RENATA PAVAN DE SOUZA

**Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico
sobre o Desempenho Físico de Equinos em Exercício Aeróbio**

Pirassununga, SP

2018

RENATA PAVAN DE SOUZA

**Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico
sobre o Desempenho Físico de Equinos em Exercício Aeróbio**

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

Departamento:

Departamento de Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira
Gobesso

Pirassununga, SP

2018

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3720
FMVZ

Souza, Renata Pavan de
Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico sobre o
Desempenho Físico de Equinos em Exercício Aeróbio / Renata Pavan de Souza. – 2018.
90 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga,
2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Cavalos. 2. Frequência cardíaca. 3. Lactato. 4. Oligoelementos. 5. Taxa de sudorese.
I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico sobre o Desempenho Físico de Equinos", protocolada sob o CEUA nº 4208120917 (ID 004614), sob a responsabilidade de **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e equipe; Renata Pavan de Souza** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 28/02/2018.

We certify that the proposal "Organic and Inorganic Minerals with or without Vitaminic Supplement over the Equine Physical Performance", utilizing 8 Equines (8 males), protocol number CEUA 4208120917 (ID 004614), under the responsibility of **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso and team; Renata Pavan de Souza** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/28/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **09/2017** a **01/2018**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de outros projetos**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos**

idade: **8 a 9 anos**

N: **8**

Linhagem: **Puro Sangue Árabe**

Peso: **403 a 486 kg**

Local do experimento: O experimento será conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui) do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), em Pirassununga.

São Paulo, 27 de outubro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SOUZA, Renata Pavan de

Título: Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico sobre o Desempenho Físico de Equinos em Exercício Aeróbio

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico, aos meus pais, minha irmã e meu namorado, os quais me incentivaram, me orientaram e fizeram tudo o que estava ao alcance de suas mãos para que este trabalho se concretizasse.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à Deus, por ter me colocado neste caminho e me presenteado com tantas oportunidades, provações e superações, de todas as naturezas.

À minha família e aos amigos maringaenses por, mesmo estando fisicamente longe, não terem deixado de estar presentes na forma de mensagens, cartas e orações.

Ao meu namorado, Lucas Freitas Meirelles de Azevedo, por ter-se feito presente nos piores e melhores momentos desta caminhada. Por ter sido minha família em Pirassununga.

À Flávia Vieira de Freitas, amiga e conselheira, tanto profissionalmente, quanto pessoalmente.

À Gabriela do Vale Pombo, pelo amparo nas etapas iniciais do meu experimento.

Aos demais membros do LabEqui, pós-graduandos e estagiários, por terem auxiliado em todos os momentos desta pesquisa.

Ao meu orientador, Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, por ter me aberto as portas do LabEqui e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos professores Evaldo Antonio Lencioni Titto, Júlio César de Carvalho Balieiro, Ricardo Vieira Ventura, Cristiane Gonçalves Titto e Carlos Eduardo Furtado, pelo apoio prestado, sempre que requerido.

À DSM/Tortuga, sem a qual este experimento não teria se concretizado. Também a seus membros, Ricardo Franzin de Moraes (Gerente de Categoria – equídeos) e Cristina Simões Cortinhas (Supervisora de Inovação e Ciência Aplicada – ruminantes), que estiveram de perto auxiliando no que fosse necessário.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

SOUZA, R. P. **Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico sobre o Desempenho Físico de Equinos em Exercício Aeróbio** [Organic and Inorganic Minerals with and without Vitamin Supplementation over Physical Performance of Equines Submitted to Aerobic Moderate-Intensity Exercise]. 2018. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

Minerais e vitaminas desempenham funções importantes dentro do organismo e geralmente apresentam relações de dependência entre si. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a atuação das dietas com minerais orgânicos sem vitaminas, minerais orgânicos com vitaminas, minerais inorgânicos sem vitaminas e minerais inorgânicos com vitaminas sobre algumas variáveis de desempenho atlético de equinos adultos em exercício aeróbio de intensidade moderada. Oito equinos machos castrados da raça Puro Sangue Árabe foram submetidos ao exercício em exercitador circular mecânico, durante uma hora (velocidades de 8, 12 e 15 km/h), cinco vezes por semana. O delineamento experimental foi em *change-over* com arranjo fatorial 2x2, dividido em dois períodos de 60 dias e com 30 dias de *wash out* entre os períodos. Os dados foram submetidos à análise estatística pelo programa Statistical Analysis System (SAS), com auxílio do procedimento MIXED. A concentração de glicose foi maior nos animais que não receberam vitaminas nos dias 0 ($p=0,01$), 30 ($p=0,018$) e 60 ($p=0,820$). A curva de lactato foi ascendente ($p<0,05$) nos primeiros 15 minutos após o exercício e a concentração média de lactato foi menor ($p<0,05$) quando os animais receberam vitaminas e minerais inorgânicos e também quando as vitaminas não estavam presentes e a fonte de mineral era orgânica, em momento de maior esforço físico provável. A FC se alterou ($p<0,05$) entre as velocidades a FC_R sofreu aumento até o dia 30 e queda até o dia 60 ($p<0,05$). A taxa de sudção foi menor ($p=0,02$) nos animais que receberam o complexo vitamínico. Houve uma diminuição na concentração de Ca ($p=0,03$), Mn ($p=0,03$) e Se ($p=0,04$) quando as vitaminas foram adicionadas e, quando a fonte mineral era orgânica, os níveis de Mg foram maiores ($p=0,02$). Sugere-se que a inclusão de vitaminas na dieta de equinos adultos realizando exercícios aeróbios de intensidade moderada pode melhorar o desempenho atlético. A inclusão de minerais orgânicos ou inorgânicos não tiveram influência sobre o desempenho.

Palavras-chave: Cavalos. Frequência cardíaca. Lactato. Oligoelementos. Taxa de sudção.

ABSTRACT

SOUZA, R. P. **Organic and Inorganic Minerals with and without Vitamin Supplementation over Physical Performance of Equines Submitted to Aerobic Moderate-Intensity Exercise** [Minerais Orgânicos e Inorgânicos com e sem Suplemento Vitamínico sobre o Desempenho Físico de Equinos em Exercício Aeróbio]. 2018. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

Minerals and vitamins play important roles within the body and generally have dependency relationships with one another. The aim of this research was to evaluate the effect of diets with organic minerals without vitamins, organic minerals with vitamins, inorganic minerals without vitamins and inorganic minerals with vitamins over some variables related to athletic performance of adult horses in moderate-intensity aerobic exercise. Eight Arabian horses will perform exercise of moderate intensity on an automatic equine exerciser during one hour (at 8, 12 and 5 km/h) five times a week. The experimental design was a change-over 2x2 factorial, divided into two 60-day periods and 30 days of *wash out*. Data were submitted to the Statistical Analysis System (SAS), with aid of the MIXED procedure. Glucose concentration was higher for animals that did not receive vitamins and that received inorganic minerals without vitamins treatment, too. The lactate curve was ascendant ($p<0,05$) within 15 minutes after exercise and average lactate concentration decreased ($p<0,05$) when the animals were fed inorganic mineral and vitamins and also when the mineral source was organic without the addition of vitamins, at the time of probable greater physical effort. HR altered ($p<0,05$) within speeds and R_{HR} increased until day 30 and decreased until day 60 ($p<0,05$). The rate of sweating was lower ($p=0,02$) in animals receiving the vitamin complex. There was a decrease in Ca ($p=0,03$), Mn ($p=0,03$) and Se ($p=0,04$) concentrations when vitamins were added and, when the mineral source was organic, the Mg levels were higher ($p=0,02$). It is suggested that the inclusion of vitamins in the diet of adult horses performing moderate-intensity aerobic exercise might enhance physical performance. Organic or inorganic minerals had no influence over performance.

Keywords: Horses. Heart rate. Lactate. Trace elements. Sweating rate.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui).....	36
Figura 2 Um dos Puro Sangue Árabes usados no experimento.....	36
Figura 3a e 3b Animais se alimentando de concentrado no curral de manejo tipo “lanchonete”.	36
Figura 4 Animais se alimentando de feno Tifton 85.	36
Figura 5 Ingredientes separados para as batidas dos quatro tipos de tratamentos.....	39
Figura 6 Tratamentos sendo ensacados.	39
Figura 7 Feno armazenado em local devidamente fechado e com ventilação.....	39
Figura 8 Tratamentos armazenados em baldes identificados.	39
Figura 9 Amostras devidamente identificadas e prontas para as análises bromatológicas.	40
Figura 10 Amostra de tratamento sendo moída.	40
Figura 11 Coleta de sangue.	41
Figura 12 Sangue centrifugado.....	41
Figura 13 Frequencímetro Garmin Forerunner 305®, eletrodos e extensor de eletrodos.	42
Figura 14 Monitor cardíaco anexado à cinta elástica, do lado esquerdo do animal.	43
Figura 15 Obtenção da FC basal e de recuperação.....	44
Figura 16 Exercício durante a avaliação de FC.....	44
Figura 17 Gráfico gerado pelo programa Training Center da Garmin® da frequência cardíaca do dia D105 de um dos animais experimentados.	44

Figura 18 Armazenamento em ambiente fechado e com sílica das lâminas a serem usadas na avaliação da taxa de sudação.	45
Figura 19 À esquerda: lâmina com os discos de papel após avaliação da taxa de sudação (cor rosa claro). À direita: lâmina com os discos de papel preparados para a avaliação da taxa de sudação (cor azul violáceo).	45
Figura 20 Avaliação da sudorese.	46
Figura 21 Globo negro utilizado.	47
Figura 22 Local limpo da coleta de pelos.	48
Figura 23 Amostras de pelo devidamente identificadas e embaladas.	48
Figura 24 Esquematização do calendário de coletas.	49
Figura 25 Animais realizando protocolo de exercício.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição da dieta manutenção.	37
Tabela 2 Composição das dietas-tratamento.	38
Tabela 3 Composição de minerais inorgânicos do núcleo Tortuga®.....	38
Tabela 4 Composição vitamínica do núcleo Tortuga®.	38
Tabela 5 Análises bromatológicas dos tratamentos e do volumoso fornecido aos animais durante o período experimental.	40
Tabela 6 Concentração média de glicose e desvio padrão (mg/dL) no plasma dos equinos que recebiam suplementação vitamínica <i>versus</i> equinos que não recebiam a suplementação vitamínica nos dias 0, 30 e 60 do experimento.....	53
Tabela 7 Concentração de lactato e desvio padrão (mmol/L) nos diferentes tempos (minutos) de coleta.	56
Tabela 8 Concentração média de lactato e desvio padrão (mmol/L) no plasma dos equinos que recebiam os tratamentos incluindo minerais orgânicos nos dias 0, 30 e 60 do experimento.	58
Tabela 9 Concentração média de lactato e desvio padrão (mmol/L) no plasma dos equinos que recebiam os tratamentos com minerais inorgânicos nos dias 0, 30 e 60 do experimento.	59
Tabela 10 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) das enzimas CK, AST e LDH durante o experimento.	62
Tabela 11 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) da enzima LDH em relação ao tempo de coleta durante o experimento.	62
Tabela 12 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) da enzima CK em relação ao tempo de coleta durante o experimento.	62
Tabela 13 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) da enzima AST em relação ao tempo de coleta durante o experimento.	63

Tabela 14 FC média e desvio padrão (bpm) alcançados aos 8, 12 e 15 km/h durante o experimento.	65
Tabela 15 Produção média de suor e desvio padrão em g/m ² /h, g/animal/h e g/kgPV/h.	68
Tabela 16 Concentração média e desvio padrão (ppm) dos minerais Ca, Mn e Se no organismo dos equinos que recebiam suplementação vitamínica <i>versus</i> equinos que não recebiam a suplementação.	72
Tabela 17 Concentração média e desvio padrão de Mg (ppm) no organismo dos equinos que recebiam minerais orgânicos <i>versus</i> equinos que recebiam minerais inorgânicos..	74
Tabela 18 Concentração média e desvio padrão de Mg (ppm) no organismo dos equinos que recebiam minerais orgânicos sem suplementação vitamínica <i>versus</i> equinos que recebiam minerais orgânicos com suplementação vitamínica.....	75
Tabela 19 Concentração média dos minerais (ppm) no organismo dos equinos quando acrescidos na dieta em sua forma inorgânica e orgânica.....	76

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Influência da inclusão de suplementação vitamínica na dieta dos equinos sobre a concentração média de glicose no plasma (mg/dL) nos dias 0, 30 e 60 do experimento.	52
Gráfico 2 Efeito dos tratamentos O+, O-, I+ e I- sobre a concentração média de lactato (mmol/L) no plasma dos equinos nos dias 0, 30 e 60 do experimento.	58
Gráfico 3 FC de recuperação (bpm) média nos dias 0, 15, 30, 45 e 60 do experimento.	67
Gráfico 4 Produção média de suor e desvio padrão em g/m ² /h, g/animal/h e g/kgPV/h dos equinos que recebiam suplementação vitamínica versus equinos que não recebiam a suplementação.	69

SUMÁRIO

1 – Introdução e Justificativa	16
2 – Revisão de Literatura	18
2.1. Fisiologia do exercício	18
2.1.1 Teste de avaliação física	18
2.2 Fatores ambientais	19
2.3 Parâmetros Bioquímicos.....	21
2.3.1 CK, AST e LDH.....	21
2.3.2 Glicose e Lactato.....	23
2.4 Parâmetros fisiológicos	25
2.4.1 Frequência Cardíaca.....	25
2.4.2 Taxa de Sudação	26
2.5 Suplementação mineral	28
2.5.1 Mineralograma capilar	30
2.6 Suplementação vitamínica.....	31
3 – Hipótese	33
4 – Objetivos.....	34
5 – Material e Métodos	35
5.1. Local, instalações e animais	35
5.2. Dietas	37
5.2.1 Análise de alimentos	39
5.3 Parâmetros avaliados.....	40
5.3.1 Parâmetros plasmáticos	40
5.3.2 Frequência cardíaca (FC)	42
5.3.3 Taxa de sudação	44
5.3.4 Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU)	46
5.3.5 Mineralograma capilar	47

5.3. Delineamento experimental	48
5.4 Análise estatística	51
6 – Resultados e Discussão	52
6.1 Glicemia plasmática	52
6.2 Lactatemia plasmática	56
6.3 Concentrações sorológicas das enzimas CK, AST e LDH.....	61
6.4 Frequência cardíaca (FC).....	64
6.5 Taxa de sudação	67
6.6 Mineralograma capilar	71
7 – Conclusão	77
8 – Implicações	78
9 – Referências Bibliográficas	79

1 – Introdução e Justificativa

A indústria do cavalo no Brasil tem movido 113% de crescimento no PIB da equinocultura em 10 anos e, ainda, um faturamento de R\$ 16 bilhões em 2015 (DIAS, 2016). Segundo a Federação Internacional da Agricultura (FAO), em 2011 o Brasil estava em quarto lugar no rebanho mundial, com mais de cinco milhões de cabeças e empregando mais pessoas que o setor automobilístico (GONTIJO, 2018).

Com a ascensão do mercado e do uso dos equinos, acompanha também a preocupação em se utilizar os melhores produtos e serviços, tanto para uma maior rentabilidade do negócio, quanto para a melhoria da saúde e do desempenho do animal. Nesta linha, a alimentação é considerada o principal componente para que se atinja o funcionamento e a sanidade desejáveis do organismo animal e, sendo o equino um herbívoro, monogástrico, de ceco funcional, os volumosos constituem a base indispensável de sua alimentação (DE OLIVEIRA, 2015).

As pastagens de boa qualidade são capazes de atender as exigências nutricionais dos equinos em manutenção, no entanto, não suprem as exigências de cavalos de alto desempenho. Os oligoelementos, como os minerais e as vitaminas, são fundamentais para a regulação de processos fisiológicos e metabólicos, além da formação estrutural do indivíduo, e não devem ser esquecidos (MIROSHNIKOV et al., 2017).

Inúmeros distúrbios nutricionais respondem por alterações no metabolismo animal e consequente aparecimento de doenças (ESTEPA et al., 2006). Há uma relação já estabelecida para os minerais cálcio (Ca) e fósforo (P) de 2:1 que, se não respeitada, pode ocasionar problemas nos tecidos ósseos, já que estes elementos têm grande importância para a mineralização e o crescimento dos ossos NRC (2007). Deficiência de vitaminas pode levar a problemas como perda de apetite e de peso, dermatites e fragilidade óssea (MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015).

Animais destinados ao esporte e trabalho têm sua homeostasia corporal alterada, necessitando de maiores cuidados em relação à nutrição. Fatores como a síntese de lactato nos músculos, a glicemia sanguínea, a frequência cardíaca, a taxa de sudação e a composição do suor, quando ligados ao exercício físico, serão diretamente influenciados pela dieta (FRAPE, 2004). Por exemplo, tem se preferido o uso da gordura ao invés de carboidratos na dieta de cavalos atletas como fonte de energia, pois tem demonstrado melhorar o metabolismo destes animais durante o exercício físico (TREIBER et al., 2006).

Desta forma, a pouca disponibilidade de informações na alimentação de equídeos, principalmente ligada à fisiologia do exercício – como ocorre na área de minerais e vitaminas – justifica a importância de se realizar mais estudos com estes animais, que têm grande importância de mercado.

2 – Revisão de Literatura

2.1. Fisiologia do exercício

Segundo Lewis (2000), os cavalos conseguem executar três tipos de exercício físico: a atividade de resistência, de distâncias médias e a de corrida de velocidade. A primeira utiliza energia aeróbia durante 2 horas ou mais de esforço de baixa intensidade. Já a segunda exige ambos os metabolismos aeróbio e anaeróbio, durante vários minutos e por 800 a 3.200 metros, usando em torno de 75 a 95% de esforço em intensidade máxima. Finalmente, o terceiro tipo compreende distâncias de até 400 metros e esforço máximo de quase 100%, primordialmente usufruindo de energia anaeróbia. A integração do metabolismo aeróbio, anaeróbio e dos substratos energéticos metabolizados produzem a energia a ser usada no esforço físico.

