



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP

INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**Novo sistema de exigências de cálcio e fósforo para vacas leiteiras
em lactação**

Suziane Rodrigues Soares

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Zootecnia.

Sinop, Mato Grosso

Fevereiro de 2018

SUZIANE RODRIGUES SOARES

**Novo sistema de exigências de cálcio e fósforo para vacas leiteiras
em lactação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso,
Campus Universitário de Sinop, como parte das exigências
para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Zootecnia.

Data da Defesa: 28 de fevereiro de 2018.

Orientador: Prof. Dr. André Soares de Oliveira

Sinop, Mato Grosso

Fevereiro de 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

S676n Soares, Suziane Rodrigues.

Novo sistema de exigências de cálcio e fósforo para vacas leiteiras em lactação. / Suziane Rodrigues Soares. -- 2018
xii, 45 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: André Soares de Oliveira.

Co-orientador: Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Sinop, 2018.

Inclui bibliografia.

1. sistemas nutricionais. 2. excreção endógena. 3. bovinos leiteiros. I.
Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Avenida Alexandre Ferronato, 1200 - Reserva 35 - Distrito Industrial - Cep: -Sinop/MT
Tel : - Email : ppgzootecnia@ufmt.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO : "Novo sistema de exigências de cálcio e fósforo para vacas leiteiras em lactação "

AUTOR: Mestranda SUZIANE RODRIGUES SOARES

Dissertação defendida e aprovada em 28/02/2018.

Composição da Banca Examinadora:

Presidente Banca / Orientador Doutor(a) André Soares de Oliveira
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Coorientador Doutor(a) Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Interno Doutor(a) ERICK DARLISSON BATISTA
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Interno Doutor(a) Eduardo Henrique Bevitori Kling de Moraes
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Externo Doutor(a) Fernando de Paula Leonel
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI

Examinador Suplente Doutor(a) Anderson Corassa
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

SINOP, 28/02/2018.

*Aos meus pais, que sempre me incentivaram a continuar os estudos, em especial
minha mãe Creuza, que com todo seu amor, carinho, sabedoria e compreensão me apoia em
todos os momentos... MEU ALICERCE*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, acima de tudo!

Aos meus pais, José Cicero e Creuza e irmãos Sealtiel e Saane pela ajuda e apoio.

As minhas sobrinhas, Giovana e Gabrieli pelos momentos de risos, paz, tranquilidade nos instantes de estresse. A todos os meus familiares, em especial minhas primas Tatiana e Natana, pelos momentos de descontração, gargalhadas e incentivos.

Agradeço a minha amiga Larissa pela amizade, companheirismo mesmo estando longe.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Pesquisa em Pecuária Leiteira: Daiane, Karine, Andrea, Henrique, Rodrigo, João, pela enorme amizade e colaboração ao longo da caminhada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. André Soares de Oliveira, pelo exemplo de profissional. Obrigada pela paciência e conhecimentos repassados. A Dra. Marcia Rodrigues Carvalho Oliveira pela co-orientação.

Aos membros da banca Dr. Eduardo Henrique Bevitori Kling de Moraes; Dr. Erick Darlisson Batista e Dr. Fernando de Paula Leonel

À Universidade Federal de Mato Grosso/Campus Sinop, e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPGZ), pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq projeto número 305826/2013-1 e 207300/2014-3) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado e apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma me apoiaram e contribuíram com o meu crescimento pessoal e profissional.

Muito obrigada a todos!

BIOGRAFIA

Natural de Santana do Ipanema, estado de Alagoas, ingressou em 2010, no curso de bacharel em Zootecnia na Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) *Campus Sinop*, obtendo o diploma em 2015.

No ano de 2016, ingressou no Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPGZ) com linha de pesquisa em Nutrição e Alimentação de Ruminantes, na mesma instituição.

RESUMO

SOARES, Suziane Rodrigues. Dissertação de Mestrado (Zootecnia), Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, Fevereiro de 2018, 57 f. **Novo sistema de exigências de cálcio e fósforo para vacas leiteiras em lactação.** Orientador: Prof. Dr André Soares de Oliveira. Coorientadora: Profa. Dra. Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira.

Os minerais cálcio (Ca) e fósforo (P) desempenham papéis vitais no corpo do animal. No entanto, o excesso de P na dieta pode aumentar a excreção de P e o custo da dieta, o que pode causar a eutrofização do solo e da água, principalmente em solos de clima temperado. Além disso, as fontes de P inorgânicas utilizadas na alimentação animal não são renováveis, o que requer ainda mais atenção. Assim, um refinamento de exigência dietética dos animais pode melhorar a eficiência dietética de utilização de Ca e P, otimizando o desempenho animal e econômico. Desta forma, o nosso objetivo foi propor um novo sistema de exigências de Ca e P para vacas leiteiras em lactação, para quantificar os teores de Ca e P no leite de diferentes grupos genéticos, para quantificar a excreção endógena fecal (EEF) e excreção endógena urinária (EEU) de Ca e P por meio de meta-regressão e também quantificar e elucidar os fatores que afetam o coeficiente metabolizável de Ca e P (CaMet, PMet), coeficiente este proposto pelo novo sistema. Para o desenvolvimento da meta-análise, usamos um conjunto de dados completo com 53 artigos revisados por pares (72 experimentos; $n = 276$ médias de tratamentos). As variáveis estudadas foram analisadas através de modelos mistos. O banco de dados apresentou uma ampla variação de características animais e de dietas, pois possui animais de baixa a alta produção de leite (4,5 a 52,8 kg / dia), e composto majoritariamente por vacas Holandesas (66,8%). O genótipo de vaca leiteira afetou as concentrações de Ca e P no leite ($P < 0,05$), nas quais a concentração de Ca e P no leite de animais das raças Jersey e do cruzamento Holandesa x Jersey foi maior que a da raça Holandesa. Este efeito possivelmente se deve a diferenças nas características produtivas entre raças, em que as vacas Jersey apresentam teores de sólidos totais superiores às de vacas Holandesas e outras, consequentemente os teores de Ca e P no leite serão superiores. O genótipo da vaca leiteira não afetou a excreção fecal e urinária de Ca ou P. Nós

propomos valores de EEF de Ca $1,83 \pm 0,59$ g / kg de consumo de matéria seca (CMS), EEU de Ca $0,13 \pm 0,03$ g / kg de CMS e EEF de P $0,93 \pm 0,21$ g / kg de CMS e EEU de P $0,01 \pm 0,007$ g / kg de CMS para quantificar a exigência líquida de manutenção de vacas leiteiras em lactação. Já o coeficiente metabolizável de cálcio de vacas Holandesa é menor do que nas vacas Jersey, mas o mecanismo para explicar essa diferença precisa ser elucidado, pois as vacas Holandesa e Jersey parecem regular o cálcio de maneiras diferentes e respondem diferentemente aos estímulos de serotonina da via do cálcio. Assim, nós propomos o valor de CaMet de $0,74 \pm 0,02$ para vacas Holandesa e $0,82$ para vacas Jersey, e um único valor para PMet de $0,74 \pm 0,06$. Nosso novo sistema de exigências dietéticas de Ca e P reduz em 29% e 15% Ca e P respectivamente, em dietas de vacas leiteiras em lactação comparado com o NRC (2001). Portanto, nosso novo sistema pode melhorar o desempenho econômico e ambiental da indústria leiteira no mundo e reduzir a dependência de fontes de P não renováveis. No entanto, sugerimos uma avaliação de acurácia e precisão do novo sistema comparado com outros sistemas, através da análise de experimento de dose-resposta independente.

Palavras-chaves: sistemas nutricionais, excreção endógena, bovinos leiteiros

ABSTRACT

SOARES, Suziane Rodrigues. Masters dissertation (Animal Science), Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, February 2018, 57 f. **A new system of calcium and phosphorus requirement for lactating dairy cows.** Advisor: Prof. Dr André Soares de Oliveira. Co-advisor: Profa. Dra. Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira.

The minerals calcium (Ca) and phosphorus (P) play vital roles in the animal body. However, excess dietary P can increase P excretion and the cost of the diet, which can cause eutrophication of soil and water. In addition, the inorganic P sources used in animal feed are non-renewable, which requires even more attention. Thus, a refinement animal dietary requirement can better the dietary efficiency of Ca and P utilization, optimizing animal and economic performance. Therefore, our objective was to propose a new system of Ca and P requirement for lactating dairy cows, to quantify calcium and phosphorus content in milk of different genetic groups, to quantify endogenous fecal excretion (EFE) and endogenous urinary excretion (EUE) of calcium and phosphorus from of meta-regression and to quantify and elucidate the factors that affect the calcium and phosphorus metabolizable coefficient (coefficient proposed by the new system). For the development of the meta-analysis we used a complete data set with 53 peer-reviewed papers (72 experiments; $n = 276$ treatments means). The studied variables were analyzed through mixed models. The database presented a great variation of animal characteristics and diets, it has animals from low to high milk production (4.5 to 52.8 kg/day), e composed mostly of Holstein cows (66.8%). The dairy cow genotype affected Ca and P concentration in milk ($P < 0.05$) in which Ca and P concentration in milk of Jersey and Holstein x Jersey crossbreed are higher than Holstein. This effect possibly is due to differences in productive characteristics between breeds where the Jerseys cows present total solids contents higher than Holstein cows and others, consequently more Ca and P in the milk. The dairy cow genotype do not affect fecal and urinary Ca or P excretion. We propose value of endogenous fecal Ca excretion of 1.83 ± 0.59 g/kg dry matter intake (DMI), endogenous urinary Ca excretion of 0.13 ± 0.03 g/kg DMI, and to endogenous fecal P excretion of 0.93 ± 0.21 g/kg

DMI and endogenous urinary P excretion of 0.01 ± 0.007 g/kg DMI to quantify net requirement to maintenance of lactating dairy cow. Already the calcium metabolizable coefficient of Holstein cows is lower than Jersey, but the mechanism to explain this difference need be elucidate, since the Holstein and Jersey cows seem to regulate calcium in different manners and respond differently to serotonin stimuli of the calcium pathway. Thus, we propose value of CaMet of 0.74 ± 0.02 to Holstein and 0.82 to Jersey, and only one value to PMet of 0.74 ± 0.06 . Our new system of dietary Ca and P requirement reduces in 29% and 15% Ca and P in lactating dairy cows diets to compared to the NRC (2001). Therefore, our new system could improve the economic and environmental performance of dairy industry in world, and to reduce dependence of non-renewable P sources. However, we suggest an evaluation of accuracy and precision of new system compared with other systems, by analysis of independent response-dose feeding experiment.

Keywords: nutrition system, endogenous excretion, dairy cattle

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL -----	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	3
2.1. Fontes de Fósforo -----	3
2.2. Metabolismo de Cálcio e Fósforo em Vacas Leiteiras -----	6
2.2.1. Homeostase e Absorção de Cálcio -----	6
2.2.2. Homeostase e Absorção de Fósforo -----	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	13
A new system of calcium and phosphorus requirements for lactating dairy cows -----	17
1. INTRODUCTION -----	18
2. MATERIAL AND METHODS -----	19
3. RESULTS AND DISCUSSION -----	23
4. CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS -----	26
5. REFERENCES -----	27
6. Appendix -----	43

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os macrominerais são componentes estruturais importantes dos ossos e de outros tecidos e servem como constituintes importantes dos fluidos corporais. São exigidos em grandes quantidades, geralmente expresso em gramas por quilograma ou porcentagem na dieta (Goff, 2006).

O cálcio (Ca) é essencial para a formação de tecidos esqueléticos, transmissão de impulsos do tecido nervoso, a excitação da contração do músculo esquelético e cardíaco, coagulação do sangue, bem como atividades de uma ampla gama de enzimas, como segundo mensageiro e como componente do leite. Quando o Ca é insuficiente para atender as exigências do animal, este será mobilizado a partir dos ossos para manter a normocalcemia (NRC, 2001).

O fósforo (P) é essencial para o metabolismo da energia das células animais (como componente da adenosina trifosfato, ATP), sistema tampão ácido-base, diferenciação celular, como componente da parede celular e conteúdo celular como fosfolípidos, fosfoproteínas, ácidos nucleicos, e como componente de leite (NRC, 2001). O fósforo também é exigido por microrganismos ruminais para a digestão de celulose (Burroughs et al., 1951) e síntese de proteína microbiana (Breves e Schroder, 1991). A deficiência de P dietética pode reduzir a produção de leite (Wu, 2005), a eficiência reprodutiva (Bjelland et al., 2011) e afetar a saúde animal.

No entanto, o excesso dietético de P pode aumentar o custo da dieta e a excreção de P, com grande potencial de risco de causar eutrofização do solo e da água, principalmente em regiões de solos não tropicais. Além disso, a principal fonte inorgânica de P (fosfato bicálcico) utilizada para alimentação animal é obtida a partir de uma fonte não renovável (fosfato rocha). De todo o fosfato de rocha produzido no mundo 5% é destinado a nutrição animal, assim o uso eficiente de alimentos fosfatados para animais desempenha um papel crítico na manutenção geral da segurança alimentar global (Carlson e Le Capitaine, 2011). Desta forma, um refinamento das exigências dietéticas do animal por meio da eficiência dietética da utilização de Ca e P, é fundamental para otimizar o desempenho animal, econômico e consequentemente minimizar o impacto ambiental da pecuária.

As exigências para minerais, podem ser estimadas por uma abordagem fatorial e depois confirmados por experimentos de dose-resposta (CSIRO, 2007). A exigência líquida (absorvida) de minerais representa a soma da exigência líquida de manutenção, crescimento, prenhez e lactação. A exigência líquida de manutenção representa as perdas inevitáveis do corpo como excreção endógena fecal (EEF) e excreção endógena urinária (EEU), e perdas através da pele. Esta última porém, não é normalmente adotada pelos sistemas nutricionais devido à dificuldade de mensuração (NRC, 2001; CSIRO, 2007; NRC, 2016; BR-Corte 2016). As excreções endógenas fecais e urinárias podem ser conhecidas por experimento de dieta livre de minerais (que possui limitações práticas e não pode representar uma dieta típica de animais de produção) ou por experimentos de balanço mineral que podem ser facilmente quantificadas por meio de regressão entre o consumo mineral e a excreção mineral, onde a excreção endógena representa o intercepto da equação (Myers e Beede, 2009).

A exigência líquida para o crescimento é a soma da quantidade de fósforo absorvido nos tecidos moles mais o depositado nos tecidos esqueléticos (ARC, 1980). A exigência líquida para a prenhez é o acúmulo de fósforo no conceito (feto, fluidos fetais e membranas, placentomas e tecidos uterinos), no qual é considerado apenas após 190 dias de gestação (House and Bell, 1993). A exigência líquida para a lactação é igual a produção de leite diária multiplicado pelo teor do mineral no leite.

A exigência dietética de cálcio e fósforo é comumente quantificado pela divisão da exigência líquida total e coeficiente de absorção intestinal (NRC, 2001). Todavia, o coeficiente de absorção intestinal pode ser conceitualmente inacurado se a excreção urinária for considerada como exigência para manutenção. Portanto, propusemos neste estudo o uso do conceito de coeficiente metabolizável que representa a proporção entre o consumo mineral que não é excretado em fezes e urina, descontando a excreção da fração endógena fecal e urinária.

O comitê científico de sistema nutricional para bovinos leiteiros mais adotado no mundo (NRC, 2001) recomenda como exigência líquida de Ca para a manutenção de 0,031 g/kg de peso corporal (PC), obtido a partir de um único experimento de balanço de Ca e P (Martz et al., 1990), utilizando quatro

vacas Hosltein em lactação, calculadas após administração por via intravenosa com doses de ^{45}Ca e ^{32}P para mensurar as perdas fecais endógenas. Contudo, a excreção urinária endógena não foi considerada. O comitê NRC (2001) recomenda o uso de eficiência de absorção de Ca de 30% para forragem e 60% para concentrado, com base em número limitado de estudos.

Para a exigência líquida de P para manutenção, o comitê NRC (2001) recomendou o uso de 1,0 g/kg de consumo de matéria seca (CMS) como estimativa endógena fecal de 0,002 g/kg PC como estimativa endógena urinária, ambos baseados na recomendação do comitê ARC (1980). A eficiência de absorção de P proposta pelo NRC (2001) foi de 64% para forragens e 70% para concentrados. Desta forma, as recomendações de exigências dietéticas de Ca e P para vacas leiteiras em lactação precisam ser atualizadas. Nossa hipótese é que a exigência líquida de Ca e P para manutenção e o coeficiente metabolizável quantificado a partir de meta-análise de experimentos avaliando balanço de Ca e P melhora o refinamento para as recomendações de Ca e P na dieta para vacas leiteiras em lactação.

