

Universidade Federal de Minas Gerais

OS EFEITOS DO 1,25- DIHIDROXICOLECALCIFEROL E VITAMINA D₃
NO DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE

Fernanda Lima de Souza Castro

Belo Horizonte

2016

Fernanda Lima de Souza Castro

Os efeitos do 1,25- dihidroxicolecalciferol e vitamina D₃ no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção de não-ruminantes

Prof. Orientador: Dr. Leonardo José Camargos Lara

Belo Horizonte

2016

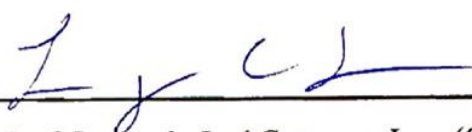
C355e Castro, Fernanda Lima de Souza, 1990-
Os efeitos do 1,25- dihidroxicolecalciferol e vitamina D3 no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte / Fernanda Lima de Souza Castro. – 2016.
42 p. : il.

Orientador: Leonardo José Camargos Lara
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

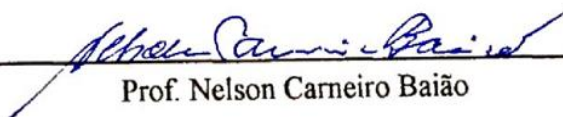
1. Frango de Corte – Alimentação e rações – Teses. 2. Suplemento alimentar – Teses.
3. Vitaminas na nutrição animal – Teses. 4. Desempenho produtivo – Teses. I. Lara,
Leonardo José Camargos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de
Veterinária. III. Título.

CDD – 636.508 5

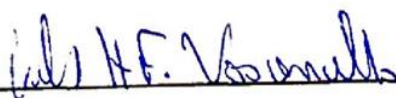
Dissertação defendida e aprovada em 28/01/2016 pela Comissão Examinadora composta pelos seguintes membros:



Prof. Leonardo José Camargos Lara (Orientador)



Prof. Nelson Carneiro Baião



Prof. Carlos Henrique de Figueiredo Vasconcellos

Dedicatória aos meus pais, Maury e Maria Alice,
pela vida, apoio e amor incondicional.

Agradecimentos

Aos meus pais Maury e Maria Alice, pelo grande incentivo e amor.

Aos meus irmãos André e Flávia, pelo apoio.

Ao Rafael pela paciência e companheirismo.

Ao meu Orientador, Professor Leonardo Lara, e ao Professor Baião, pelo exemplo, disponibilidade, conhecimento e amizade.

Ao Professor Louzada e a aluna Bruna da UNESP Araçatuba, pela disponibilidade e grande ajuda nas análises ósseas.

À Professora Roselene e seus alunos Camila e Juliana, pela grande atenção e ajuda nas análises de histopatologia.

Ao meus amigos da Avicultura, que tornaram esse trajeto possível e prazeroso.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Hélio Barbosa.

À Escola de Veterinária da UFMG, pela estrutura e apoio.

A todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | 9 |
| ABSTRACT..... | 10 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | |
| 2.1. Metabolismo da D ₃ | 12 |
| 2.2. Funções da vitamina D ₃ | 13 |
| 2.3. Níveis e formas de suplementação da vitamina D ₃ | 15 |
| 2.4. A <i>Solanum glaucophyllum</i> como fonte de 1,25-(OH) ₂ D ₃ e os efeitos no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte..... | 17 |
| 3. OBJETIVOS | |
| 3.1. Objetivos gerais..... | 19 |
| 3.2. Objetivos específicos..... | 19 |
| 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 19 |
| 5. O EFEITO DO 1,25- DIHIDROXICOLECALCIFEROL E DOIS NÍVEIS DE COLECALCIFEROL NO DESEMPENHO E QUALIDADE ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE..... | 25 |
| 6. APÊNDICE | 41 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Composição das dietas..... | 29 |
| Tabela 2: Efeito do 1,25(OH) ₂ D ₃ e dos níveis de vitamina D ₃ sobre o consumo de ração (CR), peso corporal (PC) e conversão alimentar (CA) dos frangos aos 21 e 40 dias de idade..... | 31 |
| Tabela 3: Efeito do 1,25(OH) ₂ D ₃ e dos níveis de vitamina D ₃ nas cinzas (C), cálcio (Ca) e fósforo (P) dos ossos dos frangos aos 21 e 40 dias de idade..... | 33 |
| Tabela 4: Efeito do 1,25(OH) ₂ D ₃ e dos níveis de vitamina D ₃ na força máxima (FM – resistência), rigidez (R) e tenacidade (T) aos 21 e 40 dias de idade..... | 34 |
| Tabela 5: DMO (g/cm ²) aos 21 dias de acordo com os tratamentos..... | 41 |
| Tabela 6: DMO (g/cm ²) aos 40 dias de acordo com os tratamentos..... | 42 |

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Secções histológicas das tíbias dos frangos aos 40 dias de idade. As imagens A, B, C e D referem, respectivamente, a frangos alimentados com 100% de vitamina D₃ sem 1,25-(OH)₂D₃, 100% de vitamina D₃ com 1,25-(OH)₂D₃, 50% de vitamina D₃ sem 1,25-(OH)₂D₃; e 50% vitamina D₃ com 1,25-(OH)₂D₃. É possível observar, em todas as imagens, a espessura das placas ósseas, formação das trabéculas ósseas e vascularização. HE, 10x.....36