Alguns parâmetros fisiológicos são utilizados para avaliar o grau de condicionamento físico e para orientação da intensidade do exercício durante o treinamento de equinos (KINGSTON, 2004). Dentre vários parâmetros, o mais usado como indicador de funções cardiocirculatórias é o de frequência cardíaca (HODGSON, DAVIS e MCCONAGHY, 1994). Ainda, a produção de suor e a concentração de lactato e glicose no sangue também podem apontar o grau de preparação física do animal ((HODGSON, DAVIS e MCCONAGHY, 1994; DAVIE e EVANS, 2000; RALSTON, 2002).

2.1.1 Teste de avaliação física

Segundo Pinto (2010), os testes de avaliação física em equinos atletas podem ser conduzidos a campo ou em laboratórios, com auxílio de equipamentos apropriados. Em laboratórios com esteiras, geralmente, são encontradas máscaras respiratórias de coleta de gás. Estas permitem com que se possa calcular a taxa de consumo metabólico de oxigênio (VO_2), que mede as funções cardiovasculares e respiratórias. A troca de um

metabolismo para o outro, por exemplo, vai depender primariamente do quanto de oxigênio o músculo em movimento está recebendo e, em seguida, como complementos, da densidade mitocondrial, dos níveis de catecolaminas, da concentração de enzimas intracelulares, da adaptação e do aquecimento prévio ao exercício, da condição nutricional em que o animal se encontra, etc (EATON, 1994). Existem também máscaras móveis, que podem ser usadas em testes a campo.

Situações a campo levam a ambientes bem próximos aos encontrados em competições, como corrente de ar, superfície do solo e impacto do cavaleiro, porém, a padronização se torna mais difícil nessas condições (EVANS, 2008). Ao contrário do que ocorre na esteira de alta velocidade, no exercitador circular é possível trabalhar mais de um cavalo por vez, regulando a velocidade e com menor uso de mão de obra e do tempo. O exercitador que será usado neste projeto de pesquisa permite que o animal alcance até 15 km/h (aproximadamente 4 m/s).

2.2 Fatores ambientais

Fatores extrínsecos, que estão fora do controle humano, influenciam diretamente o desempenho produtivo dos animais e deve-se estar atento em como os utilizar, para que não haja perdas econômicas.

São vários os mecanismos de troca de calor: radiação, convecção, condução e evaporação. Segundo McConaghy (1994), a radiação compreende o movimento de calor entre objetos, mas sem contato físico, enquanto que a convecção ocorre com a mistura de partículas em fluidos, como ocorre com as partículas quentes que são menos densas e sobem, enquanto que as frias descem. A condução envolve a transferência direta de calor entre superfícies em contato que estejam em temperaturas diferentes e, mudanças na postura e também características morfológicas (orelhas grandes, pernas mais longas, etc.)

dos animais, podem contribuir para essa troca. Por fim, a evaporação acontece quando a água líquida se transforma em vapor líquido. Ainda segundo este autor, a troca de calor por radiação eletromagnética pode ser significativa para animais que ficam constantemente expostos à luz solar por longos períodos. No caso deste experimento, os animais permaneciam em piquetes sem opção de sombra, tanto natural quanto artificial, podendo escolher entre sol e sombra apenas quando estivessem no curral de manejo, onde há cobertura nos cochos e árvores no limite do curral. A convecção livre sobre a pele pode ser significativa se a temperatura do ar for baixa, mas mamíferos como os equinos possuem características fisiológicas que permitem aumentar a quantidade, o comprimento e a espessura dos pelos durante o inverno, ou diminuir durante o verão. No verão, por exemplo, a pelagem de cavalos geralmente é fina e rasa, com intuito de facilitar a troca de calor. Já a condução é importante para animais que não têm mecanismos termorregulatórios tão eficientes, como os búfalos, que precisam de água para perderem calor com maior facilidade. Suínos também utilizam-se da lama para perder calor e, em granjas de sistema intensivo, são constantemente encontrados deitados, posição na qual têm maior superfície de contato do próprio corpo (maior temperatura) com o chão (menor temperatura). Equídeos também podem utilizar da água, quando disponível, para perderem calor, porém, não costumam ficar submersos por muito tempo.

Dentre os principais fatores que atuam concomitantes às formas de troca de calor, temos a temperatura ambiente, a umidade relativa do ar, a intensidade da radiação solar e a velocidade do vento (BUFFINGTON et al., 1981). Neste trabalho, fizemos o uso de um “globo de Vernon”, “globo negro” ou ainda “termômetro de globo”, o qual é capaz de combinar estes fatores, facilitando a avaliação do conforto térmico dos animais (ABREU et al., 2008). Este equipamento consiste em uma esfera de cobre recoberta por pintura preta fosca – no interior e no exterior – e um termômetro parcialmente inserido em seu

interior (VERNON, 1932). Alternativas mais baratas e largamente utilizadas no Brasil constituem-se de boias de caixas-d'água, de cor preta ou pintadas de preto. Seu valor, em graus Celsius ou Fahrenheit, indica a temperatura da energia radiante do ambiente.

Alguns trabalhos têm estudado os parâmetros meteorológicos sobre o conforto térmico de equinos em exercício (SCHROTER, MARLIN e JEFFCOTT, 1996; MARTIN, 1999; CASTANHEIRA, 2009) e verificaram que é preciso estar atento à intensidade, duração e ao horário do exercício, assim como a disponibilidade de água antes, durante (no caso de provas de longa duração, como o concurso completo de equitação) e após a atividade física. Estes pontos podem ser decisivos no desempenho e na saúde do equino atleta.

2.3 Parâmetros Bioquímicos

Muitos são os parâmetros hematológicos metabólicos que podem variar durante o esforço prolongado, alguns deles podem comprometer o desempenho atlético (HOFFMAN et al., 2002; BARNES et al., 2010). A fadiga ocorre, principalmente, quando falta combustível para a continuidade do exercício (ESSÉN-GUSTAVSSON, KARLSTRÖM e LINDHOLM, 1984). Do ponto de vista clínico, tem progressiva redução dos fluídos corporais e de eletrólitos, o que pode influenciar na homeostasia do controle ácido-base, produzindo radicais livres e ácido lático, por vezes determinantes para a continuidade dos cavalos de esporte em competições (BARNES et al., 2010).

2.3.1 CK, AST e LDH

As enzimas mais conhecidamente utilizadas na avaliação de parâmetros fisiológicos de atletas são a creatinoquinase (CK), a aspartato aminotransferase (AST) e a lactato desidrogenase (LDH), associadas à resistência muscular do indivíduo (PINTO,

2010). Todas elas são aumentadas com a atividade física, mas este aumento não é necessariamente indicativo de lesão tecidual, podendo apontar apenas uma alteração na membrana muscular fibrosa (HINCHCLIFF, GEOR e KANEPS, 2007; PINTO, 2010).

A AST não é uma enzima órgão-específica, visto que se concentra no fígado e no coração, mas encontra-se na maioria das células e sozinha não pode indicar lesão muscular (DUNNETT et al., 2002; EADES e BOUNOUS, 1997). É uma enzima presente tanto no citoplasma quanto na mitocôndria, participando na desaminação do aspartato para formar o oxaloacetato, o qual entra no ciclo de Krebs. É aumentada com o exercício (PINTO, 2010), mas se relaciona com a concentração da CK para ser indicativo de lesão tecidual horas após o exercício, sendo que deve diminuir enquanto a CK deve aumentar (BABTISTELLA, 2009; BRAZ et al., 2016; FRANCISCATO et al., 2006; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). O pico de concentração desta enzima é de 24 horas após lesões musculares, enquanto que para a CK o tempo é de 6 horas (THOMASSIAN, 2005). Os valores normalmente encontrados para a AST e para a CK são, respectivamente de 141-330 UI/L e de 2-147 UI/L (ROBINSON, 2003). Enquanto que o exercício pode aumentar a liberação destas enzimas, incluindo a LDH, o treinamento diário dos equinos pode ajudar a reduzi-la (GAMA et al., 2012).

No trabalho de Braz et al. (2016), amostras de sangue foram colhidas 15 minutos antes e após o exercício físico em exercitador circular, encontrando um aumento significativo da concentração de CK. Fora dos parâmetros considerados normais, alterações na concentração de CK podem estar indicando injúrias musculares (VOLFINGER et al., 1994), porém, animais treinados apresentarão concentrações séricas em valores menores se comparados a animais não condicionados (ANDERSON, 1975). Além de uma lesão muscular, alterações séricas destas enzimas podem estar indicando apenas uma mudança na permeabilidade da membrana celular, liberando proteínas

musculares na corrente sanguínea (THOMASSIAN, 2005). No estudo de Pinto (2010), também foram relatados aumentos nas concentrações séricas da AST logo após o exercício a 12 km/h em exercitador circular, com retorno ao valor basal em 15 minutos. A 8 km/h, não houveram alterações da mesma.

A LDH catalisa, no plasma, a conversão de piruvato em lactato no final da glicólise (HUCKABEE, 1957). Tem atividade alta em vários tecidos e existem cinco isoenzimas de LDH, sendo a LDH₅ a forma predominante no músculo esquelético com meia-vida menor que 6 h (STOCKHAM e SCOTT, 2002). Seu aumento está relacionado a danos nos hepatócitos, lesão muscular ou hemólise (HINCHCLIFF, GEOR e KANEPS, 2007), mas ainda assim não é um indicativo melhor de alteração do tecido muscular que a CK e a AST (HODGSON e ROSE, 1994).

2.3.2 Glicose e Lactato

Vários processos estão envolvidos na síntese de energia, incluindo a contração muscular, o bombeamento de íons, o balanço de energia por perda e ganho de íons H⁺ e a transmissão de impulsos nervosos para fazer com que todo o processo ocorra. Para que haja o movimento muscular, é preciso que a adenosina trifosfato (ATP) seja produzido à mesma medida em que é utilizada. Para que este seja ressintetizado, são desencadeadas a glicólise – que em condição de anaerobiose promove o metabolismo da glicose ou do glicogênio em ácido láctico – e a oxidação aeróbia, que utiliza carboidratos, gorduras ou proteínas, para formar dióxido de carbono e água (LEWIS, 2000). Segundo Eaton (1994), em metabolismo aeróbio, a produção de ATP ocorre no interior das mitocôndrias através do metabolismo da glicose e do glicogênio, que são transformados em piruvato. O piruvato é desidrogenado e origina o acetil-CoA, o qual entra no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e fosforilação oxidativa e produz cinco moléculas de ATP, água, gás

carbônico, acetil-CoA e moléculas de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina e de Dinucleótido de Flavina e Adenina ligadas ao hidrogênio (NADH_2 e FADH_2 , respectivamente). As coenzimas NADH_2 e FADH_2 são reoxigenadas na cadeia transportadora de elétrons, onde o oxigênio recebe um átomo de H^+ . Esta união produz a formação de água, a qual entra no músculo e fornece oxigênio. O mesmo ciclo pode acontecer a partir da gordura, onde ácidos graxos (AGs) são transformados em acetil-CoA dentro do TCA. Neste caso, uma molécula de AG produz 129 ATPs.

Normalmente, há aumento da concentração sérica de glicose em qualquer modalidade de exercício, através da estimulação da glicogenólise hepática. A intensidade e a duração do exercício influencia diretamente a taxa de aumento da glicose no sangue, mas após atividades de longa duração, há necessariamente uma queda desta concentração devido à exaustão do glicogênio hepático (ROSE e HODGSON, 2014).

O lactato sanguíneo é amplamente utilizado para avaliação do desempenho atlético de cavalos, permitindo avaliar sua capacidade competitiva e de esforço físico (GOMIDE et al., 2006). Uma boa performance está associada a um menor aumento do lactato sanguíneo ou a um maior tempo para atingir determinada concentração, durante um exercício físico (LEWIS, 2000). Assim como ocorre com a glicose, quanto maior a intensidade do exercício, seja relacionada à duração ou à dificuldade, maior a produção de lactato (EATON, 1994). Eaton (1994) também discorre a produção de energia em metabolismo anaeróbico e, também nesta via, os meios mais eficientes de aquisição de energia são novamente através do metabolismo da glicose e do glicogênio, porém, sem o envolvimento do oxigênio. Em ambos, o piruvato é convertido em lactato pela enzima lactato desidrogenase (LDH) que, por sua vez, pode participar como substrato no TCA. Como resultado desta via, uma molécula de glicogênio e uma molécula de glicose produzem 3 e 2 ATPs, respectivamente.

2.4 Parâmetros fisiológicos

2.4.1 Frequência Cardíaca

A frequência cardíaca (FC) é um método fácil e significativo para se avaliar a resposta do animal ao exercício e sua recuperação pós-atividade física (LEWIS, 2000). É possível obtê-la através de auscultação do coração, do pulso e também com ajuda de monitores cardíacos. Os valores referência são de 30 a 45 batimentos por minuto (bpm) para animais em repouso; em torno de 80 bpm para animais caminhando; 120 a 140 bpm durante o trote; 160 a 200 bpm em meio-galope, galope ou natação e; podendo chegar a valores de até 250 bpm (EVANS, 2008). É comum encontrarmos em trabalhos (LINDNER et al., 2009; OHMURA et al., 2010; ALONSO et al., 2013) o V_{200} , ou seja, a velocidade com que os batimentos cardíacos atingem 200 bpm, ou a chamada FC máxima, como uma base para se comparar o desempenho de cavalos atletas.

As reservas de oxigênio nos músculos (mioglobulinas) e no sistema circulatório (hemoglobinas e oxigênio dissolvido) são suficientes para apenas poucos segundos de exercício. É aí então que entra o sistema cardiorrespiratório, com a inalação e difusão do oxigênio, e o uso de reservas corporais para o suprimento da demanda energética imposta pelo exercício (EATON, 1994). É a potência cardíaca ou débito cardíaco (Q) que determina o quanto de oxigênio é levado aos tecidos e a capacidade de transportá-lo melhora através da contração esplênica, por meio da vasodilatação e vasoconstrição dos vasos sanguíneos (HODGSON e ROSE, 1994). A frequência respiratória irá medir o consumo de oxigênio máximo (VO_2 max) e a eficiência de absorção do oxigênio durante o exercício. No entanto, infelizmente, há limitações devido à necessidade de tecnologias capazes de obter os valores da entrada do fluxo de ar e das concentrações de oxigênio e dióxido de carbono expelidos durante a respiração (EVANS, 2008), como já mencionadas.

2.4.2 Taxa de Sudação

A atividade física proporciona alterações fisiológicas e/ou patológicas arroladas com a perda iônica (BRITO, 2014), principalmente em decorrência de alguns fatores como o momento de obtenção das amostras em relação ao esforço, condições ambientais como temperatura e umidade, velocidade média, condições de terreno, entre outros (ROBERT et al., 2010).

Em estudo do controle ácido-básico durante o exercício, observam-se trabalhos que induzem princípios físico-químicos feitos pela diferença dos íons fortes (DIF), em que Lindinger & Waller (2008), concluíram que a DIF pode ser usada como avaliação no controle ácido-base sanguíneo durante o exercício. A DIF relaciona a soma de cátions fortes sódio e potássio menos a soma de ânions fortes cloreto e lactato:

$$[DIF] = ([Na]) + ([K^+]) - ([Cl^-]) + ([Lactato^-])$$

Esse modelo oferece uma visão aprofundada e quantitativa sobre a fisiopatogenia dos distúrbios ácido-base. Esse método quantitativo explica como o pH pode ser afetado por modificações nas concentrações de proteínas plasmáticas e fosfatos, bem como por alterações na concentração de íons fortes, que pode ser útil na decisão das terapias específicas para os cavalos atletas que desenvolvem distúrbios metabólicos decorrentes do exercício (CONSTABLE, 1997).

Reduções nas concentrações corporais de água e sais são usualmente descritos no final de provas de intenso esforço, as quais caracterizam-se pela sudação, de papel regulatório na temperatura corporal (AGUILERA-TEJERO et al., 2001). Embora os equinos possam perder em torno de 30 litros de suor durante provas longas, até a próxima reposição de água, há pouca alteração na natremia e na osmolaridade. Os íons cloretos relacionados com a concentração de proteínas no plasma e com o hematócrito são as

variáveis responsáveis pela história clínica desta desidratação (LINDINGER e WALLER, 2008).

Segundo McConaghy (1994), animais homeotermos buscam manter sua temperatura corporal interna (TCI) dentro de uma zona termoneutra, igualando produção e perda de calor através de mecanismos termorregulatórios característicos. Animais de produção como aves e suínos, ao longo da evolução e da necessidade do homem em alimentar populações cada vez maiores, se tornaram muito dependentes de seus sistemas de criação e não aguentariam flutuações meteorológicas constantes. Os equinos, ao contrário, são animais com capacidade termoregulatória muito superior, inclusive a humanos, onde mesmo em ambientes com amplas variações de temperatura, conseguem manter sua TCI em uma faixa estreita para seu conforto térmico (ROSE e HODGSON, 2014).

A sudorese é o meio pelo qual, além da ventilação pulmonar, boa parte dos animais homeotermos fazem a regulação de sua temperatura corporal. Nos equinos, as glândulas sudoríparas são apócrinas e tubulares, estando em maior concentração nas junções mucocutâneas, na região submandibular, próxima à crina e à coroa do casco (GHASEMI, SARDARI e MOVASSAGHI, 2017), mas estão presentes na maior parte da epiderme (ANDRIÃO et al., 2009). O resultado da ação destas glândulas é a liberação de uma substância de cor amarelada ou marrom (ANDRIÃO et al., 2009), composta principalmente de água, eletrólitos e poucas proteínas (SMITH, 1890). A ocorrência de suor significa correto funcionamento das glândulas sudoríparas, especialmente no equino, que chega a perder de 2 a 8,5 litros de suor por dia (CARLSON, 1982; HODGSON et al., 1993), dependendo de diversos fatores como temperatura ambiente, umidade relativa do ar, radiação solar, tipo e intensidade do exercício e, principalmente, da alimentação e hidratação do animal (OLIVEIRA et al., 2008).

