

JOÃO RICARDO DITTRICH

EFEITO DE NÍVEIS SUPLEMENTARES DE BIOTINA
NO CRESCIMENTO, ESTRUTURA E INTEGRIDADE
DOS CASCOS DE POTROS DE 1 A 2 ANOS DE IDADE

Tese apresentada à Universidade Federal
do Paraná, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Veterinárias.

CURITIBA
1992

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese

EFEITO DE NIVEIS SUPLEMENTARES DE BIOTINA NO CRESCIMENTO,
ESTRUTURA E INTEGRIDADE DOS CASCOS DE POTROS COM 1 A 2 ANOS DE
IDADE.

Elaborada por

JOAO RICARDO DITTRICH

Como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em
Ciências Veterinárias,

Comissão Examinadora:

.....

Orientador:

Curitiba,

À minha esposa;
à minha filha;
dedico este trabalho,
pois são as razões
dos meus ideais.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Prof. Dr. Italo Minardi, pela orientação e amizade durante todo Curso de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. José Sidney Fleming, pela co-orientação na execução desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Metry Bacila, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelos encaminhamentos e sugestões durante o curso de Pós-Graduação.

Ao Haras Rio Verde, na pessoa do Sr. Luis Guilherme Mussi, que gentilmente cedeu as instalações e os animais para a realização desta pesquisa.

A Sumitomo Pharmaceuticals Co. Ltd., pela gentil doação do produto (Biotin 2% feed grade) utilizado no presente trabalho.

Aos demais professores, colegas e funcionários que, direta ou indiretamente, contribuíram na realização desta pesquisa, pela dedicação e ajuda oferecidas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq, pela concessão de bolsa de mestrado.

A Flávio Locatelli Junior e Cleudes Bientinesi Locatelli, pelos trabalhos de datilografia e impressão desta tese.

A Saint-Clair pelo trabalho de correção gramatical desta tese.

SUMARIO

	LISTA DE TABELAS.....	VII
	LISTA DE FIGURAS.....	VIII
	LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	MATERIAL E METODOS.....	8
	2.1 Biotina.....	8
	2.2 Animais.....	9
	2.3 Alimentação.....	9
	2.4 Tratamentos.....	10
	2.5 Implantação do experimento.....	11
	2.6 Aferição do crescimento.....	12
	2.7 Avaliação da integridade.....	12
	2.8 Avaliação da estrutura.....	13
	2.9 Análise do teor de proteína bruta.....	14
	2.10 Delineamento experimental.....	14
3	RESULTADOS E DISCUSSOES.....	15
	3.1. Aferição do crescimento.....	15
	3.2. Avaliação da integridade.....	16
	3.3. Avaliação da estrutura.....	18
	3.4. Análise do teor de proteína bruta.....	20
4	RESUMO.....	22
5	ABSTRACT.....	23
6	CONCLUSOES.....	24

7	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	37
8	ANEXOS.....	39
	1. Individualização dos dados de crescimento por repetição nos diferentes tratamentos.....	39
	2. Análise da variância do crescimento nos 90 dias de experimentos.....	39
	3. Valores médios de crescimento em milímetros, por tratamento, obtidos ao final dos 90 dias do experimento....	40
	4. Individualização dos dados da proteína bruta por repetição nos diferentes tratamentos aos 90 dias do experimento.....	41
	5. Análise da variância do teor de proteína bruta aos 90 dias do experimento.....	41

LISTA DE TABELAS

1. Composição em gramas do concentrado fornecido aos animais experimentais.....27
2. Análise calculada do concentrado utilizado diariamente durante o experimento.....27

LISTA DE FIGURAS

1.	Ilustração do procedimento utilizado para avaliação do crescimento da muralha do casco.....	28
2.	Figura demonstrativa dos problemas de integridade dos cascos nos animais na implantação do experimento (vista frontal).....	29
3.	Figura demonstrativa da integridade geral dos cascos nos animais na implantação do experimento (vista inferior).....	30
4.	Figura demonstrativa da integridade geral dos cascos nos animais do Tratamento 4 ao final do experimento (vista frontal).	31
5.	Figura demonstrativa da integridade geral dos cascos nos animais do Tratamento 4 ao final do experimento (vista inferior).....	31
6.	Figura demonstrativa do estrato médio da muralha dos cascos nos animais do Testemunha.....	33
7.	Figura demonstrativa do estrato médio da muralha dos cascos nos animais do Tratamento 2.....	34
8.	Figura demonstrativa do estrato médio da muralha dos cascos nos animais do Tratamento 3.....	35
9.	Figura demonstrativa do estrato médio da muralha dos cascos nos animais do Tratamento 4.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists
- T 1 - Testemunha, sem suplementação de biotina
- T 2 - Tratamento 2, com suplementação de 10 mg de biotina por dia
- T 3 - Tratamento 3, com suplementação de 20 mg de biotina por dia
- T 4 - Tratamento 4, com suplementação de 40 mg de biotina por dia
- g - gramas
- Kg - Kilogramas
- mg - miligramas
- Mcal - Megacalorias
- AD - Anterior direito
- AE - Anterior esquerdo
- PD - Posterior direito
- PE - Posterior esquerdo
- GL - Graus de liberdade
- SQ - Soma dos quadrados
- QM - Quadrado Médio

1 INTRODUÇÃO

Até o advento do motor de explosão no princípio deste século, os eqüinos de uma maneira geral, constituíam um elemento imprescindível a todos os países para o transporte, agricultura e mobilidade dos exércitos. Nos dias de hoje, a utilização do cavalo está restrita a uma área menor, superado pela era da motomecanização, não pode mais ser considerado como arma de guerra ou veículo de transporte, a não ser em condições especiais. Entretanto, se as suas atribuições foram limitadas, nos esportes e no trabalho cotidiano das fazendas, ainda é, e será, por muito tempo, insubstituível.

Desde o início da utilização dos eqüinos pelo homem, os transtornos de aparelho locomotor constituem um problema de difícil solução. As enfermidades de casco representam uma grande parcela destes transtornos. A alteração no hábito alimentar, o esforço físico e o aprimoramento genético, fizeram com que as necessidades alimentares sejam maiores para um perfeito desenvolvimento corporal.

Somente a partir da década de 80, a influência da alimentação sobre a integridade dos cascos dos eqüinos passou a ser estudada, onde os primeiros trabalhos, baseados em pesquisas realizadas com suínos, demonstraram a influência da biotina sobre o desenvolvimento dos cascos, bem como os problemas inerentes da sua carência na dieta.

A biotina, amplamente difundida na natureza, tem um importante papel no metabolismo de proteínas, gorduras e glicídios. Fazendo parte das carboxilases, promove no organismo dos animais a fixação do gás carbônico, numa série de reações que ocorrem com a biotina funcionando como coenzima. Uma das reações de muita importância é aquela que se produz na desinteração dos aminoácidos (leucina e isoleucina), segundo ANDRIGUETTO et al. (1988)

A biotina atua na síntese de diversas proteínas, na sua carência ficam diminuídos os processos de biossíntese da albumina sérica, da enzima amilase e, provavelmente, a produção de queratina, pois em aves a deficiência de biotina ocasiona um amolecimento da parte córnea do bico (FRIGG, WEISER e BOLLINGER 1972)* em suínos esta avitaminose determina o aparecimento de pelagem grosseira e escassa, com áreas de alopecia, enquanto que nos cascos ocorrem lesões múltiplas que ocasionam claudicação (BROOKS, SMITH e IRWIN, 1977). A deficiência de biotina experimental ocasionou em leitões desmamados marcante alopecia, cascos quebradiços e foram frequentes as lesões nas partes duras e moles, mas com variações individuais quanto ao grau destas lesões, segundo GEYER et al. (1984).