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida para avaliar os efeitos de dois níveis de vitamina D₃ (colecalfiferol) e a inclusão ou não de 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte. Foram utilizadas, *ad libitum*, dietas para as fases inicial (1 a 21 dias) e de crescimento (22 a 40 dias). O suplemento vitamínico forneceu quantidades adequadas de todas as vitaminas, exceto a vitamina D₃. Os níveis de vitamina D₃ utilizados foram: 2.500 e 2.000 UI/kg, para a fase inicial e de crescimento, respectivamente, de acordo com os níveis comercialmente utilizados, e 1.250 e 1.000 UI/kg, para a fase inicial e de crescimento, respectivamente, representando uma redução de 50%. A fonte de 1,25-(OH)₂D₃ foi um produto comercial a base de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* (0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2x2. 960 pintos machos Cobb[®]500 de um dia foram distribuídos aleatoriamente em 32 boxes, com 30 pintos cada. Cada tratamento apresentou oito repetições. Com 21 e 40 dias de idade, um frango por repetição foi abatido e as tíbias e fêmures retirados. Os ossos foram avaliados pela determinação do conteúdo mineral, ensaio biomecânico e análise morfológica. Não foram observadas diferenças significativas relacionadas aos níveis de vitamina D₃ e a adição ou não do 1,25-(OH)₂D₃ para desempenho, conteúdo mineral, resistência, rigidez e morfologia. A tenacidade foi menor quando o 1,25-(OH)₂D₃ foi utilizado aos 21 dias, no entanto, esse efeito não persistiu aos 40 dias de idade das aves. A redução em até 50% nos níveis de vitamina D₃ foi suficiente para assegurar o desempenho e desenvolvimento ósseo dos frangos aos 21 e 40 dias de idade. A inclusão de 0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg, como suplementação em dietas com níveis suficientes de vitamina D₃, não apresentou efeito na melhora do desempenho e da qualidade óssea dos frangos aos 21 e 40 dias de idade.

Palavras-chave: vitamina D₃, 1,25-(OH)₂D₃, frangos de corte, qualidade óssea

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of two levels of vitamin D₃ (cholecalciferol) and the inclusion or not of 1,25- dihydroxycholecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) on live performance and bone quality of broiler chickens. Diets for starter (1 to 21d) and grower (22 to 40d) periods were used *ad libitum*. A vitamin supplement provided adequate amounts of all vitamins except for vitamin D₃. The vitamin D₃ levels were: 2.500 and 2.000 UI/kg, for the starter and grower periods, respectively, according to levels commercially used, and 1.250 and 1.000 UI/kg, representing a reduction of 50%. The 1,25-(OH)₂D₃ source was a commercial product consisting of dried leaves of *Solanum glaucophyllum* (0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg). The experimental design was completely randomized in a 2x2 factorial arrangement. 960 day-old male Cobb[®]500 broiler chicks were randomly distributed into 32 floor pens, with 30 chicks each. Each treatment was replicated eight times. On day 21 and 40, one broiler per replicate was killed and tibiae and femora were removed. The bones were analyzed through mineral content determination, a biomechanical assay and morphological analysis. No significant differences were found related to vitamin D₃ levels and the addition or not of 1,25-(OH)₂D₃ for live performance, mineral content, strength, stiffness and morphology. Toughness was lower when 1,25-(OH)₂D₃ was used at 21 days, but this effect did not persist at 40 days of age. The reduction up to 50% of the vitamin D₃ levels is sufficient to ensure the performance and bone development of broilers at 21 and 40 days of age. The inclusion of 0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg in addition to diets with sufficient levels of vitamin D₃ showed no effect on the improvement of live performance and bone quality at 21 and 40 days of age.

Key-words: vitamin D₃, 1,25-(OH)₂D₃, broilers, bone quality.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o Brasil tem apresentado papel expressivo no crescimento e desenvolvimento do setor mundial de produção de carne de frango. A produção nacional, em 2015 alcançou a marca de 13,08 milhões de toneladas, conferindo ao país a posição de segundo maior produtor mundial de carne de frango, atrás apenas dos Estados Unidos. Com a exportação de aproximadamente 32,3% da produção nacional, o Brasil se sustenta na posição de maior exportador do segmento. O consumo per capita desse produto entre 2000 a 2014 aumentou em 43,02%, e as projeções mostram que esse setor deve continuar a apresentar crescimento de 4,2% anualmente até 2022 (Projeções..., 2011; Livestock..., 2015; Relatório..., 2015).

Com o objetivo de atender essa demanda crescente por alimento, aumentou-se o uso de aves especializadas com potencial genético para rápido crescimento e demais índices zootécnicos de interesse para a produção. De acordo com Silva Júnior et al. (2005), nos últimos 50 anos, o ganho de peso médio diário aumentou de 20g/dia para mais de 50g/dia e a idade ao abate reduziu de 12 para seis semanas. Tal mudança foi acompanhada pelo surgimento de diversos problemas, tais como: aumento da deposição de gordura corporal e mortalidade, alta incidência de doenças metabólicas, como ascite e morte súbita e maior ocorrência de anomalias ósseas.

O rápido desenvolvimento muscular, em especial do peito, inicialmente não foi acompanhado pelo suporte ósseo adequado, que permaneceu imaturo, sobrecarregando, o sistema locomotor. Como consequência, tem-se maior mortalidade, diminuição do bem estar das aves ao prejudicar seu deslocamento e acesso à água e alimento, além do aumento nas condenações de carcaça em função de fraturas decorrentes da fragilidade óssea durante a apanha, transporte e abate, resultando em perdas econômicas expressivas (Silva et al., 2001; Araújo et al., 2012; Souza e Vieites, 2014).

Algumas causas de deformidades do esqueleto dos frangos têm sido identificadas, como: de origem genética, práticas de manejo, desequilíbrios nutricionais e ambiência (Silva et al., 2001). Dessa forma, têm-se estudado medidas para reduzir as perdas, em especial com relação a enfermidades ósseas, à partir da formulação de dietas mais específicas. Dentre os nutrientes pesquisados, destacam-se a vitamina D e seus metabólitos, que apresentam importante participação no metabolismo do cálcio (Ca) e fósforo (P), e, conseqüentemente, no crescimento esquelético, responsável por sustentar o desenvolvimento dos músculos.