2.5 Suplementação mineral

Se prestarmos atenção, os minerais estão presentes na dieta em quantidades muito baixas, se comparadas a de outros nutrientes. Porém, é um erro considerá-los desimportantes. Os mesmos desempenham papéis cruciais no metabolismo de um ser vivo, como a formação de componentes estruturais (ossos, dentes, membranas, etc.), de hormônios e cofatores enzimáticos, no equilíbrio ácido-base e na transferência de energia (NRC, 2007). De uma forma geral, são classificados de acordo com sua necessidade orgânica (BERTECHINI, 2012) em dois grandes grupos:

- a) Macrominerais: necessários em maior escala, comumente mensurados em gramas por quilo (g/kg) ou em porcentagem (%). Neste grupo encontramos os minerais cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na), potássio (K), cloro (Na) e enxofre (S).
- b) Microminerais ou minerais-traço: necessários em quantidades menores e mensurados em miligramas por quilo (mg/kg) ou em partes por milhão (ppm). Compõe-se dos minerais ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), molibdênio (Mo), cobre (Cu), cobalto (Co), iodo (I), selênio (Se), cromo (Cr) e flúor (F).

Os equinos os consomem de diversas fontes, a começar pela forma mais natural (pastejo direto de forrageiras) e seguindo para a imposta pelo homem, acrescidos nos alimentos concentrados ou disponibilizados à vontade, em cochos separados. Porém, não só é preciso que estejam presentes em quantidade adequada na dieta, como também deve-se estar atento na proporção em que são adicionados e a outros elementos que possam atrapalhar sua absorção, atuando como antagonistas. Uma análise química dos alimentos não corresponde necessariamente à quantidade de nutrientes que o animal consegue absorver (MIROSHNIKOV et al., 2017). Logo, a forma em que estes minerais se

encontram – orgânica ou inorgânica – é outro fator a ser observado, levando em consideração a facilidade de sua assimilação pelo organismo.

De modo geral, a absorção dos minerais ocorre através de transporte passivo pelas paredes intestinais, com gasto de energia. Os minerais inorgânicos (óxidos, sulfatos, cloretos, carbonatos e fosfatos) são os mais utilizados na produção animal e podem ser oriundos das farinhas de ossos e de ostras e de elementos de origem geológica como o calcário, calcário dolomítico, fosfato de rocha macia, argila coloidal, salitre do Chile e gipsita (NRC, 2007). Estes oligoelementos possuem cargas elétricas que fazem com que sua utilização dependa da capacidade do animal em convertê-los a formas biologicamente ativas (SPEARS, 1996). E, embora esta seja a forma mais comumente fornecida aos cavalos, fontes orgânicas (ou quelatos dos minerais) têm sido procuradas devido à sua perspectiva de serem mais biodisponíveis (MABE, 2001). Segundo Baruselli (2008), a biodisponibilidade pode ser definida como a “predisposição de um elemento em tornar-se parte integrante do organismo que o recebeu”.

“Quelato” é uma palavra grega, onde "chele" significa "garra ou pinça". Os minerais orgânicos, ou quelatados, são íons metálicos ligados a moléculas orgânicas, como aminoácidos, proteínas e carboidratos (MELLOR, 1964). Se adquire o quelatos com a hidrólise da molécula orgânica e se expõe o mineral nesse meio hidrolisado para que se juntem, formando o complexo íon metálico quelatados (HYNES e KELLY, 1995). As ligações que compõem estes complexos são covalentes e fazem com que a carga elétrica resultante seja praticamente nula, tornando-os mais estáveis quando comparados e fazendo com que sejam mais facilmente absorvidos no lúmen intestinal (LESSON e SUMMERS, 1997; SILVA e PASCOAL, 2014). Além disso, são capazes de ficar mais tempo nos tecidos do que os minerais convencionais (CLOSE, 1998).

As fontes dos componentes orgânicos podem ser plantas e até mesmo leveduras, geralmente de culturas da *Saccharomyces* spp. (NRC, 2007). Visto que a alimentação base dos equídeos são as pastagens, a condição e os tipos de preparo/tecnologias (como a adubação) relacionados ao solo, são os principais fatores a interferirem na composição nutricional da planta (SILVA e PASCOAL, 2014). Além disso, as plantas podem ter alguns antagonistas para a absorção de minerais como, por exemplo, o fitato e o oxalato, que atrapalham a absorção do cálcio (HINCHCLIFF, GEOR e KANEPS, 2007; MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015; NRC, 2007).

Os minerais também são conhecidos por não terem uma palatabilidade muito coerente com a favorita pelos cavalos, os quais preferem alimentos doces. Porém, os minerais quelatados, ainda que mais custosos, acabam por apresentar um bom custo-benefício, já que podem atuar favoravelmente no quesito da melhora da palatabilidade de dietas com alto teor de minerais (ROONEY, 2004).

2.5.1 Mineralograma capilar

As análises de solo e de alimentos não são suficientes para indicar o consumo e/ou absorção de seus componentes devido à insolubilidade de alguns complexos ou de antagonistas capazes de diminuir a absorção de minerais (MIROSHNIKOV et al., 2017). Assim, encontrou-se nos cabelos/pelos uma boa correlação da concentração destes oligoelementos relacionados à concentração no sangue.

A quantificação de minerais do pelo por espectroscopia de absorção atômica é usado há mais de 100 anos (WILSON, 2016) e os maiores avanços aconteceram há 20 anos pelos testes de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (ASANO, 2005; BŁAZEWICZ, 2015). O teste de pelos tem sido

comprovadamente eficiente na quantificação de minerais em relação ao sangue. (GHORBANI, MOHIT e DARMANI KUHI, 2015). Na composição do pelo é encontrada a queratina, uma proteína que atua como se fosse uma barreira protetora, impedindo que os outros elementos sejam perdidos (CHOJNACKA, 2010). Já no sangue, os minerais são levados aos locais de suas diversas funções, então, sua quantificação através do sangue total, soro ou urina é limitada (GABRYSZUK, 2010), pois não se sabe o que está sendo aproveitado ou estocado (CHOJNACKA, MIKULEWICZ e MICHALAK, 2012). Isto é evidente quando, por exemplo, é investigado o uso de drogas em semanas, meses ou até anos após sua metabolização (DUNNETT e LEES, 2003). Outras vantagens entre a coleta de pelos/cabelos sobre coletas sanguíneas são que aquele é um método não invasivo e não requer preocupação com métodos de armazenamento.

2.6 Suplementação vitamínica

As vitaminas são compostos orgânicos que podem ou não ser sintetizados no organismo animal e, ainda que produzidas endogenamente, correm o risco de estar em concentrações insuficientes para os equinos, principalmente se os mesmos se destinam a atividades de alto desempenho (MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015). As mesmas são classificadas como sendo miscíveis em água ou em gordura. As vitaminas hidrossolúveis incluem a vitamina C e as vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piroxidina, biotina, ácido fólico e folatos, cobalamina e colina), sendo expressos em miligramas (mg). Já as lipossolúveis compõem-se das vitaminas A, D, E e K, medidas em Unidades Internacionais (UI).

Os minerais e as vitaminas representam uma parcela muito pequena das pesquisas com cavalos, o que leva à falta de informações sobre os requerimentos ou permissões destes ingredientes para os equídeos e, conseqüentemente, sobre ingestão, excreção e

concentração nos tecidos. Porém, os estudos existentes demonstram que a deficiência destes oligoelementos está ligada a vários problemas fisiológicos, já que muitas vezes têm uma relação mútua para que possam atuar corretamente (MEYER, 1987; DIVERS et al., 2006; MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015). A exemplo pode-se citar a vitamina D que regula a absorção de Ca nos rins e ossos e sua deficiência pode ocasionar raquitismo em potros e osteomalacia em adultos. A vitamina E se associa ao consumo de selênio (Se), atuando na resposta antioxidante do organismo (AVELLINI, CHIARADIA e GAITI, 1999; WHITE e WARREN, 2017). Sua falta pode levar a distrofia muscular e, conseqüentemente, baixo desempenho esportivo (MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015). Várias vitaminas do complexo B estão diretamente ligadas nos processos de produção de energia e, em muitos trabalhos com humanos e alguns com cavalos, têm algum papel no desempenho atlético (TAKAHASHI-IÑIGUEZ et al., 2012; MASUDA, MASUDA e HATTA, 2015).

3 – Hipótese

A dieta contendo minerais orgânicos com adição de suplementação vitamínica melhorará o desempenho físico de equinos em atividade física aeróbia de intensidade moderada.

4 – Objetivos

Objetivou-se avaliar o efeito da adição de minerais orgânicos e inorgânicos com e sem suplementação vitamínica em equinos adultos em exercício aeróbio de intensidade moderada, concomitante aos efeitos dos parâmetros meteorológicos (através do cálculo do índice de temperatura de globo e umidade – ITGU), quando aplicáveis, sobre:

- os parâmetros plasmáticos (AST, CK, LDH, glicose e lactato);
- os parâmetros fisiológicos (FC e sudorese);
- o status mineral dos indivíduos (através de mineralograma capilar).

5 – Material e Métodos

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP) na reunião de 28/02/2018, como o protocolo nº 4208120917 (ID 004614).

5.1. Local, instalações e animais

O experimento foi conduzido entre setembro de 2017 e fevereiro de 2018, nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui) do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), em Pirassununga/SP (21°57'07.5"S 47°27'08.7"W). O clima de Pirassununga é subtropical úmido, com estação chuvosa de outubro a março e temperaturas variando de 15 a 30° C (59 a 86° F, respectivamente) nesta época.

Foram utilizados oito equinos machos, castrados, da raça Puro Sangue Árabe, devidamente vacinados e vermifugados. A idade aproximada era de nove anos, o peso corporal médio de $465,18 \pm 33,48$ kg e o escore de condição corporal variou de 5 a 7 em uma escala de 1 a 9 (HENNEKE et al., 1983). Os mesmos ficaram alojados em três piquetes de, aproximadamente, 4.800 m², 3.500 m² e 3.320 m², com rotação a cada 10 dias. A fonte de volumoso oferecida aos animais foi o feno de gramínea Tifton 85, fornecido em “manjedouras”, de manhã e à tarde. O concentrado era fornecido na unidade de manejo alimentar tipo “lanchonete”, também duas vezes ao dia (7h00min e 15h30min).

Figura 1 Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui).

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 2 Um dos Puro Sangue Árabes usados no experimento.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 3a e 3b Animais se alimentando de concentrado no curral de manejo tipo “lanchonete”.

Fonte: SOUZA, 2017

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 4 Animais se alimentando de feno Tifton 85.

Fonte: SOUZA, 2017

5.2. Dietas

As dietas foram calculadas segundo o NRC (2007), adotando-se consumo diário individual de 2,0 % do peso corporal (PC), sendo 1,25% do PC em matéria seca (MS) do volumoso e 0,75% do PC em MS do concentrado, este o qual foi produzidos na fábrica de ração da Prefeitura do Campus Fernando Costa da USP, Pirassununga/SP. As dietas foram fornecidas em duas refeições diárias, como supracitado.

O concentrado fornecido no período de condicionamento físico e no período de *wash out* (espaço de tempo no qual os animais não recebem nenhum dos tratamentos) foi formulado para equinos adultos em manutenção e não foram incluídos minerais ou vitaminas (tabela 1). Já os concentrados utilizados nos períodos experimentais (tabela 2) apresentavam uma densidade energética maior em razão de atender as exigências nutricionais de cavalos em atividade física moderada, sendo compostos do núcleo correspondente a um dos quatro tratamentos (item 5.3).

A composição de minerais inorgânicos e vitaminas estão apresentados nas tabelas 3 e 4, respectivamente. Os minerais orgânicos são acrescentados nas mesmas concentrações que os minerais inorgânicos, mas na forma de carbo-amino-fosfoquelato para os minerais S, Mg, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Se, Zn e uma parte do Ca. O Ca também é acrescentado na forma de carbonato, iodato e fosfato bicálcico.

Os cavalos tiveram acesso *ad libitum* à água e não recebiam sal mineral no piquete.

Tabela 1 Composição da dieta manutenção.

Ingrediente	Inclusão (%)
Fubá de Milho	43,0
Farelo de Trigo	43,0
Farelo de Soja	4,0
Óleo de Soja	3,5
Sal Comum	1,0
Calcário	2,5
Núcleo Equino	3,0

Tabela 2 Composição das dietas-tratamento.

Ingrediente	Inclusão (%)
Fubá de Milho	30,0
Farelo de Trigo	35,0
Farelo de Soja	13,5
Casca de Soja	10,0
Óleo de Soja	6,0
Sal Comum	1,0
Antioxidante	0,025
Núcleo tortuga®	4,5

Tabela 3 Composição de minerais inorgânicos do núcleo Tortuga®.

Mineral	Inclusão
Cálcio (mín)	135,00 g/kg
Cálcio (máx)	144,00 g/kg
Fósforo (mín)	42,70 g/kg
Enxofre (mín)	37,00 g/kg
Magnésio (mín)	12,00 g/kg
Sódio (mín)	80,00 g/kg
Cobalto (mín)	2,80 mg/kg
Cobre (mín)	500,00 mg/kg
Cromo (mín)	22,30 mg/kg
Ferro (mín)	1000,00 mg/kg
Iodo (mín)	17,60 mg/kg
Manganês (mín)	2000,00 mg/kg
Selênio (mín)	5,00 mg/kg
Zinco (mín)	2000,00 mg/kg
Flúor (máx)	427,00 mg/kg

Tabela 4 Composição vitamínica do núcleo Tortuga®.

Vitamina	Inclusão
Vitamina A (Retinol)	250.000 UI/kg
Vitamina D ₃ (Colecalciferol)	25.000,00 UI/kg
Vitamina E (Alfa-tocoferol)	6.111,00 UI/kg
Vitamina K ₃ (Menadiona)	55,90,00 mg/kg
Vitamina B ₁ (Tiamina)	367,00 mg/kg
Vitamina B ₂ (Riboflavina)	244,50 mg/kg
Vitamina B ₃ (Ácido Nicotínico/Niacina)	472,30 mg/kg
Vitamina B ₅ (Ácido Pantotênico)	369,00 mg/kg
Vitamina B ₆ (Piridoxina)	194,30 mg/kg
Vitamina B ₈ (Biotina)	111,50 mg/kg
Vitamina B ₁₂ (Cianocobalamina)	1.950,00 µg/kg
Colina	6.667,00 mg/kg
Vitamina C (Ácido Ascórbico)	6.111,00 mg/kg

Figura 6 Ingredientes separados para as batidas dos quatro tipos de tratamentos.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 5 Tratamentos sendo ensacados.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 8 Feno armazenado em local devidamente fechado e com ventilação.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 7 Tratamentos armazenados em baldes identificados.

Fonte: SOUZA, 2017

5.2.1 Análise de alimentos

As amostras de feno e concentrado foram analisadas químico-bromatologicamente no Laboratório de Bromatologia da USP – Pirassununga (tabela 5). Foram quantificados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca) e fósforo (P) de acordo com a AOAC (1990). Fibra

em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidas pelo método de partição de fibras proposto por Van Soest et al. (1991).

Figura 10 Amostras devidamente identificadas e prontas para as análises bromatológicas. Figura 9 Amostra de tratamento sendo moída.

Fonte: SOUZA, 2017

Fonte: SOUZA, 2017

Tabela 5 Análises bromatológicas dos tratamentos e do volumoso fornecido aos animais durante o período experimental.

Alimento	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	MM (%)	EE (%)	Ca (%)	P (%)
Feno 1	92,19	11,93	72,83	38,07	6,76	2,56	0,40	0,25
Feno 2	92,32	12,41	74,59	39,19	7,37	2,38	0,42	0,25
O-	90,43	15,18	29,00	13,92	9,14	8,30	1,06	0,79
I-	90,43	16,43	27,40	14,45	8,52	10,46	0,90	0,74
O+	90,37	16,23	28,53	13,68	8,91	8,05	1,09	0,81
I+	90,46	17,21	27,87	13,80	7,92	9,84	0,96	0,74

Legenda: Feno 1 = feno Tifton 85 fornecido entre os meses de setembro a novembro; Feno 2 = feno Tifton 85 fornecido entre os meses de novembro a fevereiro; O+ = Tratamento Mineral Orgânico com Suplementação Vitamínica; O- = Tratamento Mineral Orgânico sem Suplementação Vitamínica; I+ = Tratamento Mineral Inorgânico com Suplementação Vitamínica; I- = Tratamento Mineral Inorgânico sem Suplementação Vitamínica.

MS= Matéria Seca; PB= Proteína Bruta; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido (FDA); MM = Matéria Mineral; EE = Extrato Etéreo; Ca = Cálcio; P = Fósforo.

5.3 Parâmetros avaliados

5.3.1 Parâmetros plasmáticos

A cada 30 dias (D0, D30, D60, D90, D120 e D150) realizaram-se as coletas de amostras sanguíneas através da punção da veia jugular dos equinos, após antissepsia do local, com agulha 25x7 (marca: BD) em tubos Vacutainer BD®. Para a mensuração da curva

glicêmica e de lactato, os tubos usados continham fluoreto de sódio, como inibidor glicolítico, e anticoagulante EDTA, que preserva a morfologia celular. Os tempos (T) de colheitas se iniciaram imediatamente após o término do exercício (T0) e a 2 (T2), 4 (T4), 6 (T6), 9 (T9), 12 (T12) e 15 (T15) minutos após o exercício. Nos tubos sem a presença de anticoagulante, foram evidenciadas as concentrações das enzimas creatina quinase (CK) ao término do exercício (H0) e 24 horas (H24) após o exercício; aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) ao término do exercício (H0), 3 (H3) e 6 (H6) horas após o exercício.