Assim, o nosso objetivo geral foi propor um novo sistema de exigência de cálcio e fósforo para vacas leiteiras em lactação. E o nosso objetivo específico foi: 1) quantificar os teores de Ca e P no leite de vacas leiteiras de diferentes grupos genéticos, para serem utilizados como parâmetros para estimar a exigência líquida de Ca e P para a lactação; 2) quantificar EEF e EEU de Ca e P, por meio de meta-regressão entre excreção fecal ou urinária e consumo total; 3) quantificar e elucidar fatores que afetam o coeficiente metabolizável de Ca e P.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fontes de fósforo

O fósforo está presente na natureza em ossos e rochas fosfatadas, juntamente com o cálcio, como uma fonte não renovável (Filho, 2016). São essenciais para todos os ciclos de vida vegetal e animal e são indispensáveis para todos os organismos vivos. Os depósitos de fosfatos de rocha podem ser de origem ígnea ou sedimentar (Chaves, 1994).

De todos os elementos minerais essenciais o fósforo é o que representa maior risco potencial se em excesso for liberado para o meio ambiente, contaminando as águas superficiais e causando eutrofização, principalmente em regiões de clima temperado (NRC, 2001).

O fósforo orgânico presente em vegetais está ligado ao ácido fítico, forma esta utilizada pelas plantas para o armazenamento de fósforo (Goff, 2006). Os fosfatos inorgânicos utilizados na nutrição animal, são sais inorgânicos de ácido fosfóricos que são fabricados a partir da mesma matéria-prima (Cardoso, 1991). Atualmente existe uma grande variação de fosfatos produzidos como: os fosfatos bicálcico, monocálcicos, monobicálcico, monoamônio, monosódico, dissódico, supertriplo (IHS Markit, 2016).

Uma das fontes mais utilizadas no Brasil e no mundo (64% do total mundial) é o fosfato bicálcico. Resumidamente seu processo de produção consiste da extração da rocha (lavra ou demonte) pela explosão de cargas de dinamite, logo em seguida um processo chamado britagem (fragmentação do material apatítico) posteriormente passam por vários procedimentos de beneficiamento da rocha (moagem, desmagnetização, deslamagem, condicionamento, flotagem, desaguamento, filtração e secagem) dando origem ao concentrado fosfático (32% a 36% P_2O_5). Este material é tratado com ácido sulfúrico, produzindo o ácido fosfórico e sulfato de cálcio, sendo neutralizado com a adição de calcário, óxido de cálcio ou hidróxido de cálcio, originando o fosfato bicálcico comercial (Figura 1). Se durante esse mesmo processo continuasse a adição de rocha fosfática ao ácido fosfórico, o resultado seria o superfosfato triplo. O fosfato monoamônio é produzido pela reação do ácido fosfórico com a amônia em fase gasosa (Cardoso, 1991; Markit, 2015; Kulay, 2004).

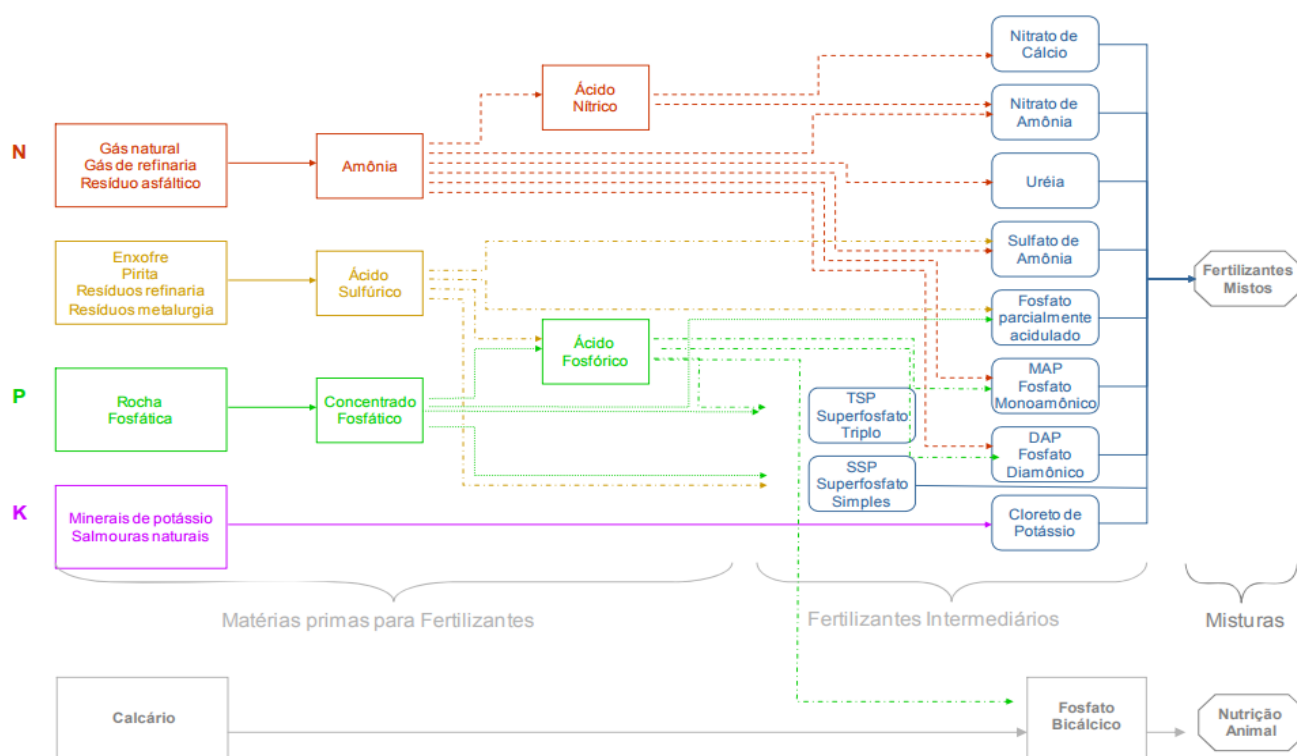


Figura 1 – Etapas do processo de produção de alguns fosfatos inorgânicos. Fonte: Vale Fertilizantes S.A.

A China é considerada o maior produtor de fosfato detendo 50% da produção mundial seguida da África, Estados Unidos da América, Europa oriental e Oriente médio (Figura 1) (IHS Markit, 2015). Estima-se que 5% do consumo mundial de fosfatos é destinados à alimentação animal, 80% utilizados para fertilizantes agrícolas, 12% detergentes e 3% aplicações especiais, considerando produtos farmacêuticos, bebidas, alimentos (IHS Markit, 2015). As principais reservas de fosfato de rocha no mundo são: Marrocos e Deserto do Saara com 50.000.000, China 3.100.000, Argélia 2.200.000, Síria 1.800.000, África do Sul 1.500.000, Rússia 1.300.000, Jordânia 1.200.000, EUA e Austrália 1.100.000 totalizando 68 milhões de toneladas no mundo (USGS, 2017).

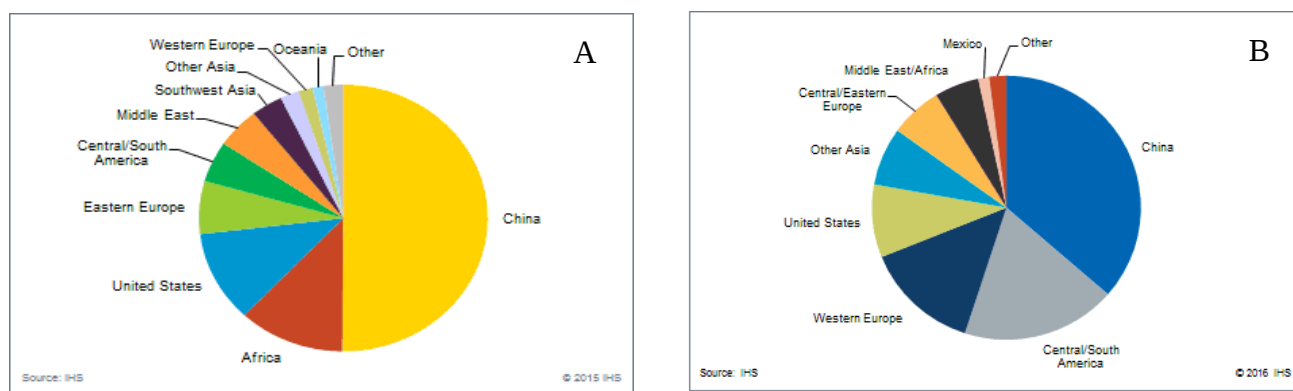


Figura 2 – O gráfico (A) apresenta o consumo no mundo de fosfato de rocha por diferentes países. (B) consumo mundial de fosfatos de cálcio de alguns países (IHS Markit, 2015, 2016).

2.2 Metabolismo de Cálcio e Fósforo em Vacas Leiteiras

2.2.1 Homeostase e Absorção de Cálcio

A estrutura óssea representa 98% do cálcio presente no corpo, que juntamente com o fosfato (na forma semelhante ao mineral hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), serve para proporcionar resistência estrutural e dureza ao osso. Os outros 2 % de cálcio são encontrados principalmente nos fluidos extracelulares do corpo (NRC, 2001; Goff, 2006).

O cálcio é vital para a estrutura óssea normal. Assim para permitir as funções normais do músculo, nervo e nova formação óssea, dentre outras funções, o organismo desenvolve um sistema elaborado para manter a manutenção da concentração sérica de Ca com aproximadamente 9,0 e 10 mg / dL (2,25-2,5 mM) em vacas leiteiras e sendo um pouco mais elevadas para bezerros (NRC, 2001; Goff, 2006). A concentração de cálcio ionizado do plasma deve ser mantida a um valor relativamente constante de 1 a 1,25 mM para garantir a potencialidade elétrica e a condutividade normal da membrana nervosa e músculo (NRC, 2001).

Durante a lactação ocorre uma perda grande de Ca no leite. Quando esta perda de Ca dos fluidos extracelulares excede a quantidade de Ca que entra nos fluidos extracelulares, a concentração de Ca no plasma diminui, e o organismo lança mão de alguns mecanismos homeostáticos para que se mantenha as

concentrações consideradas normais (Goff, 2018). Assim, as glândulas paratireoides respondem a diminuição do Ca no sangue e secretam hormônio paratireoide (PTH), no intuito de aumentar a reabsorção de Ca através do glomérulo renal e consequentemente reduzir a perda urinária de Ca. Se este processo não for suficiente para restaurar a concentração de Ca no sangue, o hormônio paratireoide irá estimular o rim para produzir o hormônio 1,25-diidroxivitamina D ($1,25-(OH)_2$ vitamina D), no qual estimulará processos para aumentar a absorção intestinal de Ca. A secreção prolongada de (PTH) irá desencadear a reabsorção óssea de Ca e bombeá-lo para o sangue (Christakos et al., 2014).

O equilíbrio de cálcio e fosfato depende em grande parte da absorção intestinal e o teor dietético desses íons que determinam o tipo de transporte para absorção. A absorção de Ca ocorre por meio de dois mecanismos: através do transporte transcelular, considerado ativo, via de absorção predominante em ruminantes; e por meio do transporte paracelular, difusão passiva. Aproximadamente 90% da absorção de cálcio ocorre a nível de intestino delgado (Wasserman, R. H., 2004), nas porções do íleo com 88%, jejuno com 4%, e duodeno com 8% de absorção (Marcus e Lengemann, 1962).

O transporte transcelular é um processo que envolve a transferência de Ca através da membrana borda escova, que entra para o interior da célula e a extrusão ativa de Ca para membrana basolateral (Christakos et al., 2014). É uma via relevante quando as dietas são pobres em cálcio sendo controlado pela $1,25-(OH)_2$ vitamina D, hormônio este derivado da vitamina D. A vitamina D, produzida na pele ou oriunda da dieta, é convertida em 25-hidroxivitamina D no fígado e liberada no sangue. A 25-hidroxivitamina D circula no plasma ligada a proteína ligadora da vitamina D e é capturada pelo rim. No rim, a 1- α - hidroxilação da 25-hidroxivitamina D resulta na formação do hormônio esteroide $1,25-(OH)_2$ vitamina D (Goff et al., 1991; Goff, 2006), que regula cuidadosamente a quantidade de $1,25-(OH)_2$ vitamina D produzida e a quantidade de Ca absorvida na dieta, que pode ser ajustada para ajudar a manter a concentração constante de Ca extracelular (Wasserman, 1981).

A $1,25-(OH)_2$ vitamina D que circula no sangue entra nas células epiteliais do intestino e se liga aos receptores de vitamina D, iniciando transcrição e tradução de várias proteínas necessárias para o

transporte ativo de Ca (Figura 3). A entrada de Ca ocorre por meio do canal epitelial seletivo de cálcio TRPV6 presente na membrana apical (Christakos et al, 2014). Os íons de Ca ao entrarem na célula se liga a outra proteína produzida em resposta à 1,25-(OH)₂ vitamina D, a chamada calbindina-D_{9k} (CaBP), que liga os íons de Ca que entram através do TRPV6 e outros canais de Ca na membrana apical e transporta o Ca através do enterócito. Na membrana basolateral, o Ca é bombeado contra um gradiente de concentração pela bomba ATPase (PMCA 1) sendo dependente da 1,25-(OH)₂ vitamina D, que bombeia Ca para fora da célula usando a energia fornecida pelo ATP (Christakos et al, 2014; Goff, 2006). Além da (PMCA 1) existe outro transportador utilizado para a extrusão de Ca na membrana basolateral, um permutador de Na⁺ / Ca²⁺ independente de vitamina D (Hoenderop et al., 2005), que por meio de uma força eletromotriz fornecida pela entrada de 3 Na⁺ na célula para impulsionar o movimento de Ca para o espaço intersticial (Hildmann et al., 1982).



Figura 3 – Esquema de absorção de cálcio intestinal, por meio de mecanismos transcelular e paracelular. VDR – receptor de vitamina D; 1,25(OH)₂D₃ – hormônio esteroide derivado da vitamina D, é a forma ativa da vitamina D; TRPV6 – canal epitelial seletivo de cálcio (Ca), presente na membrana apical; Calbindin-D_{9k} (CaBP) – proteína de ligação de cálcio que transporta o Ca através do enterócito; PMCA_{1b} – é a bomba ATPase presente na membrana basolateral, responsável por bombear o Ca para fora da célula. Fonte: Christakos et al. (2014).

O cálcio também pode ser absorvido pelo epitélio do rúmen (Care et al., 1989). Apesar da indicação do transporte ativo e passivo do Ca através do rúmen bovino, os respectivos mecanismos epiteliais ainda não estão caracterizados. A parede do rúmen pode apresentar um maior desafio à absorção paracelular do que a camada celular única do intestino delgado. Uma concentração de 10 mM de Ca *in vitro* resultou em um aumento rápido e dramático no fluxo líquido de Ca através das preparações do epitélio do rúmen. Isso sugere o rápido transporte paracelular de Ca através da parede do rúmen (Schroder et al., 2015). A absorção transcelular de Ca através do epitélio do rúmen também ocorre nas concentrações de Ca do rúmen acima de 1 mM (Höller et al., 1988). No entanto, o transporte transcelular de Ca no rúmen pode ocorrer por mecanismos que são diferentes daqueles no intestino delgado. O canal TRPV6 por exemplo, encontrado na membrana apical do epitélio do intestino delgado e que responde à 1,25-(OH)₂ vitamina D, parece não ter um papel importante na absorção de Ca. Alternativamente, podendo ser realizado através de canais de cátions não específicos apical Ca^+ / H^+ ou $\text{Na}^+ / \text{Ca}^+$ (Schroder et al., 2015; Leonhard-Marek et al., 2010). Os mecanismos utilizados no rúmen, particularmente de bovinos, para o transporte ativo de Ca permanecem desconhecidos, mas são claramente diferentes dos mecanismos utilizados no intestino delgado. Assim, o rúmen é um importante local de absorção quando a dieta é rica em Ca ou quando as vacas são tratadas com doses orais de Ca para prevenção aguda da hipocalcemia (Hyde e Fraser, 2014).

O transporte paracelular pode ocorrer por difusão passiva entre células epiteliais em qualquer porção do trato digestivo sempre que a concentração de Ca ionizada nos fluidos digestivos, diretamente sobre a mucosa e as junções apertadas exceda a 6 mM. Essas concentrações são rapidamente alcançadas quando os bezerros são alimentados com dietas de leite ou em vacas quando administradas doses orais de Ca como prevenção de hipocalcemia (Goff e Horst, 1993, Goff, 2006).

