.

VILLALBA, J. J.; PROVENZA, F. D. Self-medication and homeostatic behaviour in herbivores: learning about the benefits of nature's pharmacy. **Animal**, v. 1, n. 09, p. 1360–1370, 2007.

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 437, 2010. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1011.1669>>, 2010.

VOUTSINAS L, PAPPAS C, KATSIARI M. The composition of Alpine goat's milk during lactation in Greece. *J Dairy Sci*. 1990;57(1):41-51.

WERTZ, P. W. Lipids and barrier function of the skin. **Acta Derm Venereol**, 7-11, 2000.

WINKLER, B.; MARGERISON, J. K. Mechanical properties of the bovine claw horn during lactation. **Journal of Dairy Science**, Missouri, v. 95, n. 4, p. 1714-1728, 2012.

WUNSCH, C.; BARCELLOS, J. O. J.; PRATES, E. R.; GRECELLÉ, R. A.; COSTA, E. C. Microminerais para bovinos de corte nas pastagens nativas dos Campos de Cima a Serra, RS, Brasil. **Revista Ciência Rural**. v35, n.4, p.903-908, 2005.

Zeng SS, Escobar EN, Popham T. Daily variations in somatic cell count, composition, and production of Alpine goat milk. *Small Rumin Res.* 1997;26(3):253-60.

Anexos

Anexo A

Laudo da análise de solos das propriedades: Santa Maria e Dilermando de Aguiar



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL

Departamento de Solos
Laboratório de Análise de Solos



Campus Universitário s/nº Caixa Postal 354
CEP 96010-900 Pelotas - RS
Fone/Fax (0xx53) 3275-7269/(0xx53) 3275-7267

Nome: Propriedade **Santa Maria e Dilermando** Município: **Santa Maria e Dilermando de Aguiar**
CPF/CNPJ: Solicitante: **Paula Moreira da Silva**
Localidade: Entrada: **24/04/2018** Emissão: **04/05/2018**

Registro	Identificação da Amostra	Matrícula	Área (ha)	Cultura	Profundidade	Latitude	Longitude
120	P. Santa Maria	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--
121	P. Dilermando de Aguiar	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--

Diagnóstico para acidez do solo e calagem
"pH em água 1:1; Ca, Mg, Al, e Mn trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e CTC a pH 7,0."

Registro	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC _{efetiva}	Saturação (%)		Índice SMP
		----- cmol _c /dm ³ -----					Al	Bases	
120	4,3	1,3	0,7	1,3	9,7	3,6	36,1	19	5,3
121	5,1	1,5	0,7	0,2	4,4	2,7	7,4	36	6,0

Diagnóstico para macronutrientes e recomendação de adubação NPK-S
"Argila determinada pelo método do densímetro; MO por digestão úmida e P, K, Na, Zn e Cu determinados pelo método de Mehlich I."

Registro	% MO	% Argila	Classe de Argila	S	P-Mehlich	K	CTC _{pH7}	K
	----- m/v -----			----- mg/dm ³ -----			----- cmol _c /dm ³ -----	
120	1,79	13	4	--X--	22,1	96	12,0	0,25
121	1,66	12	4	--X--	7,0	79	6,9	0,20

Diagnóstico para micronutrientes e relações molares
"S-SO₄ extraído com CaHPO₄ 500 mg L⁻¹ de P" e B extraído com água quente."

Registro	Cu	Zn	B	Mn	Na	% Fe	Relações Molar		
	----- mg/dm ³ -----						Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
120	0,6	2,2	--X--	36,5	18	0,12	1,86	5,20	2,80
121	0,6	1,2	--X--	60,4	15	0,05	2,14	7,50	3,50

Anexo B

Laudo da análise de solos da propriedade de Capão do Leão



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL

Departamento de Solos
Laboratório de Análise de Solos



Campus Universitário s/nº Caixa Postal 354
CEP 96010-900 Pelotas - RS
Fone/Fax (0xx53) 3275-7269/(0xx53) 3275-7267

Nome: **Propriedade Capão do Leão**

Município: **Capão do Leão**

CPF/CNPJ:

Solicitante: **Paula Moreira da Silva**

Localidade:

Entrada: **11/07/2018**

Emissão: **31/07/2018**

Registro	Identificação da Amostra	Matrícula	Área (ha)	Cultura	Profundidade	Latitude	Longitude
952	P. Capão do Leão	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--

Diagnóstico para acidez do solo e calagem

"pH em água 1:1; Ca, Mg, Al, e Mn trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e CTC a pH 7,0."

Registro	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC _{efetiva}	Saturação (%)		Índice SMP
		----- cmol _c /dm ³ -----					Al	Bases	
952	4,7	3,5	2,2	0,4	3,9	6,4	6,2	61	6,1

Diagnóstico para macronutrientes e recomendação de adubação NPK-S

"Argila determinada pelo método do densímetro; MO por digestão úmida e P, K, Na, Zn e Cu determinados pelo método de Mehlich I."