* FRIGG, M.Y.; WEISER, H.; BOLLINGER, A. Proceedings of the 5th International Congress of the World Veterinary Poultry Associations, Mních, 1973. Citado por COMBEN et al. Clinical observations on the response of equine hoof defects to dietary supplementation with biotin. Veterinary Record, London, v.115 p.642-645, 1984.

BRYANT *et al.* (1985) observaram melhoras nas condições dos cascos ou maior resistência das paredes córneas, quando os leitões eram suplementados com 220 mg/kg de biotina. Os mesmos autores recomendam a suplementação para animais de reposição e matrizes suínas como prevenção de lesões dos cascos.

PENNY *et al.* (1986), observaram que a suplementação de 1160 microgramas de biotina por dia na gestação e 2320 microgramas na lactação, de um rebanho de porcas, determinava uma diminuição na frequência das lesões dos cascos e das claudicações.

Baseando-se no sucesso da utilização de biotina na prevenção das lesões dos cascos, técnicos ligados à equinocultura passaram a fornecer biotina aos animais que apresentavam estes problemas. Estas lesões caracterizadas por erosões múltiplas, fragilidades da muralha, lacuna de separação da capa córnea na sua porção mais interna (linha branca) observável na sola do casco, dificultaram a fixação das ferraduras nos animais adultos levando-os à claudicação.

Na Inglaterra, MACCOUN (1982)**, relatou suas experiências com esta vitamina, quando forneceu 20 mg de biotina para um grupo de animais onde mediu a taxa de desenvolvimento da parede córnea e

** MACCOUN, R.E. Internal Report Techinal, Products Ptz Ltd. Austrália 1982. Citado por RIBEIRO, R.C. Utilização da biotina na nutrição de eqüinos. *Ô Hora Veterinária*, Porto Alegre, n.35 p.9, jan/fev. 1987.

comparou-os com um grupo sem suplementação. Durante 6 semanas verificou um crescimento de 11,4 mm nos animais que consumiram essa vitamina. E de 8,0 mm no grupo controle. O mesmo autor em um outro experimento realizado no mesmo ano, este com 3 meses de duração, verificou um crescimento de 35,8 mm nos eqüinos suplementados com biotina e de 27,8 mm nos não suplementados.

No Brasil, RIBEIRO (1987), observou um eqüino que apresentava a capa córnea das quatro patas com rachaduras, falta de pedaços em sua circunferência distal externa, sinais de parede fraca, fina e lacuna de separação entre a sola e a muralha do casco, o que dificultava ou até impedia a fixação da ferradura. O autor forneceu a este animal 15 mg de biotina durante 5 meses e 12 dias quando observou total recuperação dos cascos. Após esse período o tratamento foi suspenso e 5 meses após, os cascos já não apresentavam mais o mínimo desenvolvimento necessário para o ferrageamento.

COMBEN (1983), apresentou no Congresso Anual da British Equine Veterinary Association, Inglaterra, um relato sobre o sucesso de suas experiências com o uso de altas doses de biotina para eqüinos com severas lesões dos cascos, resistentes às várias medidas de manejo e medicações.

SCHULZE e SCHERE (1989), suplementaram durante 9 meses, 5 mg de biotina para cada 150 kg de peso vivo, a 38 eqüinos com problemas clínicos dos cascos, quando 63% obtiveram cura total e 37% uma clara melhora do estado geral do estojo córneo.

KAMEYA (1990), observou um aumento significativo da taxa de crescimento da parede do casco de 14 equinos suplementados com 20 mg de biotina por dia, durante 11 meses, quando comparados ao grupo controle.

A biotina parece ser sintetizada pelos microorganismos do trato gastrointestinal no cavalo adulto, segundo CARROLL (1949). O mesmo autor encontrou níveis significativos de biotina no conteúdo do intestino grosso de eqüinos que receberam uma dieta praticamente livre de biotina, mas a absorção dessa vitamina não se mostrou eficiente devido ao fato de que esta síntese ocorre no intestino grosso.

Devido à seleção genética e a alteração no hábito alimentar dos eqüinos, imposta pelo homem, as necessidades de biotina para suprir todas as funções metabólicas dos animais, provavelmente aumentaram (COMBEN, 1983).

ANDERSON, BAKER e MISTRY (1978), demonstraram que a biodisponibilidade da biotina nos cereais é muito baixa. Sabendo-se que os grãos de cereais formam a maior parte das rações concentradas dos eqüinos de raça pura, presume-se que estas forneçam níveis insuficientes de biotina.

Segundo DELLMANN e BROWN (1982), a parede do casco (muralha) é formada por 3 camadas, de fora para dentro, são elas: o estrato externo, o estrato médio e o estrato interno. O estrato externo é uma delgada camada córnea tubular, macia e escamosa, que se origina das camadas germinativas da epiderme do perioplo. O estrato médio consiste em queratina tubular e intertubular e é a principal estrutura de sustentação da muralha. Os túbulos córneos estão orientados paralelamente à superfície externa do casco e suas células queratinizadas possuem uma disposição altamente ordenada. As substâncias córneas tubular e intertubular do estrato médio são produzidas pelo estrato germinativo da epiderme que reveste o sulco coronário. O estrato interno consiste em aproximadamente 600 lâminas queratinizadas primárias, verticalmente orientadas, que se estendem para o interior do estrato médio com o qual são contínuas. De 100 a 200 lâminas secundárias projetam-se, em ângulos retos, de cada lâmina primária. As lâminas secundárias contêm uma camada central de células queratinizadas cobertas pelo estrato germinativo. Estas lâminas interdigitam-se com lâminas semelhantes do cório e ancoram o casco queratinizado no tecido conjuntivo sensível subjacente.

MAUSKE (1971) menciona que a qualidade do tecido córneo depende intimamente da sua estrutura, onde os seguintes pontos são decisivos para determinar esta qualidade: número de túbulos por milímetro quadrado e cociente da medula do túbulo presentes no estrato médio. Citam também que quanto maior o canal medular, pior será a qualidade do tecido córneo do casco.

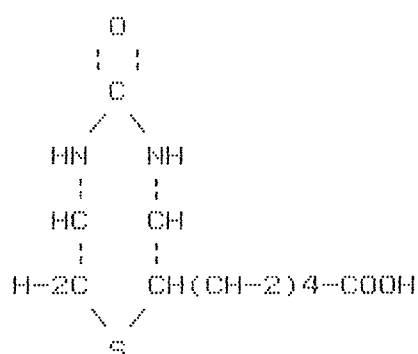
Quando observa-se os cascos de potros em crescimento, criados em um mesmo sistema de manejo e alimentação, nota-se que em pelo menos 50% dos animais ocorre um desgaste irregular dos cascos e alterações na sua conformação, como rachaduras e separação da sola com a muralha a nível de linha branca. A origem exata destas alterações é desconhecida, segundo COMBEN (1983).

Reconhece-se que a deficiência de biotina é da maior importância nas espécies de criação intensiva, como suínos e aves, pois todos os elementos indispensáveis ao pleno desenvolvimento são fornecidos através de rações balanceadas, mas as mudanças nas práticas de manejo e arraçamento dos eqüinos exige o conhecimento das reais necessidades desta vitamina.