2.2.2 Homeostase e absorção de fósforo

O fósforo encontra-se no organismo na forma de ânion fosfato, como HPO_4^{-2} ou H_2PO_4^- . É o segundo maior constituinte do corpo depois do cálcio, sendo 80% encontrado nos ossos e dentes (Goff, 2006; NRC, 2001). As concentrações de fósforo no plasma sanguíneo normalmente variam de 1,3 a 2,6 mmol / L (4 a 8 mg / dL, 6 a 8 mg / dL para bovinos em crescimento e 4 a 6 mg / dL para animais adultos) (NRC, 2001).

A absorção líquida de fosfato pode ocorrer em todas as seções do rúmen, intestino delgado e grosso, sendo 70% do fosfato dietético absorvido a nível de duodeno e jejuno em ruminantes, (Breves e Schroder, 1991; Wadhwa and Care, 2002). O fato de que a absorção fracionada de fosfato é praticamente constante em uma ampla gama de ingestão dietética, sugere que a maior parte da absorção de fosfato ocorre por meio de um processo de difusão passiva e de concentração dependente (Christakos et al., 2014).

Assim, como a absorção de cálcio, o fósforo também pode ser absorvido tanto por transporte paracelular quanto transcelular. A absorção paracelular passiva de fosfato predomina quando normalmente grandes quantidades de HPO_4^{-2} ou H_2PO_4^- solúveis são consumidas (Wasserman e Taylor, 1976). E quando as dietas são baixas em P ocorre o transporte transcelular saturado e ativo estimulado pela 1,25-(OH)₂ vitamina D, (Figura 4).

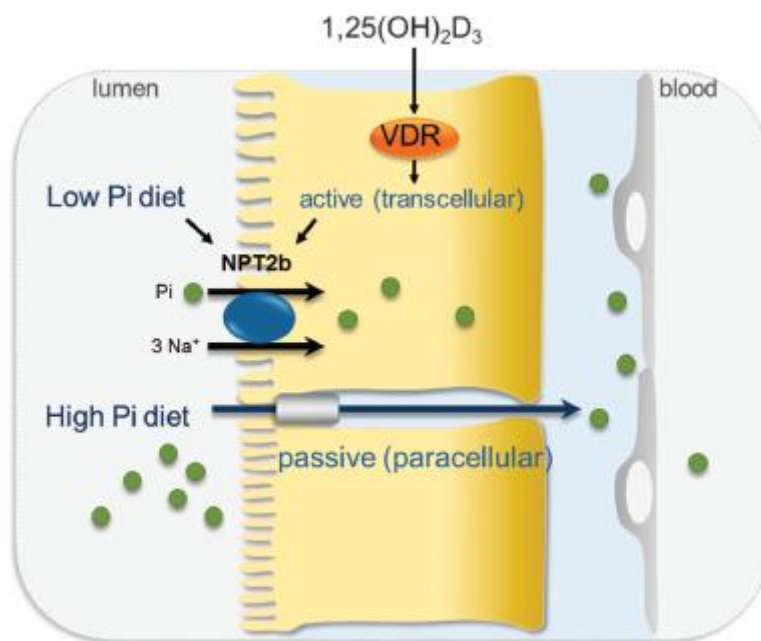


Figura 4 – Esquema de absorção de fósforo intestinal, por meio de mecanismos transcelular e paracelular. VDR – receptor de vitamina D; $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – hormônio esteroide derivado da vitamina D, é a forma ativa da vitamina D; NPT2b (SLC34) – é uma glicoproteína cotransportadora que auxilia no transporte de íons de sódio e fosfato do lúmen intestinal para as células epiteliais, presente na membrana apical. Fonte: Christakos et al. (2014).

Desta forma, o P entra nas células do rúmen e do intestino por meio de proteínas cotransportadoras de fosfatos dependente de Na^+ , da família (SLC34 ou NPT2b) presentes na membrana apical (Wadhwa and Care, 2002; Sabbagh et al., 2011). O SLC34 é eletrogênico, transporta fosfato com uma estequiometria de 3:1 $\text{Na}:\text{Pi}$ que gera um potencial de tensão negativa no lúmen intestinal para que seja movido um íon fosfato através da membrana apical (Christakos et al., 2014). Um canal de fosfato acoplado à bomba Na/K ATPase move o fosfato através da membrana basolateral para os fluidos extracelulares. A hormona $1,25-(\text{OH})_2$ vitamina D atua através do receptor de vitamina D que resulta na estimulação da transcrição da proteína cotransportadora SLC34. A produção de $1,25-(\text{OH})_2$ vitamina D por células do rim $1-\alpha$ hidroxilase (CYP27B1) é principalmente regulada em resposta ao baixo teor de Ca sanguíneo e mediada pelo hormônio paratireoide. Porém, o alto teor de fosfato no sangue associado

à alimentação de uma dieta com nível mais elevado de P, também pode afetar a atividade da enzima CYP27B1 (Gonciulea e Jan, 2012; Martin e Quarles, 2017)

O fosfato ligado ao fitato (ácido fítico) é pouco disponível para não-ruminantes. No entanto, a atividade fitase dos microrganismos ruminais torna praticamente todo o P-fitato disponível para absorção. O P absorvido pode ser retido para uso (leite, esqueleto fetal, crescimento ósseo e remodelação). Uma grande quantidade de P também é secretada na saliva (até 90 g/d) e nas secreções das glândulas intestinais no trato digestivo. A maior parte deste fosfato é reabsorvido, e apenas uma pequena porção é excretada em fezes (NRC, 2001).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL – ARC. **The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock**. London: Commonwealth Agricultural Bureaux, p.351, 1980.
- BJELLAND, D.W., WEIGEL, K.A., HOFFMAN, P.C., ESSER, N.M., COBLENTZ, W.K. The effect of feeding dairy heifers diets with and without supplemental phosphorus on growth, reproductive efficiency, health, and lactation performance. **Journal Dairy Science**, v.94, p.6233-6242, 2011.
- BREVES, G., B. SCHRODER. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition Research**. v.4, p.125– 140, 1991.
- BURROUGHS, W., LATONA, A., PAUL, de P., GERLAUGH, P., BETHKE, R. M. Mineral influences up on urea utilization and cellulose digestion by rumen microorganisms using the artificial rumen technique. **Journal of Animal Science**, v.10, p.693– 697, 1951.
- CARDOSO, J. L. A. Produção, processamento e perspectivas do fosfato na alimentação animal. In: Mini-simpósio do colégio brasileiro de nutrição animal. 6, 1991, Campinas. **Anais...** Campinas, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1991. p. 35-52.
- CARE, A. D., L. J. BEARDSWORTH, P. M. BEARDSWORTH, BREVES, G. The absorption of calcium and phosphate from the rumen. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.86, p.152–158, 1989.
- CARLSON, C, Le CAPITAIN, S. [2011]. Processing Phosphates for Use in Animal Feed. Disponível em: <<http://feeco.com/processing-phosphates-for-use-in-animal-feed>> Acessado: in November 17, 2017.
- CHAVES, N. Uso de fontes de fontes alternativas de “fosforo mineral” na alimentação de animais: apreciação técnica, legal e econômico-social. Parecer submetido à apreciação da Comissão Especial de Alimentação Animal. Belo Horizonte: UFMG, p. 12, 1994.
- CHRISTAKOS S; LIEBEN, L.; MASUYAMA R.; CARMELIET, G. Vitamin D endocrine system and the intestine. **Nature**, v.3, p.496, 2014.
- COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION - CSIRO PUBLISHING. **Nutrient requirements of domesticated ruminants**. Collingwood, Australia, p.270, 2007.
- FILHO, S. L. Minerais e microminerais. In: FILHO, S. L. **Minerais para Ruminantes**. 1.ed. Uberlândia: Edufu, 2016. p.9-54.
- GONCIULEA, A. R., JAN DE BEUR. S. M. 2017. Fibroblast growth factor 23-mediated bone disease. *Endocrinol. Metab. Clin. North*

Am. 46:19–39.

GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v.101 p.1-51, 2018.

GOFF, J.P. Minerais. In: Reece, W.O. **Dukes / Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro, Guanabara & Koogan 12ed. 2006. p.532-555.

GOFF, J. P., T. A. REINHARDT, AND R. L. HORST. Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.4022-4032, 1991.

GOFF, J. P., AND R. L. HORST. Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.101–108, 1993.

HILDMANN, B., A. SCHMIDT, AND H. MURER. Ca²⁺-transport across basal-lateral plasma membranes from rat small intestinal epithelial cells. **Journal of Membrane Biology**. v.65, p.55–62, 1982.

HOENDEROP, J. G., NILIUS, B., BINDELS, R. J. Calcium absorption across epithelia. **Physiological Reviews**, v. 85, p. 373–422, 2005.

HOLLER, H., G. BREVES, M. KOCABATMAZ, AND H. GERDES. Flux of calcium across the sheep rumen wall in vivo and in vitro. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**. v.73, p.609–618, 1988.

HOUSE, W.A., BELL, A. W. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.2999– 3010, 1993.

HYDE, M. L., AND D. R. FRASER. In vivo measurement of the absorption of strontium in the rumen and small intestine of sheep as an index of calcium absorption capacity. **British Journal of Nutrition**. v.112, p718–724, 2014.

IHS MARKIT. [2016]. P Animal feeds: phosphate supplements – **Chemical economics handbook**. Disponível em: <<https://ihsmarkit.com/products/animal-feeds-phosphate-chemical-economics-handbook.html>> Acessado: Fev. 02, 2018.

IHS MARKIT. [2015]. P Phosphate rock – **Chemical economics handbook**. Disponível em: <<https://ihsmarkit.com/products/phosphate-chemical-economics-handbook.html>> Acessado: Fev. 02, 2018.

KULAY, L. A. **Uso da análise de ciclo de vida para a comparação do desempenho ambiental das rotas úmida e térmica de produção de fertilizantes fosfatados**. 2004. 338f. Tese (Doutor em Engenharia) – Universidade de São Paulo / São Paulo, 2004.

- LEONHARD-MAREK, S., STUMPF, F., MARTENS, H. Transport of cations and anions across forestomach epithelia: conclusions from in vitro studies. **Animal**, v.4, p.1037– 1056, 2010.
- MARCUS, C. S., LENGEMANN, F. W. Absorption of Ca^{45} and Sr^{85} from Solid and Liquid Food at Various Levels of the Alimentary Tract of the Rat. **Journal Nutrition**, v.77, 62, p. 155-160, 1962.
- MARTIN, A., QUARLES, L. D. Evidence for FGF23 involvement in a bone-kidney axis regulating bone mineralization and systemic phosphate and vitamin D homeostasis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 728, p. 65–83, 2012.
- MARTZ, F. A., BELO, A. T., WEISS, M. F., BELYEA, R. L., GOFF, J. P. True absorption of calcium and phosphorus from alfalfa and corn silage when fed to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.1288– 1295, 1990.
- MYERS, Z.H., BEEDE, D.K. 2009. Evaluating estimates of phosphorus maintenance requirement of lactating Holstein cows with different dry matter intakes. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.708-719, 2009.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed.rev. Washington, D.C.: National Academy of Science, p. 381, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2016. **Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of beef cattle**. 8. ed rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- SABBAGH, Y., GIRAL, H., CALDAS, Y., LEVI, M., SCHIABI, S. C. Intestinal phosphate transport. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v. 18, p. 85–90, 2011.
- SCHRODER, B., M. R. WILKENS, G. E. RICKEN, S. LEONHARD-MAREK, D. R. FRASER, AND G. BREVES. Calcium transport in bovine rumen epithelium as affected by luminal Ca concentrations and Ca sources. **Physiological Reports**. v.3, p. e12615, 2015.
- USGS – United States Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, January 2017.
- VALADARES Filho, S. C., COSTA e SILVA, L. F., LOPES S. A. BR-CORTE 3.0. Cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados. 2016. Disponível em www.brcorte.com.br. Acesso em.. November 10, 2017.
- WADHWA, D. R., AND A. D. CARE. The absorption of phosphate ions from the ovine reticulorumen. **The Veterinary Journal**. v.163, p.182–186, 2002.
- WASSERMAN, R. H., AND A. N. TAYLOR. Gastrointestinal absorption of calcium and phosphorus. **Handbook of Physiology**. v.7, p. 137-155, 1976.
- WASSERMAN, R. H.. Intestinal absorption of calcium and phosphorus. **Federation Proceedings**. v.40, p.68–72, 1981.

WASSERMAN, R. H. Vitamin D and the dual processes of intestinal calcium absorption. **The Journal of Nutrition.** v.134, p.3137-3139, 2004.

WU, Z. Utilization of phosphorus in lactating cows fed varying amounts of phosphorus and sources of fiber. **Journal Dairy Science.** v.88, p.2850-2859, 2005.

A new system of calcium and phosphorus requirements for lactating dairy cows

Abstract – Our objective was to propose a new system of Ca and P requirements for lactating dairy cows, to quantify calcium and phosphorus content in milk of different genetic groups, to quantify endogenous fecal excretion (EFE) and endogenous urinary excretion (EUE) of calcium and phosphorus from of meta-regression and to quantify and elucidate the factors that affect the calcium and phosphorus metabolizable coefficient (coefficient proposed by the new system). For the development of the meta-analysis we used a complete data set with 53 peer-reviewed papers (72 experiments; n = 276 treatments means). The studied variables were analyzed through mixed models. The database presented a great variation of animal characteristics and diets, it has animals from low to high milk production (4.5 to 52.8 kg/day), and composed mostly of Holstein cows (66.8%). The dairy cow genotype affected Ca and P concentration in milk ($P < 0.05$) in which Ca and P concentration in milk of Jersey and Holstein x Jersey crossbreed are higher than Holstein. The dairy cow genotype do not affect fecal and urinary Ca or P excretion. We propose value of endogenous fecal Ca excretion of 1.83 ± 0.59 g/kg DMI, endogenous urinary Ca excretion of 0.13 ± 0.03 g/kg DMI, and to endogenous fecal P excretion of 0.93 ± 0.21 g/kg DMI and endogenous urinary P excretion of 0.01 ± 0.007 g/kg DMI to quantify net requirement to maintenance of lactating dairy cow. Already the calcium metabolizable coefficient of Holstein cows was lower than Jersey, but the mechanism to explain this difference need be elucidated. Thus, we propose value of CaMet of 0.74 ± 0.02 to Holstein and 0.82 to Jersey, and only one value to PMet of 0.74 ± 0.06 . Our new system of dietary Ca and P requirement reduces in 29% Ca and 15% P in lactating dairy cows diets to compared to the NRC (2001). Therefore, our new system could improve the economic and environmental performance of dairy industry in world, and to reduce dependence of non-renewable P sources. However, we suggest an evaluation of accuracy and precision of new system compared with other systems, by analysis of independent response-dose feeding experiment.

Keywords: metabolizable coefficient, endogenous excretion, dairy cattle

1. Introduction

Calcium (Ca) and phosphorus (P) are the two most relevant macromineral supplemented in dairy cows diets. Are important structural components of bone and other tissues and serve as important constituents of body fluids (Goff, 2006).

Dietary P excess could increase diet cost and to increase P excretion, with great potential risk of to cause soil and water eutrophication. In addition, the main inorganic P source (dicalcium phosphate) used as animal feed is obtain from a limited source (phosphate rock). While livestock feed consumption only 5% of global phosphate rock, the efficient use of phosphate feeds for animal plays a critical role in maintaining overall global food safety (Carlson and Le Capitaine, 2011).

Therefore, the dietary efficiency of Ca and P utilization is essential to optimize animal and economic performances and to minimize livestock environmental impact. The efficiency of Ca and P utilization could be made by refinement animal dietary requirements. The requirements for minerals may be estimated by factorial approach and then confirmed by response-dose feeding experiment (CSIRO, 2007). The net (or absorbed) requirement for Ca and P estimated by the factorial method is the sum of net requirement to maintenance, growth, pregnancy, and lactation (NRC, 2001).

The calcium and phosphorus net maintenance requirement represents inevitably lost from the body as the endogenous fecal excretions (EFE) and urinary excretions (EUE), and lost through the skin, the latter is not considered by several nutritional systems of ruminants (NRC, 2001; CSIRO, 2007; NRC, 2016; Valadares Filho et al. (2016) - BR-Corte 3.0). In balance mineral trials, EFE and EUE can be easily know by regression between mineral intake and mineral excretion, where endogenous excretion represents the intercept of the equation (Myers and Beede, 2009).

The net requirement for growth is the sum of the amount of absorbed P accreted in soft tissues plus that deposited in skeletal tissue (ARC, 1980). The net requirement for pregnancy is the accretion of phosphorus in conceptuses (fetus, fetal fluids and membranes, placentomes and uterine tissues), in which

is considered only after 190 days of gestation (House and Bell, 1993). Net requirement for lactation is equal daily milk yield multiplied by mineral content of milk. Finally, Ca and P dietary requirements is commonly quantify by division of total net requirement by the intestinal absorption coefficient (NRC, 2001). However, intestinal absorption coefficient is conceptually inaccurate if the urinary excretion is considered as maintenance requirement. Therefore, we proposed the use of the metabolizable coefficient concept that quantify proportion of mineral intake that is not excreted in feces plus urine discounting the endogenous fraction excretion.