Registro	% MO	% Argila	Classe de Argila	S	P-Mehlich	K	CTC _{pH7}	K
	----- m/v -----			----- mg/dm ³ -----			----- cmol _c /dm ³ -----	
952	2,21	20	4	--X--	13,3	73	9,9	0,19

Diagnóstico para micronutrientes e relações molares

"S-SO₄ extraído com CaHPO₄ 500 mg L⁻¹ de P" e B extraído com água quente."

Registro	Cu	Zn	B	Mn	Na	% Fe	R relações Molares		
	----- mg/dm ³ -----						Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
952	0,8	1,9	--X--	0,18	26	0,18	1,59	18,42	11,58

Anexo C

Laudo da análise de solos da propriedade de Arroio Grande



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL



Campus Universitário s/nº Caixa Postal 354
CEP 96010-900 Pelotas - RS
Fone/Fax (0xx53) 3275-7269/(0xx53) 3275-7267

Departamento de Solos
Laboratório de Análise de Solos

Nome: **Paula Moreira da Silva**

Município: **Arroio Grande**

CPF/CNPJ:

Solicitante: **Paula Moreira da Silva**

Localidade:

Entrada: **11/07/2018**

Emissão: **31/07/2018**

Registro	Identificação da Amostra	Matrícula	Área (ha)	Cultura	Profundidade	Latitude	Longitude
951	P. Arroio Grande	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--

Diagnóstico para acidez do solo e calagem

"pH em água 1:1; Ca, Mg, Al, e Mn trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e CTC a pH 7,0."

Registro	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC _{efetiva}	Saturação (%)		Índice SMP
		----- cmol _c /dm ³ -----					Al	Bases	
951	4,8	3,9	2,6	0,5	5,5	8,1	6,2	58	5,8

Diagnóstico para macronutrientes e recomendação de adubação NPK-S

"Argila determinada pelo método do densímetro; MO por digestão úmida e P, K, Na, Zn e Cu determinados pelo método de Mehlich I."

Registro	% MO	% Argila	Classe de Argila	S	P-Mehlich	K	CTC _{pH7}	K
	----- m/v -----	----- mg/dm ³ -----			----- cmol _c /dm ³ -----			
951	2,62	16	4	--X--	38,8	402	13,1	1,03

Diagnóstico para micronutrientes e relações molares

"S-SO₄ extraído com CaHPO₄ 500 mg L⁻¹ de P" e B extraído com água quente."

Registro	Cu	Zn	B	Mn	Na	% Fe	Relações Molar es		
	----- mg/dm ³ -----						Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
951	0,6	4,5	--X--	0,16	6	0,16	1,50	3,79	2,52

Anexo D

Laudo da análise de solos da propriedade de Jaguarão



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL



Campus Universitário s/nº Caixa Postal 354
CEP 96010-900 Pelotas - RS
Fone/Fax (0xx53) 3275-7269/(0xx53) 3275-7267

Departamento de Solos
Laboratório de Análise de Solos

Nome: **Propriedade Jaguarão**

Município: **Jaguarão**

CPF/CNPJ:

Solicitante: **Paula Moreira da Silva**

Localidade:

Entrada: **24/04/2018**

Emissão: **04/05/2018**

Registro	Identificação da Amostra	Matricula	Área (ha)	Cultura	Profundidade	Latitude	Longitude
119	P. Jaguarão	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--	--X--

Diagnóstico para acidez do solo e calagem

"pH em água 1:1; Ca, Mg, Al, e Mn trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e CTC a pH 7,0."

Registro	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC _{efetiva}	Saturação (%)		Índice SMP
		----- cmol _c /dm ³ -----					Al	Bases	
119	4,6	2,2	1,3	0,7	8,7	5,0	14,0	33	5,4

Diagnóstico para macronutrientes e recomendação de adubação NPK-S

"Argila determinada pelo método do densímetro; MO por digestão úmida e P, K, Na, Zn e Cu determinados pelo método de Mehlich I."

Registro	% MO	% Argila	Classe de Argila	S	P-Mehlich	K	CTC _{pH7}	K
	----- m/v -----			----- mg/dm ³ -----			----- cmol _c /dm ³ -----	
119	2,62	20	4	--X--	6,0	255	13,0	0,65

Diagnóstico para micronutrientes e relações molares

"S-SO₄ extraído com CaHPO₄ 500 mg L⁻¹ de P" e B extraído com água quente."

Registro	Cu	Zn	B	Mn	Na	% Fe	Relações Molar s		
	----- mg/dm ³ -----						Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
119	0,8	2,3	--X--	74,7	29	0,21	1,69	3,38	2,00