O sangue foi centrifugado a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos e o soro ou plasma, dependendo do tubo utilizado, foi armazenado em tubos de polipropileno (Eppendorf®) de 1,50 mL, devidamente identificados. Por fim, foram congelados à temperatura de -20°C até que fossem levados para análise no DAC Diagnósticos Análises Clínicas (Pirassununga, SP). Os kits utilizados para avaliar a concentração das enzimas no soro foram o CK-NAC Liquiform® para a CK, AST/GOT Liquiform® para AST e LDH Liquiform® para LDH, todos da empresa Labtest®. A concentração de glicose no plasma também foi analisada com o kit Glicose PAP Liquiform® da Labtest® e a do lactato foi evidenciada em analisadores Beckman Coulter AU® com reagentes OSR6193.

Figura 11 Coleta de sangue.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 12 Sangue centrifugado.

Fonte: SOUZA, 2017

5.3.2 Frequência cardíaca (FC)

Foram usados frequencímetros digitais Garmin Forerunner 305® (Olathe, Kansas, EUA), com adaptadores para uso em equinos (V-Max®). O frequencímetro oferece opções de localização via satélite através de GPS, com mensuração da FC (bpm) e da velocidade (m/s), gerando gráficos que permitem monitorar a FC média e máxima alcançadas durante o exercício.

Figura 13 Frequencímetro Garmin Forerunner 305®, eletrodos e extensor de eletrodos.

Fonte: SOUZA, 2017

Colocaram-se cintas elásticas na região torácica dos equinos, com eletrodos posicionados à esquerda da espádua e da região inferior do costado, próximo ao cilhadoiro. O frequencímetro foi fixado na cinta, do lado direito do animal (figura 19), para que se obtivesse a determinação da frequência cardíaca de velocidade (FC_v), com ajuda do GPS. Para obtenção da frequência cardíaca basal (FC_B), os animais permaneceram em repouso na região dos comedouros, com sombra e feno, durante 10 minutos, sem manipulação humana. Em seguida, foram levados ao exercitador circular, com o protocolo de trabalho já programado. Após o término do exercício, os equinos permaneceram 20 minutos em repouso

– nas mesmas condições da coleta de FC basal – para obter a frequência cardíaca de recuperação (FC_R).

Para a coleta dos dados foram utilizados:

- FC_B : o valor do batimento cardíaco do último minuto da mensuração;
- FC_V (8, 12 e 15 km/h): as médias dos batimentos cardíacos dos últimos 15 segundos de cada velocidade (8, 12, 15, 15, 12 e 8 km/h);
- FC_R : as médias dos batimentos cardíacos dos 20 minutos finais em repouso.

As avaliações ocorreram nos dias D0, D15, D30, D45, D60, D90, D105, D120, D135 e D150.

Figura 14 Monitor cardíaco anexado à cinta elástica, do lado esquerdo do animal.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 15 Obtenção da FC basal e de recuperação.

Figura 16 Exercício durante a avaliação de FC.

Figura 17 Gráfico gerado pelo programa Training Center da Garmin® da frequência cardíaca do dia D105 de um dos animais experimentados.

Fonte: SOUZA, 2017

5.3.3 Taxa de sudoreção

Para calcular a taxa de sudoreção (TS) foi empregada a metodologia proposta por Schleger & Turner (1965), na qual três discos de papel filtro de 0,53 cm de diâmetro são embebidos em solução de cloreto de cobalto a 10% e colados em lâmina de laboratório com fita adesiva. No dia de cada coleta, foi feita a tricotomia dos pelos do lado esquerdo da tábua

do pescoço (aproximadamente 3,00 x 8,00 cm) no período matutino, para que não houvesse influência do estresse na hora da atividade física. Após o término do exercício, a fita adesiva com os discos foram, então, fixadas (sempre que possível, pelas mesmas pessoas previamente treinadas) diretamente à pele tricotomizada do animal, ao mesmo tempo em que se iniciava o cronômetro. Esperou-se que a cor de cada disco de papel filtro se alterasse completamente de azul violáceo para rosa claro e anotou-se o momento da mudança completa.

Figura 18 Armazenamento em ambiente fechado e com sílica das lâminas a serem usadas na avaliação da taxa de sudção.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 19 À esquerda: lâmina com os discos de papel após avaliação da taxa de sudção (cor rosa claro). À direita: lâmina com os discos de papel preparados para a avaliação da taxa de sudção (cor azul violáceo).

Fonte: SOUZA, 2017

Para a obtenção da taxa de sudção (TS), calculou-se a média dos três tempos (t), em segundos, a fim de alimentar a seguinte fórmula:

$$TS = \frac{(22 \times 3600)}{2,06 \times t}$$

Onde: 22 é a quantidade de água, em gramas, necessária para fazer alterar a cor de 1 m² do papel filtro; 3600 refere-se ao número de segundos por hora; 2,06 à área de pele abrangida por um disco; e t o tempo médio de viragem, em segundos. O resultado foi expresso em g.m².h⁻¹.

A partir do peso vivo (PV) de cada animal, calculou-se a área de superfície corporal (SC) de equinos segundo a fórmula de Brody (1945):

$$SC = 0,1 \times PV^{0,64}$$

A partir destes dados, foram calculadas as TS relacionadas à área de superfície corporal de cada animal da seguinte forma:

- Taxa de sudação por animal (TS_{An}) = $TS \times SC$ (g.animal⁻¹.h⁻¹)
- Taxa de sudação por quilo de peso vivo (TS_{PV}) = $\frac{TS_{An}}{PV}$ (g.kgPV⁻¹.h⁻¹)

As coletas foram realizadas nos dias D0, D15, D30, D45, D60, D90, D105, D120, D135 e D150.

Figura 20 Avaliação da sudorese.

Fonte: SOUZA, 2017

5.3.4 Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU)

Como a produção de suor de um indivíduo pode sofrer influência das condições ambientais, foi utilizado o Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU) para separar estes efeitos daqueles provocados pelos tratamentos.

Para isto, foi utilizado um globo negro (GN) feito com uma boia comum de plástico (15 cm de diâmetro) de superfície preta fosca, com um termômetro (mensuração em graus Celsius) inserido em seu interior. O mesmo foi pendurado (sem contato com outra superfície)

em um local próximo ao exercitador circular, onde incidem os raios solares, na altura em que os animais se exercitam. A temperatura foi anotada em dois momentos: na metade e próximo ao fim da atividade física de cada grupo. Utilizou-se o valor médio destas duas temperaturas para completar a fórmula (BUFFINGTON et al., 1981):

$$ITGU = tgn + 0,36 * tpo + 41,5$$

Em que:

tgn = Temperatura de globo negro (°C)

tpo = Temperatura do ponto de orvalho (°C)

A temperatura do dia, a umidade relativa do ar e a velocidade do vento foram adquiridas das planilhas disponibilizadas pelo *website* da Estação Meteorológica da Universidade de São Paulo (“Estação Meteorológica da USP - Campus Pirassununga”).

Figura 21 Globo negro utilizado.

Fonte: SOUZA, 2017

5.3.5 Mineralograma capilar

Uma região de 8 cm² do lado direito da tábua do pescoço foi previamente lavada com sabão neutro para a retirada de possíveis resíduos externos, como terra ou poeira. Quando a pelagem estava seca, colheram-se amostras de pelo – em torno de 1g – com a ajuda de uma

tosquiadora comum. Os pelos foram colocados em saquinhos plásticos, devidamente identificados, e armazenados em freezer de -20°C. As amostras foram levadas ao Laboratório Bio Minerais (Campinas, SP) e analisadas segundo o método de Espectrometria de Massa por Plasma Indutivamente Acoplado (Inductively Coupled Plasma–mass Spectroscopy), o ICP–MS (ASANO et al., 2005). As coletas foram feitas nos dias D0, D60, D90 e D150.

Figura 22 Local limpo da coleta de pelos.

Fonte: SOUZA, 2017

Figura 23 Amostras de pelo devidamente identificadas e embaladas.

Fonte: SOUZA, 2017

5.3. Delineamento experimental

O experimento constituiu-se de dois períodos de 60 dias cada e 30 dias de intervalo (*wash out*) entre os dois períodos, totalizando 150 dias de experimento. O delineamento experimental foi feito em *change-over* com arranjo fatorial 2x2, com medidas repetidas no tempo.

Os cavalos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de acordo com os tratamentos: inclusão de mineral orgânico ou inorgânico com e sem suplementação vitamínica.

Os tratamentos dividiram-se da seguinte forma:

- 1) Tratamento Mineral Orgânico com Suplementação Vitamínica (O+)
- 2) Tratamento Mineral Orgânico sem Suplementação Vitamínica (O-)

- 3) Tratamento Mineral Inorgânico com Suplementação Vitamínica (I+)
- 4) Tratamento Mineral Inorgânico sem Suplementação Vitamínica (I-)

As avaliações de frequência cardíaca e de taxa de sudação foram realizadas no início do período experimental e a cada 15 dias (total de 10 coletas cada), as coletas de sangue no início do período experimental e a cada 30 dias (total de 6 coletas) e o mineralograma capilar no início e ao final de cada período (total de 4 coletas). Cada coleta era feita em um dia diferente, para que uma não influenciasse no resultado da outra, mas sempre respeitando os intervalos. A figura seguinte ilustra como se procedeu o calendário de coletas, sendo que cada quadro representa um mês (30 dias):

Figura 24 Esquematização do calendário de coletas.

Fonte: SOUZA, 2017

A atividade física foi realizada em exercitador circular mecânico para cavalos, da marca Equiboard® (São Paulo, Brasil), com solo formado por areia. Antes do início das coletas, os cavalos passaram por um período de 60 dias (julho e agosto de 2017) de

condicionamento físico, sendo levados ao exercitador três vezes por semana, durante 30 minutos. O protocolo de exercício foi o que se segue:

- aquecimento durante 7 minutos na velocidade de 8 km/h;
- trabalho durante 5 minutos na velocidade de 12 km/h;
- trabalho durante 3 minutos na velocidade de 15 km/h;
- inversão automática do equipamento (sentido anti-horário para horário);
- trabalho durante 3 minutos na velocidade de 15 km/h;
- trabalho durante 5 minutos na velocidade de 12 km/h;
- desaceleração durante 7 minutos na velocidade de 8 km/h.

No início dos períodos experimentais os animais passaram a receber os tratamentos (O+, O-, I+ e I-) e o protocolo de exercícios incluiu atividade física cinco vezes por semana, durante 60 minutos. O protocolo de exercício foi dividido da seguinte forma:

- aquecimento durante 10 minutos na velocidade de 8 km/h;
- trabalho durante 15 minutos na velocidade de 12 km/h;
- trabalho durante 5 minutos na velocidade de 15 km/h;
- inversão automática do equipamento (sentido anti-horário para horário);
- trabalho durante 5 minutos na velocidade de 15 km/h;
- trabalho durante 15 minutos na velocidade de 12 km/h;
- desaceleração durante 10 minutos na velocidade de 8 km/h.

Figura 25 Animais realizando protocolo de exercício.

Fonte: SOUZA, 2017

5.4 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., 2010) com auxílio do procedimento MIXED. A normalidade dos resíduos foi anteriormente verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias comparada pelo teste de Hartley. O modelo misto contemplou os efeitos fixos de Tipo de ineral (orgânico vs. inorgânico), Suplementação Vitamínica (com vs. sem), interação Tipo de Mineral vs. Suplementação Vitamínica, além dos efeitos aleatórios de período, animal, animal dentro do período e resíduo. Para as avaliações mensuradas ao longo de cada período, foi inserido o fator Tempo e adotada a estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais. Para as análises, foram testadas diferentes estruturas de covariância, sendo escolhida a que melhor se ajustou ao modelo estatístico com base no critério de Akaike Information Criterion Statistics (AICC) (SAKAMOTO, ISHIGURO e KITAGAWA, 1988). O nível de significância adotado foi de 5%.

6 – Resultados e Discussão

Como o experimento foi realizado em change-over 2x2, os dois períodos foram corrigidos com a reversão do fator “tempo”. Desta forma, os resultados que apresentarem influência do dia da coleta, ou seja, dos momentos experimentais que se correspondem entre os períodos, serão sempre concluídos no dia 60 (um período de dois meses).

6.1 Glicemia plasmática

As análises da concentração de glicose no plasma (mg/dL) apontou relação entre o dia da coleta e a presença/ausência de vitaminas. No gráfico 1 é mostrado que as concentrações são diferentes ($p < 0,05$) entre os dias de cada tratamento (com e sem vitamina), sendo o dia 30 o de maior valor em ambos. Já na tabela 6, foi feito desafio entre os tratamentos (com *versus* sem vitaminas) nos diferentes dias e o resultado foi que as concentrações de glicose foram diferentes ($p < 0,05$) entre si nos dias 0 e 30, mas iguais no dia 60.

Gráfico 1 Influência da inclusão de suplementação vitamínica na dieta dos equinos sobre a concentração média de glicose no plasma (mg/dL) nos dias 0, 30 e 60 do experimento.

Legenda: a, b, c = diferença entre os dias de coleta.

Tabela 6 Concentração média de glicose e desvio padrão (mg/dL) no plasma dos equinos que recebiam suplementação vitamínica *versus* equinos que não recebiam a suplementação vitamínica nos dias 0, 30 e 60 do experimento.

Dia da coleta	Concentração de glicose (mg/dL)		p-valor
	Sem vitamina	Com vitamina	
0	82,679 ^a ± 0,37	76,926 ^b ± 0,39	0,001
30	85,946 ^a ± 0,37	81,736 ^b ± 0,39	0,018
60	77,875 ^a ± 0,37	77,482 ^a ± 0,37	0,820

Legenda: a, b = diferença entre os tratamentos.

A elevação da glicose após o exercício é normal, indicando a ativação da glicogenólise devido ao aumento na demanda tecidual e a continuidade do consumo de energia no relaxamento do músculo. Após corrida de 300 m, cavalos da raça Quarto de Milha apresentaram glicemia sanguínea elevada (BRAZ et al., 2016). Os valores de glicose diferentes entre os grupos no dia 0 pode ser explicado pelo aporte de reservas de glicogênio individual de cada animal, pois, nesta época, se alimentavam da mesma dieta (manutenção), a qual também foi fornecida durante o período de *wash out*.

O aumento do valor da concentração de glicose no dia 30 aconteceu para ambos os grupos. A concentração de glicose circulante no sangue é influenciada pela velocidade e pela intensidade do exercício e é proporcional ao esforço (ROSE e HODGSON, 1994). No período intermediário do experimento (D30) houve um alto índice pluviométrico, como normalmente ocorre no clima característico da cidade, e sendo o local onde os animais se exercitavam de areia e descoberto, as condições do solo ficavam em estado barroso. A água acumulada foi esgotada, porém, o solo permanecia encharcado e o esforço físico dos animais nessas condições pode ter sido maior, pois havia grande dificuldade em alçar os membros e manter o andamento. Levando em consideração essa situação, pode ter ocorrido um maior apelo ao metabolismo energético, podendo ser esta a razão deste aumento na concentração de glicose em ambos os grupos.

São escassas as pesquisas com vitaminas para equinos, ainda mais relacionando-as com a concentração de glicose na corrente sanguínea durante ou após a atividade física. O que são mais facilmente encontrados são trabalhos relacionando fatores do metabolismo energético.

Várias vitaminas do complexo B estão diretamente envolvidas neste metabolismo. Uma revisão de literatura discutiu o efeito da tiamina (vitamina B₁) no metabolismo de carboidratos em humanos em repouso e em exercício e enfatizou que a suplementação desta vitamina pode ser benéfica para o exercício. Isso porque a tiamina é uma coenzima da piruvato desidrogenase (PDH), enzima mitocondrial que oxida carboidratos para a geração de ATP, e sua falta diminui a atividade da PDH, a qual é estimulada pelos músculos em movimento. Ela também é capaz de aumentar o pool de acetil-CoA, aumentando a lipogênese (MASUDA, MASUDA e HATTA, 2015). A relação da tiamina com o metabolismo de carboidratos também foi observada em equinos por Bates (2001), através de seu uso pelas enzimas piruvato desidrogenase, α -cetoglutarato desidrogenase e transcetolase. A α -cetoglutarato também está envolvida na formação de ATP enquanto que a transcetolase nas vias de pentose fosfato (NRC, 2007). Topliff et al. (1981) sugeriu maior atividade da PDH em equinos após 30 minutos de exercício, quando foram alimentados com dietas contendo mais tiamina.

Em estudo com ratos (KIM, HWANG e CHO, 2016) exercitados moderadamente por meia hora em esteira, os pesquisadores buscaram encontrar diminuição nas concentrações de folato (ácido fólico ou vitamina B₉) e de vitamina B₁₂ durante exercício aeróbio agudo. O resultado apontou a esperada queda na concentração de folato, mas um aumento na concentração de vitamina B₁₂. Os autores explicam que pelo fato de o folato estar ligado a processos de metilação, sua queda após o exercício pode ser explicado pelo seu uso nestes processos, que estão envolvidos na produção de energia ao longo da

atividade física. O folato também é importante na oxidação de gordura, agindo como cofator da metilmalonil-CoA mutase. Este cofator é convertido na enzima succinil-CoA, a qual produz energia dentro do Ciclo do Ácido Tricarboxílico (TCA) e requer vitamina B₁₂ como cofator (TAKAHASHI-IÑIGUEZ et al., 2012). Dessa forma, os autores sugerem que a maior adaptação ao exercício aeróbio permitiu um aumento da oxidação de gordura, aumentando o pool de ácidos graxos livres, e aumentando a convocação desta vitamina de suas reservas para a corrente sanguínea e esgotando o ácido fólico presente.