Therefore, dietary Ca and P requirement recommendation to lactating dairy cows needs be updated. Our hypothesis is that net Ca and P requirements for maintenance and the metabolizable coefficient quantified from meta-analysis of balance trials improves refinement of Ca and P dietary recommendation for lactating dairy cows.

Thus, our general objective was to propose a new system of Ca and P requirement for lactating dairy cows. Our specific aim were: 1) to quantify Ca and P milk contents of different dairy cows genetic groups, to be used as parameters to estimate net Ca and P requirement for lactation; 2) to quantify EFE and EUE of Ca and P, from meta-regression between fecal or urinary excretion and total intake; 3) to quantify and elucidate the factors that affect Ca and P metabolizable coefficient. This research is from a project conducted at UFMT-Sinop to develop a new nutrition system for dairy cows (NS Dairy Cattle – Nutrition System to Dairy Cattle).

2. Material and Methods

2.1 Dataset

A literature search was conducted using the Web of Science and Science Direct database on November 06, 2017. A total of 349 peer-reviewed papers were retrieved using the terms “dairy cows”, “calcium” and “phosphorus”. The adopted criteria for data inclusion in the dataset were: (1) studies should be *in vivo* involving lactating dairy cows, (2) only peer-reviewed publications (3) availability of

information on measured Ca and/or P in feces, in milk or in urine, (4) report the variance i.e., standard error (SE) of the mean, standard deviation (SD), standard error of the mean (SEM) or standard error of the difference (SED). When the studies only reported SED, SEM was calculated by SED transformation:

$$SEM = \sqrt{((SED)^2)/2}.$$

A flowchart detailing the process of study identification and selection for develop the meta-analysis is shown in Figure 1. The complete dataset was composed by 53 publications (72 experiments; n = 276 treatments means; Table 1). The complete dataset is available in an Excel® file on-line Supplementary Material.

The correlation coefficients between diet nutrient compositions and animal factors, presented in Table 2, were determined using PROC CORR in SAS version 9.3. Independent variables for which the absolute value of the Pearson's correlation coefficient $|r| \geq 0.5$ were not included simultaneously in one equation to minimize multicollinearity issues.

2.2. Calcium and phosphorus concentrations in milk

To evaluate the effects of genetic groups on Ca or P concentrations in milk, a mixed model was fitted as described below (Littell et al., 2006):

$$Y_{ijk} = \mu + G_j + S_k + e_{ij},$$

where: Y_{ijk} = Ca or P concentrations in milk of the treatment means i, of the genetic group j from study k; μ = overall mean; G_j = fixed effect of the j^{th} level of genetic group; S_k = random effect of the k^{th} study, assumed $\sim \text{iidN}(0, \sigma_s^2)$; e_{ij} = residual errors, assumed $\sim \text{iidN}(0, \sigma_e^2)$. Ca or P in milk observations were weighed by inverse of SEM. Observations were removed if the studentized residual was outside the range of -2.0 to 2.0. Significance was declared at $P < 0.05$.

2.3. Endogenous fecal and urinary excretion

The endogenous fecal excretion (EFE) and endogenous urinary excretion (EUE) of Ca and P were obtained from a linear meta-regression between Ca fecal excretion, Ca urinary excretion, P fecal excretion and P urinary excretion (both as dependent variable; g/kg dry matter intake (DMI)) and Ca or P intake (g/day), from minerals balance trials. The endogenous excretion was assumed as excretion where mineral intake is equal zero. Therefore, endogenous excretion represented the intercept of the linear regression, analyzed as linear mixed model according below:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \times MI_{ij} + \beta_0 \times S_i + \beta_1 \times S_i \times MI_{ij} + e_{ij},$$

where: Y_{ij} = fecal or urinary excretion in treatment means i of the study j (g/kg DMI); β_0 = overall intercept across all studies (fixed effect); MI_{ij} = mineral intake in observation i of the study j (g/day); β_1 = overall slope results across all studies (fixed effect); $\beta_0 \times S_j$ = random effect of study S_j on the intercept, assumed $\sim \text{iidN}(0, \sigma_s^2)$; $\beta_1 \times S_j$ = random effect of the study S_j on the slope, assumed $\sim \text{iidN}(0, \sigma_s^2)$; e_{ij} = uncontrolled random error, assumed $\sim \text{iidN}(0, \sigma_e^2)$. Observations (treatment means) of fecal or urinary excretion were weighed by in inverse of SEM. To evaluate the genetic group effect on endogenous excretion, the fixed effect interaction between genetic group and intercept was initially analyzed, and if P -value < 0.05 it was concluded that genetic group affected the endogenous excretion. Observations were removed if the studentized residual was outside the range of -2.0 to 2.0. Significance was declared at $P < 0.05$.

Model adequacy was assessed using plots of residuals (observed minus predicted) against predicted values of Y to test for mean biases and linear prediction bias (St-Pierre, 2003). Mean biases were assessed using the intercepts of the regression equations. The slopes of the regression equations were used to determine the presence of linear biases. The intercepts and slopes were considered

124 independent (orthogonal) only with no evidence ($P > 0.05$) of any prediction bias (mean biases or linear
125 biases) as Oliveira (2015).

126

127 2.4. Metabolizable coefficient

128 Calcium metabolizable coefficient (CaMet) and phosphorus metabolizable coefficient (PMet) of each
129 observation (treatment means) were quantify as follow the below models:

130

131
$$\text{CaMet (0 to 1)} = [\text{Ca intake (g/day)} - \text{Ca total fecal (g/day)} - \text{Ca total urinary (g/day)} + \text{Ca fecal}$$

132
$$\text{endogenous (g/day)} + \text{Ca urinary endogenous (g/day)}] / \text{Ca intake (g/day)};$$

133

134
$$\text{PMet (0 to 1)} = [\text{P intake (g/day)} - \text{P total fecal (g/day)} - \text{P total urinary (g/day)} + \text{P fecal}$$

135
$$\text{endogenous (g/day)} + \text{P urinary endogenous (g/day)}] / \text{P intake (g/day)};$$

136

137 To evaluate dietary effect (forage in diet, crude protein, NDF, ether extract, and non-fiber
138 carbohydrate contents) and genetic group on CaMet or PMet a mixed model was fitted as below (Littell
139 et al., 2006):

140

141
$$Y_{ijk} = \mu + D_i + G_j + S_k + e_{ijk},$$

142 where: Y_{ijk} = CaMet or PMet in treatment means i ; μ = overall mean; D_i = fixed effect of the level of diet
143 composition; G_j = fixed effect of the genetic group; S_k = random effect of the k^{th} study, assumed $\sim \text{iidN}$
144 $(0, \sigma_s^2)$; e_{ij} = residual errors, assumed $\sim \text{iidN}(0, \sigma_e^2)$. Observations (treatment means) were weighted by
145 in inverse of SEM. Treatment means were removed if the studentized residual was outside the range of
146 -2.0 to 2.0. Significance was declared at $P < 0.05$.

147

148 2.5. Calcium and phosphorus dietary recommendations (NS Dairy Cattle)

149

150 Based on parameters obtained from this study, Ca and P dietary requirements of lactating dairy
151 cows were proposed as the equations below:

152

153 Dietary Ca intake (g/cow/day) = (CaFe + CaUe + CaLac + CaPreg) / CaMet

154

155 where: CaFe = estimate of endogenous fecal Ca excretion (g/d); CaUe = estimate of endogenous urinary
156 Ca excretion (g/d); CaLac = net requirement of Ca for lactation (g/d) = milk yield (kg/d) × Ca
157 concentration in milk (g/kg); CaPreg = net requirement of Ca for pregnancy (g/d); and CaMet was
158 previous described. To CaPreg was used the model described by House and Bell (1993), in which it is
159 considered after the 190 days of pregnancy.

160

161 Dietary P intake (g/cow/day) = (PFe + PUe + PLac + PPreg) / PMet

162

163 where: PFe = estimate of endogenous fecal P excretion (g/d); PUe = estimate of endogenous urinary P
164 excretion (g/d); PLac = net requirement of P for lactation (g/d) = milk yield (kg/d) × P concentration in
165 milk (g/kg); and PMet was previous described. To PPreg was used the model described by House and
166 Bell (1993), in which it is considered after the 190 days of pregnancy.

167

168 **3. Results and Discussion**

169 The datasets represented a wide range of animal and dietary characteristics. The milk yield of 4.5
170 to 52.8 kg/day, dietary Ca concentration of 4.0 to 22.5 g/kg DM, and dietary P concentration of 1.5 to
171 6.7 g/kg DM (Table 1), from nine countries (USA = 66.30% dataset) and four class of genetic groups
172 (Holstein = 66.79%; Jersey = 18.66%; Holstein x Jersey crossbreed = 1.87% and other breed = 12.69%),
173 experimental design of the continuous type were the most used (63.64%); feeding system predominant

174 was TMR (93.65%) (Figure 2); in which the major feed was silage and hay (67.84%, 20.47%),
175 respectively; the method that prevailed to quantify fecal and urinary excretions were total collection
176 (81.82%) and (81.58%), respectively (Figure 3). Fecal excretion represented 98% of the Ca and P total
177 excretion and urine only 2% (Table 1).

178 The dairy cow genotype affected Ca and P concentration in milk ($P < 0.05$; Figure 4). P
179 concentration in milk of Jersey and Holstein x Jersey crossbreed was higher than Holstein ($P < 0.05$). P
180 concentration in milk of Jersey was higher than Holstein ($P < 0.05$), but P in milk of Holstein was similar
181 ($P > 0.05$) to other breed. Ca concentration in milk of Jersey was higher than Holstein and others ($P <$
182 0.05) and Holstein was higher than others ($P < 0.05$). The possible effect was due to differences in
183 productive characteristics between breeds, such as milk production and composition. The Jerseys cows
184 present total solids contents higher than Holstein cows and others, consequently will have higher
185 concentrations of minerals (Ca and P) in their composition (Figure 4).

186 The dairy cow genotype did not affect ($P > 0.05$) fecal and urinary Ca and P excretion
187 (information not shown). Therefore, only one regression between Ca or P intake and Ca or P excretion
188 was fitted to all breeds (Figures 5 and 6). Endogenous fecal Ca excretion was estimated in 1.83 ± 0.59
189 g/kg DMI and endogenous urinary Ca excretion was estimated in 0.13 ± 0.03 g/kg DMI (Figure 5).
190 Endogenous fecal P excretion was estimated in 0.93 ± 0.21 g/kg DMI and endogenous urinary P excretion
191 was estimated in 0.01 ± 0.007 g/kg DMI (Figure 6). The residual plot showed no evidence of any
192 prediction bias for fecal and urinary Ca and P excretion (Figure 7). Therefore, slope and intercept of the
193 regression between Ca or P intake and Ca or P excretion (Figures 5 and 6) were independents.

194 Crude protein, ether extract, NDF and nonfiber carbohydrate did not affect ($P > 0.05$) CaMet
195 (Table 3), but increase of dietary forage linearly increased CaMet (CaMet (0 to 1) = $0.632 (P < 0.01) +$
196 $0.0002 (P < 0.01) \times$ Forage in diet (g/kg DM). Thus, increase of forage in diet from 400 to 600 g/kg DMI
197 increase CaMet only of 0.71 to 0.75, therefore, we considered an effect of low magnitude. This effect
198 needs to be better elucidated. However, one of the probable cause for the increase in the CaMet may be

the availability of Ca from the forage. Corn silage (the main source of forage from experimental diets in our data set) has a Ca bioavailability of 60% (Santos, 2011), making it more available to the animal and consequently increases the CaMet with the increase of the forage.

The dairy cow genotype affected CaMet ($P < 0.01$; Table 3). Calcium metabolizable coefficient of Holstein cows was lower ($P < 0.01$) than Jersey and other breeds (Figure 8), and CaMet of Jersey was similar ($P = 0.87$) to other dairy cows breeds (Figure 8). The effect of genetic group on the CaMet and the difference between the breed for such variable should be investigated for a better understanding of the mechanisms of calcium absorption in dairy cows, since the Holstein and Jersey cows seem to regulate calcium in different manners and respond differently to serotonin stimuli of the calcium pathway (Hernandez, 2017). The lower number of receptors for the 1,25-dihydroxyvitamin D at intestinal level of cows Jerseys compared to Holstein cows (Goff et al., 1995) seems to not have affected the efficiency of Ca absorption, since in the present study it was higher for Jersey cows. Diet composition and dairy cow genotype did not affect ($P > 0.05$) PMet (Table 3). The Box plot of the descriptive analysis (dispersion of data) of phosphorus metabolizable coefficient in lactating dairy cows (Figure 9).

A new system to recommendation of dietary Ca and P requirements to lactating dairy cows is in Table 4. We used the model described by House and Bell (1993) to estimate CaPreg and PPreg in which it is considered from the 190 days of pregnancy, because we did not find studies to develop new model to pregnancy requirement. Our recommendation of dietary Ca (g/kg DM) and P (g/kg DM) to non-pregnant dairy cows with milk yield between 10 to 50 kg/day is 29% and 15% lower than NRC (2001) recommendation (Figure 10), respectively. Therefore, these results confirm our hypothesis that the new system of dietary Ca and P requirement could improve the economic and environmental performance of dairy industry in the world, and to reduce dependence of non-renewable P sources (i.e. phosphates). However, an evaluation of accuracy and precision of new system compared with other systems is necessary by analysis of independent response-dose feeding experiment.

4. Conclusions and Implications

The dairy cow genotype affected Ca and P concentration in milk. Ca and P concentration in milk of Jersey and Holstein x Jersey crossbreed are higher than Holstein.

Genetic group doesn't affect the fecal and urinary Ca or P excretion. We propose value of endogenous fecal Ca excretion of 1.83 g/kg DMI, endogenous urinary Ca excretion of 0.13 g/kg DMI, endogenous fecal P excretion of 0.93 g/kg DMI and endogenous urinary P excretion of 0.01 g/kg DMI to quantify net requirement to maintenance of lactating dairy cow.

Calcium metabolizable coefficient of Holstein cows is lower than Jersey, but the mechanism to explain this difference need be elucidate. Dietary composition and genetic group do not affect PMet. Thus, we propose the value of CaMet of 0.74 to Holstein and 0.82 to Jersey, and the value to PMet of 0.74 to both genetic group.

Our new system of dietary Ca and P requirement reduces in 29% and 15% Ca and P in lactating dairy cows diets to compared to the NRC (2001). Therefore, our new system could improve the economic and environmental performance of dairy industry in world, and to reduce dependence of non-renewable P sources. However, we suggest an evaluation of accuracy and precision of new system compared with other systems, by analysis of independent response-dose feeding experiments.

Acknowledgments

The authors thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil; Projects numbers 305826/2013-1 and 207300/2014-3), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Universidade Federal de Mato Grosso – Campus Sinop for financial support.

- 250 Agricultural Research Council.1980.The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Slough,
251 England:Commonwealth Agricultural Bureaux.
- 252 Carlson, C, Le Capitaine, S. 2011. Processing Phosphates for Use in Animal Feed. In:
253 <http://feeco.com/processing-phosphates-for-use-in-animal-feed/>. Accessed in Novemver 17, 2017.
- 254 CSIRO 2007. Feeding Standards for Australian Livestock. Ruminants. Commonwealth Scientific and
255 Industrial Research Organization, Melbourne, Australia.
- 256 Goff, L.J.P. Minerais. In: Reece, W.O. 2006. Dukes / Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro,
257 Guanabara & Koogan 12ed., p.532-555.
- 258 Goff JP, Reinhardt TA, Beitz DC, et al. 1995. Breed affects tissue vitamin D receptor concentration in
259 periparturient dairy cows: A milk fever risk factor? J Dairy Sci 78 (suppl.1):184.
- 260 Hernandez L. L. 2017. Serotonin and the regulation of calcium transport in dairy cows J. Anim.
261 Sci..95:5711–5719.
- 262 House, W.A., and A.W. Bell.1993. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in
263 Holstein Cows. J.Dairy Sci. 76:2999– 3010.
- 264 Littell R. C. G. A., W. W. Milliken, R. D. Stroup, Wolfinger, R. D., and O. Schabenberger. 2006. SAS
265 for Mixed Models. 2nd ed. SAS Institute, Cary, NC.
- 266 Martz, F. A., A. T. Belo, M. F. Weiss, R. L. Belyea, and J.P.Goff.1990. True absorption of calcium and
267 phosphorus from alfalfa and corn silage when fed to lactating cows.J.DairySci.73:1288– 1295.
- 268 Myers, Z.H., Beede, D.K. 2009. Evaluating estimates of phosphorus maintenance requirement of
269 lactating Holstein cows with different dry matter intakes. J. Dairy Sci. 92:708-719
- 270 National Research Council (NRC) 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad.
271 Sci., Washington, DC.
- 272 National Research Council (NRC) 2016. Nutrient requirements of beef cattle. 8th rev. ed. Natl. Acad.
273 Sci., Washington, DC.
- 274 Oliveira, A.S. 2015. Meta-analysis of feeding trials to estimate energy requirements of dairy cows under
275 tropical condition. Anim. Feed Sci. Tech. 210:94-103.
- 276 Santos, J. E. P. Distúrbios metabólicos in Nutrição de Ruminantes. Berchielli, T. T; Pires. A. V; Oliveira,
277 S, G. 2d. cap 15 p.439-520. 2011.
- 278 St-Pierre, N. R., 2003. Reassessment of biases in predicted nitrogen flows to the duodenum by NRC
279 2001. J. Dairy Sci. 86, 344-350.