2 MATERIAL E METODOS

2.1 BIOTINA

A Biotina é uma vitamina do complexo B que se apresenta como cristais esbranquiçados, solúveis em água e em álcool, mas insolúveis em solventes orgânicos. É um ácido mono-carboxílico, cuja fórmula estrutural é a seguinte



Para a realização do experimento, utilizou-se um produto*** que continha 2% de biotina pura. Este produto foi previamente preparado utilizando-se quirera de milho como veículo (premix) para facilitar o seu fornecimento em diferentes quantidades aos animais, sendo preparado da seguinte maneira:

39 kg de quirera de milho fina;

01 kg de biotina (2%);

40 kg do premix.

Cada 10 gramas do premix preparado continha 5 mg de biotina pura.

*** Biotin F-2 (Biotin 2% feed grade) Sumitomo Pharmaceuticals Co., 42.

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 8 potros P.S.I. (Furo Sangue Inglês), com idade média de 1,5 anos e peso aproximado de 350 kg, identificados por sorteio com os números de 01 a 08, todos alojados no Haras Rio Verde, município de Campo Largo - Paraná.

2.3 ALIMENTAÇÃO:

Foi mantida a mesma alimentação durante o experimento, que era baseada em pastagens formadas por grama missioneira (Axonopus compressus (Sw) Beauv.), capim quicuío (Pennisetum clandestinum Hochest), capim transvala (Digitaria decumbens Stent c.v. transvala) e trevos (Trifolium sp.), feno de alfafa (Medicago sativa L.) e concentrado. Uma ligeira degradação foi observada nas pastagens devido ao longo tempo da sua formação e ausência de uma rotina de recuperação das mesmas.

O mesmo manejo alimentar foi aplicado durante o experimento, onde os animais permaneciam em pastoreio durante o dia, sendo que no final da tarde eram recolhidos para receber a suplementação de feno e do concentrado. Cada animal consumia em torno de 1,5 kg de feno de alfafa e 2,5 kg do concentrado formulado de acordo com a Tabela 1.

A análise calculada do concentrado utilizado no experimento, em Energia Digestível, Proteína Bruta, Extrato Etéreo, Fibra Bruta, Macro e Microelementos minerais são apresentados na Tabela 2.

2.4 TRATAMENTOS

Todos os animais experimentais receberam a mesma alimentação, variando apenas o teor de biotina. O premix preparado foi adicionado ao concentrado fornecido no final da tarde, de acordo com os diferentes tratamentos:

Testemunha (T1), dois animais que receberam a alimentação sem a suplementação de biotina;

Tratamento 2 (T2), dois animais que receberam a alimentação mais 10 mg de biotina, contidas em 20 g do premix;

Tratamento 3 (T3), dois animais que receberam a alimentação mais 20 mg de biotina, contidas em 40 g do premix;

Tratamento 4 (T4), dois animais que receberam a alimentação mais 40 mg de biotina, contidas em 80 g do premix.

2.5 INPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO

No dia 04 de janeiro de 1992, os animais do experimento foram separados e identificados por sorteio com números de 01 a 08, tendo os animais 01 e 02 feito parte do grupo do testemunha (T1), os animais 03 e 04 fizeram parte do grupo do tratamento 2 (T2), os animais 05 e 06 do tratamento 3 (T3), os animais 07 e 08 do tratamento 4 (T4).

Com o auxílio de um paquímetro foi feito, em todos os animais, uma marca na muralha do casco 20 mm abaixo do perioplo e paralela ao mesmo (Figura 1).

Na oportunidade foi observado a integridade geral dos cascos, quando as devidas anotações foram tomadas. Constatou-se que todos os animais apresentavam cascos com rachaduras, partes quebradas, desgastes irregulares e presença da lacuna de separação entre a sola e a muralha, apesar da existência de um manejo de casqueamento realizado a cada 40 dias (Figura 2 e 3).

A partir deste dia os animais dos tratamentos T2, T3 e T4 receberam as diferentes quantidades de biotina, adicionadas ao concentrado consumido no final da tarde. Durante o período noturno os animais permaneciam nas cocheiras, sendo o tempo suficiente para a ingestão de todo o concentrado, não havendo riscos de uma ingestão parcial da vitamina utilizada no experimento.

2.6 AFERIÇÃO DO CRESCIMENTO

No dia 03 de fevereiro, 30 dias após a implantação do experimento, foi realizada a tomada das medidas de crescimento. Com o auxílio do paquímetro a distância entre o pericópio e a marca feita previamente na muralha foi aferida em todos os cascos dos animais do experimento e os respectivos valores anotados.

Nos dias 03 de março e 02 de abril (60 e 90 dias após), da mesma maneira já descrita anteriormente, foram tomadas as segunda e terceira medidas de crescimento, respectivamente.

2.7 AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE

A integridade dos cascos foi avaliada apenas visualmente, observando a presença de soluções de continuidade como quebras, rachaduras, desgastes irregulares e presença da lacuna de separação entre a sola e a muralha. Esta avaliação foi realizada nas mesmas datas de aferição do crescimento, observando a regressão ou não destes problemas no decorrer do experimento.

Deve-se ressaltar que tanto a avaliação da integridade quanto a aferição do crescimento foram realizadas antes do casqueamento mensal, diminuindo assim os erros de interpretação na análise da integridade dos cascos.

2.8 AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA

Ao término do experimento e após o último casqueamento realizado em todos os animais experimentais, o material córneo retirado foi separado e identificado com o número do animal e o casco correspondente.

No laboratório de Nutrição Animal e Agrostologia do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, com auxílio de um microscópio estereoscópio, num aumento de 50 vezes, as estruturas da muralha como o estrato interno, estrato médio e estrato externo foram avaliadas, levando-se em consideração a posição, o tamanho da medula e o número comparativo de túbulos de queratina presentes nas amostras analisadas.

Para uma comparação mais precisa entre todos os tratamentos e repetições, utilizou-se sempre o mesmo aumento no microscópio estereoscópio.

2.9 ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNA BRUTA

Do material retirado pelo casqueamento, somente a muralha foi analisada para o teor de proteína bruta, quando utilizou-se o método clássico de WEENDE, com modificações de acordo com AOAC (1980).

Deve-se ressaltar que a muralha (parede) do casco é a principal porção de sustentação do peso corporal do equino, sofrendo, assim, os maiores impactos do estajo córneo com o solo. Devido a esses fatores, a muralha, recebeu maior atenção nas avaliações e análises deste experimento.

2.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Através de um Delineamento Completamente Casualizado (DCC), foram comparados os 4 tratamentos.

Cada tratamento teve 3 repetições, sendo que a unidade experimental considerada, foi cada casco. Sabe-se que, estatisticamente o número de animais por tratamento foi reduzido, mas a dificuldade em se conseguir animais de uma mesma criação com mesma alimentação, faixa etária, raça e manejo, impediu um número maior de repetições.

Os dados experimentais do crescimento e da proteína bruta foram analisados utilizando-se a análise da variância e F-teste, segundo NARKUS (1974).

As médias foram comparadas pelo teste de TUKEY, conforme GOMES (1976).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao longo do experimento foi avaliada a taxa de crescimento mensal da muralha dos cascos, bem como a integridade e estrutura dos mesmos. Além disso, pesquisou-se variações nos teores de proteína bruta total, constituinte do material córneo, retirado durante o casqueamento.