O conteúdo de vitamina D presente nas matérias primas utilizadas para alimentação animal normalmente é ignorado durante a formulação e a necessidade dessa vitamina é suprida, por completo, pela adição de suplementos vitamínicos. No entanto, sabe-se que as indústrias de suplemento trabalham com uma margem de segurança de aproximadamente cinco a 10 vezes acima das necessidades reais das aves, principalmente para vitaminas lipossolúveis. Esse excesso de vitamina D é apontado como causa de hipercalcemia, mineralização de tecidos moles e aumento na mortalidade. Logicamente, a suplementação acima das necessidades das aves, independentemente dos possíveis problemas resulta, garantidamente, em aumento nos custos (Nutrient..., 1994; Coelho et al., 2001). Desse modo, diversos trabalhos foram conduzidos com inclusão de diferentes níveis e fontes de vitamina D, com o objetivo de determinar as melhores condições para um bom desempenho dos frangos e retorno econômico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Metabolismo da vitamina D₃

A vitamina D é uma molécula lipossolúvel semelhante aos esteroides e pode ser encontrada, principalmente, na forma de ergocalciferol (vitamina D₂, de origem fúngica e tradicionalmente associada à vegetais) e colecalciferol (vitamina D₃, de origem animal). Como a potência da vitamina D₂ é 10 vezes inferior à da vitamina D₃, para frangos de corte, a vitamina D₃ é a mais utilizada (McDonald et al., 1995).

A vitamina D₃ pode ser obtida da dieta, ou pela produção endógena à partir do 7-deidrocolesterol (pró vitamina D₃). Essa conversão ocorre na pele, em especial na epiderme, mediada pela ação da radiação ultravioleta. Para frangos de corte, acredita-se que essa transformação ocorra, satisfatoriamente, caso os animais sejam expostos a um período de 11 a 45 minutos de luz solar/dia, o que não acontece com as aves criadas comercialmente, tornando a suplementação dietética necessária. A suplementação com 1,25-(OH)₂D₃ e a presença de luz fluorescente são igualmente efetivos na redução do desenvolvimento de discondroplasia tibial e raquitismo em frangos de corte (Elliot e Edwards Jr., 1997, Pizauro Jr. et al., 2002; Peixoto et al., 2012).

Quando fornecida na dieta, a vitamina D é absorvida no intestino delgado, com a participação dos sais biliares. A vitamina D entra na circulação, primariamente, por

quilomícrons, e é ligada, gradativamente, à proteína ligante de vitamina D (DBP ou transcalfiferina), sintetizada no fígado. Enquanto se encontra na circulação na forma de quilomícrons, a vitamina D pode ser sequestrada por tecidos periféricos, como tecido adiposo e muscular. O fígado é responsável por retirar, da corrente sanguínea, o restante da vitamina D em forma de quilomícron. A meia vida plasmática da vitamina D é de quatro a seis horas (Mawer et al., 1971; Jones, 2008).

No fígado, ocorre a primeira hidroxilação, na posição do carbono 25, pela enzima vitamina D₃-25-hidroxilase, formando o 25-hidroxicolecalciferol (25-(OH)D₃) ou calcidiol. O 25-(OH)D₃ é a forma predominante no plasma e é uma importante fonte de armazenamento da vitamina no organismo. Esse metabólito tem forte afinidade pela DBP. A DBP protege os metabólitos da vitamina D, conferindo aos mesmos maior meia vida plasmática, além de prevenir uma possível intoxicação dos tecidos quando esses se encontram em excesso. Como consequência, a meia vida plasmática do 25-(OH)D₃ é de cinco dias na circulação (Mawer et al., 1971; Jones, 2008; Kochupillai, 2008; Peixoto et al., 2012).

O 25-(OH)D₃ é transportado para os rins, pela DBP, onde passa por uma segunda hidroxilação e é convertido em 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) ou calcitriol, metabólito mais potente da vitamina D. A conversão de calcidiol em calcitriol é mediada pela enzima 25-hidroxivitamina D₃-1 α -hidroxilase e fortemente regulada pela concentração de 1,25-(OH)₂D₃, cálcio e pelo paratormônio (PTH). A meia vida plasmática do 1,25-(OH)₂D₃ é de 10 a 20h (Mawer et al., 1971; Jones et al., 1998).

Quando a concentração de 1,25-(OH)₂D₃ no plasma é suficiente, o 25-(OH)D₃ pode ser convertido, no fígado, em 1- α -hidroxicolecalciferol (1 α -(OH)D₃), um metabólito ativo, porém com atividade reduzida (Torres, 2012).

Como rota alternativa, e possivelmente catabólica, o 25-(OH)D₃ e o 1,25-(OH)₂D₃ podem ser hidroxilados pela enzima 25-hidroxivitamina D₃-24-hidroxilase em 24,25-dihidroxicolecalciferol (24,25-(OH)₂D₃). Essa reação pode ocorrer em diversos locais do organismo, como os rins, enterócitos, osteoblastos, queratinócitos e células da paratireoide e culmina com a formação do ácido calcitróico, que é excretado junto à bile (Jones et al., 1998).

2.2. Funções da vitamina D₃

Como forma mais ativa, o 1,25-(OH)₂D₃ age em diversos tecidos de maneira semelhante a um hormônio esteroide. Essa ação envolve um receptor nuclear (receptor de vitamina D, ou

VDR), que regula a transcrição de genes em diversas células alvo do organismo (Jones et al., 1998).