280 Valadares Filho, S. C., Costa E Silva, L. F., Lopes S. A. BR-CORTE 3.0. Cálculo de exigências
281 nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados. 2016.
282 Disponível em www.brcorte.com.br. Acesso em. November 10, 2017.

283 Wu, Z. 2005. Utilization of phosphorus in lactating cows fed varying amounts of phosphorus and sources
284 of fiber. J. Dairy Sci. 88:2850-2859.

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312 Table 1 - Descriptive statistics of the complete dataset use to model calcium and phosphorus metabolism
 313 in dairy cows

Item ¹	Mean	Median	Maximum	Minimum	SD	n ²
Animal						
Body weight (BW), kg	564.5	592.0	754.0	315.8	100.9	227
Milk yield, kg/d	28.54	31.30	52.80	4.50	11.24	233
Days in milk	115	109	285	13	66	204
Milk protein, g/kg	30.0	30.8	36.0	3.2	5.8	126
Milk fat, g/kg	38.2	36.9	53.8	14.7	6.2	124
Milk lactose, g/kg	47.9	48.2	50.1	44.7	1.3	64
Milk urea nitrogen, mg/dL	12.73	11.83	23.50	7.00	3.89	30
Dry matter (DM) intake, kg/d	19.13	20.25	29.00	8.70	4.88	236
NDF intake, kg/d	6.54	6.19	8.78	4.86	1.13	23
Diet composition						
Forage diet, g/kg DM	586.1	546.9	1000.0	258.1	161.6	232
DM diet, g/kg	538.5	540.1	922.9	398.0	104.7	44
CP diet, g/kg DM	168.8	167.5	258.0	121.5	18.2	178
EE diet, g/kg DM	34.2	35.0	47.0	17.4	8.3	50
NDF diet, g/kg DM	339.1	339.0	496.0	260.0	50.0	172
TDN diet, g/kg DM	742.6	750.0	770.0	697.9	22.2	19
NE _L diet, Mcal/kg DM	1.62	1.63	1.69	1.41	0.06	49
Ca, g/kg DM	8.84	7.70	22.50	4.00	3.54	213
P, g/kg DM	3.92	3.90	6.70	1.54	0.96	264
Ca metabolism						
Ca milk concentration (g/kg)	1.25	1.20	2.24	0.86	0.30	101
Ca intake (g/d)	143.96	137.60	360.00	46.58	60.15	116
Ca fecal (g/d)	92.64	84.40	212.00	21.20	41.65	113
Ca urinary (g/d)	1.74	1.29	6.40	0.06	1.48	98
Ca milk (g/d)	27.03	21.66	64.90	5.30	14.68	104
P metabolism						
P milk concentration (g/kg)	0.90	0.91	1.27	0.53	0.13	191
P feces concentration (g/kg)	7.39	6.93	13.61	3.50	2.45	60
P urine concentration (mg/L)	10.33	7.00	35.00	2.40	10.20	13
P intake (g/d)	73.73	72.25	179.70	21.50	28.53	276
P fecal (g/d)	43.07	40.20	118.80	10.99	20.67	267
P urinary (g/d)	0.73	0.44	4.91	0.02	0.88	170
P milk (g/d)	24.33	24.25	50.30	5.20	10.18	225

314 ¹ CP = crude protein; EE = ether extract; NDF = neutral detergent fiber; TDN = total digestible nutrients;
 315 NE_L = Net energy for lactation.

316 ² Treatment means from 72 experiments in 53 publications (Appendix 1 and Table S1 Online Data
 317 Supplement).

318

319 Table 2. Pearson correlation coefficients for the relationships among explanatory variables in the full data set (treatment means from 72
320 experiments)

Item ¹	Pf	Pu	Pm	Cai	Caf	Cau	Cam	For	CP	EE	NDF	NFC	Starch	MY	BW ^{0.75}	DMI
Pi	0.889	0.456	0.686	0.178	0.082	-0.285	0.684	-0.574	-0.034	0.379	-0.373	0.186	0.216	0.723	0.485	0.775
Pf		0.423	0.577	0.154	0.157	-0.417	0.587	-0.474	-0.129	0.143	-0.329	0.014	0.311	0.591	0.410	0.645
Pu			0.301	-0.040	-0.050	-0.297	0.204	-0.344	0.039	-0.224	-0.205	-0.508	0.115	0.317	0.207	0.297
Pm				0.192	0.096	-0.363	0.880	-0.510	0.013	0.651	-0.603	0.088	-0.306	0.954	0.704	0.878
Cai					0.892	-0.064	0.290	0.127	0.080	-0.773	-0.258	-0.710	-	0.132	-0.105	0.262
Caf						-0.107	0.136	0.237	0.097	-0.775	-0.050	-0.578	-	0.024	-0.163	0.182
Cau							-0.266	0.503	-0.252	-	0.371	-	-	-0.345	-0.106	-0.334
Cam								-0.624	-0.277	-	-0.707	-	-	0.911	0.683	0.878
For									0.065	-0.192	0.121	-0.343	-0.564	-0.646	-0.697	-0.600
CP										0.126	-0.204	-0.216	-0.141	-0.024	-0.066	-0.049
EE											-0.133	-0.349	0.526	0.702	0.493	0.435
NDF												-0.757	-0.297	-0.644	-0.021	-0.592
NFC													0.997	0.311	-0.046	0.521
Starch														-0.252	-0.206	0.098
MY															0.726	0.878
BW ^{0.75}																0.700

321 ¹ BW^{0.75} = metabolic body weight (kg); Cai = calcium intake (g/d); Caf = calcium in feces (g/d); Cau = calcium in urine (g/d); Cam = calcium
322 in milk (g/d); CP = crude protein dietary (g/kg DM); DMI = dry matter intake (kg/d); EE = ether extract dietary (g/kg DM); For = forage
323 dietary (g/kg DM); MY = milk yield (kg/d); NDF = neutral detergent fiber dietary (g/kg DM); Pi = Phosphorus intake (g/d); Pf = phosphorus
324 in feces (g/d); Pu = phosphorus in urine (g/d); Pm = phosphorus in milk (g/d);

325 ²Appendix 1 and Table S1 Online Data Supplement.

326 Table 3. Effects of the diet and genetic group on calcium metabolizable (CaMet) and phosphorus
 327 metabolizable (PMet) in lactating dairy cows
 328

Item ¹	CaMet (P-value)	Pmet (P-value)
Forage diet, g/kg DM	<0.001	0.386
Crude protein diet, g/kg DM	0.070	0.767
Ether extract diet, g/kg DM	0.512	0.318
NDF diet, g/kg DM	0.798	0.976
Non fiber carbohydrate diet, g/kg DM	0.123	0.892
Genetic group	<0.001	0.929

329 ¹ CP = crude protein; EE = ether extract; NDF = neutral detergent fiber; TDN = total digestible nutrient;
 330 NE_L = Net energy for lactation.

331 ² Treatment means from 72 experiments in 53 publications (Appendix 1 and Table S1 Online Data
 332 Supplement).
 333
 334
 335
 336
 337
 338
 339
 340
 341
 342
 343
 344
 345
 346
 347
 348
 349
 350
 351
 352
 353
 354
 355
 356
 357
 358
 359
 360
 361
 362
 363

Equation

$$\text{Dietary Ca (g/kg DM)} = \text{Dietary Ca intake (g/cow/day)} \div \text{dry matter intake (DMI, kg/d)}$$

$$\text{Dietary Ca intake (g/cow/day)} = (\text{CaFe} + \text{CaUe} + \text{CaLac} + \text{CaPreg}) \div \text{CaMet}$$

where:

$$\text{CaFe} = \text{endogenous fecal Ca excretion (g/d)} = 1.83 \times \text{dry matter intake (DMI, kg/d)};$$

$$\text{CaUe} = \text{endogenous urinary Ca excretion (g/d)} = 0.13 \times \text{DMI (kg/d)};$$

$$\begin{aligned} \text{CaLac} &= \text{Ca net requirement to lactation (g/d)} = \text{Milk yield (kg/d)} \times \text{Ca in milk (g/kg)}. \\ &\quad \text{Ca in milk} = 1.17 \text{ to Holstein and other breeds} \\ &\quad \text{Ca in milk} = 1.38 \text{ to Jersey;} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CaPreg} &= \text{Ca net requirement to pregnancy (g/d)} = 0.02456 \times \exp^{(0.05581 - 0.00007 \times \text{DP}) \times \text{DP}} - 0.02456 \times \\ &\quad \exp^{(0.05581 - 0.00007 \times (\text{DP} - 1) \times (\text{DP} - 1))} \text{ (House and Bell, 1993). DP = day of pregnancy, only after 190} \\ &\quad \text{days;} \end{aligned}$$

$$\text{CaMet} = \text{Ca metabolizable coefficient} = 0.74 \text{ to Holstein and other breeds or } 0.82 \text{ to Jersey.}$$

$$\text{Dietary P (g/kg DM)} = \text{Dietary P intake (g/cow/day)} \div \text{dry matter intake (DMI, kg/d)}$$

$$\text{Dietary P intake (g/cow/day)} = (\text{PFe} + \text{PUe} + \text{PLac} + \text{PPreg}) \div \text{PMet}$$

where:

$$\text{PFe} = \text{endogenous fecal P excretion (g/d)} = 0.93 \times \text{dry matter intake (DMI, kg/d)};$$

$$\text{PaUe} = \text{endogenous urinary P excretion (g/d)} = 0.01 \times \text{DMI (kg/d)};$$

$$\begin{aligned} \text{PaLac} &= \text{P net requirement to lactation (g/d)} = \text{Milk yield (kg/d)} \times \text{P in milk (g/kg)}. \\ &\quad \text{P in milk} = 0.90 \text{ to Holstein and other breeds} \\ &\quad \text{P in milk} = 1.00 \text{ to Jersey;} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{PPreg} &= \text{P net requirement to pregnancy (g/d)} = 0.02743 \times \exp^{(0.05527 - 0.000075 \times \text{DP}) \times \text{DP}} - 0.02743 \times \\ &\quad \exp^{(0.05527 - 0.000075 \times (\text{DP} - 1) \times (\text{DP} - 1))} \text{ (House and Bell, 1993). DP = day of pregnancy, only after 190} \\ &\quad \text{days;} \end{aligned}$$

$$\text{PMet} = \text{P metabolizable coefficient} = 0.74.$$

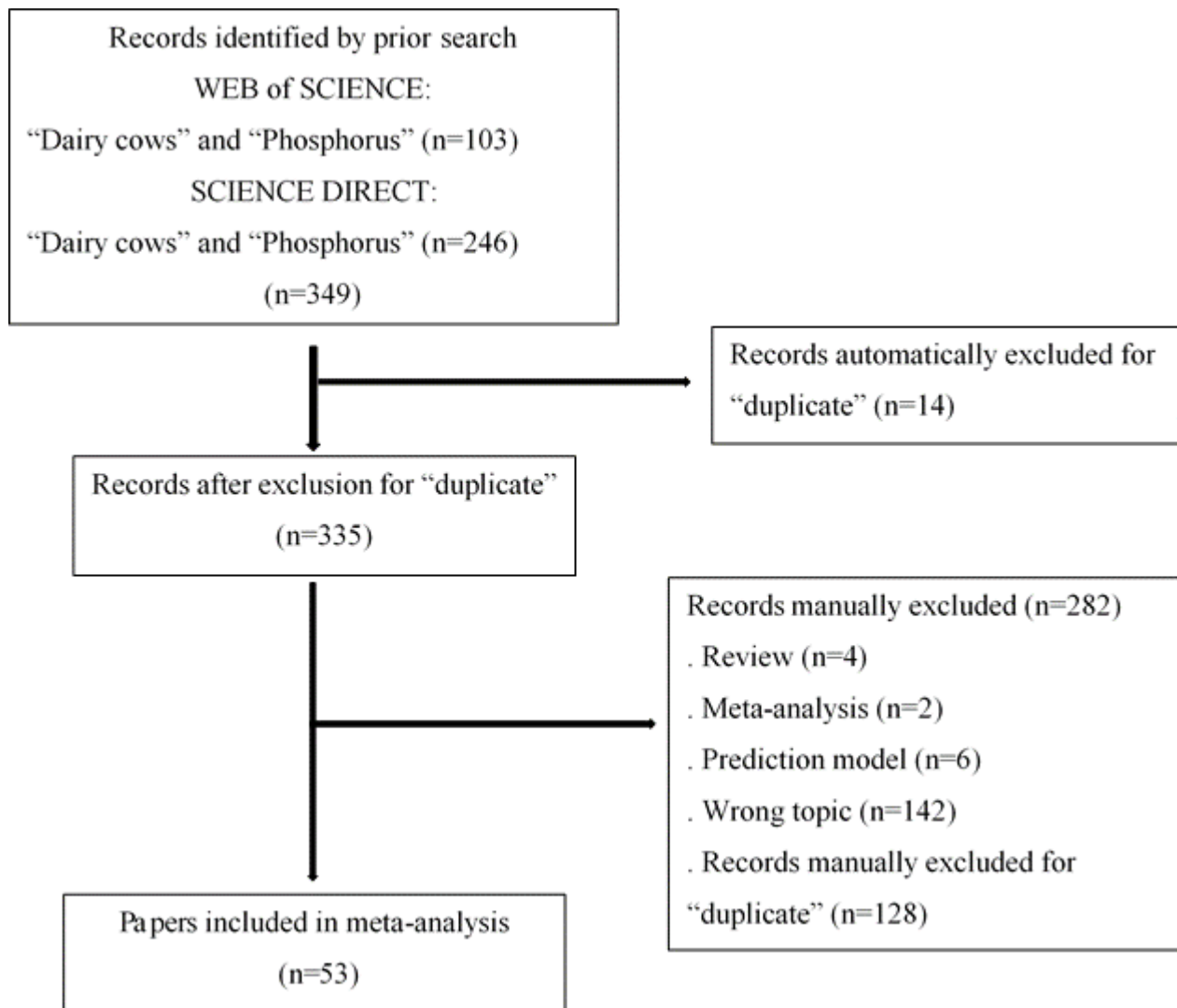


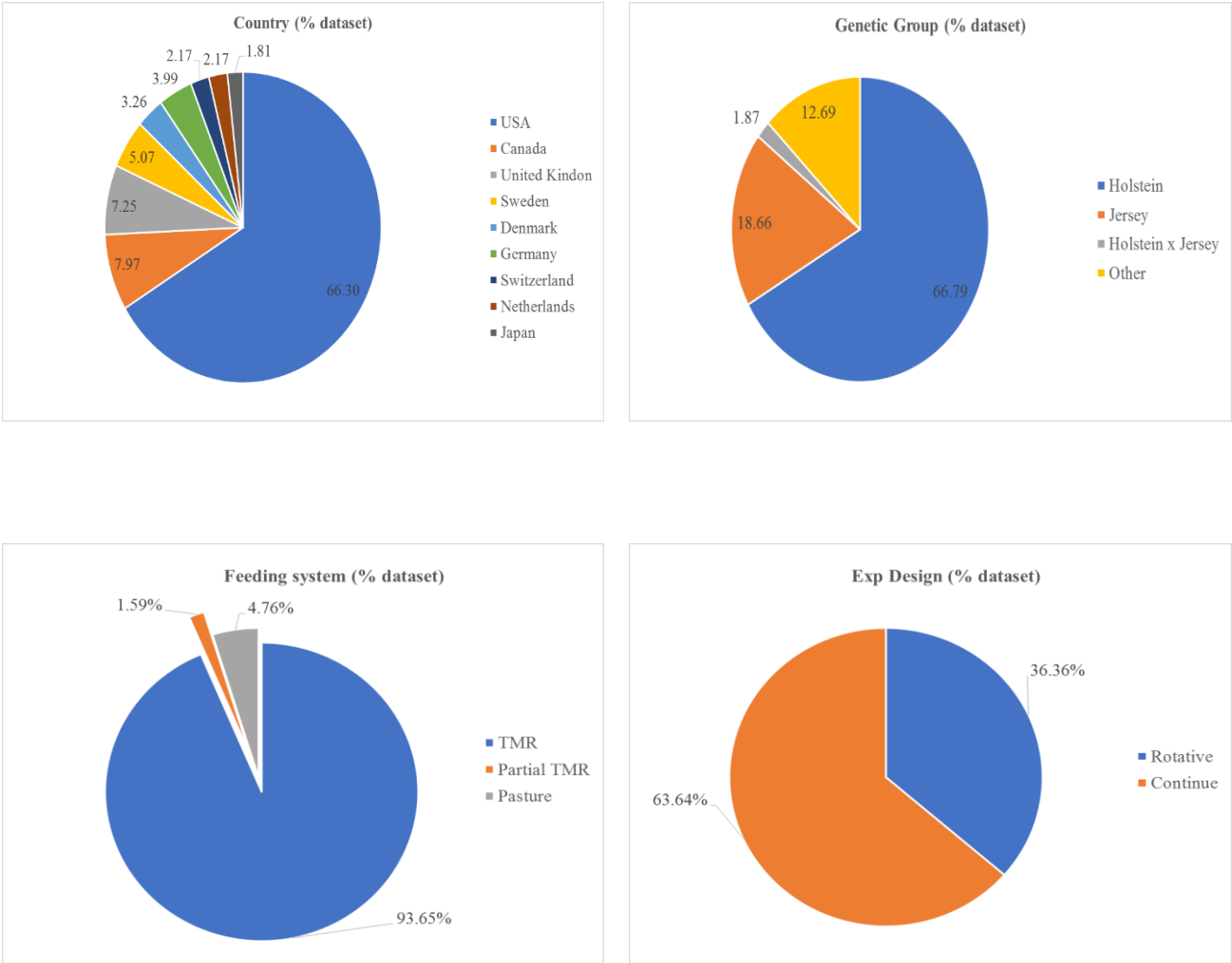
Figure 1. Flowchart showing inclusion criteria for selection of the studies used to model calcium and phosphorus dietary requirements for lactating dairy cows.