3.1 AFERIÇÃO DO CRESCIMENTO

Os dados individualizados do crescimento da muralha nos diferentes tratamentos encontram-se no Anexo 1, cuja análise da variância revelou que existe diferença estatística, entre o tratamento T4 e os demais tratamentos ($P < 0,01$) como pode ser observado no Anexo 2.

Os valores médios de crescimento, obtidos ao final dos 90 dias de experimento, são mostrados no Anexo 3. A aplicação do teste de comparação entre médias, teste de Tukey (GOMES, 1976), indicou que no tratamento T4 houve uma diminuição da taxa de crescimento da muralha dos cascos nos 90 dias de experimento. O testemunha e os tratamentos 2 e 3 não diferiram entre si ($P > 0,01$), também demonstrado no Anexo 3.

Nas condições em que foi realizado este experimento, a suplementação de biotina não proporcionou um aumento na taxa de crescimento da muralha do casco. Este crescimento foi

significativamente menor no T4, contrariando o experimento de KANEYA (1990) e os dois experimentos realizados por MACCOUN (1982), citados por RIBEIRO (1987).

Apenas o tratamento 4 obteve um crescimento mensal correspondente aos valores médios de crescimento que, segundo WINTZER (1986), são de 8 a 13 mm por mês, enquanto que os demais tratamentos obtiveram médias superiores, observados no Gráfico I. O mesmo autor afirmou também que um incremento na taxa de crescimento ou diminuição no período de renovação do tecido córneo do casco não deve ser esperado com uma suplementação de biotina, o que também foi observado no presente trabalho.

3.2 AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE

Na implantação do experimento, observou-se que todos os animais utilizados apresentavam severos problemas de integridade do estojo córneo, como rachaduras, falta de pedaços em sua circunferência mais distal e externa, sinais de muralha fraca e lacuna de separação entre a sola e a parede. (Figura 2 e 3).

Os animais do testemunha, durante o período experimental, apresentaram fragilidade de muralha e soluções de continuidade em todas as partes dos cascos, da mesma maneira quando do início do experimento.

Os animais do tratamento 2 não apresentaram uma recuperação evidente dos problemas dos cascos, embora tenha ocorrido uma ligeira diminuição das anormalidades inicialmente apresentadas.

Os animais do tratamento 3, da mesma forma que os animais do tratamento 2, não apresentaram, ao final do experimento, cascos isentos dos problemas de integridade, mas foi encontrada uma recuperação mais evidente do que no testemunha e tratamento 2.

Ao final do experimento pode-se observar que os cascos dos animais do tratamento 4 apresentavam-se praticamente isentos de rachaduras, partes quebradas e não ocorria a separação entre a sola e a muralha, o que pode ser observado nas Figuras 3 e 4.

Segundo COMBEN (1983), WINTZER (1986) e SCHULZE e SCHERF (1989), a dose suplementar de biotina recomendada é de 15 mg, 13 mg e 15 mg, respectivamente, para aproximadamente 350 kg de peso vivo. Estes autores citam que, melhoras mais evidentes nos cascos dos animais em tratamento, utilizando-se estes níveis suplementares, só aparecem após 6 a 9 meses de administração da vitamina.

Com uma dose de 40 mg de biotina por dia, fornecida no tratamento 4, consegue-se um fortalecimento de todas as estruturas dos cascos dos eqüinos tratados num período de 3 meses, embora com os outros níveis (10 mg e 20 mg) este fortalecimento dos cascos possa ocorrer em um período maior de suplementação da vitamina, o que não foi testado no presente trabalho.

3.3 AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA

As amostras coletadas ao término do experimento e após o último casqueamento, foram avaliadas observando-se as estruturas da muralha como o estrato interno, o estrato médio e o estrato externo.

Nas amostras do testemunha, pode-se observar que, no estrato médio, os túbulos de queratina possuíam um grande diâmetro de medula e havia pouca queratina intertubular presente, favorecendo um desacoplamento do estrato interno com o estrato médio e facilidade no aparecimento da lacuna de separação entre a sola e a muralha (Figura 6).

No tratamento 2 (T2 - 10 mg de biotina/dia), a estrutura da muralha dos cascos apresentavam-se como as do tratamento T1 (testemunha), com um pequeno número de túbulos de queratina e um grande diâmetro dos mesmos. Observa-se também que nos dois tratamentos (T1 e T2), o estrato médio está bem visível devido ao tamanho da medula dos túbulos de queratina (Figura 7).

No tratamento 3 (T3 - 20 mg de biotina/dia), foi observado uma diminuição do diâmetro da medula dos túbulos de queratina, uma queratina intertubular mais uniforme e um perfeito acoplamento entre o estrato interno e o estrato médio, o que indica uma estrutura mais compacta (Figura 8).

No tratamento 4 (T4 - 40 mg de biotina/dia), túbulos de queratina apresentam-se quase que imperceptíveis, devido ao *reduzido diâmetro da medula e ao grande número de túbulos por milímetro quadrado presentes*, apresentando também uma grande quantidade de queratina intertubular, o que dá à amostra um aspecto vitrificado de grande resistência (Figura 9).

Segundo DELLMANN e BROWN (1982), o estrato médio é constituído por queratina tubular e intertubular e é a principal estrutura de sustentação da muralha. Baseando-se nessa afirmação, fez-se uma comparação da estrutura dos cascos nos diferentes tratamentos, onde observou-se uma estreita relação existente entre a estrutura e a qualidade do tecido córneo. A presença de uma maior quantidade de túbulos de queratina por milímetro quadrado e de queratina intertubular, presentes no estrato médio das amostras do tratamento 4, coincidiu com uma melhoria na integridade dos cascos deste tratamento ao final do experimento, quando comparado com os demais tratamentos. Esta relação entre a integridade e a estrutura do estojo córneo já foi mencionada por MAUSKE (1971), onde o autor cita o número de túbulos de queratina por milímetro quadrado e o cociente da medula dos mesmos, presentes no estrato médio, como pontos decisivos na determinação da qualidade do tecido córneo.

Observou-se também que com a diminuição da taxa de crescimento e com o aumento na resistência das partes córneas do casco a quantidade de material retirada através do casqueamento é reduzida, conseqüentemente, com uma suplementação de biotina em

níveis de 40 mg por dia (T4) pode-se aumentar o intervalo entre as sucessivas práticas de casqueamento.

3.4 ANALISE DO TEOR DE PROTEINA

Os dados individualizados das análises de proteína bruta das diferentes amostras encontram-se no Anexo 4. A análise da variância demonstrou que não existem diferenças estatísticas entre os diferentes tratamentos ($F > 0,05$), conforme pode-se observar no Anexo 5.

O conteúdo total de proteína das amostras dos quatro tratamentos não apresentou resultados diferentes estatisticamente entre si, mostrando que não há um incremento de proteína depositada no tecido córneo com a suplementação de biotina.

Como a muralha do casco é constituída basicamente por queratina, esta proteína é classificada em 2 grupos principais: as euqueratinas (queratina dura) que são caracterizadas por serem insolúveis em água, álcalis, ácidos e enzimas proteolíticas comuns; as pseudoqueratinas (queratina mole) também são altamente insolúveis, mas um pouco mais solúveis em enzimas proteolíticas que as euqueratinas (WEST e TODD, 1963).

A grande estabilidade e insolubilidade da queratina é devida ao grande número de ligações de enxofre (pontes de enxofre) entre as cadeias peptídicas. A análise de aminoácidos revela que a

queratina tem normalmente um alto conteúdo de cistina (HAUROWITZ, 1963).