O folato foi encontrado em menores concentrações em equinos que participavam de provas de corrida (ALLEN, 1978; ROBERTS, 1983; SECKINGTON et al. 1967) e um autor sugeriu que o exercício poderia aumentar o requerimento desta vitamina (ROBERTS, 1983).

Muitas outras vitaminas do complexo B podem ajudar no metabolismo aeróbio da glicose ou glicogênio (EATON, 1994; NRC, 2007; JR, 2008; MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015): a niacina (vitamina B₃), por exemplo é usada como componente das coenzimas Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina (NAD) e Dinucleótido de Flavina e Adenina (FAD,) produzidas no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e fosforilação oxidativa, sendo reoxigenadas para formar água, a qual consegue entrar no músculo e fornecer oxigênio. O NAD também é uma das formas metabólicas ativas da riboflavina (vitamina B₂), a qual é importante precursor enzimático envolvida em reações de oxidação-redução; a piroxidina (vitamina B₆) participa do metabolismo dos aminoácidos (nas aminotransferases, desaminases, descarboxilases, dessulfidratases) e do glicogênio (na glicogênio fosforilase); já o ácido pantotênico (vitamina B₅) oxida a coenzima A na síntese/oxidação de ácidos graxos; a biotina (vitamina B₈) é cofator em quatro importantes carboxilases no lipídeo, proteína, carboidrato e metabolismo de energia; a cobalamina (vitamina B₁₂) também auxilia no metabolismo de lipídeos e na síntese de

hemoglobina, uma das carreadoras de oxigênio. Os animais que não receberam a suplementação desses oligoelementos tiveram maior quantidade de glicose sendo liberada na corrente sanguínea para suprir a demanda energética, porém, a falta de precursores que a metabolizam para gerar energia estavam ausentes. Desta forma, pode-se sugerir que a menor concentração de glicose nos animais que receberam vitamina pode estar relacionada à atividade constante e eficiente das vitaminas no provimento de energia para o trabalho.

Já no dia 60, a igualdade entre os tratamentos pode ser devido à aquisição de condicionamento físico, colocando os animais num mesmo patamar independente de tipo de mineral ou adição de vitaminas oferecidos nas dietas.

6.2 Lactatemia plasmática

Em curva, as concentrações de lactato (mmol/L) imediatamente ao término do exercício (T0) e aos 2, 4, 6, 9, 12 e 15 minutos pós-exercício (T2, T4, T6, T9, T12 e T15, respectivamente) diferiram ($p < 0,05$) entre si (tabela 7).

Tabela 7 Concentração de lactato e desvio padrão (mmol/L) nos diferentes tempos (minutos) de coleta.

Tempo da coleta (min)	Concentração de lactato (mmol/L)
0	5,29 ^e $\pm$ 0,31
2	5,70 ^{de} $\pm$ 0,31
4	6,12 ^{cd} $\pm$ 0,31
6	6,34 ^c $\pm$ 0,31
9	6,96 ^b $\pm$ 0,31
12	7,52 ^{ab} $\pm$ 0,31
15	7,93 ^a $\pm$ 0,31

Legenda: a, b, c, d, e = diferença entre os tempos de coleta.

O aumento progressivo na concentração de lactato sanguíneo nos quinze minutos pós-exercício mensurados foi um resultado esperado, visto que o consumo de oxigênio pelos músculos conserva-se alto após o exercício e a concentração de lactato continua

ascendendo, atingindo picos entre 2 e 10 minutos após a atividade física (LANGSETMO e POOLE, 1999). Um outro trabalho realizado pelo nosso grupo de pesquisa com os mesmos animais (SANCHEZ, 2014) também encontrou este comportamento na curva de lactato, mas com valores diferentes.

No início do exercício são utilizadas as reservas de oxigênio, de ATP e de fosfocreatina ou creatina fosfato (CP). A produção de lactato em metabolismo anaeróbio ocorre quando a energia produzida pela via aeróbia é insuficiente para suprir certa demanda energética, oxidando a glicose em ácido láctico sem a presença de oxigênio (HYPPÄ & PÖSÖ, 1998; LINDINGER, 2004). Se o oxigênio for suficiente, como normalmente ocorre em exercícios de intensidades leve a moderada, o metabolismo utilizado é o aeróbio com a beta-oxidação do piruvato. Já para exercícios de alta intensidade, o oxigênio será suficiente apenas por um breve momento, no começo, e precisará do auxílio da via anaeróbia para reoxidar o NADH_2 em lactato (EATON, 1994). Sabemos que essa mudança de vias energéticas ocorre quando o valor da concentração sanguínea de lactato é maior que 4 mmol/L (WILMORE & COSTILL, 2001). Mas também sabemos que o consumo de energia após a cessação do exercício continua ocorrendo, através de seu consumo excessivo, com inicial ressíntese de fosfágenos de alta energia e, em seguida, oxidação do lactato, a qual é responsável pela maior parte desse abatimento de oxigênio pós-exercício (EATON, 1994). Os valores da concentração de lactato nos primeiros 15 minutos após o exercício ($5,293 \pm 0,31$ a $7,927 \pm 0,31$ mmol/L) podem ser devido a este consumo que, provavelmente, deveria estar cessando-se e a concentração de lactato iniciando sua recuperação a níveis normais. Ainda assim, essas concentrações são baixas e estão longe de alcançar níveis de exercícios de alta intensidade ou, muitas vezes, associados à fadiga muscular, que acontece principalmente por falta de combustível (ESSÉN-GUSTAVSSON, KARLSTRÖM e LINDHOLM, 1984).

Outro resultado observado foi que, para todos os tratamentos, as médias da concentração de lactato seguiu ordem descendente: D30>D0>D60 (gráfico 2). Também foi encontrada interação ($p<0,05$) entre a fonte mineral (orgânica ou inorgânica) em relação à presença das vitaminas e o dia da coleta (tabelas 8 e 9).

Gráfico 2 Efeito dos tratamentos O+, O-, I+ e I- sobre a concentração média de lactato (mmol/L) no plasma dos equinos nos dias 0, 30 e 60 do experimento.

Legenda: O+ = Tratamento Mineral Orgânico com Suplementação Vitamínica; O- = Tratamento Mineral Orgânico sem Suplementação Vitamínica; I+ = Tratamento Mineral Inorgânico com Suplementação Vitamínica; I- = Tratamento Mineral Inorgânico sem Suplementação Vitamínica.

Tabela 8 Concentração média de lactato e desvio padrão (mmol/L) no plasma dos equinos que recebiam os tratamentos incluindo minerais orgânicos nos dias 0, 30 e 60 do experimento.

Mineral orgânico com/sem vitaminas	Dia da coleta			p-valor
	0	30	60	
O+	6,75 ^b ± 0,37	7,79 ^a ± 0,37	5,43 ^c ± 0,37	<0,0001
O-	6,75 ^b ± 0,35	7,46 ^a ± 0,35	5,46 ^c ± 0,35	

Legenda: O+ = Tratamento Mineral Orgânico com Suplementação Vitamínica; O- = Tratamento Mineral Orgânico sem Suplementação Vitamínica.

a, b, c = diferença entre os dias de coleta.

Tabela 9 Concentração média de lactato e desvio padrão (mmol/L) no plasma dos equinos que recebiam os tratamentos com minerais inorgânicos nos dias 0, 30 e 60 do experimento.

Mineral inorgânico com/sem vitaminas	Dia da coleta			p-valor
	0	30	60	
I+	6,32 ^{bA} ± 0,35	7,39 ^{aB} ± 0,35	5,21 ^{cA} ± 0,35	<0,0001
I-	6,57 ^{bA} ± 0,35	8,75 ^{aA} ± 0,35	5,21 ^{cA} ± 0,35	

Legenda: I+ = Tratamento Mineral Inorgânico com Suplementação Vitamínica; I- = Tratamento Mineral Inorgânico sem Suplementação Vitamínica.

a, b, c = diferença entre os dias de coleta.

A, B = diferença entre os tratamentos.

O lactato é constantemente utilizado como uma forma de avaliar a aptidão física do animal (LINDNER e BOFFI, 2007; TRILK et al., 2002). Animais condicionados têm capacidade aeróbia mais elevada, portanto, produzem menos lactato sanguíneo comparado a animais destreinados (GOMIDE et al., 2006; FISHER et al., 2016). Isso foi evidenciado nesta pesquisa, onde obtivemos as menores concentrações médias no dia 60. As maiores apareceram na metade do experimento e, assim como a glicose, a produção de lactato também é proporcional à intensidade e ao esforço físico do animal (ASSENZA et al., 2014; LINDNER & BOFFI, 2007; MESSER, 1995). O esforço proporcionado pela condição do solo na época de chuvas foi o possível responsável pela maior produção deste metabólito no D30.

Algumas relações entre mineral e concentração média de lactato ligadas ao exercício têm sido descritas em outras espécies. O magnésio ajuda no metabolismo lipídico nos adipócitos, reduzindo a concentração de lactato no sangue pela glicólise (NEWHOUSE e FINSTAD, 2000; RIPARI et al., 1989). Uma deficiência de magnésio levou à queda no desempenho e um aumento na concentração de lactato em ratos se exercitando em esteira de alta velocidade (LAIRES et al., 1989). Os autores relacionam este achado ao fato de que talvez a entrega de oxigênio no músculo pode ser limitada na ausência de uma concentração adequada de Mg. Deuster et al. (1987), estudando exercício até a fadiga em homens de 55 anos de idade, encontrou uma correlação positiva entre a

concentração de lactato no sangue após o exercício e a excreção de magnésio pela urina no dia do exercício, além de correlacionar positivamente com o VO_2 . Assim, eles levantam a hipótese de que o nível de anaerobiose e de déficit de oxigênio durante o exercício podem ser determinantes para as perdas de Mg. Em uma revisão (BOHL e VOLPE, 2002) é reiterado que exercícios mais intensos podem piorar a situação de Mg no organismo quando este já é insuficiente na dieta, visto que pode ser perdido pelo suor e urina. Os autores também lembram que este mineral tem vários papéis fisiológicos e no desempenho físico tanto de humanos, quanto de animais.

Cromo suplementar resultou nas maiores concentrações de lactato no sangue quando equinos atingiram as velocidades de 8 e 9 m.s^{-1} , além de terem encontrado picos de glicose e de FC nos animais suplementados (VERVUERT, COENEN e BICHMANN, 2004). Estes resultados são indesejados para um bom rendimento esportivo, mas os autores lembram que existe uma relação de antagonismo entre cromo e ferro e que os resultados podem estar conexos a esta relação durante o experimento realizado. Já na pesquisa de Chapman et al. (2018)^{1,2}, a concentração de lactato e as espécies reativas de oxigênio (ROS) foram reduzidas quando cavalos da raça Puro-sangue Inglês (PSI) ativos e sedentários foram alimentados com blueberry, a qual possui fatores antioxidantes.

No dia 30, houve efeito ($p < 0,05$) entre o mineral inorgânico e a vitamina, onde os animais que receberam o tratamento I- tiveram maior concentração média de lactato no plasma contra os animais que receberam o tratamento I+ ($8,75 \pm 0,35$ e $7,39 \pm 0,35$, respectivamente). Logo, a adição de vitaminas melhorou a eficiência aeróbia dos animais quando em conjunto com minerais inorgânicos. Também houve diferença ($p < 0,05$) entre as concentrações médias de lactato para os animais que se alimentaram do tratamento O- ($7,46 \pm 0,35$) *versus* o tratamento I- ($8,75 \pm 0,35$). Como a intenção do treinamento físico é obter concentrações médias de lactato cada vez menores, aqui é importante observar

duas coisas: a suplementação vitamínica provocou um resultado positivo quando adicionadas concomitante a minerais inorgânicos e; que os minerais orgânicos foram superiores ao apresentarem menor produção de lactato do que quando a fonte mineral era inorgânica. Essas interações ocorreram em situação de provável maior esforço por parte dos animais, como já vem sendo discutido. Então é plausível que, quando o metabolismo requer maior empenho do animal, as vitaminas estejam de fato ajudando na absorção dos minerais ionizados, que são os mais utilizados na produção animal, e que os minerais quelatados talvez não precisem de facilitadores quando se diz respeito à produção de lactato. Os quelatos de minerais possuem cargas neutras e geralmente não precisam de ajuda extra para que sejam absorvidos, diferente de minerais inorgânicos, os quais precisam de um ambiente carregado para que sejam absorvidos e carregados. Nos trabalhos discutidos neste capítulo vimos alguns exemplos de que o magnésio pode ajudar a manter as concentrações de lactato mais baixas e, no presente trabalho, obtivemos valores maiores de Mg quando em sua forma orgânica. Porém, essa hipótese deve ser validada, possivelmente com o uso de rastreadores de alguns minerais e vitaminas.

6.3 Concentrações sorológicas das enzimas CK, AST e LDH

A concentração sérica (UI/L) das enzimas creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) dos animais estudados não sofreu influência ($p>0,05$) dos tratamentos e se mantiveram em níveis normais para os mesmos. Os níveis de CK se aproximam do valor ($255,62 \pm 157,94$ UI/L) encontrado por Balarin et al. (2005), com equinos machos em exercício intenso, e com o achado por Correa et al. (2010) com cavalos de fazenda após um dia de trabalho ($269,6$ UI/L). Valli et al (2018) estudou intervalos de referência de CK em 194 animais puros-sangues e encontrou valores de 25-394 UI/L em animais em repouso e de 44-734 UI/L. Nosso valor para AST

para animais em treinamento está na margem de 141 a 330 UI/L descrita por Robinson (2003), enquanto que o valor obtido para a LDH se aproxima do apresentado por Thomassian et al. (2007), de $470,5 \pm 165,8$ UI/L.

Tabela 10 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) das enzimas CK, AST e LDH durante o experimento.

Enzima	Concentração sérica média (UI/L)
CK	$247,55 \pm 85,03$
AST	$226,10 \pm 38,37$
LDH	$506,23 \pm 90,76$

Encontramos uma queda significativa ($p < 0,05$) na concentração de LDH em relação aos tempos das coletas: imediatamente após o exercício (0) e 3 e 6 horas após o exercício, assim como se pode observar na tabela 11.

Tabela 11 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) da enzima LDH em relação ao tempo de coleta durante o experimento.

Tempo da coleta (H)	Concentração sérica de LDH (UI/L)	p-valor
0	$544.57^a \pm 27,71$	0,0002
3	$509.92^b \pm 27,71$	
6	$483.36^b \pm 27,71$	

Legenda: a, b, c = diferença entre os tempos de coleta.

Embora não tenha ocorrido diferença estatística para as demais enzimas, elas também tiveram suas concentrações numéricas em queda conforme o tempo das coletas (tabelas 12 e 13), com um leve aumento na coleta intermediária e posterior queda para a AST.

Tabela 12 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) da enzima CK em relação ao tempo de coleta durante o experimento.

Tempo da coleta (H)	Concentração sérica média de CK (UI/L)
0	$269,13 \pm 21,39$
24	$244,10 \pm 21,39$

Tabela 13 Concentração sérica média e desvio padrão (UI/L) da enzima AST em relação ao tempo de coleta durante o experimento.

Tempo da coleta (H)	Concentração sérica média de AST (UI/L)
0	233,90 $\pm$ 19,85
3	234,59 $\pm$ 19,85
6	229,43 $\pm$ 19,85

Os trabalhos encontrados na literatura variam largamente, principalmente quanto à raça, idade, estado de treinamento e tipo de exercício. Logo, é difícil padronizar os resultados, mas é possível encontrar uma relação. Um trabalho (GAMA et al., 2012) realizado com animais Mangalarga Marchador em provas de marcha, durante 40 minutos entre 9 e 12 km/h, resultou em elevação na concentração de lactato logo após o exercício, mas não houve alteração na concentração das enzimas CK e AST. Os autores associaram este resultado ao fato de os animais já estarem em treinamento/condicionados há algum tempo. Em estudo (BRAZ et al., 2016) com corridas de 300 m com animais Quarto de Milha (atividade anaeróbia), os autores encontraram aumento significativo na concentração de CK e diminuição na concentração de AST, relação a qual pode ser indicador de lesão muscular. Porém, os autores não confirmaram a ocorrência de injúrias, relacionando os maiores aumentos destas enzimas a animais destreinados. Garanhões Maremmana em treinamento foram testados quanto ao aumento de intensidade do exercício (CHIARADIA et al., 1998). Os autores também encontraram um aumento significativo na ação das isoenzimas LDH-3 e LDH-5 e, embora o aumento da LDH-5 seja indicativo de lesão, foi um aumento pequeno para ser considerado clinicamente importante. No teste imposto por Pinto (2010), os animais também realizaram atividade física em exercitador circular a 8 e 12 km/h e foram realizadas coletas de sangue antes do exercício, logo após o exercício e a 15 e 30 minutos após a atividade. Foi encontrado aumento na concentração de AST logo após o exercício a 12 km/h, mas queda a valores normais dentro de 15 minutos. Para Sanchez (2014), as concentrações de AST e CK

aumentaram enquanto que as de LDH diminuíram ao longo do experimento, mas mantiveram-se dentro de níveis relatados na literatura. Já Fagan et al. (2018) encontraram valores significativamente menores de AST em cavalos após o exercício, associando esta queda à suplementação de vitamina E.

Neste experimento, todas as enzimas estavam em concentrações séricas maiores logo após o exercício e apresentaram queda numérica até 6 (no caso das enzimas AST e LDH) ou 24 (no caso da enzima CK) horas pós-exercício. Apenas para LDH houve queda significativa. Estes resultados reforçam a justificativa de que nem sempre o aumento nas concentrações séricas destas enzimas imediatamente após o exercício é um indicativo de dano celular no músculo esquelético, podendo estar associada à permeabilidade alterada das membranas celulares devido à atividade física, sendo estes danos reversíveis em alguns minutos ou horas.