376

377

378

379



380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

Figure 2 - Dataset distribution for country and genetic group, feeding system and experimental design used to model calcium and phosphorus dietary requirement for lactating dairy cows

394
395
396
397

398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411

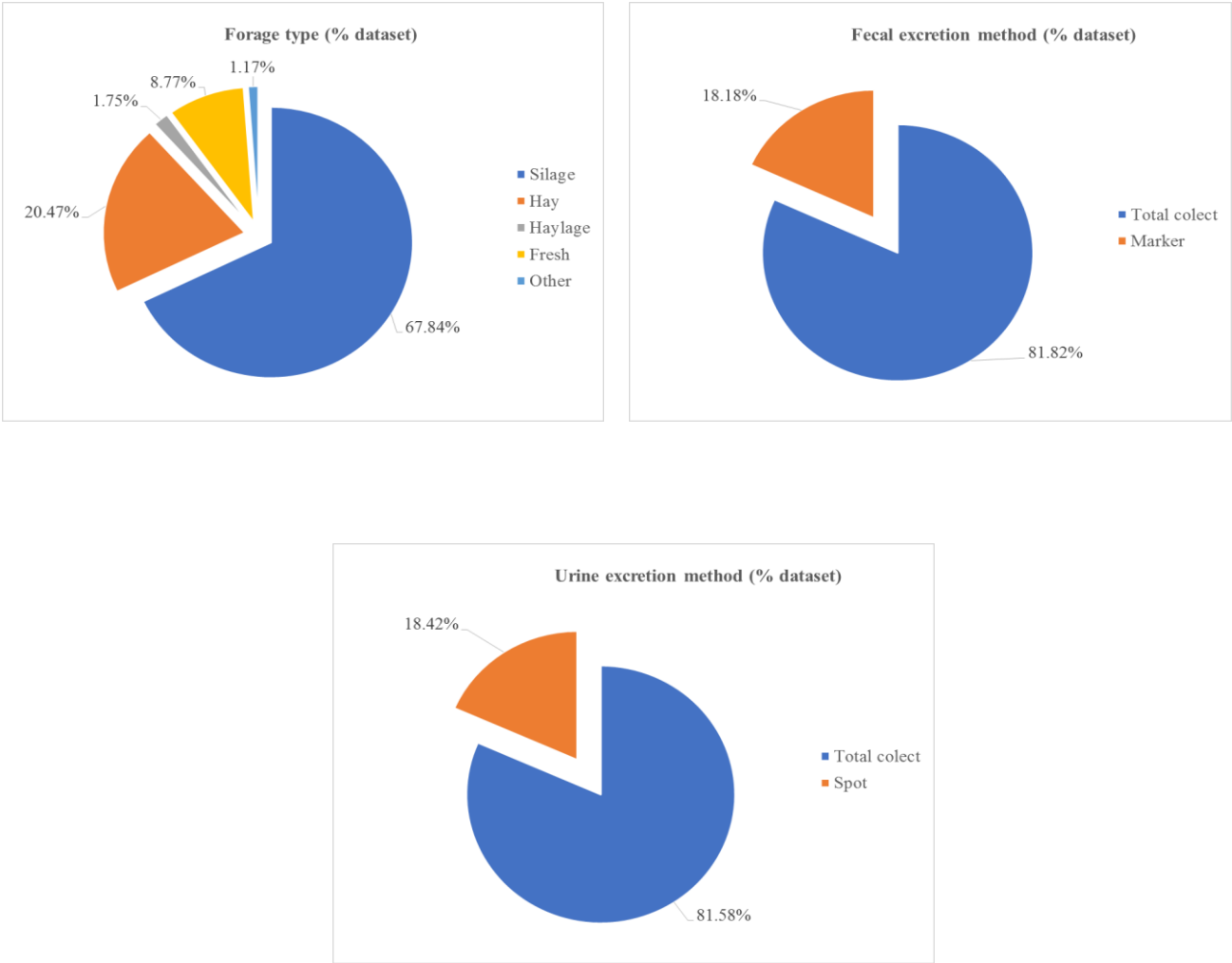


Figure 3 - Dataset distribution for forage type, collection methods for fecal and urinary excretion ty used to model calcium and phosphorus dietary requirement for lactating dairy cows

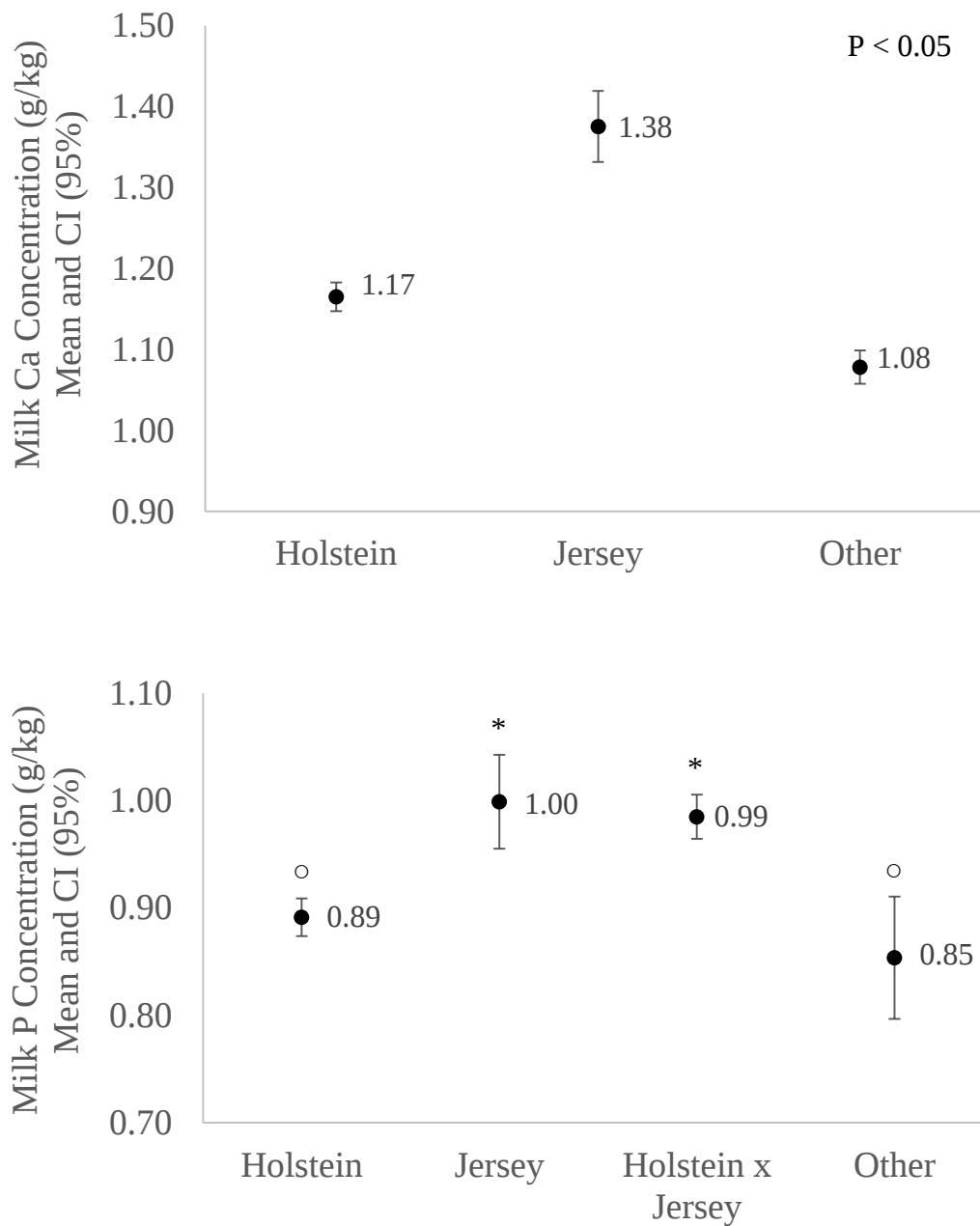


Figure 4 – Calcium and phosphorus concentration in milk for different genetic group of lactating dairy cows (complete dataset, Table 1).CI = confidence interval (95%).

The same symbols present similar means $P > 0.05$.

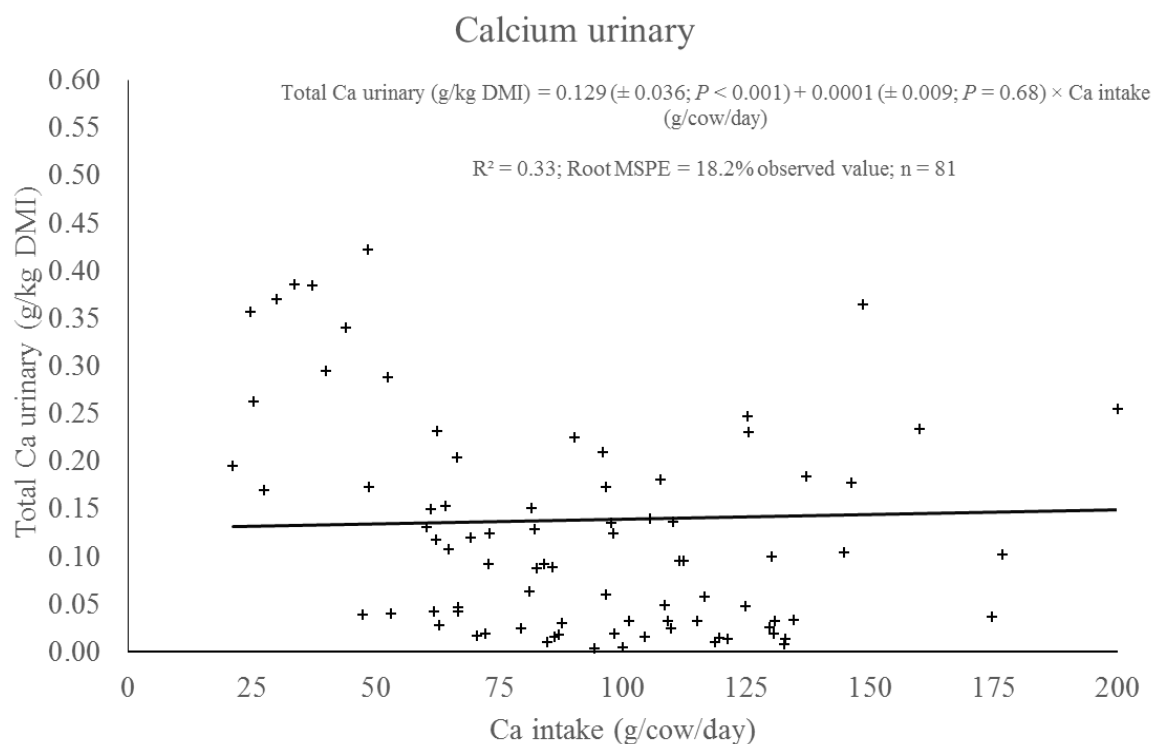
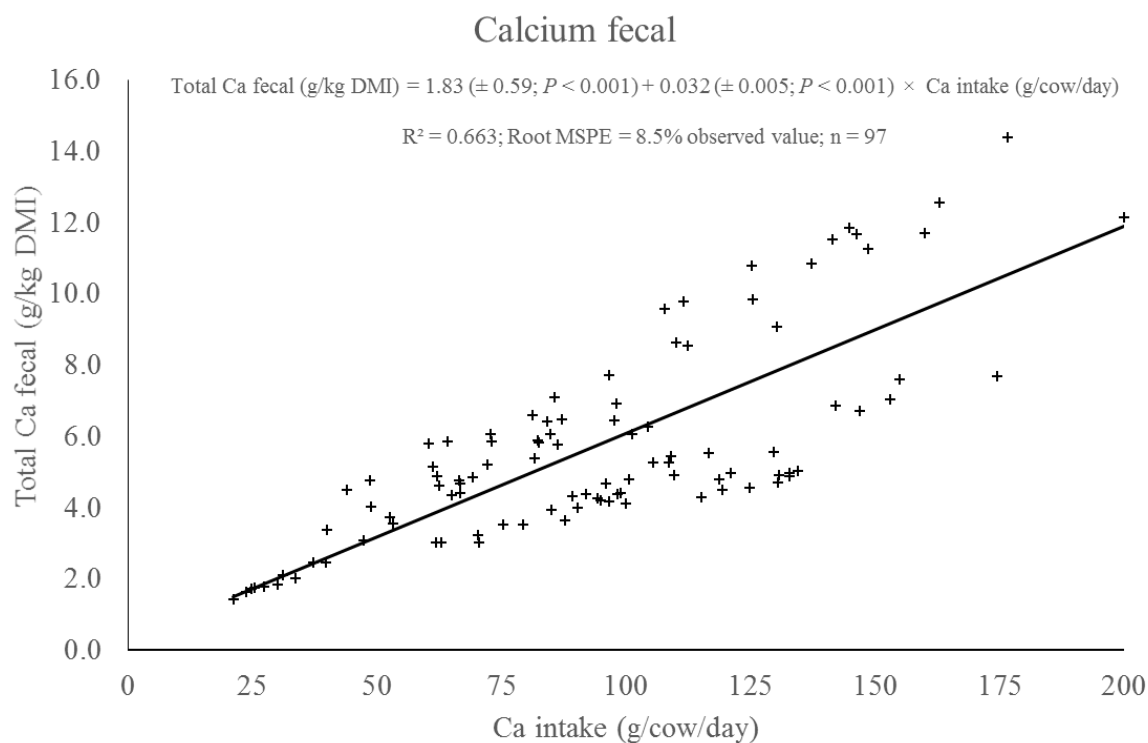
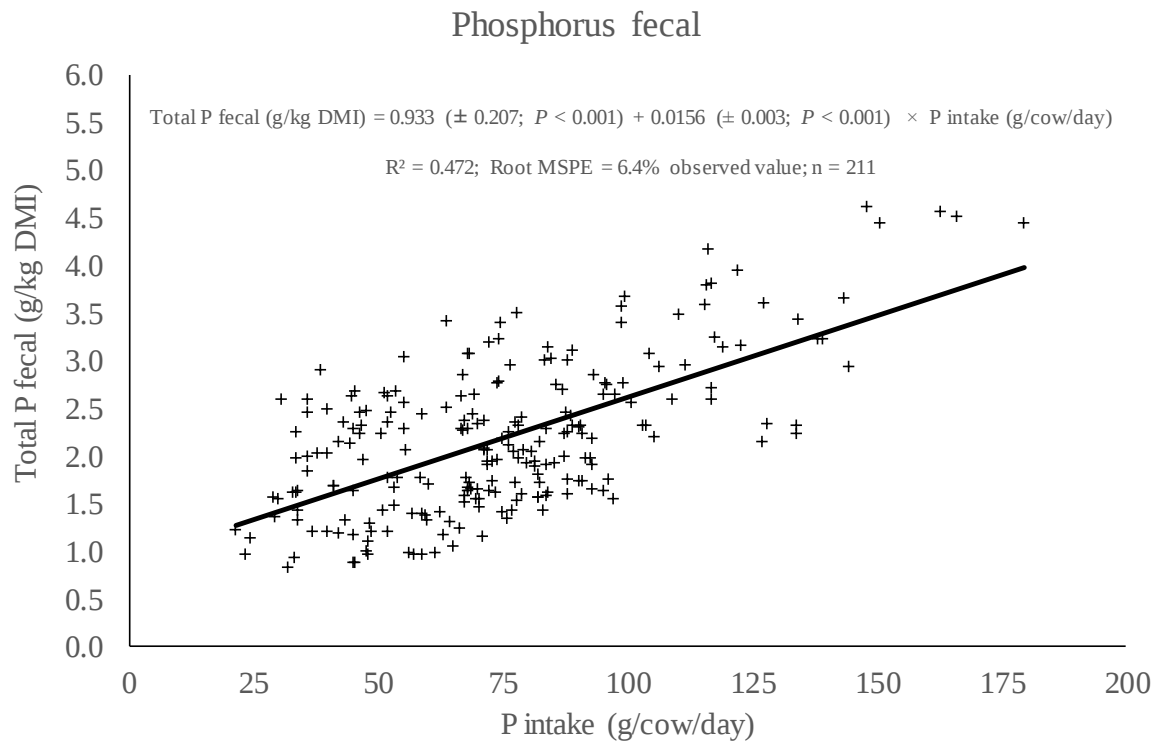
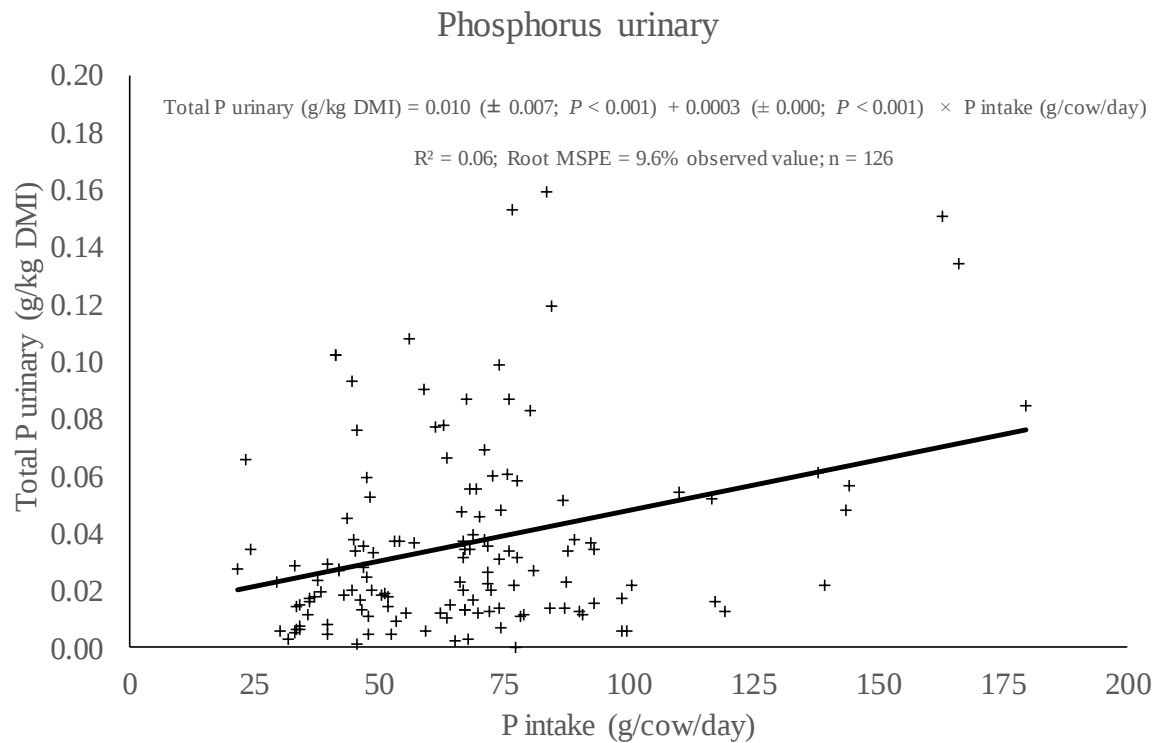