Baseando-se nestas afirmações, o aumento da resistência dos cascos dos animais suplementados com biotina é devido ao tipo da proteína formadora do tecido córneo. Esta diferença entre os tipos de proteína está relacionada com o conteúdo total de cistina o que poderá ser confirmado ou não em pesquisas futuras.

4 RESUMO

Nas condições experimentais em que esta pesquisa foi realizada, estudou-se o efeito de diferentes níveis suplementares de biotina no crescimento, estrutura e integridade dos cascos de potros com 1 a 2 anos de idade. Desenvolveu-se um experimento com um Delineamento Completamente Casualizado onde cada tratamento teve oito repetições, sendo que a unidade experimental considerada foi o casco. Os concentrados foram suplementados com níveis de 10 mg de biotina por dia (T2), 20 mg de biotina por dia (T3) e 40 mg de biotina por dia (T4), sendo que o tratamento testemunha (T1) foi o concentrado de uso normal sem suplementação desta vitamina. Foram avaliados o crescimento, a estrutura e a integridade dos cascos. Determinou-se, ainda, o teor de proteína bruta das amostras coletadas após o último casqueamento. Os resultados obtidos, ao término do experimento (90 dias) nos diferentes tratamentos, foram os seguintes: em relação ao crescimento, houve uma diminuição significativa ($P < 0,01$) do T4 em relação aos outros tratamentos (T1, T2 e T3). A avaliação da integridade mostrou no T4 uma melhora evidente dos problemas de casco quando comparados ao início do experimento e também ao testemunha. A análise da estrutura demonstrou que, no T4, o estrato médio, que é a camada de maior sustentação da muralha, apresentava-se com uma quantidade maior de túbulos de queratina por milímetro quadrado e de queratina intertubular, mostrando um perfeito acoplamento com o estrato interno e externo, indicando, assim, uma estrutura mais compacta. As amostras coletadas após o último casqueamento não mostraram uma variação significativa nos teores de proteína bruta.

5 ABSTRACT

In experimental conditions this research was realized, growth, structure and integrity of horse hoof were studied with the use of different supplementary levels of biotin. The subjects were 1 to 2 years old. The experiment was developed through a completely casual design; each treatment had eight repetitions and the hoof was considered as the experimental unit. The horses diet was supplemented with 10 mg biotin/day (T2); 20 mg biotin/day (T3) and 40 mg biotin/day (T4). The control group (T1) received the regular concentrate, without supplementation of that vitamin. The growth, structure and the integrity of the hoofs were evaluated. Horn samples were assessed for the level of crude protein after the last hoof trimming. After 90 days with the different treatments and with the experiment finished, the following results were obtained: there was a significative reduction ($P < 0,01$) of growth in T4, when compared to other treatments (T1, T2 e T3). Also T4 had a better hoof integrity than T1, wich improved from the beginning of the treatment. Finally, T4 also showed best hoof conditions. There was no significative variation in the level of crude protein in the hoofs wall samples. The "stratum medium" of the wall produced more keratin tubules/mm² and more intertubular keratin on T4, showing a good fitting between the inner and outer stratum, leading to a more compact structure.

6 CONCLUSOES

Considerando os resultados obtidos, dentro dos objetivos propostos e das limitações inerentes às condições experimentais, pode-se concluir que:

a. Considerando-se o período total de duração do experimento, a suplementação de biotina, em nenhum dos tratamentos acelerou a taxa de crescimento da muralha;

b. O tratamento 4 com uma suplementação de 40 mg de biotina/dia, apresentou uma diminuição do crescimento da muralha dos cascos, quando comparado aos outros tratamentos e analisada estatisticamente;

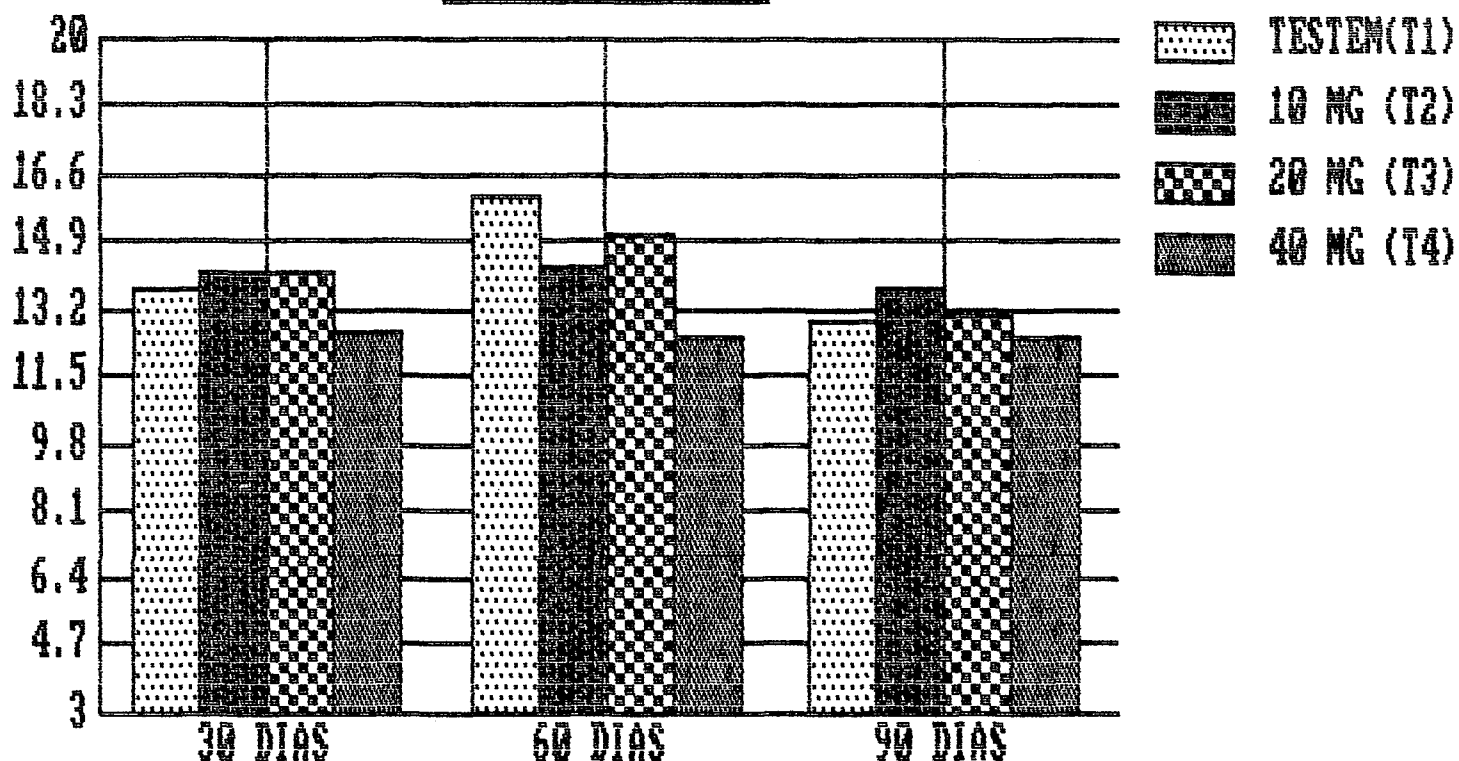
c. A suplementação de biotina favorece o fortalecimento do estojo córneo pelas modificações da estrutura, principalmente, do estrato médio, promovendo um aumento do número de túbulos de queratina por mm² e uma diminuição no diâmetro da medula dos mesmos;

d. Pode-se conseguir melhoras no estojo córneo (diminuição das rachaduras, ausência da lacuna de separação e uma maior resistência geral dos cascos em um período relativamente curto (3 meses), com uma suplementação de 40 mg de biotina por dia;

e. Nas criações onde as pastagens encontram-se degradadas e a alimentação concentrada é formulada com farelos de oleaginosas e grãos de cereais, geralmente esta alimentação não supre as quantidades de biotina necessária para um perfeito desenvolvimento do estojo córneo dos eqüinos;

f. Níveis suplementares de 40 mg de biotina por dia (T4) permitem um aumento no intervalo entre as sucessivas práticas de casqueamento pela diminuição da taxa de crescimento e pelo aumento na resistência das partes córneas do casco.