O 1,25-(OH)₂D₃ desempenha importante papel na homeostase do cálcio através da sua ação nos rins, intestino e ossos. O Ca é o mineral mais prevalente no corpo e é necessário na dieta em quantidades maiores que qualquer outro mineral. O Ca possui papel essencial na formação dos ossos, com 99% do total de Ca existente no organismo localizado nesse tecido (Matos, 2008).

Além de fornecer suporte estrutural e força nos ossos, também apresenta participação fundamental em reações bioquímicas no corpo. A presença desse mineral, no plasma ou em reserva, está diretamente relacionada à condução de estímulos nervosos, contração e relaxamento muscular, coagulação sanguínea, controle de hormônios como a vitamina D₃, paratormônio e calcitonina, além de prover a quantidade de cálcio necessária para a formação de um esqueleto completamente novo para animais em desenvolvimento embrionário e favorecer a reprodução (Jones et al., 1998; Rosol et al., 2000).

A ação do 1,25-(OH)₂D₃ na regulação do cálcio está diretamente ligada ao PTH. O PTH é um hormônio peptídico produzido pelas glândulas paratireoides e tem como principal função, diretamente nos ossos e rins e indiretamente no intestino, via vitamina D₃, manter os níveis de Ca no plasma suficientes para atender as demandas do organismo. Esse hormônio possui receptores nos néfrons e nos osteoblastos, mas não os possui no intestino e nos osteoclastos, onde age por intermédio da vitamina D. A ação sinérgica de ambos hormônios, 1,25-(OH)₂D₃ e PTH, é necessária para que o organismo funcione corretamente (Abou-Samra et al., 1994; Jones et al., 1998; Rosol et al., 2000).

Os papéis do 1,25-(OH)₂D₃ nos ossos, assim como sua ativação, é dependente dos níveis sanguíneos de Ca e P. Nos rins, quando há redução dos níveis plasmáticos de Ca, o PTH bloqueia a reabsorção de fosfato, ativa a enzima que converte o 25-(OH)D₃ em 1,25-(OH)₂D₃, bloqueia a enzima responsável pela eliminação da vitamina D além de promover, junto ao 1,25-(OH)₂D₃, a reabsorção de cerca de 1% do Ca filtrado (Garabedian et al., 1972, Tanaka et al., 1973, Jones et al., 1998, Klasing, 1998).

No intestino delgado, o 1,25-(OH)₂D₃ facilita a absorção do Ca dietético pela parede do duodeno e jejuno ao aumentar a síntese de proteínas ligadoras de Ca, em especial a calbindina D_{28k}, e induz a formação de canais de cálcio no duodeno (Norman et al., 1993; Klasing, 1998; Christakos et al., 2007; Matos, 2008).

Nos ossos, há ativação dos osteoblastos, resultando em um estímulo nos osteoclastos para absorção óssea e/ou para ativar o transporte de Ca do compartimento ósseo para o plasma (Jones et al., 1998).

Por outro lado, altas concentrações plasmáticas de Ca irão reduzir a produção e ação do PTH e 1,25-(OH)₂D₃, além de aumentar a produção de calcitonina pelas células C da tireoide. A calcitonina, um hormônio peptídico, atua, principalmente, nos osteoclastos e osteócitos ao reduzir a atividade de mobilização de Ca dos ossos. Dessa forma, há redução dos níveis plasmáticos de Ca (Jones et al., 1998).

Além da conhecida ação no metabolismo do Ca e P, o 1,25-(OH)₂D₃ aumenta a diferenciação das células precursoras e o recrutamento de osteoclastos, atua diretamente nos condrócitos da placa de crescimento ósseo, estimula a síntese de proteínas pelos osteoblastos e participa da mineralização da matriz, favorecendo o remodelamento ósseo. Há também atuação dessa vitamina na resposta imune, agindo em mecanismos antiproliferativos, pró diferenciação e imunomodulatórios, sendo um potente regulador do sistema imunológico, em especial das células T (Kochupillai, 2008; Muszkat et al., 2010; Souza, 2012, Souza et al., 2013).

2.3. Níveis e formas de suplementação da vitamina D₃

Comercialmente, existem disponíveis diversas fontes de suplementação da vitamina D₃, seja em sua forma não hidroxilada ou sob a forma de seus metabólitos, 25-hidroxicolecalciferol (25-(OH)D₃), 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) e 1 α -hidroxicolecalciferol (1 α (OH)D₃). A utilização desses análogos, por se apresentarem em uma forma mais ativa e, conseqüentemente, mais disponível para utilização, pode reduzir a energia despendida com a metabolização da vitamina, melhorando a eficiência produtiva do lote de frangos. A ordem dos metabólitos, da menor para a maior atividade, é: D₃, 25-(OH)D₃, 1 α (OH)D₃ e 1,25-(OH)₂D₃, com a primeira usualmente incluída nas formulações de ração para aves (Edwards Jr., 2002; Garcia et al., 2013).

No Brasil, os níveis recomendados de vitamina D₃ apresentam grande variação na literatura e ainda são pouco definidos. De acordo com o NRC (Nutrient..., 1994), a recomendação é de 200 UI de vitamina D₃/kg para todas as fases de criação. Segundo Rostagno et al. (2011), os níveis sugeridos para as fases pré-inicial (1-7 dias), inicial (8-21 dias), crescimento I (22-33 dias), crescimento II (34-42 dias) e final (43-49 dias), são 2.375, 2.090, 1.900, 1.425, 1.235 UI/kg de ração, respectivamente. O manual de linhagem Cobb 500[®]

(Broiler..., 2015) recomenda o uso de 5.000UI de vitamina D₃/kg, para todas as fases de criação. Uma Unidade Internacional (UI) de vitamina D₃ é definida como a atividade de 0,025µg de vitamina D₃ (Nutrient..., 1994).