Qualquer diferença entre os tratamentos poderia nos levar a sugerir que, em cavalos que seguissem protocolos de exercício semelhantes, o tratamento com as menores concentrações destas enzimas seria capaz de prevenir lesões musculares, assim como foi o caso da suplementação de vitamina E no recente trabalho de Fagan et al. (2018). Porém, os resultados nos levam a inferir que o protocolo de exercício adotado foi adequado a estes animais e não foi suficiente para causar quaisquer injúrias decorrentes da atividade física.

6.4 Frequência cardíaca (FC)

Os batimentos cardíacos (bpm) se alteraram ($p < 0,05$) entre as diferentes velocidades (tabela 14), encontrando seus valores máximos na maior velocidade imposta (15 km/h).

Tabela 14 FC média e desvio padrão (bpm) alcançados aos 8, 12 e 15 km/h durante o experimento.

Velocidade	Frequência cardíaca (bpm)	p-valor
8 km/h	101,11 ^c ± 2,94	<0,0001
12 km/h	118,59 ^b ± 2,94	
15 km/h	128,55 ^a ± 2,94	

Legenda: diferença entre as velocidades.

Este resultado foi esperado, visto que quanto maior a velocidade, o esforço, atribuído por uma atividade física, mais rapidamente os músculos precisarão de oxigênio, nutrientes e energia. Para que isso ocorra, há aumento do consumo de oxigênio pelas vias respiratórias e aumento da frequência cardíaca e do débito cardíaco, aumentando a velocidade com que a circulação sanguínea leva todos estes substratos aos músculos esqueléticos. Eaton et al. (1999), utilizando cavalos Puro-sangue em atividades de baixa e moderada intensidade, encontraram aumento na FC e no consumo de oxigênio com o aumento da velocidade. Também encontraram aumento expressivo nestas variáveis no início do treinamento, com posterior constante do meio ao final das semanas de treinamento.

A velocidade com que os batimentos cardíacos atingem 200 bpm é chamada de V_{200} e, quanto maior seu valor, melhor a condição física do animal, visto que ele demorará mais tempo para atingir este valor. Utilizando 152 cavalos Puro-sangue em início de treinamento foi demonstrado um V_{200} cada vez maior conforme os dias de treino progrediam e os autores sugerem que talvez seja possível que haja diferença no comportamento desta variável entre machos e fêmeas e conforme a idade (OHMURA et al., 2010). Não encontramos efeito de dia para a FC durante o exercício, provavelmente porque nossos animais estavam em estados semelhantes de treinamento e de idade fisiológica (animais maduros) para que esta variável tivesse sofrido efeito relevante.

Os tratamentos não tiveram efeito ($p>0,05$) sobre a frequência cardíaca de Árabes castrados quando comparando o grupo que recebeu dieta rica em amido e açúcar *versus*

o grupo que recebeu dieta rica em gordura e fibra (TREIBER et al., 2006). Embora as dietas tenham influenciado no metabolismo da glicose e insulina, o fator energético da dieta não teve efeito sobre o ritmo cardíaco. Muito provavelmente nosso resultado segue esta mesma linha, onde os elementos nutricionais não influenciam o sistema cardiocirculatório. No presente trabalho houve uma tendência para interação entre mineral e vitamina ($p=0,056$), onde os animais que receberam o tratamento contendo mineral inorgânico sem vitaminas obtiveram maior valor ($118,20 \pm 3,89$) de bpm em relação aos que se alimentaram da dieta com mineral inorgânico e vitaminas ($113,79 \pm 3,90$). Alimentando equinos Puro-sangue Inglês (PSI) ativos e sedentários com blueberry, a qual contém propriedades antioxidantes, os autores encontraram diminuição da FC (CHAPMAN et al., 2018²). Diferente do que ocorre com o sistema respiratório, o sistema cardiovascular pode sofrer maiores alterações, como melhorar ajustes circulatórios (vasoconstrição e vasodilatação) e anatômico da vasculatura sanguínea (McCONAGHY, 1994). Com os demais resultados deste trabalho, podemos perceber que a adição de vitaminas está sendo benéfica no desempenho esportivo de equinos. Pode ser que em algum momento as vitaminas e os minerais suplementares estejam melhorando a eficiência da distribuição de oxigênio e de calor durante o exercício, requerendo menor esforço cardiovascular e diminuindo a FC com a mesma eficácia de circulação. Porém, não se pode afirmar que estes oligoelementos tenham papel importante na regulação do ritmo cardíaco. Mais pesquisas precisam ser feitas para validar esta hipótese.

No momento da FC de recuperação, isto é, onde os animais retornavam à lanchonete após o exercício e permaneciam sem contato humano durante 20 minutos, foram encontradas diferenças ($p=0,0005$) em relação aos dias de coleta. Houve aumento até o dia 30 e uma queda deste dia até o dia 60 (gráfico 3). Nossos valores estão próximos do encontrado por Dumont et al. (2012), de $51,78 \pm 6,08$ bpm.

Gráfico 3 FC de recuperação (bpm) média nos dias 0, 15, 30, 45 e 60 do experimento.

Legenda: FC_R = Frequência cardíaca de recuperação

A FC_R é usada como um indicativo de aptidão física, pois apresenta correlação positiva entre a recuperação do organismo e seu desempenho físico. O comportamento da FC ao longo dos períodos experimentais compôs uma curva. O baixo valor no dia 0 pode indicar que os animais estavam adaptados ao exercício após os dois meses pré-período experimental. Em seguida, houve aumento no valor da FC provavelmente devido à maior carga de exercício (30 minutos a mais e duas vezes por semana a mais que a adaptação). Conforme os animais ganhavam desempenho adequado, estes valores foram novamente baixando até que o dia 60 se igualasse ao dia 0 do período experimental. O maior valor no dia 30 também pode estar ligado ao maior esforço imposto na época das águas.

6.5 Taxa de sudção

Para a análise de produção de suor foram utilizadas três variáveis: $g/m^2/h$, $g/animal/h$ e $g/kgPV/h$ (tabela 15). A partir da primeira e do peso vivo (PV) do animal, é possível encontrar as duas seguintes, as quais fazem menção à produção de suor levando em consideração a superfície corporal do animal. Esta transformação facilita a comparação com a literatura e com outras espécies animais, visto que cavalos são capazes de exercício prolongado a taxas metabólicas mais altas, mas com menor relação superfície

: massa quando comparados aos seres humanos, sendo 1 m² : 90–100 kg contra 1 m² : 35-40 kg, respectivamente (HODGSON et al., 1993).

Tabela 15 Produção média de suor e desvio padrão em g/m²/h, g/animal/h e g/kgPV/h.

Variável	Valor	CV
g/m²/h	982,79 ± 962,19	97,90
g/animal/h	4.984,74 ± 4.943,40	99,17
g/kgPV/h	10,84 ± 10.50	96,84

Os valores calculados através do Índice de Temperatura e Umidade de Globo Negro (ITGU) não demonstraram efeito ($p>0,05$) sobre as 3 unidades, descartando qualquer hipótese da influência do ambiente sobre a produção de suor dos animais.

Para todas as variáveis, foi encontrado efeito da adição de vitaminas, onde a produção de suor foi maior ($p<0,05$) nos animais que não receberam estes oligoelementos (Tabela 16). Existe muito pouca literatura tanto sobre a suplementação de vitaminas quanto sobre o metabolismo destas no organismo do equino. Um metabolismo energético eficiente gastará menos energia para realizar suas funções, pois a transformação da energia química em mecânica no cavalo é ineficiente, liberando entre 75 e 80% de energia na forma de calor (BRODY, 1945; McCONAGHY, 1994). A adição de vitaminas, provavelmente, requereu maior uso de energia para que pudessem ser metabolizadas ou carregadas até um tecido alvo onde possam ter sido mais úteis. Desta forma, acredita-se que a energia que seria dispensada através da termoregulação, foi mais eficientemente utilizada no metabolismo das vitaminas, fazendo com que os animais produzissem menos suor.

Gráfico 4 Produção média de suor e desvio padrão em g/m²/h, g/animal/h e g/kgPV/h dos equinos que recebiam suplementação vitamínica versus equinos que não recebiam a suplementação.

Legenda: a, b = diferença entre os tratamentos.

Suando menos, os animais perdem menos água e eletrólitos, o que é desejável, visto que permanecem hidratados e economizam seu conteúdo mineral para outras funções.

Titto (1994) avaliou a perda de água em éguas gestantes e lactantes das raças Bretão, Anglo-Árabe e Mangalarga, em repouso e a pasto. A produção de suor entre as raças variou de $271,18 \pm 113,1$ a $486,87 \pm 199,1$ g/m²/h, sendo a Anglo-Árabe de valor intermediário ($369,75 \pm 167,5$ g/m²/h). A diferença de valores entre estes e os nossos resultados (média de aproximadamente 1.200 g/m²/h) está no fato de nossos animais terem sido exercitados, o que aumenta a produção de suor. Também pelo local de realização do teste, sendo o nosso feito na tábua do pescoço – onde geralmente se perde mais água – e na pesquisa do autor foi feito na região da espádua – perda de água intermediária. Os altos valores do desvio padrão e dos coeficientes de variação (CV), tanto nesta pesquisa quanto na do autor citado, são explicados pela alta variabilidade individual característica dos cavalos, visto que neste tipo de produção animal o interesse

sobre o indivíduo prevalece. Em produções de bovinos, aves e suínos, por exemplo, o conjunto, a quantidade se torna mais relevante devido à razão pela qual são criados (produção de carne) e a padronização destes animais se torna mais concreta, frequentemente com um n maior e menos dispersões.

Grande parte dos trabalhos relacionados à termorregulação de equinos estuda a perda de eletrólitos, principalmente dos íons Na^+ , Cl^- e K^+ e, em menores proporções, Ca^{2+} e Mg^{2+} , pois esta perda atua na manutenção do controle ácido-básico do organismo (GLADE, 1989). É comum encontrarmos competidores administrando pastas orais ou fornecendo água com adição de sais e eletrólitos aos seus cavalos em provas de longa duração, como o enduro e o CCE. Depois de terem sido desidratados, foram verificados os efeitos do fornecimento de água com adição de 0,45 e 0,9% de cloreto de sódio em equinos de 2 anos de idade, logo após 45 minutos de exercício em esteira de alta velocidade. Foi constatado que os níveis de sódio no sangue e o consumo de água pura foram maiores após o consumo imediato de água salgada em comparação com o consumo de água pura apenas (BUTUDOM et al., 2010). Em um teste de enduro houve queda na concentração de potássio em todos os grupos e um aumento do magnésio no grupo que recebeu uma mistura de eletrólitos oralmente durante o intervalo de duas fases e após o fim do teste (LACERDA-NETO et al., 2003). Porém, a suplementação com eletrólitos não influenciou na performance destes animais. Isso ocorre pois o efeito suplementar não é imediato e pode ser que um resultado diferente aparecesse algumas horas após a prova. Em um estudo recente (WALLER e LINDINGER, 2018), éguas receberam nasogastricamente água ou uma solução com eletrólitos Na^+ e K^+ , uma hora antes e imediatamente após exercício prolongado de intensidade moderada. Os animais que receberam a solução com os eletrólitos antes do exercício tiveram maiores entradas de íons musculares na fase de recuperação (2 a 4 horas após a atividade) comparado aos

animais que receberam esta solução imediatamente após o exercício e com os animais que receberam apenas água. Um outro estudo usou marcador de fluido extracelular e inseriu água com rastreador de Na ou de K, em testes separados, ou um fluido de eletrólitos, também via nasogástrica (LINDINGER e WALLER, 2018). Os autores chegaram a conclusão de que fluidos e eletrólitos ingeridos 1 h antes da atividade física constam no suor e que este é um filtrado do fluido extracelular, onde a concentração de K^+ foi maior do que no plasma.

Ainda que haja um esforço renal para a manutenção da concentração destes eletrólitos, principalmente via suor e urina e em ambientes mais quentes – em torno de $35^{\circ}C$ –, mesmo em repouso (TITTO et al., 2009), estes autores já sugeriam uma nutrição com mais atenção para o conteúdo mineral. Infelizmente não foram obtidos resultados significativos ($p>0,05$) da taxa de sudação (TS) com relação aos minerais, ao contrário do que era esperado. Talvez se fossem analisadas as concentrações de Na, Cl e K, antes e após o exercício de amostras de suor, além da taxa de sudação, poderíamos ter encontrado algum resultado interessante neste sentido.

6.6 Mineralograma capilar

Foram analisadas as concentrações no pelo dos animais dos minerais cálcio (Ca), enxofre (S), magnésio (Mg), cobalto (Co), Cobre (Cu), Cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), selênio (Se), zinco (Zn) e flúor (F). Apenas cálcio, magnésio, manganês, enxofre e selênio apresentaram algum tipo de efeito.

Tabela 16 Concentração média e desvio padrão (ppm) dos minerais Ca, Mn e Se no organismo dos equinos que recebiam suplementação vitamínica *versus* equinos que não recebiam a suplementação.

Mineral	Concentração (ppm)		p-valor
	Sem vitamina	Com vitamina	
Ca	3.414,75 ^a ± 306,75	2.578 ^b ± 306,75	0,028
Mn	19,88 ^a ± 4,87	7,33 ^b ± 4,87	0,027
Se	0,27 ^a ± 0,03	0,18 ^b ± 0,03	0,039

Legenda: Ca = cálcio; Mn = manganês; Se = selênio.

a, b = diferença entre os tratamentos

O cálcio tem uma digestibilidade aparente relativamente alta (em torno de 50%) e esta não é aumentada pelo exercício (PAGAN et al., 1998), mas a digestibilidade do carbonato de cálcio pode aproximar-se de 70% (HINCHCLIFF; GEOR; KANEPS, 2007). Este mineral também tem relação direta com a vitamina D, sendo um dos seus metabólitos (1,25-dihidroxitamina D₃ ou 1,25(OH)₂D₃) o modulador ativo da absorção deste mineral (MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015), visto que a forma biologicamente ativa do cálcio é a ionizada. A vitamina D é normalmente produzida pelo cavalo que é exposto à luz solar, diferente do que ocorre em cães (YOUNG e BACKUS, 2017) e os animais experimentados ficavam constantemente expostos ao sol. Logo, a suplementação da vitamina D₃ parece não ter sido a razão do maior uso do cálcio. Foi discutido que algumas vitaminas ajudam na formação de aminoácidos, subunidades das proteínas, e o cálcio pode estar ligado a proteínas e ânions complexados, como o L-Lactato. Todos os animais alimentaram-se da mesma quantidade de minerais. Um maior valor de concentração deste macromineral provavelmente evidencia os “excessos” não utilizados e depositados dos nos pelos. Portanto, pode-se sugerir que este resultado indica que a presença das vitaminas podem ter feito com que o Ca e os outros dois minerais (Mn e Se) fossem melhor aproveitados.

O exercício provoca um aumento no metabolismo oxidativo e, conseqüentemente, na quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) (NRC, 2007). O selênio é o

principal constituinte da enzima glutathione peroxidase, um antioxidante que, em conjunto com a vitamina E, protege as membranas celulares da peroxidação lipídica contra as ROS. A vitamina C também ajuda nesse processo onde, do interior das células, elimina radicais livres e recicla a vitamina E em sua forma ativa (Ji, 1995). Mas o selênio tem mais afinidade com a vitamina E e, a falta de um, pode afetar a ação do outro. Isso pode explicar a maior concentração ($p<0,05$) deste mineral quando não houve suplementação de vitaminas, sendo constantemente liberado no organismo para proteger as células musculares, como compensação da falta das vitaminas E e C.

O manganês, por sua vez, é muito pouco encontrado em estudos com equinos, tendo suas recomendações baseadas em outras espécies (NRC, 2007). O que se sabe até agora é que está envolvido no metabolismo de carboidratos e lipídios e na formação da cartilagem através da síntese de sulfato de condroitina (MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015). Em outros animais – como aves, suínos, bovinos e ovinos – foram demonstradas relações com o crescimento ósseo e processos reprodutivos (SUTTLE, 2010). Também é conhecido ser um fator antioxidante, sendo co-fator da manganês-superóxido dismutase (YAVARI et al., 2015). Latham et al. (2018) utilizou os minerais Zn, Mn e Cu complexados a aminoácidos (minerais quelatados) comparando com suas formas inorgânicas e concluiu que aqueles podem aumentar a capacidade antioxidante do músculo em equinos atletas jovens. A explicação da maior concentração ($p<0,05$) para o tratamento sem vitaminas pode seguir a mesma lógica do que ocorreu com o selênio: na falta de vitaminas que defendem as células contra radicais de superóxido, o manganês precisou estar em maior concentração para barrar o estresse oxidativo. Também precisou ser levado para a produção de energia através do metabolismo de carboidratos e lipídios, podendo ser menos requerido na presença da tiamina e da biotina, vitaminas que também estão envolvidas na síntese de ATP.