Figure 5 - Relationship between calcium intake (Ca intake) and total Ca fecal and urinary excretion.

MSPE = mean square prediction error. N = treatment means (Table 1).



430



431

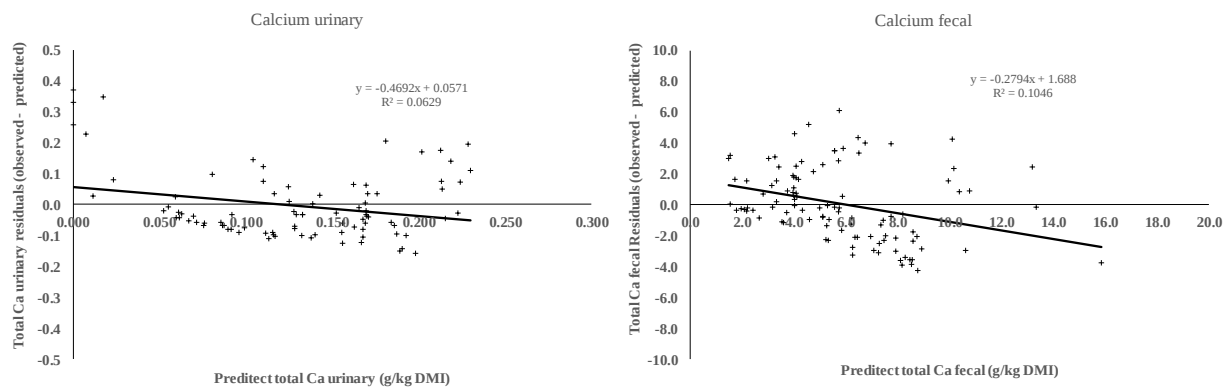
432

433 Figure 6 - Relationship between phosphorus intake (P intake) and total P fecal and urinary excretion.

434 MSPE = mean square prediction error. N = treatment means (Table 1).

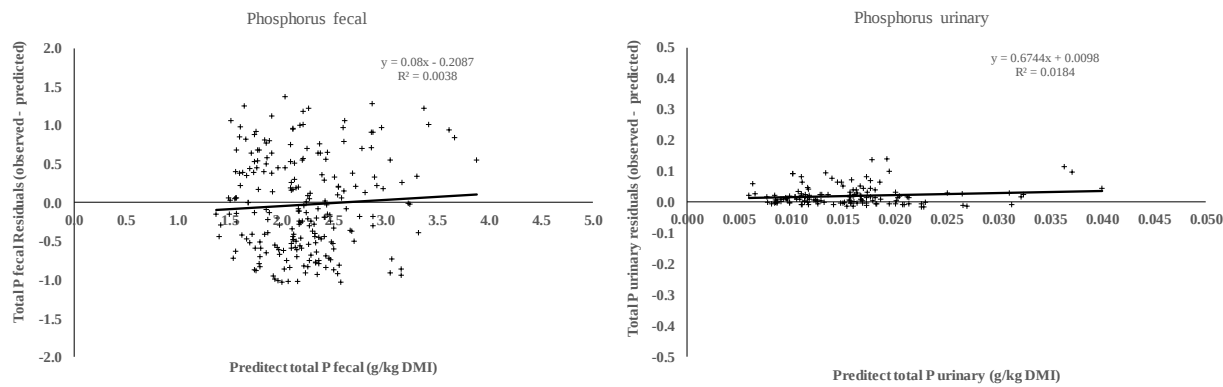
435

436



437

438



439

440

441

442

443

444

445

446

447

448

449

450 Figure 7 – Plot residual (observed minus predicted) *versus* predicted calcium and phosphorus fecal and
451 urinary excretion for lactating dairy cows (equations, Figures 5 and 6).

452

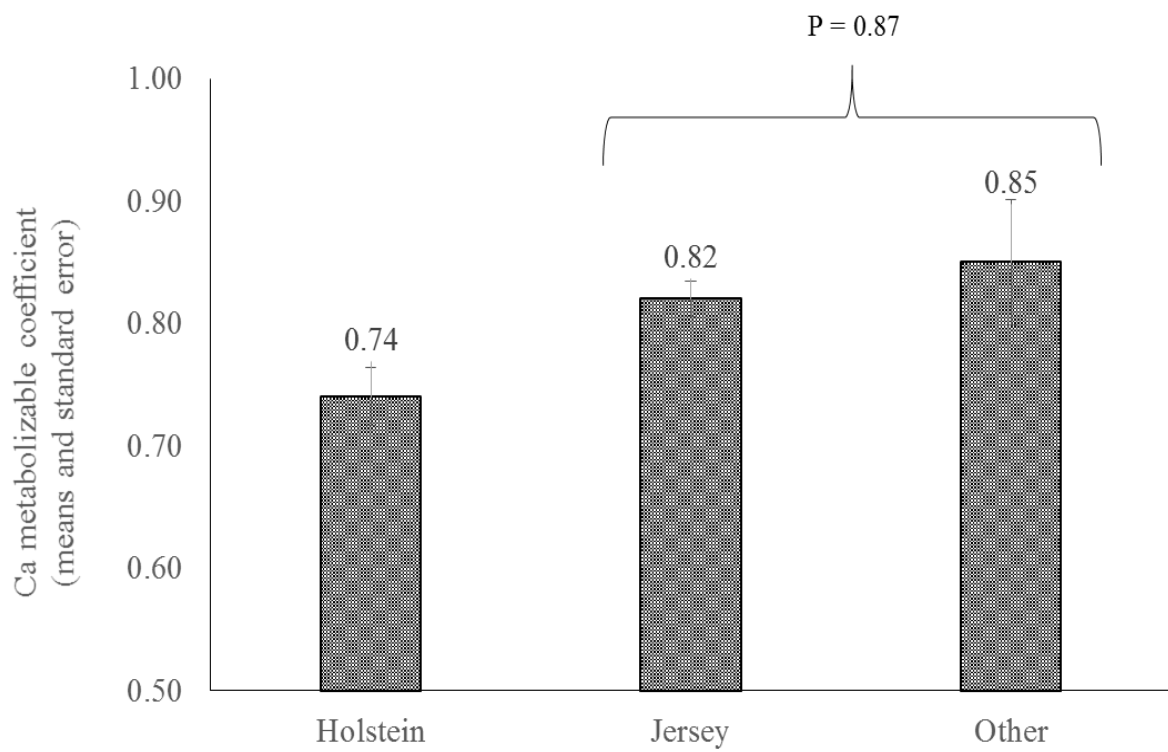


Figure 8 – Effect of genetic group on calcium metabolizable coefficient in lactating dairy cows

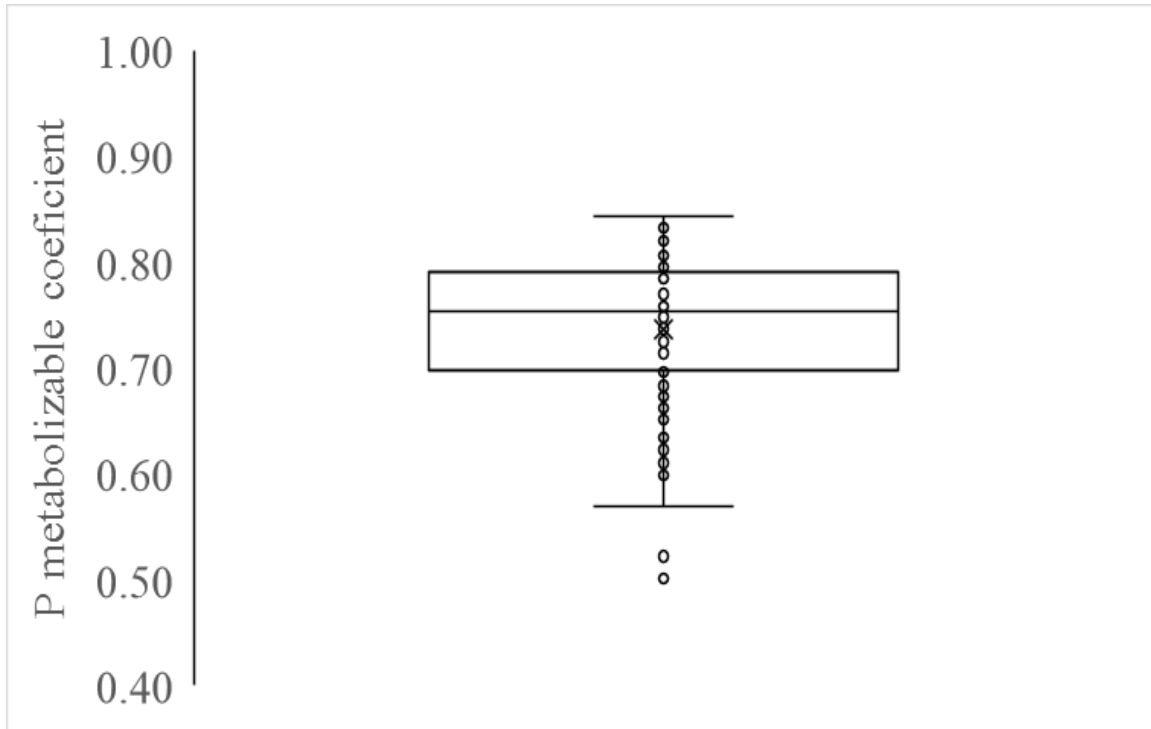


Figure 9 – Box plot of the descriptive analysis (dispersion of data) of phosphorus metabolizable coefficient in lactating dairy cows. The end point of the whiskers marks maximum and minimum values. Median value showed as a horizontal line. The (x) represents the mean.