Lofton e Soares (1986) estudaram a exigência de vitamina D₃ para frangos utilizando dietas que não continham vitamina D₃ as quais foram suplementadas com fonte cristalina da vitamina em níveis variando de zero a 8.000 UI D₃/kg de ração. Os dados indicaram que, para máximo crescimento e calcificação óssea, a suplementação com 400 UI D₃/kg foi suficiente ($p \leq 0,05$). Quando níveis inferiores foram utilizados, houve piora nos parâmetros estudados e nenhuma melhora foi observada quando níveis superiores foram empregados ($p \leq 0,05$).

Fritts e Waldroup (2003) compararam o desempenho e qualidade óssea de frangos aos 21 e 42 dias de idade suplementados com D₃ e 25-(OH)D₃ em níveis variando de 125 a 4.000 UI/kg de vitamina D₃. Os autores observaram que, aos 21 dias de idade, o peso corporal foi significativamente maior em animais recebendo 25-(OH)D₃ em comparação aos animais suplementados com D₃ ($p \leq 0,05$) e quando níveis acima de 500 UI/kg foram utilizados, sem interação entre os tratamentos ($p > 0,05$). Aos 42 dias de idade, houve interação entre a fonte e os níveis utilizados ($p \leq 0,05$) para o peso corporal e conteúdo de cinzas ósseas. Quando a D₃ foi utilizada como fonte vitamínica, foram necessários 1.000 a 2.000 UI/kg para maximizar o peso corporal e conteúdo de cinzas dos ossos. Por outro lado, quando 25-(OH)D₃ foi utilizado, não houve diferença entre os níveis estudados, sugerindo que o uso de 125 UI/kg foi suficiente para maximizar as duas variáveis. Os autores concluíram que a suplementação com 25-(OH)D₃ como fonte de vitamina D₃ pode permitir a redução dos níveis dessa vitamina para frangos de corte.

Trabalhos conduzidos por Garcia et al. (2013 e 2014) compararam os efeitos dos quatro análogos da vitamina D₃ na dieta sobre o desempenho, parâmetros ósseos e imunológicos, qualidade da carne e morfometria intestinal em frangos de corte. Os quatro tratamentos eram as diferentes fontes de suplementação (1,25-(OH)₂D₃, 1α(OH)D₃, 25-(OH)D₃ e D₃) substituindo a vitamina D₃, com níveis de inclusão de 2000 UI/kg de um a 21 dias, e 1600 UI/kg de 22 a 42 dias de idade. Os animais alimentados com 1α(OH)D₃ apresentaram menor peso médio e pior conversão alimentar por todo o período experimental ($p \leq 0,05$), o que pode ser explicado pelos efeitos de redução do consumo, e conseqüente queda no desempenho, causado pela toxicidade prolongada desse metabólito. Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis indicativas de qualidade de carne e ossos. Os autores concluíram que os metabólitos da vitamina D₃ afetaram positivamente a morfometria intestinal na fase inicial, tendo o 1,25-(OH)₂D₃ alcançado melhores resultados. Os parâmetros imunológicos foram similares entre os tratamentos.

2.4. A *Solanum glaucophyllum* 1,25-(OH)₂D₃ e os efeitos no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte

A *Solanum glaucophyllum* (SG), também conhecida como *Solanum malacoxylon*, é uma planta nativa da América do Sul e Índia. Intoxicações pela ingestão de SG têm sido descritas em ruminantes e se caracterizam por perda de peso, calcificação de tecidos moles incluindo aorta, coração, rins, intestino e útero. Esses sintomas são compatíveis com os sinais de hipervitaminose D₃. Como a vitamina D₃ era considerada ausente nas plantas, tais achados motivaram a pesquisa dessa vitamina e seus metabólitos de origem herbal (Worker e Carrilo, 1967, Mello, 2003; Jäpelt e Jakobsen, 2013).

Diversos estudos revisados por Jäpelt e Jakobsen (2013) indicaram a presença de pró vitamina D₃ (7-dehidrocolesterol) em plantas da família *Solanaceae*, com concentração variando de acordo com a metodologia e parte da planta utilizada. A presença da vitamina D₃ nas plantas não é necessariamente dependente da fotoconversão do 7-dehidrocolesterol em vitamina D₃ por raios UVB. Entretanto, plantas expostas a raios UVB apresentaram concentrações de vitamina D₃ de 18 a 64 vezes maiores que aquelas não expostas à luz (Jäpelt et al., 2012).

Com relação aos metabólitos hidroxilados da vitamina D₃, a rota bioquímica que resulta na ativação da vitamina D₃ nas plantas ainda não é bem definido. Sabe-se que atividade das enzimas 25-hidroxilase e 1 α -hidroxilase foram localizadas nos microsomos e mitocôndrias, respectivamente. Entretanto, essas enzimas não foram isoladas das plantas para confirmar sua atividade catalítica (Esparza et al., 1982).

Experimentalmente, a presença de 25-(OH)D₃ e 1,25-(OH)₂D₃ foi demonstrada por Napoli et al. (1977) e Bachmann et al. (2013). Bachmann et al. (2013) constataram que aproximadamente 90% dos metabólitos da vitamina D presentes na planta eram na forma de 1,25-(OH)₂D₃ glicosado, e menos de 10% se encontravam sob a forma de 1,25-(OH)₂D₃ livre, 25-(OH)D₃ e vitamina D₃. Ainda de acordo com esses autores, a SG tem em sua composição 54,3% de carboidratos, 24,9% de proteínas, 4,1% de água e 17,1% de minerais. Entretanto, a varia de acordo com as condições do ambiente no qual a planta foi cultivada.