Diferentemente de todos os resultados até agora apresentados, apresentou efeito para o tipo de mineral desassociado, com concentrações maiores ($p=0,02$) nos animais que se alimentaram das dietas de minerais orgânicos contra os que se se alimentaram das dietas de minerais inorgânicos (tabela 17). Isso indica que o Mg orgânico apresenta maior biodisponibilidade do que sua forma inorgânica. Quando foi feito o teste entre base mineral e presença/ausência de vitaminas, os animais que receberam minerais orgânicos sem vitaminas tiveram maior concentração de Mg ($p=0,03$) do que quando o tratamento foi acrescido de suplementação vitamínica (tabela 18). Este mineral é também diretamente envolvido no exercício, ajudando na fosforilação oxidativa e formação de ATP, sustentando processos como a bomba de Na/K, na oxidação do piruvato e na conversão de α -oxoglutarato em succinil coenzima A, como transferidor de fosfato, na oxidação de ácidos graxos e no shunt de monofosfato de pentose (SHILS, 1997). Em humanos é um cofator de mais de 325 reações enzimáticas envolvidas na produção e armazenamento de energia celular, no controle da atividade neuronal, na excitabilidade cardíaca, na contração muscular, no tono vasomotor e pressão arterial e, ainda, ajuda na manutenção de eletrólitos celulares (NEWHOUSE e FINSTAD, 2000). Estando em maior concentração nos animais que não receberam vitaminas, pode ter sido constantemente requerido para equilibrar a perda de eletrólitos nestes animais, os quais também suaram mais. Assim, a presença das vitaminas, de alguma forma, podem ter poupado seu uso para que fosse melhor distribuído aos demais locais de sua utilização.

Tabela 17 Concentração média e desvio padrão de Mg (ppm) no organismo dos equinos que recebiam minerais orgânicos *versus* equinos que recebiam minerais inorgânicos.

Tratamento	Concentração (ppm)	p-valor
Mineral Orgânico	772,06 ^a ± 102,66	0,021
Mineral Inorgânico	661,19 ^b ± 102,66	

Legenda: a, b = diferença entre os tratamentos

Tabela 18 Concentração média e desvio padrão de Mg (ppm) no organismo dos equinos que recebiam minerais orgânicos sem suplementação vitamínica *versus* equinos que recebiam minerais orgânicos com suplementação vitamínica.

Tratamento	Concentração (ppm)	p-valor
O-	1.205,37 ^a ±145,18	0,030
O+	518,75 ^b ±145,18	

Legenda: O+ = Tratamento Mineral Orgânico com Suplementação Vitamínica;

O- = Tratamento Mineral Orgânico sem Suplementação Vitamínica.

a, b = diferença entre os tratamentos

O enxofre apresentou interação ($p < 0,05$) entre mineral e vitaminas, da mesma forma que para o Mg: sendo os animais que receberam o tratamento O- apresentando maiores concentrações deste microelemento ($3.209 \pm 1.286,76$) do que os animais que receberam o tratamento O+ ($2.877 \pm 1.286,76$). O enxofre é também um constituinte de aminoácidos, vitaminas do complexo B (tiamina e biotina), heparina, insulina e sulfato de condroitina (NRC, 2007). Destas, a tiamina é usada pela piruvato desidrogenase e pela α -cetoglutarato desidrogenase, envolvidas na síntese de ATP, substrato principal na contração muscular (JR, 2008). Já a biotina está presente em quatro carboxilases envolvidas na síntese de ácidos graxos e da gliconeogênese e, embora seja produzida pelos micróbios intestinais, talvez não esteja em concentrações suficientes para ajudar na produção de energia requerida durante a atividade física (MARTIN-ROSSET e MARTIN, 2015). Isso pode explicar o maior valor de enxofre na dieta sem vitaminas, para compensar a falta dos componentes – como um produto prontamente disponível – que participam do processo energético e ser utilizado para a produção dos mesmos.

Embora não tenha aparecido efeito na estatística, a relação de maior concentração entre minerais orgânicos e inorgânicos foi de 50:50. Os minerais que estiveram em maior valor na forma inorgânica foram os que estão apresentados na tabela seguinte.

Tabela 19 Concentração média dos minerais (ppm) no organismo dos equinos quando acrescidos na dieta em sua forma inorgânica e orgânica.

Mineral	Concentração (ppm) – forma inorgânica	Concentração (ppm) – forma orgânica	p-valor
Ferro (Fe)	243,31	191,38	0,535
Manganês (Mn)	14,41	12,8	0,575
Cromo (Cr)	0,31	0,22	0,185
Cobalto (Co)	0,15	0,13	0,521
Selênio (Se)	0,23	0,21	0,585

7 – Conclusão

Nas condições em que esse experimento foi realizado, a adição de vitaminas na dieta de equinos realizando exercício aeróbio de intensidade moderada melhora fatores de desempenho atlético.

A inclusão de minerais orgânicos ou inorgânicos não tiveram influência sobre o desempenho.

8 – Implicações

O uso de minerais ou vitaminas antioxidantes podem amenizar danos musculares causados por uma carga maior de esforço. As concentrações das enzimas CK, AST e LDH podem ser medidas antes e após o exercício para estudar esta resposta. O sistema cardiocirculatório também pode ser beneficiado pelo seu uso e ser avaliado através de análise de algumas de suas variáveis como volume sistólico, força contrátil, pressão sanguínea e até mesmo o uso de termografia, para fluxo sanguíneo e temperatura corporal.

A adição de vitaminas parece melhorar o mecanismo termorregulatório através de um aperfeiçoamento na eficiência de uso do calor produzido durante o exercício, levando à menor perda de água e eletrólitos pela transpiração. O uso de rastreadores dos principais minerais perdidos no suor poderiam validar de forma mais concreta esta hipótese e serem testados em condições climáticas diferentes.

Futuras pesquisas com níveis de concentrações maiores que os recomendados pelo NRC (2007) podem ser estudados para que seja encontrado um valor mais adequado a cavalos de alto desempenho.

9 – Referências Bibliográficas

- ABREU, P. G.; ABREU, V. M. N.; FRANCISCON, L.; COLDEBELLA, A. An estimate of the black-bulb temperature (BBT) from the dry bulb temperature (DBT) for calculating the temperature-humidity index (THI) and the radiant heat load (RHL). In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF AGRICULTURAL ENGINEERING.; BRAZILIAN CONGRESS OF AGRICULTURAL ENGINEERING. 37.; International Livestock Environment Symposium - ILES, 8., 2008, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: International Commission of Agricultural Engineering (CIGR), Institut fur Landtechnik, 2008.
- AGUILERA-TEJERO, E.; ESTEPA, J. C.; LÓPEZ, I.; BAS, S.; GARFIA, B.; RODRÍGUEZ, M. Plasma ionized calcium and parathyroid hormone concentrations in horses after endurance rides. **Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)**, v. 219, n. 4, p. 488–490, 2001.
- ALLEN, B. V. Serum folate levels in horses, with particular reference to the English Thoroughbred. **The Veterinary Record**, v. 103, n. 12, p. 257–259, 1978.
- ALONSO, J. de M.; WATANABE, M. J.; HUSSNI, C. A.; MANTOVANI, C. de F.; FERNANDES, V. S.; MACHADO, L. P.; YONEZAWA, L. A.; KOHAYAGAWA, A.; THOMASSIAN, A. O treinamento nos valores da V200, FCpico e distância percorrida de cavalos da raça Árabe e Crioula. **Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 722–728, abr. 2013.
- ANDERSON, M. G. The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 7, n. 3, p. 160–165, jul. 1975.
- ANDRIÃO, N. A.; ARAÚJO, M. L.; IBRAHIM, A. F.; CATTELAN, J. W.; CRUZ, C. Histologia, histoquímica e morfometria da epiderme e ductos sudoríparos do tegumento de eqüinos. **ARS Veterinaria**, v. 25, n. 1, p. 32–37, 2009.
- AOAC. AOAC Official Methods of Analysis. **Association of Official Agricultural Chemists**, v. 15, n.1, p. 136–138, 1990.
- ASANO, K.; SUZUKI, K.; CHIBA, M.; SERA, K.; MATSUMOTO, T.; ASANO, R.; SAKAI, T. Influence of the coat color on the trace elemental status measured by particle-induced X-ray emission in horse hair. **Biological trace element research**, v. 103, n. 2, p. 169–176, 2005.
- ASANO, K. Twenty-eight element concentrations in mane hair samples of adult riding horses determined by particle-induced x-ray emission. **Biological Trace Element Research**, v. 107, n. 2, p. 135–140, 2005.
- ASSENZA, A.; BERGERO, D.; CONGIU, F.; TOSOT, F.; GIANNETTO, C.; PICCIONE, G. Evaluation of Serum Electrolytes and Blood Lactate Concentration During Repeated Maximal Exercise in Horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 10, p. 1175–1180, 2014.
- AVELLINI, L.; CHIARADIA, E.; GAITI, A. Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). **Comparative**

biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology, v. 123, n. 2, p. 147–154, 1999.

BABTISTELLA, M. F. Atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, creatinina e lactato desidrogenase em eqüinos submetidos a diferentes intensidades de exercícios. **Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente**, v. 12, n. 13, p. 33-42, 2009.

BALARIN, M. R. S.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; LAPOSY, C. B.; FONTEQUE, J. H. Avaliação da glicemia e da atividade sérica de aspartatoaminotransferase, creatinquinase, gama-glutamilttransferase e lactatodesidrogenase em eqüinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 211-218, 2005.

BARNES, A.; KINGSTON, J.; BEETSON, S.; KUIPER, C. Endurance veterinarians detect physiologically compromised horses in a 160 km ride. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 38, p. 6-11, 2010.

BARUSELLI, M. S. Minerais em forma orgânica: nova fronteira da mineralização na saúde animal. **Revista Fármacos & Medicamentos**, v. 9, p. 42–28, 2008.

BATES, C. J. Thiamin. In: BOWMAN, B. A.; RUSSEL, R. M. **Present Knowledge in Nutrition**. 8 ed. Washington, DC: ISLI Press, 2001. p. 184.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. 2. ed. Lavras, MG: UFLA, 2012. 373 p.

BŁAZEWCZ, A.; KLATKA, M.; ASTEL, A.; PARTYKA, M.; KOCJAN, R. Differences in trace metal concentrations (Co, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, and Ni) in whole blood, plasma, and urine of obese and nonobese children. **Biological Trace Element Research**, v. 155, n. 2, p. 190–200, 2013.

BOHL, C. H.; VOLPE, S. L. Magnesium and exercise. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 6, p. 533–563, 2002.

BRAZ, P. H.; GHETTI, E. R. de M. L.; SARTORETTO, M. C.; DEBOLETO, S. G. de C. Avaliações séricas de glicose, lactato, creatina quinase e aspartato aminotransferase em equinos quarto de milha antes e depois de prova de corrida. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 10, n. 4, p. 322–326, 2016.

BRITO, H. C. D. **Alterações no equilíbrio ácido-base em equinos submetidos à prova de três alterações ou à competição de enduro de 160 km**. 2014. 124 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 27 de maio de 2014.

BRODY, S. **Bioenergetics and Growth**. 1 ed. New York: Reinhold, 1945, 1023 p.

BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J. Black Globe-Humidity Index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transactions of the ASAE**, v. 24, n. 3, p. 0711–0714, 1981.

BUTUDOM, P.; SCHOTT, H. C.; DAVIS, M. W.; KOBE, C. A.; NIELSEN, B. D.; EBERHART, S. W. Drinking salt water enhances rehydration in horses dehydrated by frusemide administration and endurance exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. S34, p. 513–518, 2010.

CASTANHEIRA, M. Análise multivariada de características que influenciam a tolerância ao calor em equinos, ovinos e bovinos. 2009. 95 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 27 de maio de 2009.

CARLSON, G. P. Thermoregulation, fluid and electrolyte balance. **Equine Exercise Physiology**, p.291-309, 1982.

¹CHAPMAN, A. M.; ANDREWS, F. M.; EBENEZER, P. J.; KEMPER, J.; KEOWEN, M. L.; JR. GARZA, F.; CRUZ-SANABRIA, J.; LIU, C. C.; FRANCIS, J. The effects of blueberry consumption on reactive oxygen species in sedentary and exercising horses. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S22.

²CHAPMAN, A. M.; KEOWEN, M. L.; J. KAMPER J.; GARZA JR., F.; LIU, C. -C.; CRUZ-SANABRIA, J.; FRANCIS, J; ANDREWS, F. M.. Blueberry feeding improves volume of work in exercising horses by lowering heart rate and lactate. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S23.

CHIARADIA, E.; AVELLINI, L.; RUECA, F.; SPATERNA, A.; PORCIELLO, F.; ANTONIONI, M. T.; GAITI, A. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. **Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology**, v. 119, n. 4, p. 833–836, 1998.

CHOJNACKA, K.; ZIELINSKA, A.; GORECKA, H.; DOBRZANSKI, Z.; GORECKI, H. Reference values for hair minerals of Polish students. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 29, n. 3, 314–319, 2010.

CHOJNACKA, K.; MIKULEWICZ, M.; MICHALAK, I. The effect of hair characteristics and treatments on mineral composition of scalp hair. **The Polish Journal of Environmental Studies**, v. 21, n. 2, p. 1167–1173, 2012.

CLOSE, W.H. The role of trace mineral proteinates in pig nutrition. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K.A. **Biotechnology in Feed Industry**, Nottingham, UK: Nottingham University Press, 1998. p. 469-484.

CONSTABLE, P. D. Modeling in Physiology. **American Physiological Society**, v. 82, n. 5, p. 1522–1536, 1997.

CORRÊA, K.S.; MATTOSO, C.R.S.; SILVA, C.F.G.K.T.; LAGOSM M.S.; TAKAHIRA, R.K.; LOPES, R.S. Enzimas musculares e eletrólitos em equinos submetidos a esforço físico prolongado, suplementados com acetato de tocoferol e selênio. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2010.

DAVIE, A. L.; EVANS, D. J. Blood lactate responses to submaximal field exercise tests in thoroughbred horses. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 159, n. 3, p. 252–8, 2000.

DE OLIVEIRA, D. E. Aspectos sobre nutrição e alimentação de eqüinos. 2015. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/D_De_Oliveira/publication/265920827_ASPECTOS_SOBRE_NUTRICAO_E_ALIMENTACAO_DE_EQUINOS/links/54b7b99a0cf2bd04be33c1d1/ASPECTOS-SOBRE-NUTRICAO-E-ALIMENTACAO-DE-EQUeINOS.pdf >. Acessado em: 10 de março de 2017.

DEUSTER, P. A.; DOLEV, E.; KYLE, S. B.; ANDERSON, R. A.; SHOOMAKER, E. B. Magnesium homeostasis during high-intensity anaerobic exercise in men. **Journal of Applied Physiology**, v. 62, n. 2, p. 545–550, 1987.

DIAS, D. **Cavalos movimentam R\$16 bi por ano: Saiba como você pode lucrar** (22/03/2016). Disponível em: < <https://blogs.canalrural.uol.com.br/danieldias/2016/03/22/o-agronegocio-equino-ja-movimenta-r15-bi-por-ano-saiba-como-funciona-este-seg-mento-e-como-voce-pode-lucrar-com-cavalos/> >. Acessado em: 3 de setembro de 2017.

DIVERS, T. J.; CUMMINGS, J. E.; DE LAHUNTA, A.; HINTZ, H. F.; MOHAMMED, H. O. Evaluation of the risk of motor neuron disease in horses fed a diet low in vitamin E and high in copper and iron. **American journal of veterinary research**, v. 67, n. 1, p. 120–126, 2006.

DUMONT, C. B. S.; LEITE, C. R.; MORAES, J. M.; MOREIRA, M.; MOSCARDINI, A. R. C.; GODOY, R. F.; LIMA, E. M. M. Osmolaridade, ânion gap, potencial hidrogeniônico e íons plasmáticos mensuráveis de equinos Puro Sangue Árabe finalistas em provas de enduro de 90 km. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 542-546, 2012.

DUNNETT, M. et al. Plasma carnosine concentration: diurnal variation and effects of age, exercise and muscle damage. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 34, n. 1, p. 283-287, 2002.

DUNNETT, M.; LEES, P. Trace element, toxin and drug elimination in hair with particular reference to the horse. **Research in Veterinary Science**, v. 75, n. 2, p. 89–101, 2003.

EADES, S. C.; BOUNOUS, D. I. **Laboratory profiles of equine diseases**. 1. ed. Saint Louis: Mosby, 1997.

EATON, M. D. Energetics and performance. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Ed.). **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. 1. ed. Philadelphia: Saunders Ltd., 1994. p. 49–62.

EATON, M. D.; HODGSON, D. R.; EVANS, D. L.; ROSE, R. J. Effects of low- and moderate-intensity training on metabolic responses to exercise in Thoroughbreds. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 30, p. 521-527, 1999.

ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; KARLSTRÖM, K.; LINDHOLM, A. Fibre types, enzyme activities and substrate utilisation in skeletal muscles of horses competing in endurance rides. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 3, p. 197–202, 1984.

Estação Meteorológica da USP - Campus Pirassununga. Disponível em: <<http://www.agrariasusp.com.br/agrariasusp01/estacao.html>>. Acessado em: 10 de março de 2018.

ESTEPA, J. C.; AGUILERA-TEJERO, E.; ZAFRA, R.; MAYER-VALOR, R.; RODRÍGUEZ, M.; PEREZ, J. An unusual case of generalized soft-tissue mineralization in a suckling foal. **Veterinary pathology**, v. 43, n. 1, p. 64–67, 2006.

EVANS, D. Exercise testing in the field. In: HINCHCLIFF, K. W.; J., G. R.; KANEPS, A. (Ed.). **Equine Exercise Physiology: The Science of Exercise in the Athletic Horse**. 1. ed. Philadelphia: Elsevier Limited, 2008. p. 13–27.

FAGAN, M. M.; PAZDRO, R.; CALL, J. A.; ABRAMS, A.; HARRIS, P.; KROTKY, A. D.; DUBERSTEIN K. J. Effects of vitamin E dose and form on blood parameters in exercising horses. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S16.

FISHER, A. L.; GREENE, H. M.; TALMADGE, R. J.; NOUT-LOMAS, Y. S. Lactate-guided conditioning program using variable exercise intensities improves fitness and alters muscle enzyme activity but not inflammatory response in horses. **Comparative Exercise Physiology**, v. 12, n. 4, p. 183–192, 2016.

FRANCISCATO, C. et al. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 10, p. 1561–1565, 2006.