NIVEIS DE BIOTINA



MEDIAS EM CRESCIMENTO EM MM/DIAS DE SUPLEMENTAÇÃO

GRAFICO: Demonstrativo dos valores médios de crescimento em mm comparativo entre os diferentes tratamentos, aos 30, 60 e 90 dias de experimento.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO EM GRAMAS DO CONCENTRADO FORNECIDO AOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS.

Quirera de milho.....	0,25 kg
Aveia achatada.....	2,00 kg
Farelo de soja.....	0,20 kg
Premix mineral.....	0,05 kg
	<hr/>
	2,50 kg

TABELA 2 - ANALISE CALCULADA DO CONCENTRADO UTILIZADO DIARIAMENTE DURANTE O EXPERIMENTO

NUTRIENTES	TEORES
Energia Digestível	7,6 Mcal
Proteína Bruta	332,5 g
Extrato Etéreo	4,5 %
Fibra Bruta	9,0 %
Cálcio	47,0 g
Fósforo	35,0 g
Magnésio	2,5 g
Cobalto	40,0 mg
Cobre	80,0 mg
Ferro	150,0 mg
Manganês	350,0 mg
Zinco	80,0 mg
Iodo	50,0 mg
Selênio	8,8 mg

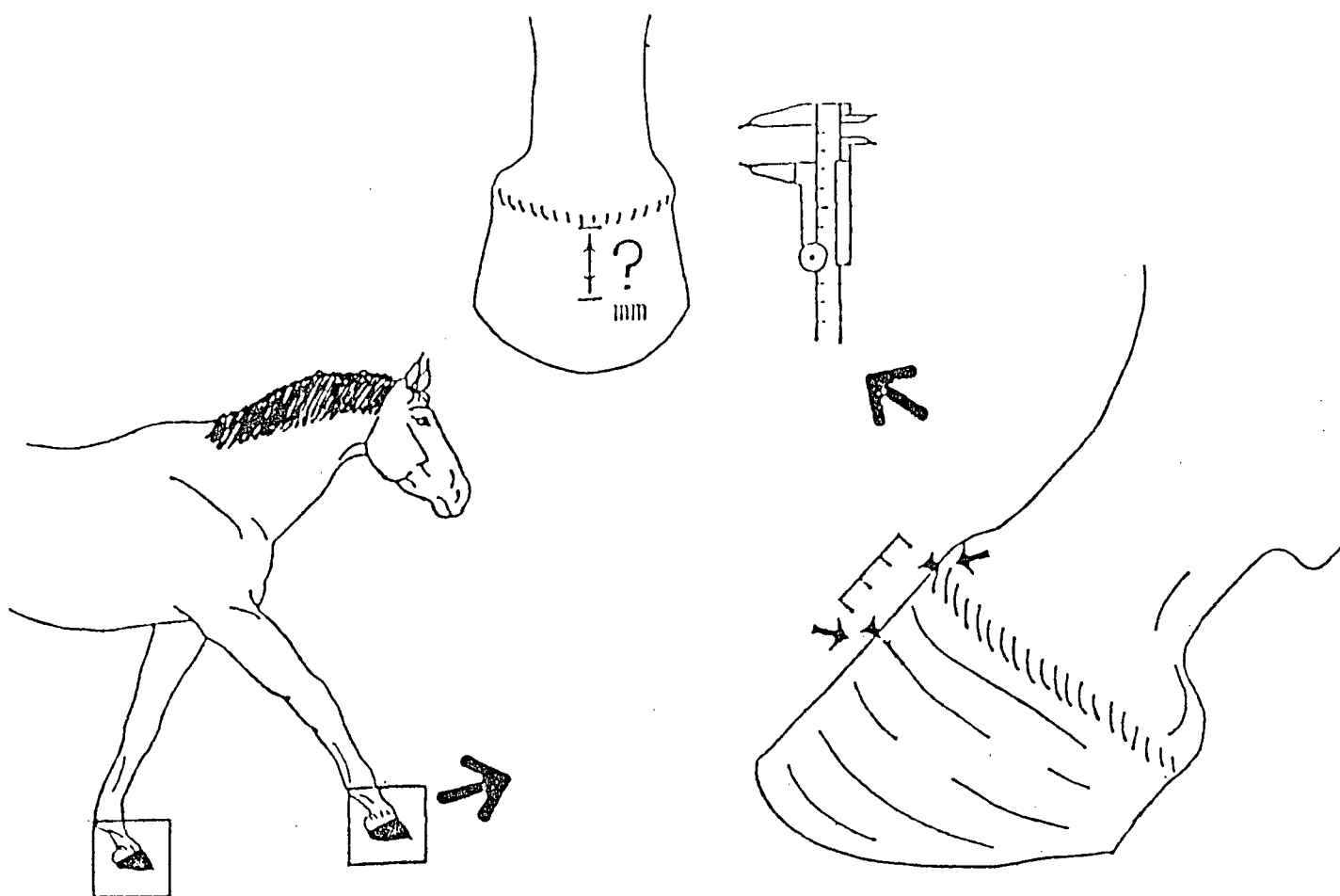


FIGURA 1 - Ilustração do procedimento utilizado para avaliação do crescimento da muralha do casco.

Utilizando-se um paquímetro e uma lima fina fez-se uma marca paralela a 20 mm do perioplo.



FIGURA 2 - Observa-se que a circunferência distal e externa dos cascos apresentam desgastes irregulares, rachaduras e sinais de parede fraca (vista frontal).



FIGURA 3 - Pode-se observar a presença de rachaduras (a), partes quebradas (b), desgastes irregulares (c) e lacuna de separação entre a sola e a muralha (d), apesar do manejo de casqueamento ser realizado a cada 40 dias (vista inferior).



FIGURA 4 - Observa-se que ao final do experimento os cascos dos animais do tratamento 4 (T4) apresentavam-se sem desgastes irregulares, partes quebradas e também não ocorria sinais de parede fraca (vista frontal).



FIGURA 5 - Ao final do experimento observou-se que os cascos dos animais do tratamento 4 (T4) apresentavam-se praticamente isentos de rachaduras, partes quebradas e não ocorria a separação entre a sola e a muralha (vista inferior).



FIGURA 6 - Observa-se que, no estrato médio da muralha do casco dos animais do testemunha (T1), os túbulos de queratina possuíam um grande diâmetro de medula e havia pouca queratina intertubular presente.