A confirmação da presença de vitamina D₃ e seus metabólitos, principalmente a forma ativa da vitamina D₃ (1,25-(OH)₂D₃), em plantas da família *Solanaceae* estimulou a pesquisa de possíveis aplicações farmacológicas dessas plantas na medicina humana e veterinária, incluindo animais de produção (Jäpelt e Jakobsen, 2013).

Souza et al. (2013) avaliaram o desempenho e rendimento de carcaça e cortes de frangos suplementados com 1,25-(OH)₂D₃, proveniente da *Solanum glaucophyllum*, em vários níveis de inclusão variando de zero a 5,0 µg de 1,25-(OH)₂D₃/kg, e redução de Ca e P disponível na dieta. Os autores concluíram que o uso do 1,25-(OH)₂D₃ de origem herbal influenciou positivamente ($p \leq 0,05$) o ganho de peso e a conversão alimentar com a inclusão de 1,0 e 2,0 µg/kg, em conjunto com a redução de 20,0% de cálcio e fósforo disponível. O consumo de ração e rendimento de carcaça e cortes não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) para os níveis estudados. Trabalho semelhante foi conduzido por Vieites et al. (2014) que utilizaram níveis variando de zero a 2,5 µg de 1,25-(OH)₂D₃/kg, mantendo os níveis de Ca e P. Diferente dos resultados encontrados por Souza et al. (2013), o uso de até 2,5 µg/kg de ração não influenciou ($p > 0,05$) o desempenho. Os rendimentos de carcaça e de cortes nobres dos frangos de corte também não foram afetados pelos tratamentos avaliados ($p > 0,05$). Esses resultados estão de acordo com grande parte dos estudos que envolvem a vitamina D₃, indicando que, quando os níveis de cálcio e fósforo disponível estão atendendo às necessidades nutricionais, não são verificados efeitos diretos da suplementação desta vitamina (Edwards Jr., 2002).

Alves (2014) avaliou o desempenho e qualidade óssea de frangos de corte recebendo dietas com níveis variados de vitamina D₃ (100%, 75%, 50%, 25%, 0%) suplementados com 1,25-(OH)₂D₃ obtido de folhas secas de *Solanum glaucophyllum*, aos 21 e 42 dias de idade, comparados ao tratamento controle (100% de vitamina D₃ sem suplementação). Aos 21 dias de idade, os frangos que receberam o tratamento com 75% vitamina D₃ + 1,25-(OH)₂D₃ apresentou maior peso médio ($p \leq 0,05$), quando comparado aos do grupo controle, e, aqueles que receberam o tratamento com o 1,25-(OH)₂D₃ como fonte única de vitamina D₃ apresentaram peso médio menor que o controle ($p \leq 0,05$). Aos 42 dias, a melhora observada nas aves tratadas com 75% vitamina D₃ + 1,25-(OH)₂D₃ não persistiu. Entretanto, os piores resultados de ganho de peso para o tratamento zero de vitamina D₃ + 1,25-(OH)₂D₃ se mantiveram, nesse período. A morfometria óssea dos frangos não foi influenciada pelos tratamentos, nas duas idades. O percentual de cinzas e a resistência óssea, aos 21 e 42 dias, foram menores ($p \leq 0,05$) nas tíbias de aves alimentadas com zero de vitamina D₃ + 1,25-(OH)₂D₃, e o percentual de Ca foi maior ($p \leq 0,05$) quando as aves receberam 75% de vitamina D₃ + 1,25-(OH)₂D₃. O autor constatou que a redução para 75% no nível de vitamina D₃ suplementado com 1,25(OH)₂D₃ foi capaz de manter os parâmetros de desempenho zootécnico e qualidade óssea, aos 21 e 42 dias. Porém, a utilização do 1,25(OH)₂D₃ como fonte única de vitamina D₃, na quantidade avaliada, prejudicou o desempenho zootécnico e resultou em piora dos parâmetros ósseos, nas duas idades.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

Estudar os efeitos da redução dos níveis de vitamina D₃ e a suplementação ou não com 1,25(OH)₂D₃ sobre o consumo de ração, peso corporal, conversão alimentar, viabilidade, conteúdo mineral, características biomecânicas e morfologia de ossos de frangos aos 21 e 40 dias de idade.

3.2. Objetivos específicos

- 3.2.1. Verificar como a redução em 50% dos níveis de vitamina D₃ utilizados comercialmente afeta o desempenho e qualidade óssea de frangos de corte.
- 3.2.2. Verificar como a suplementação com 1,25(OH)₂D₃ de origem herbal afeta o desempenho e qualidade óssea de frangos de corte.
- 3.2.3. Verificar como os níveis de vitamina D₃ e a inclusão ou não de 1,25(OH)₂D₃ interagem para as variáveis de desempenho e qualidade óssea em frangos de corte.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-SAMRA, A.B.; JUPPNER, H.; KONG, X.F. *et al.* Structure, function, and expression of the receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide. *Adv. Nephrol.*, v.23, p. 247-264, 1994.

ALVES, O.S. *Efeito dos níveis de vitamina D₃ em premix e suplementação com 1,25(OH)₂D₃ na ração de frangos de corte.* 2014. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. *Arch. Zootec.*, v.61, n.R, p.79-89, 2012.

BACHMANN, H.; AUTZEN, S.; FREY, U. *et al.* The efficacy of a standardized product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol for poultry. *Br. Poult. Sci.*, v.54, n.5, p. 642-652, 2013.

CHRISTAKOS, S.; DHAWAN, P., BENN, B. *et al.* Vitamin D: molecular mechanism of action. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v.1116, p.340-348, 2007.

COELHO, M.; MCKIGHT, W.; COUSINS, B. Effect of targeted B-vitamin regimen on rate and efficiency of fast growing broilers from 0 to 49 days. *Poult. Sci.*, v.80, n.832, supl.1, p.201, 2001.