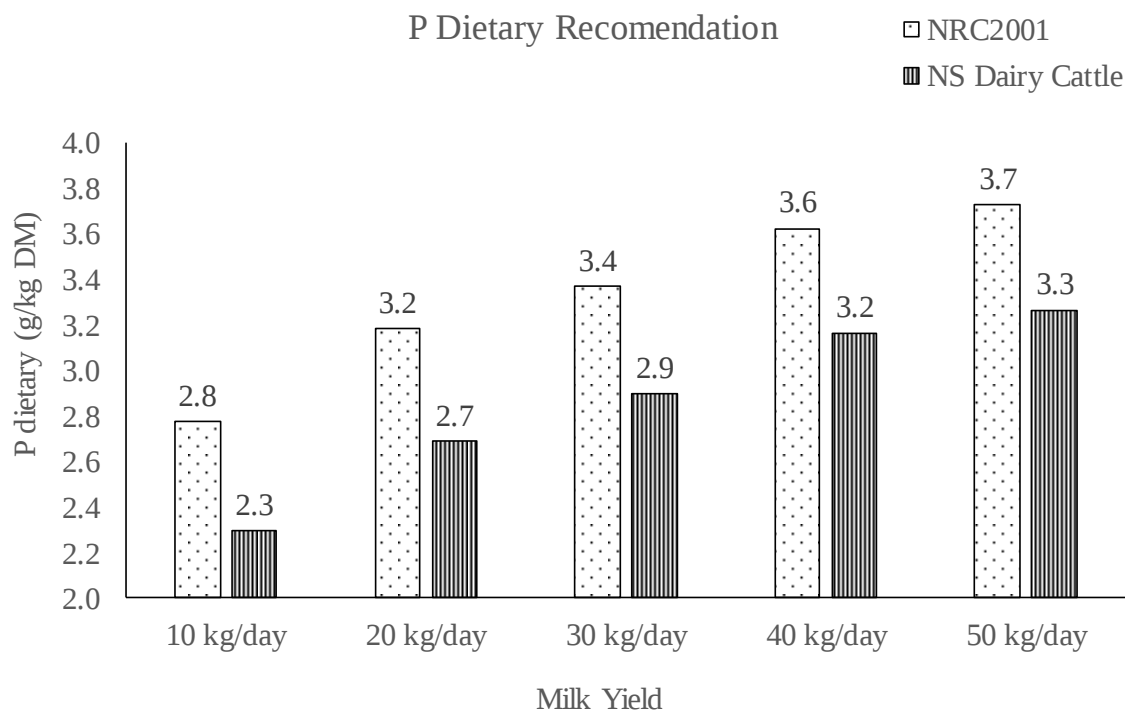
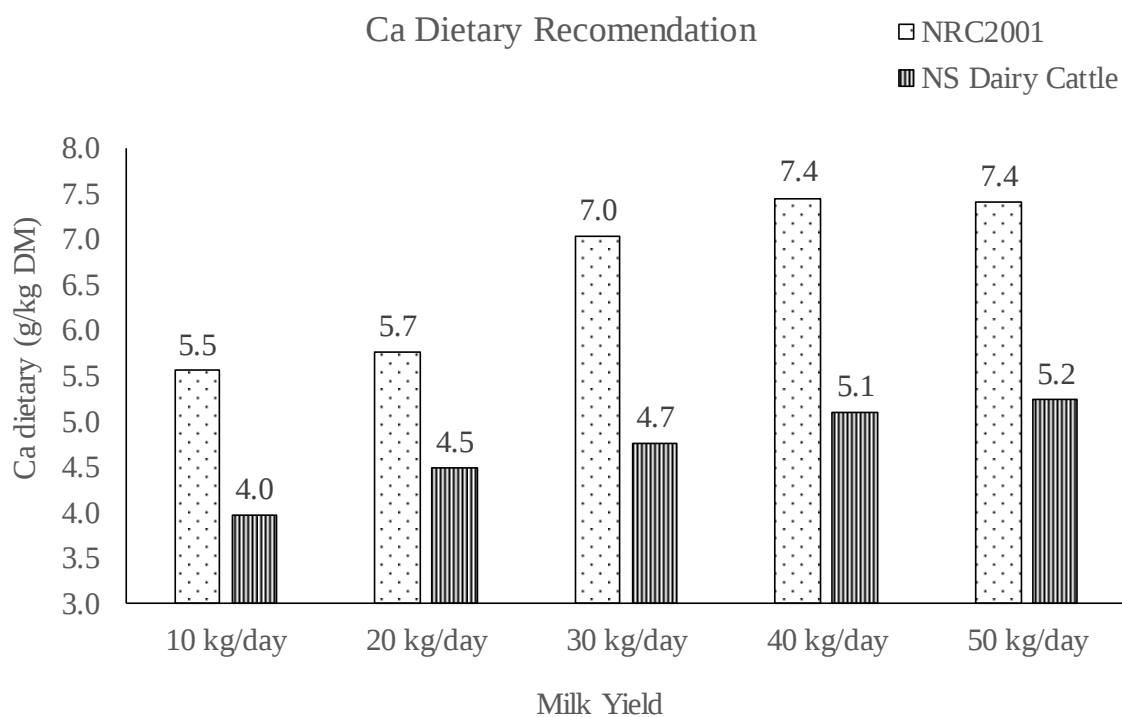


Figure 10 – Calcium and phosphorus dietary recommendation to non-pregnant lactating dairy cows from NRC (2001) e proposed (Nutrition System for Dairy Cattle).

Publications used to development calcium and phosphorus system dietary recommendation

- 497 Berry, N.R., Jewell, P.L., Sutter, F., Edwards, P.J., Kreuzer, M., 2001. Effect of concentrate on nitrogen
498 turnover and excretion of P, K, Na, Ca and Mg in lactating cows rotationally grazed at high altitude.
499 *Livestock Production Science* 71, 261-275.
- 500 Bjelland, D.W., Weigel, K.A., Hoffman, P.C., Esser, N.M., Coblenz, W.K., 2011. The effect of feeding
501 dairy heifers diets with and without supplemental phosphorus on growth, reproductive efficiency,
502 health, and lactation performance1. *Journal of Dairy Science* 94, 6233-6242.
- 503 Borucki Castro, S.I., Phillip, L.E., Girard, V., Tremblay, A., 2004. Altering Dietary Cation-Anion
504 Difference in Lactating Dairy Cows to Reduce Phosphorus Excretion to the Environment. *Journal*
505 *of Dairy Science* 87, 1751-1757.
- 506 Brask-Pedersen, D.N., Glitsø, L.V., Skov, L.K., Lund, P., Sehested, J., 2013. Effect of exogenous phytase
507 on degradation of inositol phosphate in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96, 1691-1700.
- 508 Brintrup, R., Mooren, T., Meyer, U., Spiekers, H., Pfeffer, E., 1993. Effects of 2 levels of phosphorus
509 intake on performance and fecal phosphorus excretion of dairy-cows. *Journal of Animal Physiology*
510 *and Animal Nutrition-Zeitschrift Fur Tierphysiologie Tierernahrung Und Futtermittelkunde* 69, 29-
511 36.
- 512 Conrad, H.R., Hansard, S.L., Hibbs, J.W., 1956. Studies on Milk Fever in Dairy Cows. V. The Effect of
513 Massive Oral Doses of Vitamin D on Absorption, Excretion, Retention and Blood Levels of Calcium
514 and Phosphorus1. *Journal of Dairy Science* 39, 1697-1705.
- 515 Dann, H.M., Grant, R.J., Cotanch, K.W., Thomas, E.D., Ballard, C.S., Rice, R., 2008. Comparison of
516 brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient
517 digestibility in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91, 663-672.
- 518 Delaquis, A.M., Block, E., 1995. The effects of changing ration ingredients on acid-base status, renal-
519 function, and macromineral metabolism. *Journal of Dairy Science* 78, 2024-2039.
- 520 Ekelund, A., Sporndly, R., Holtenius, K., 2006. Influence of low phosphorus intake during early lactation
521 on apparent digestibility of phosphorus and bone metabolism in dairy cows. *Livestock Science* 99,
522 227-236.
- 523 Ekelund, A., Sporndly, R., Valk, H., Murphy, M., 2003. Influence of feeding various phosphorus sources
524 on apparent digestibility of phosphorus in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 109,
525 95-104.
- 526 Feng, X., Knowlton, K.F., Dietrich, A.D., Duncan, S., 2013. Effect of abomasal ferrous lactate infusion
527 on phosphorus absorption in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96, 4586-4591.
- 528 Ferris, C.P., Patterson, D.C., McCoy, M.A., Kilpatrick, D.J., 2010. Effect of offering dairy cows diets
529 differing in phosphorus concentration over four successive lactations: 1. Food intake, milk
530 production, tissue changes and blood metabolites. *Animal* 4, 545-559.
- 531 Guyton, A.D., McKinney, J.M., Knowlton, K.F., 2003. The Effect of Steam-Flaked or Dry Ground Corn
532 and Supplemental Phytic Acid on Phosphorus Partitioning and Ruminal Phytase Activity in
533 Lactating Cows. *Journal of Dairy Science* 86, 3972-3982.
- 534 Haese, E., Muller, K., Steingass, H., Schollenberger, M., Rodehutsord, M., 2014. Effects of mineral and
535 rapeseed phosphorus supplementation on phytate degradation in dairy cows. *Archives of Animal*
536 *Nutrition* 68, 478-491.
- 537 Herrera, D., Harris, W.G., Nair, V.D., Josan, M., Staples, C.R., 2010. Effect of dietary modifications of
538 calcium and magnesium on reducing solubility of phosphorus in feces from lactating dairy cows.
539 *Journal of Dairy Science* 93, 2598-2611.
- 540 Hibbs, J.W., Conrad, H.R., 1983. The relation of calcium and phosphorus intake and digestion and the
541 effects of vitamin D feeding on the utilization of calcium and phosphorus by lactating dairy cows.
- 542 Jarrett, J.P., Wilson, J.W., Ray, P.P., Knowlton, K.F., 2014. The effects of forage particle length and

- exogenous phytase inclusion on phosphorus digestion and absorption in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 97, 411-418.
- Kamiya, Y., Kamiya, M., Tanaka, M., 2006. The effect of prepartum diet on nitrogen and major mineral balance of dairy cows during parturition in summer. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 19, 1415-1421.
- Kamiya, Y., Kamiya, M., Tanaka, M., 2010. The effect of high ambient temperature on Ca, P and Mg balance and bone turnover in high-yielding dairy cows. *Animal Science Journal* 81, 482-486.
- Kebreab, E., France, J., Sutton, J.D., Crompton, L.A., Beever, D.E., 2005. Effect of energy and protein supplementation on phosphorus utilization in lactating dairy cows. *Journal of Animal and Feed Sciences* 14, 63-77.
- Kincaid, R.L., Garikipati, D.K., Nennich, T.D., Harrison, J.H., 2005. Effect of grain source and exogenous phytase on phosphorus digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88, 2893-2902.
- Knowlton, K.F., Herbein, J.H., 2002. Phosphorus partitioning during early lactation in dairy cows fed diets varying in phosphorus content. *Journal of Dairy Science* 85, 1227-1236.
- Knowlton, K.F., Herbein, J.H., Meister-Weisbarth, M.A., Wark, W.A., 2001. Nitrogen and Phosphorus Partitioning in Lactating Holstein Cows Fed Different Sources of Dietary Protein and Phosphorus. *Journal of Dairy Science* 84, 1210-1217.
- Knowlton, K.F., McKinney, J.M., Cobb, C., 2002. Effect of a Direct-Fed Fibrolytic Enzyme Formulation on Nutrient Intake, Partitioning, and Excretion in Early and Late Lactation Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* 85, 3328-3335.
- Knowlton, K.F., Parsons, C.M., Cobb, C.W., Wilson, K.F., 2005. Exogenous Phytase Plus Cellulase and Phosphorus Excretion in Lactating Dairy Cows. *The Professional Animal Scientist* 21, 212-216.
- Knowlton, K.F., Taylor, M.S., Hill, S.R., Cobb, C., Wilson, K.F., 2007. Manure nutrient excretion by lactating cows fed exogenous phytase and cellulase. *Journal of Dairy Science* 90, 4356-4360.
- Kojima, H., Nonaka, K., Oshita, T., Kozakai, T., Hirooka, H., 2005. Effects of feeding and animal performance on nitrogen, phosphorus and potassium excretion by Holstein cows. *Animal Science Journal* 76, 139-145.
- Martz, F.A., Belo, A.T., Weiss, M.F., Belyea, R.L., Goff, J.P., 1990. True Absorption of Calcium and Phosphorus from Alfalfa and Corn Silage When Fed to Lactating Cows. *Journal of Dairy Science* 73, 1288-1295.
- Miller, R.C., 1926. A Study of Calcium and Phosphorus Balances with Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 9, 78-92.
- Monroe, C.F., 1924. The Metabolism of Calcium, Magnesium, Phosphorus and Sulfur in Dairy Cows Fed High and Low Protein Rations. *Journal of Dairy Science* 7, 58-73.
- Moreira, V.R., Zeringue, L.K., Williams, C.C., Leonardi, C., McCormick, M.E., 2009. Influence of calcium and phosphorus feeding on markers of bone metabolism in transition cows. *Journal of Dairy Science* 92, 5189-5198.
- Morse, D., Head, H.H., Wilcox, C.J., Vanhorn, H.H., Hissem, C.D., Harris, B., 1992. effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. *Journal of Dairy Science* 75, 3039-3049.
- Myers, Z.H., Beede, D.K., 2009. Evaluating estimates of phosphorus maintenance requirement of lactating Holstein cows with different dry matter intakes. *Journal of Dairy Science* 92, 708-719.
- O'Rourke, E.M., Michal, J., Kincaid, R.L., Harrison, J.H., 2007. Use of Fecal Samples as a Tool to Monitor Phosphorus Excretion in Lactating Dairy Cows. *The Professional Animal Scientist* 23, 536-540.
- Odongo, N.E., McKnight, D., KoekKoek, A., Fisher, J.W., Sharpe, F., Kebreab, E., Frances, J., McBride, B.W., 2007. Long-term effects of feeding diets without mineral phosphorus supplementation on the performance and phosphorus excretion in high-yielding dairy cows. *Canadian Journal of Animal*

592 Science 87, 639-646.

593 Puggaard, L., Kristensen, N.B., Sehested, J., 2011. Effect of decreasing dietary phosphorus supply on
594 net recycling of inorganic phosphate in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94, 1420-
595 1429.

596 Puggaard, L., Lund, P., Sehested, J., 2013. Effect of feed forage particle size and dietary urea on excretion
597 of phosphorus in lactating dairy cows. *Livestock Science* 158, 50-56.

598 Ray, P.P., Jarrett, J., Knowlton, K.F., 2013. Effect of dietary phytate on phosphorus digestibility in dairy
599 cows. *Journal of Dairy Science* 96, 1156-1163.

600 Reid, M., O'Donovan, M., Elliott, C.T., Bailey, J.S., Watson, C.J., Lalor, S.T.J., Corrigan, B., Fenelon,
601 M.A., Lewis, E., 2015. The effect of dietary crude protein and phosphorus on grass-fed dairy cow
602 production, nutrient status, and milk heat stability. *Journal of Dairy Science* 98, 517-531.

603 Rindsig, R.B., Schultz, L.H., 1970. Effect of Bentonite on Nitrogen and Mineral Balances and Ration
604 Digestibility of High-Grain Rations Fed to Lactating Dairy Cows¹. *Journal of Dairy Science* 53,
605 888-892.

606 Ruiz, T.M., Sotomayor-Ramírez, D., Torres-Meléndez, C., Martínez-Rodríguez, G.A., 2016. Phosphorus
607 mass cycling and balance in dairy farms: Case studies in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems &
608 Environment* 220, 115-124.

609 Salazar, J.A.E., Ferguson, J.D., Beegle, D.B., Remsburg, D.W., Wu, Z., 2013. Body phosphorus
610 mobilization and deposition during lactation in dairy cows. *Journal of Animal Physiology and
611 Animal Nutrition* 97, 502-514.

612 Shore, K.V., Odongo, N.E., Mutsvangwa, T., Widowski, T.M., Cant, J.P., Bettger, W.J., McBride, B.W.,
613 2005. Phosphorus status of lactating dairy cows fed total mixed rations containing 0.24% vs. 0.36%
614 phosphorus. *Canadian Journal of Animal Science* 85, 409-412.

615 Spiekens, H., Brintrup, R., Balmelli, M., Pfeffer, E., 1993. Influence of dry-matter intake on fecal
616 phosphorus losses in dairy-cows fed rations low in phosphorus. *Journal of Animal Physiology and
617 Animal Nutrition-Zeitschrift Fur Tierphysiologie Tierernahrung Und Futtermittelkunde* 69, 37-43.

618 St-Pierre, N.R., Bouchard, R., St-Laurent, G.J., Vinet, C., Roy, G.L., 1983. Effects of Stage of Maturity
619 and Frost on Nutritive Value of Corn Silage for Lactating Dairy Cows¹. *Journal of Dairy Science*
620 66, 1466-1473.

621 St. Pierre, N.R., Bouchard, R., St. Laurent, G., Roy, G.L., Vinet, C., 1987. Performance of Lactating
622 Dairy Cows Fed Silage from Corn of Varying Maturities. *Journal of Dairy Science* 70, 108-115.

623 Taylor, M.S., Knowlton, K.F., McGilliard, M.L., Swecker, W.S., Ferguson, J.D., Wu, Z., Hanigan, M.D.,
624 2009. Dietary calcium has little effect on mineral balance and bone mineral metabolism through
625 twenty weeks of lactation in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 92, 223-237.

626 Valk, H., Sebek, L.B.J., Beynen, A.C., 2002. Influence of phosphorus intake on excretion and blood
627 plasma and saliva concentrations of phosphorus in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85, 2642-
628 2649.

629 Winter, L., Meyer, U., von Soosten, D., Gorniak, M., Lebzien, P., Danicke, S., 2015. Effect of phytase
630 supplementation on rumen fermentation characteristics and phosphorus balance in lactating dairy
631 cows. *Italian Journal of Animal Science* 14.

632 Wu, Z., 2005. Utilization of Phosphorus in Lactating Cows Fed Varying Amounts of Phosphorus and
633 Sources of Fiber. *Journal of Dairy Science* 88, 2850-2859.

634 Wu, Z., Satter, L.D., Blohowiak, A.J., Stauffacher, R.H., Wilson, J.H., 2001. Milk production, estimated
635 phosphorus excretion, and bone characteristics of dairy cows fed different amounts of phosphorus
636 for two or three years. *Journal of Dairy Science* 84, 1738-1748.

637 Wu, Z., Satter, L.D., Sojo, R., 2000. Milk Production, Reproductive Performance, and Fecal Excretion
638 of Phosphorus by Dairy Cows Fed Three Amounts of Phosphorus¹. *Journal of Dairy Science* 83,
639 1028-1041.

640 Wu, Z., Tallam, S.K., Ishler, V.A., Archibald, D.D., 2003. Utilization of Phosphorus in Lactating Cows

641 Fed Varying Amounts of Phosphorus and Forage. Journal of Dairy Science 86, 3300-3308.
642