FRAPE, D. Feeding for Performance and the Metabolism of Nutrients During Exercise. In: FRAPE, D. (Ed.). **Equine Nutrition and Feeding**. 3. ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2004. p. 300–365.

GABRYSZUK, M.; SLONIEWSKI, K.; METERA, E.; SAKOWSKI, T. Content of mineral elements in milk and hair of cows from organic farms. **The Journal of Elementology**, v. 15, n. 2, p. 259–267, 2010.

GAMA, J. A. N. da; SOUZA, M. S. de; PEREIRA NETO, E.; SOUZA, V. R. C. de; COELHO, C. S. Concentrações séricas de aspartato aminotransferase e creatinoquinase e concentrações plasmáticas de lactato em equinos da raça Mangalarga Marchador após exercício físico. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 480–486, 2012.

GHASEMI, S.; SARDARI, K.; MOVASSAGHI, A. R. Apocrine sweat gland ductal carcinoma in a 5-year-old Arabian stallion. **Comparative Clinical Pathology**, v. 26, n. 6, p. 1399–1402, 2017.

GHORBANI, A.; MOHIT, A.; DARMANI KUHI, H. Effects of Dietary Mineral Intake on Hair and Serum Mineral Contents of Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**,

v. 35, n. 4, p. 295–300, 2015.

GLADE, M. J. Nutrition of the equine athlete. In: JONES, W. E. **Equine sports medicine**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989, p. 19-33.

GOMIDE, M.; MARTINS, C. B.; OROZCO, G. C. A.; BELLI, T.; BALDISSERA, V. Concentrações sanguíneas de lactato em eqüinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 509–513, 2006.

GONTIJO, M. L. Setor movimentará R\$ 16 bi por ano e gera mais de 3 milhões de empregos diretos e indiretos (18/05/2018). Disponível em: <<https://www.comprerural.com/cavalo-emprega-mais-setor-automo/?fbclid=IwAR3ClGzy-yFUPtaGtwsQGey15czSMq2Uh50xAnCzx500AISsThZR0btayk8>>. Acessado em: 15 de novembro de 2018.

GONZÁLEZ, F.H.D., SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 73-89.

HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 4, p. 371–372, 1983.

HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J.; KANEPS, A. J. **Equine Exercise Physiology**. 1. ed. Philadelphia: Elsevier Limited, 2007. p. 27

HODGSON, D. R.; MCCUTCHEON, L. J.; BYRD, S. K.; BROWN, W. S.; BAYLY, W. M.; BRENGELMANN, G. L.; GOLLNICK, P. D. Dissipation of metabolic heat in the horse during exercise. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 74, n. 3, p. 1161–70, 1993.

HODGSON, D. R.; DAVIS, R. E.; MCCONAGHY, F. F. Thermoregulation in the horse in response to exercise. **British Veterinary Journal**, v. 150, n. 3, p. 219–235, 1994.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine**. 1. ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Company, 1994.

HOFFMAN, R. M.; HESS, T. M.; WILLIAMS, C. A.; KRONFELD, D. S.; GRIEWE-CRANDELL, K. M.; WALDRON, J. E.; GRAHAM-THIERS, P. M.; GAY, L. S.; SPLAN, R. K.; SAKER, K. E.; HARRIS, P. A. Speed associated with plasma pH, oxygen content, total protein and urea in an 80 km race. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. S34, p. 39–43, 2002.

HUCKABEE, W. E. Relationships of Pyruvate and Lactate During. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 3, n. 2, p. 264–271, 1957.

HYNES, M.J.; KELLY, M.P. Metal Ions, Chelates and Proteinates. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., **Biotechnology in the Feed Industry**, Nottingham: University Press, Nottingham, 1995. p. 233-248.

HYPPÄ, S., PÖSÖ, A. R. Fluid electrolyte, and acid-base responses to exercise in racehorses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 14, n. 1, p. 121-135, 1998.

JL L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. **Exercise and Sports Sciences Reviews**, v. 23, p. 135–141, 1995.

JR, G. F. C. **The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health**. 3. ed. Ithaca, New York: Elsevier Academic Press, 2008. 608 p.

KIM, Y.-N.; HWANG, J. H.; CHO, Y.-O. The effects of exercise training and acute exercise duration on plasma folate and vitamin B₁₂. **Nutrition Research and Practice**, v. 10, n. 2, p. 161, 2016.

KINGSTON, J. K. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A.; RAYMOND, G. (Ed.). **Equine Sports Medicine and Surgery**. 1. ed. Saunders Ltd., 2004. p. 939–948.

LACERDA-NETO, J. C. De; CÁSSIA, R. De; SAMPAIO, D. L.; FERRAZ, G. C. Efeitos do resfriamento intermitente e de repositor eletrolítico sobre a osmolalidade e eletrólitos séricos de equinos submetidos a exercício de baixa intensidade. **Revista Portuguesa De Ciências Veterinárias**, v. 98, n. 548, p. 189–195, 2003.

LAIRES, M. J.; RAYSSIGUIER, Y.; GUEZENNEC, C. Y.; ALVES, F.; HALPERN, M. J. Effect of magnesium deficiency on exercise capacity in rats. **Magnesium Research**, v. 2, n. 3, p. 136, 1989.

LANGSETMO, I.; POOLE, D. C. VO₂ recovery kinetics in the horse following moderate, heavy, and severe exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 4, p. 1170–1177, 1999.

LATHAM, C.M.; DICKSON, E. C.; LARSON, C. K.; WHITE, S. H. Complexed trace minerals: antioxidant status and oxidative stress in young exercising horses. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S21.

LEWIS, L. D. Alimentação e cuidados dos equinos para desempenho atlético. In: LEWIS, L. D. **Nutrição Clínica Equina: Alimentação e Cuidados**. 1. ed. São Paulo, SP: Roca, 2000. p. 294–343.

LESSON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial Poultry Nutrition**. 2 ed. Guelph, Ontario, Canada: University Books. 1997. 413 p.

LINDINGER, M. I. Acid-base physiology during exercise and in response to training. In: HINCHCLIFF, K. W., KANEPS, A. J., GEOR, R. J. **Equine sports medicine and surgery**. 1. ed. Philadelphia: Saunders Company, 2004. p.872-897.

LINDINGER, M. I.; WALLER, A. Muscle and blood acid-base physiology during exercise and response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; GEOR, R. J.; KANEPS, A. J. (Ed.). **Equine exercise physiology: The science of exercise in the athletic horse**. 1. ed. Philadelphia: Saunders Ltd., 2008. p. 350–381.

LINDINGER, M. I.; WALLER, A. P. Radiotracer flux of ^{24}Na , ^{42}K and ^{99}Tc -DTPA in horses during exercise and recovery. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S93.

LINDNER, A. E.; BOFFI F. M. Pruebas de ejercicio. In: BOFFI F. M. **Fisiología del Ejercicio en Equinos**, 1 ed., Bueno Aires: Inter-Médica. 2007. p.243 - 254,

LINDNER, A.; MOSEN, H.; KISSENBECK, S.; FUHRMANN, H.; SALLMANN, H. P. Effect of blood lactate-guided conditioning of horses with exercises of differing durations and intensities on heart rate and biochemical blood variables. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3211–3217, 2009.

MABE, I. **Efeitos da suplementação dietética com quelatos de zinco e de manganês na produção, qualidade de ovos e morfologia intestinal de galinhas poedeiras**. 2001. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, novembro de 2001.

MARTIN-ROSSET, W.; MARTIN, L. Princípios nutricionais para cavalos. In: MARTIN-ROSSET, W. (Ed.). **Equine Nutrition**. 1. ed. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2015. p. 84–96.

MARTIN, D. E. Measurement of climatic heat stress at outdoor venues for endurance events at the Atlanta Olympic Games, 1996. **Sports Medicine, Training and Rehabilitation**, v. 8, n. 4, p. 321–346, 1999.

MASUDA, H.; MASUDA, T.; HATTA, H. Effect of thiamin (vitamin B1) on carbohydrate metabolism at rest and during exercise. **The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine**, v. 4, n. 4, p. 337–341, 2015.

McCONAGHY, F. Thermoregulation. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine**. 1 ed. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 181-202.

MEYER, H. Nutrition of the Equine Athlete. In: GILLESPIE, J. R.; ROBINSON, N. E. **Equine Exercise Physiology 2**. Davis, California: Iceep Pubns, 1987. p. 644–673.

MELLOR, D. Historical background and fundamental concepts "of chelation". In: DWYER, F., MELLOR, D. **Chelating agents and metal chelates**. 1 ed. New York: Academic Press, 1964. 546 p.

MESSER, N.T. The use of laboratory tests in equine practice. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 11, n. 3, p. 345-350, 1995.

MIROSHNIKOV, S. A.; ZAVYALOV, O. A.; FROLOV, A. N.; BOLODURINA, I. P.; KALASHNIKOV, V. V; GRABEKLIS, A. R.; TINKOV, A. A.; SKALNY, A. V. The Reference Intervals of Hair Trace Element Content in Hereford Cows and Heifers (*Bos taurus*). **Biological Trace Element Research**, v. 180, n. 1, p. 56–62, 2017.

MOHAMMED, H. O. Evaluation of the risk of motor neuron disease in horses fed a diet low in vitamin E and high in copper and iron. **American journal of veterinary research**, v. 67, n. 1, p. 120–6, 2006.

NEWHOUSE, I. J.; FINSTAD, E. W. The effects of magnesium supplementation on exercise performance. **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 10, n. 3, p. 195–200, 2000.

National Research Council (NRC): Nutrient Requirements of Horses. 6. ed. Washington: NRC, 2007. 360 p.

OHMURA, H.; HIRAGA, A.; MATSUI, A.; AIDA, H.; INOUE, Y.; SAKAMOTO, K.; TOMITA, M.; ASAI, Y. Changes in running velocity at heart rate 200 beats/min (V200) in young Thoroughbred horses undergoing conventional endurance training. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 6, p. 634–635, 2010.

OLIVEIRA, L. A. DE; CAMPEL, J. E. G.; AZEVEDO, D. M. M. R.; COSTA, A. P. R.; TURCO, S. H. N.; MOURA, J. W. D. S. Estudo de respostas fisiológicas de eqüinos sem raça definida e da raça quarto de milha às condições climáticas de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 827–838, 2008.

PAGAN, J. D.; HARRIS, P.; BREWSTER-BARNES, Y.; DURAN, S. E.; JACKSON, S. G. Exercise affects digestibility and rate of passage of all-forage and mixed diets in thoroughbred horses. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2704S–2707S, 1998.

PINTO, L. G. **Avaliação do Exercitador Circular no Condicionamento Físico de Equinos de Iniciação Esportiva na Escola de Equitação do Exército**. 2010. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 31 de agosto de 2010.

RALSTON, S. L. Insulin and glucose regulation. **The Veterinary Clinics of North America. Equine practice**, v. 18, n. 2, p. 295–304, vii, 2002.

RIPARI, P.; PIERALISI, G.; GIAMBERARDINO, M. A.; RESINA, A.; VECCHIET, L. Effects of magnesium pidolate on some cardiorespiratory submaximal effort parameters. **Magnesium Research**, v. 2, p. 70, 1989.

ROBERT, C.; GOACHET, A.-G.; FRAIPONT, A.; VOTION, D.-M.; VAN ERCK, E.; LECLERC, J.-L. Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 38, p. 98–104, 2010.

ROBERTS, M. C. Serum and red cell folate and serum vitamin B12 levels in horses. **Australian Veterinary Journal**, v. 60, n. 4, p. 106–111, 1983.

ROBINSON, E. N. **Current Therapy in equine medicine**. 5 ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 960 p.

ROONEY, D. K. Applied Nutrition. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELLON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 2. ed. St. Louis, Missouri: Saunders, 2004. p. 235–272.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. Hematology and Biochemistry. In: HODGSON, D. R.;

- MCKEEVE, K. H.; MCGOWAN, C. M. (Ed.). **The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine**. 2. ed. Saint Louis: Elsevier Health Sciences, 2014. p. 56–68.
- SAKAMOTO, Y.; ISHIGURO, M.; KITAGAWA, G. Akaike Information Criterion Statistics. **Journal of the American Statistical Association**, v. 83, n. 403, p. 902–926, set. 1988.
- SANCHEZ, P. J. **Avaliação do desempenho em equinos suplementados com coenzima Q10**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 11 de dezembro de 2014.
- SCHLEGER, A. V.; TURNER, H. G. Sweating rates of cattle in the field and their reaction to diurnal and seasonal changes. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 1, p. 92–106, 1965.
- SCHROTER, R. C.; MARLIN, D. J.; JEFFCOTT, L. B. Use of the Wet Bulb Globe Temperature (WBGT) index to quantify environmental heat loads during three-day-event competitions. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 22, n. 22, p. 3–6, jul. 1996.
- SECKINGTON, O. R.; HUNTSMAN, R. G.; JENKINS, G. C. The serum folic acid levels of grass-fed and stabled horses. **The Veterinary Record**, v. 81, n. 7, p. 158–161, 1967.
- SILVA, J. H. V. da; PASCOAL, L. A. F. Função e Disponibilidade dos Minerais. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V. DA; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAULSCHILD, L. **Nutrição de Não Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2014. p. 128–142.
- SHILS, M.E. Magnesium. In: O'DELL, B.L.; SUNDE, R.A. **Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements**. Marcel Dekker, New York, 1997. p. 117–152.
- SMITH, F. Note on the Composition of the Sweat of the Horse. **The Journal of Physiology**, v. 11, n. 6, p. 497–503, nov. 1890.
- SPEARS, J. W. Organic trace minerals in ruminant nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 58, n. 1-2, p. 151–163, 1996.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of veterinary clinical pathology**. 1 ed. Ames, IA: Iowa State Press, 2002. 640 p.
- SUTTLE, N. F. **Mineral Nutrition of Livestock**. 4. ed. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2010. 608 p.
- TAKAHASHI-IÑIGUEZ, T.; GARCÍA-HERNANDEZ, E.; ARREGUÍN-ESPINOSA, R.; FLORES, M. E. Role of vitamin B12 on methylmalonyl-CoA mutase activity. **Journal of Zhejiang University**, v. 13, n. 6, p. 423–437, 2012.
- THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2005. 574 p.

THOMASSIAN, A.; CARVALHO, F.; WATANABE, M.J.; SILVEIRA, V.F.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 3, p. 183-190, 2007.

TITTO, E. A. L. **Taxa de sudção e composição mineral do suor de equinos das raças Bretão, Anglo-Áraba e Mangalarga**. 1994. 42 f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 1994.

TITTO, E. A. L.; PEREIRA, A. M. F.; TOLEDO, L. R. A.; PASSINI, R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; GOBESSO, A. A. de O.; ETCHICHURY, M.; TITTO, C. G. Concentração de eletrólitos em equinos submetidos a diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1, p. 236–244, 2009.

TOPLIFF, D. R., G. D. POTTER, J. L. KREIDER, AND C. R. CREAGOR. Thiamin supplementation of exercising horses. In: 7th EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SOCIETY SYMPOSIUM. 1981, Warrenton, VA. **Proceedins...** Equine Nutrition and Physiology Society, 1981. p. 167.

TREIBER, K. H.; HESS, T. M.; KRONFELD, D. S.; BOSTONF, R. C.; GEOR, R. J.; FRIERE, M.; SILVA, A. M. G. B.; HARRIS, P. A. Glucose dynamics during exercise: dietary energy sources affect minimal model parameters in trained Arabian geldings during endurance exercise. **Equine Exercise Physiology**, v. 36, p. 631–636, 2006.

TRILK, J. L. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal Supplements**, v. 34, p.122-125, 2002.

VALLI, C.; STUCCHI, L.; STANCARI, G.; ZUCCA, E.; FERRUCCI, F. Creatine kinase reference intervals at rest and after maximal exercise in Standardbred racehorses. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S91.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991.

VERNON, H. M. The measurement of radiant heat in relation to human comfort. **Journal of Industrial Hygiene**, v. 14, p. 95–111, 1932.

VERVUERT, I.; COENEN, M.; BICHMANN, M. Comparison of the effects of fructose and glucose supplementation on metabolic responses in resting and exercising horses. **Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine**, v. 51, n. 4, p. 171–177, 2004.

VOLFINGER, L.; LASSOURD, V.; MICHAUX, J. M.; BRAUN, J. P.; TOUTAIN, P. L. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released. **The American journal of physiology**, v. 266, n. 2 Pt 2, p. R434-441, 1994.

WALLER, A. P.; LINDINGER, M. I. Pre-exercise oral electrolyte supplementation enhances skeletal muscle ion influx during recovery. In: 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE EXERCISE PHYSIOLOGY. n. 14, v. 1, 2018, Lorne, AU. **Resumos...** Comparative Exercise Physiology, 2018, p. S26.

WHITE, S. H.; WARREN, L. K. Submaximal exercise training, more than dietary selenium supplementation, improves antioxidant status and ameliorates exercise-induced oxidative damage to skeletal muscle in young equine athletes. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 2, p. 657, 2017.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. 2.ed. São Paulo: Manole, 2001. 709 p.

WILSON, L. Hair Mineral Analysis: An Introduction. In: **Healthscope Pathology**. [s.l.] L.D Wilson Consultants, Inc., 2016. p. 167–168.

YAVARI, A.; JAVADI, M.; MIRMIRAN, P.; BAHADORAN, Z. Exercise-Induced Oxidative Stress and Dietary Antioxidants. **Asian Journal of Sports Medicine**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2015.

YOUNG, L. R.; BACKUS, R. C. Serum 25-hydroxyvitamin D3 and 24R,25-dihydroxyvitamin D3 concentrations in adult dogs are more substantially increased by oral supplementation of 25-hydroxyvitamin D3 than by vitamin D3. **Journal of Nutritional Science**, v. 6, n. 30, p. 1-4, 2017.