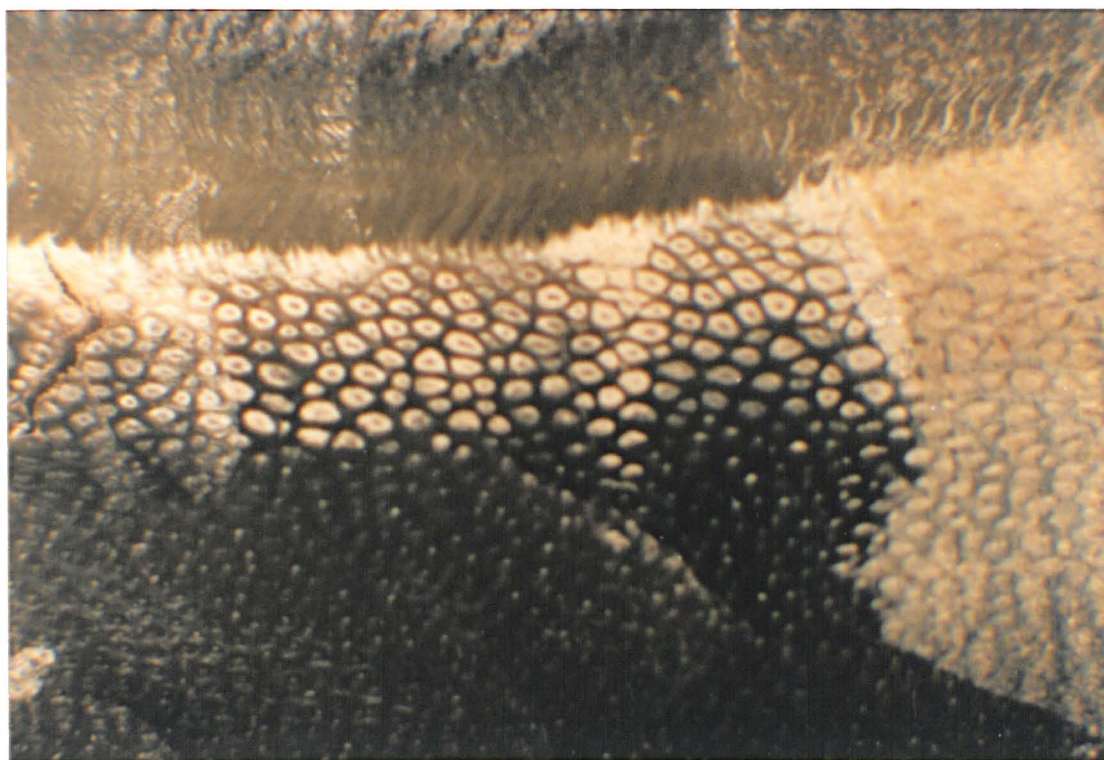


FIGURA 7 - No tratamento 2 (T2), a estrutura da muralha dos cascos apresentava-se como as do testemunha, com um pequeno número de túbulos de queratina e um grande diâmetro dos mesmos.

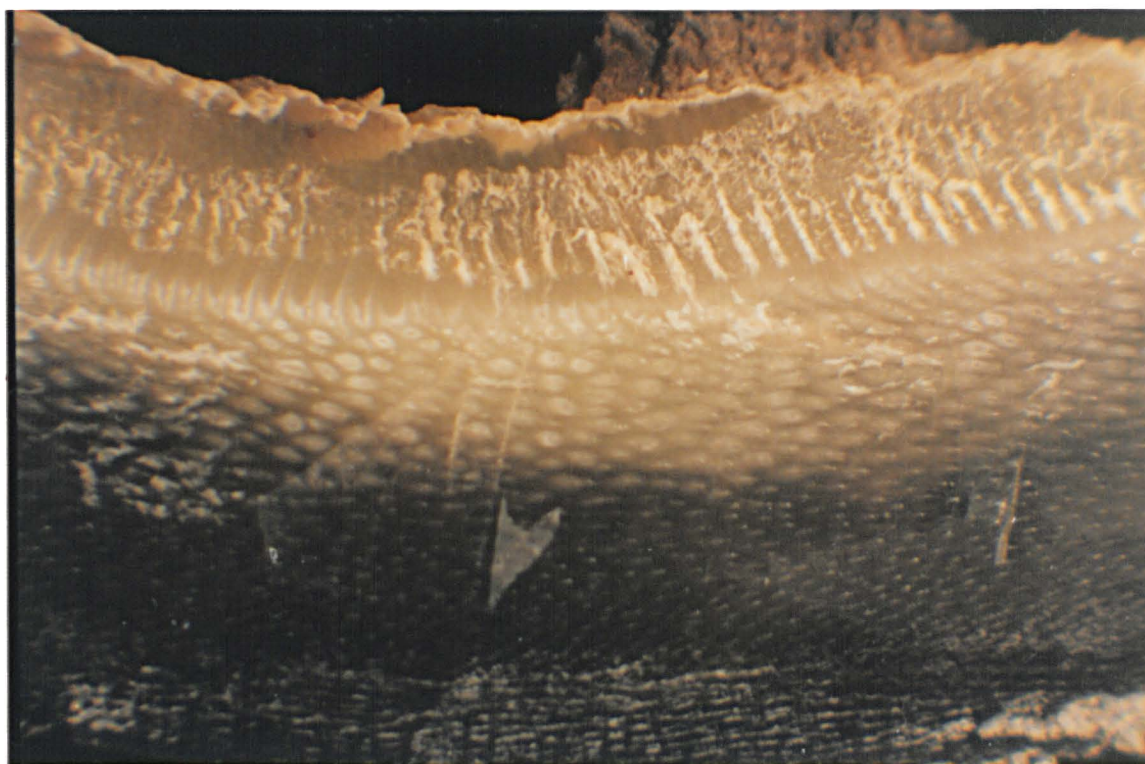


FIGURA 8 - No tratamento 3 (T3) foi observado uma diminuição do diâmetro da medula dos túbulos de queratina, uma queratina intertubular mais uniforme e um perfeito acoplamento entre o estrato interno e o estrato médio, indicando uma estrutura mais compacta.