EDWARDS JR, H.M. Studies on the efficacy of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. *Poult. Sci.*, v.81, n.7, p.1026-1031, 2002.

ELLIOT, M.A.; EDWARDS JR. H.M. Effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol, cholecalciferol, and fluorescent lights on the development of tibial dyschondroplasia and rickets in broiler chickens. *Poult. Sci.*, v.76, n.4, p.570-580, 1997.

ESPARZA, M.S.; VEGA, M.; BOLAND, R.L. Synthesis and composition of vitamin D₃ metabolites in *Solanum malacoxylon*. *Biochim. Biophys Acta.*, v.19, n.3, p.633-640, 1982.

FRITTS, C.A.; WALDROUP, P.W. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. *J. Appl. Poult. Res.*, v.12, p.45-52, 2003.

GARABEDIAN, M.; HOLICK, M.F.; DELUCA, H.F.; BOYLE, I.T. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by the parathyroid glands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* v.69, n.7, p.1673-1676, 1972.

GARCIA, A.F.Q.M.; MURAKAMI, A.E.; DUARTE, C.R.A. *et al.* Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, v.26, n.3, p.408-415, 2013.

GARCIA, A.F.Q.M.; MURAKAMI, A.E.; SANTOS, T.C. *et al.* Utilização da vitamina D₃ e seus metabólitos na alimentação de frangos de corte sobre parâmetros imunológicos e morfometria intestinal. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.34, n.5, p.477-484, 2014.

JÄPELT, R.B.; JAKOBSEN, J. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front Plant Sci.*, v. 4, n.136, p.1-20, 2013.

JÄPELT, R.B.; SILVESTRO, D.; SMEDSGAARD, J. *et al.* Quantification of vitamin D₃ and its hydroxylated metabolites in waxy leaf nightshade (*Solanum glaucophyllum* Desf.), tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chem.*, v. 138, n.2013, p.1206-1211, 2012.

JONES, G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.88, n.2, p.582S-586S, 2008.

JONES, G.; STRUGNELL, S.A; DELUCA H.F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol. Rev.*, v.78, n.4, p.1193–1231, 1998.

KLASING, K.C. Vitamins. In: *COMPARATIVE avian nutrition*. New York: CAB International, 1998. p. 277–329.

KOCHUPILLAI, N. The physiology of vitamin D: current concepts. *Indian J. Med. Res.*, v.127, n.3, p.256-262, 2008.

LIVESTOCK and poultry: world markets and trade. USDA, 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acessado em: 21 Dec. 2015.

LOFTON, J.T.; SOARES, J.H. JR. The effects of vitamin D₃ on leg abnormalities in broilers. *Poult. Sci.*, v.65, n.4, p.749-756, 1986.

MATOS, R. Calcium metabolism in birds. *Vet Clin North Am. Exot. Anim. Pract.*, v.11, n.1, p.59-82, 2008.

MAWER, E.B.; SCHAEFER, K.; LUMB, G.A.; STANBURY, S.W. The metabolism of isotopically labelled vitamin D₃ in man: the influence of the state of vitamin D nutrition. *Clin Sci.* v.40, n.1, p.39–53, 1971.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D.; MORGAN, C.A. *Animal nutrition*. 7.ed. New York: Prentice Hall, 1995. 714p.

MELLO, J.R.B. Calcinosis – calcinogenic plants. *Toxicon*, v.41, n.1, p.1-12, 2003.

MUSZKAT, P.; CAMARGO, M.B.R.; GRIZ, L.H.M. *et al.* Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v.54, n.2, p.110-117, 2010.

NAPOLI, J.L.; REEVE, L.E.; EISMAN, J.A. *et al.* *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycitamin D₃. *J. Biol. Chem.* v.252, n.8, p. 2580-2583, 1977.

NORMAN A.W.; HURWITZ, S. The role of the vitamin D endocrine system in avian bone biology. *J. Nutr.*, v.123, supl. 2, p310–316, 1993.

NUTRIENT requirements of poultry. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1994. 155p.

PEIXOTO, P.V.; KLEM, M.A.P.; FRANÇA, T.N. *et al.* Hipervitaminose D em animais. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.32, n.7, p.573-594, 2012.

PIZAURO JR., J.M.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: mecanismos de lesão e controle. *Rev. Bras. Ciênc. Avic.* v.4, n.3, p.169-185, 2002.

PROJEÇÕES do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022. MAPA, 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acessado em: 22 out. 2015.

RELATÓRIO anual 2015. UBABEF, 2015. Disponível em <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2015>> Acessado em: 01 dec. 2015.

ROSOL, T.J.; CHEW, D.J.; NAGODE, L.A. *et al.* Disorders of calcium: hypercalcaemia and hypocalcaemia. In: DIBARTOLA, S.P (Ed). *Fluid therapy in small animal clinical practice*. Philadelphia: WB Saunders, 2000. p.108–61.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. *et al.* *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3^{ed}. Viçosa: Ed. UFV, 2011. 252p.

SILVA, F.A.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, C.P. *et al.* Efeitos do ácido L-Glutâmico e da Vitamina D3 no desempenho e nas anomalias ósseas de pintos de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 30, n. 6, supl. 0, p.2059-2066, 2001.

SILVA JÚNIOR, R.G.C.; LANA, G.R.Q.; RABELLO, C.B. *et al.* Exigência de metionina + cistina para frangos de corte machos de 1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, em clima tropical. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.6, supl.0, p. 2399-2407, 2005.

SOUZA, A.F.G.O. Tecido ósseo em frangos de corte. *Ver. Eletr. Nutr.*, v.9, n.1, 2012. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/152v9N1P1663_1679_JAN2012_.pdf>. Acessado em: 15 out. 2015.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M.; VASCONCELLOS, C.H.F. *et al.* Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.519-525, 2013.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M. Vitamina D₃ e seus metabólitos para frangos de corte. *Arch. Zootec.*, v.63, n.R, p.11-24, 2014.