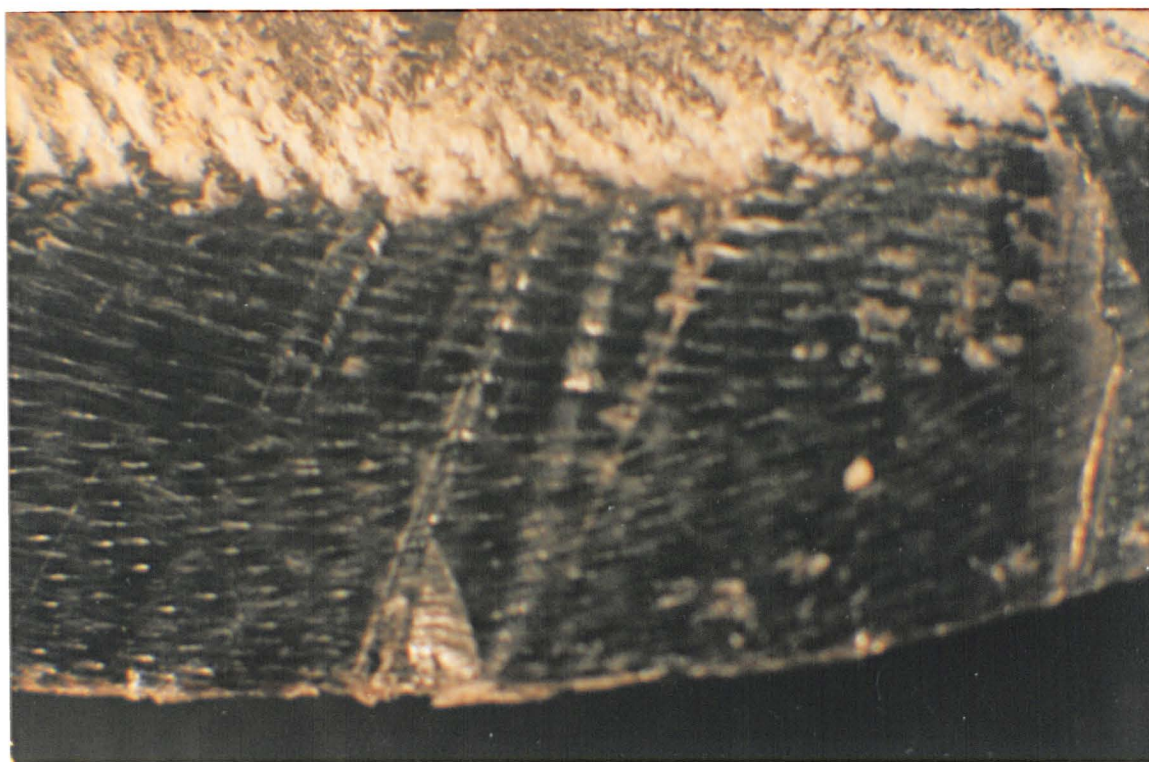


FIGURA 9 - No tratamento 4 (T4), os túbulos de queratina apresentam-se quase que imperceptíveis, devido ao reduzido diâmetro da medula, a ao grande número de túbulos por milímetro quadrado presentes, apresentando também, uma grande quantidade de queratina intertubular, o que dá à amostra um aspecto vitrificado de grande resistência.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13 ed. Washington: William Horwitz, 1980. 1018 p.
- 2 ANDERSON, P.A.; BAKER, D.H.; MISTRY, S.P. Biossay determination of the biotin conten of corn, barley, sorghum and wheat. Journal of Animal Science, Champaign, v.47, n.3, p.645-659, 1978.
- 3 ANDRIGUETTO, J.M. et al. Nutrição animal. São Paulo: Nobel, 395 p., 1988.
- 4 BROOKS, P.H.; SMITH, D.A.; IRWIN, V.C.R. (1977) Biotin-supplementation of diets; the incidence of foot lesions, and the reproductive performance of sows. Veterinary Record. London, v.101, p.46-50, 1977.
- 5 BRYANT, K.L. et al. Supplemental biotin for swine I. Influence on feedlot performance, plasma biotin and toe lesions in developing gilts. Journal of Animal Science. Champaign, v.60, p.136-144, 1985.
- 6 CARROL, F.D.; GOSS, H. & HOWELL, C.E. The synthesis of B vitamins in the horse. Division of Animal Husbrandy, Davis, Los Angeles: University of California, 1949.
- 7 COMBEN, N.; CLARK, R.J. & SUTHERLAND, D.J.B. Clinical observations on the response of equine hoof defects to dietary supplementation with biotin. Veterinary Record. London, v.115, p.642-645, 1984.
- 8 DELLMANN, H.D. & BROWN, P.D. Histologia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 397p., 1982.
- 9 GEYER, H. et al. Influence of experimental Biotin deficiency on morphology and histochemistry of skin and claws of swine. Zentralblatt für Veterinärmedizin. A., Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich, Switzerland, 1984.

- 10 GOMES, P. Curso de estatística experimental. 6.ed. São Paulo:405 p., 1976.
- 11 HAURWITZ, F. The Chemistry and function of proteins. 2.ed. New York: Academic Press, 455p., 1963.
- 12 KAMEYA, T. Biotin supplementation enhances growth of walls of riding horses. Obihiro: Obihiro University. Osaka, 1990.
- 13 MARKUS, R. Elementos de estatística aplicada. Porto Alegre : Faculdade de Agronomia da UFRGS, 329p., 1974.
- 14 MAUSKE, S. Untersuchungen zur histologischen Klauenstruktur beim DS-Rind. Berlin: Humboldt - Universität zu Berlin. Dissertação (Medicina Veterinária), 1971.
- 15 PENNY, R.H.C. et al. Foot rot of pigs: The influence of biotin supplementation on foot lesions in sows. Veterinary Record. London, v.107, p.350-351, 1980.
- 16 RIBEIRO, R.C. Utilização da biotina na nutrição de eqüinos. Â Hora Veterinária Porto Alegre, n.35, jan/fev., p.8-12, 1987.
- 17 SCHULZE, J.; SCHERF, H. Klinische studie zur therapie mit biotin beim pferd. Tierärztliche Umschau. Konstanz, v.44, p.187-190, 1989.
- 18 WEST, E.S.; TODD, W.R. Textbook of Biochemistry. 3.ed. New York: Mac-Millan, 1963.
- 19 WINTZER, H.J. Der Einflub einer Vitamin-H-Substitution auf Wachstum und Beschaffenheit des Hufhorns. Tierärztliche Praxis. v.14, n.4, p.495-500, 1986.

ANEXO 1 - INDIVIDUALIZAÇÃO DOS DADOS DE CRESCIMENTO POR
REPETIÇÃO NOS DIFERENTES TRATAMENTOS.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES							
	AD	AE	FD	PE	AD	AE	FD	PE
T1	42,5	45,0	45,0	43,0	43,0	38,5	44,0	42,0
T2	38,0	44,0	44,0	44,0	41,0	42,0	42,5	44,0
T3	41,4	47,0	45,0	43,0	39,0	38,5	43,0	44,0
T4	36,8	35,8	39,0	39,0	36,0	35,3	38,5	41,0

AD - Anterior direito

AE - Anterior esquerdo

FD - Posterior direito

PE - Posterior esquerdo

ANEXO 2 - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DO CRESCIMENTO NOS 90 DIAS DO
EXPERIMENTO.

FONTE DE VARIÂÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
TRATAMENTOS	3	148,79	49,59	9,53++
ERRO	28	148,41	5,30	
TOTAL	31	297,20		

++ SIGNIF. AO NÍVEL 1% (P < 0,01)

ANEXO 3 - VALORES MEDIOS DE CRESCIMENTO EM MILIMETROS, POR TRATAMENTO, OBTIDOS AO FINAL DOS 90 DIAS DE EXPERIMENTO.

TRATAMENTOS	MEDIAS DE CRESCIMENTO
T1	42,8a
T2	42,4a
T3	42,6a
T4	37,6b

Médias seguidas pela mesma letra (a,b) não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

ANEXO 4 - INDIVIDUALIZAÇÃO DOS DADOS DA PROTEÍNA BRUTA POR
REPETIÇÃO NOS DIFERENTES TRATAMENTOS.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES							
	AD	AE	PD	PE	AD	AE	PD	PE
T1	84,62	84,54	75,83	75,61	81,42	82,73	81,62	75,75
T2	74,48	76,65	76,95	78,83	77,02	76,73	84,22	76,83
T3	74,72	77,00	75,74	75,18	75,57	76,94	80,16	75,03
T4	75,67	78,42	82,02	81,21	76,61	75,16	77,36	75,80

AD - Anterior direito

AE - Anterior esquerdo

PD - Posterior direito

PE - Posterior esquerdo

ANEXO 5 - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DO TEOR DE PROTEÍNA BRUTA AOS
90 DIAS DE EXPERIMENTO.

FONTE DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
TRATAMENTOS	3	65,39	21,79	2,59NS
ERRO	28	235,12	8,39	
TOTAL	31	300,51		

NS: Não Significativo a Nível de 5% (P > 0,05)