SUPLEMENTO: desempenho e nutrição para frangos de corte. COBB, 2012. Disponível em: <<http://cobb-vantress.com>>. Acessado em: 15 out. 2015.

TANAKA, Y.; FRANK, H.; DELUCA, H.F. Biological activity of 1,25-dihydroxvitamin D₃ in the rat. *Endocrinology*, v.92, n.2, p.417-422, 1973.

TORRES, D.E.S. *Uso da vitamina 1 alfa hidroxicolecalciferol e da fitase em dietas de frangos de corte na fase inicial*. 2012. 38f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

VIEITES, F.M.; NALON, R.P.; SANTOS, A.L. *et al.* Desempenho, rendimento de carcaça e cortes nobres de frangos de corte alimentados com rações suplementadas com *Solanum glaucophyllum*. *Semina: Cienc. Agr.*, v.35, n.3, p.1617-1626, 2014.

WORKER, N.A.; CARRILLO, B.J. ‘Enteque seco’, calcification and wasting in grazing animals in the Argentine. *Nature*, v.215, n.5096, p.72-74, 1967.

O efeito do 1,25- dihidroxicolecalciferol e dois níveis de colecalciferol no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte

Castro, F.L.S¹, Lara, L.J.C¹, Baião, N.C¹, Ecco, R², Louzada, M.J.Q³, Perazoli, P.H¹, Melo, E.F¹, Triginelli, M.V¹, Saldanha, M.M¹, Vaz, D.P¹

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais

²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais

³Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida para avaliar os efeitos de dois níveis de vitamina D₃ (colecalciferol) e a inclusão ou não de 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) no desempenho e qualidade óssea de frangos de corte. Foram utilizadas, *ad libitum*, dietas para as fases inicial (1 a 21 dias) e de crescimento (22 a 40 dias). O suplemento vitamínico forneceu quantidades adequadas de todas as vitaminas, exceto a vitamina D₃. Os níveis de vitamina D₃ utilizados foram: 2.500 e 2.000 UI/kg, para a fase inicial e de crescimento, respectivamente, de acordo com os níveis comercialmente utilizados, e 1.250 e 1.000 UI/kg, para a fase inicial e de crescimento, respectivamente, representando uma redução de 50%. A fonte de 1,25-(OH)₂D₃ foi um produto comercial a base de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* (0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2x2. 960 pintos machos Cobb[®]500 de um dia foram distribuídos aleatoriamente em 32 boxes, com 30 pintos cada. Cada tratamento apresentou oito repetições. Com 21 e 40 dias de idade, um frango por repetição foi abatido e as tíbias e fêmures retirados. Os ossos foram avaliados pela determinação do conteúdo mineral, ensaio biomecânico e análise morfológica. Não foram observadas diferenças significativas relacionadas aos níveis de vitamina D₃ e a adição ou não do 1,25-(OH)₂D₃ para desempenho, conteúdo mineral, resistência, rigidez e morfologia. A tenacidade foi menor quando o 1,25-(OH)₂D₃ foi utilizado aos 21 dias, no entanto, esse efeito não persistiu aos 40 dias de idade das aves. A redução em até 50% nos níveis de vitamina D₃ foi suficiente para assegurar o desempenho e desenvolvimento ósseo dos frangos aos 21 e 40 dias de idade. A inclusão de 0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg, como suplementação em dietas com níveis suficientes de vitamina D₃, não apresentou efeito na melhora do desempenho e da qualidade óssea dos frangos aos 21 e 40 dias de idade.

Palavras-chave: vitamina D₃, 1,25-(OH)₂D₃, frangos de corte, qualidade óssea

The effect of 1,25- dihydroxycholecalciferol and two cholecalciferol levels on broiler performance and bone quality

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of two levels of vitamin D₃ (cholecalciferol) and the inclusion or not of 1,25- dihydroxycholecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) on live performance and bone quality of broiler chickens. Diets for starter (1 to 21d) and grower (22 to 40d) periods were used *ad libitum*. A vitamin supplement provided adequate amounts of all vitamins except for vitamin D₃. The vitamin D₃ levels were: 2.500 and 2.000 UI/kg, for the starter and grower periods, respectively, according to levels commercially used, and 1.250 and 1.000 UI/kg, representing a reduction of 50%. The 1,25-(OH)₂D₃ source was a commercial product consisting of dried leaves of *Solanum glaucophyllum* (0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg). The experimental design was completely randomized in a 2x2 factorial arrangement. 960 day-old male Cobb[®]500 broiler chicks were randomly distributed into 32 floor pens, with 30 chicks each. Each treatment was replicated eight times. On day 21 and 40, one broiler per replicate was killed and tibiae and femora were removed. The bones were analyzed through mineral content determination, a biomechanical assay and morphological analysis. No significant differences were found related to vitamin D₃ levels and the addition or not of 1,25-(OH)₂D₃ for live performance, mineral content, strength, stiffness and morphology. Toughness was lower when 1,25-(OH)₂D₃ was used at 21 days, but this effect did not persist at 40 days of age. The reduction up to 50% of the vitamin D₃ levels is sufficient to ensure the performance and bone development of broilers at 21 and 40 days of age. The inclusion of 0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg in addition to diets with sufficient levels of vitamin D₃ showed no effect on the improvement of live performance and bone quality at 21 and 40 days of age.

Key-words: vitamin D₃, 1,25-(OH)₂D₃, broilers, bone quality.

INTRODUÇÃO

Com o objetivo de atender a demanda crescente por alimento, aumentou-se o uso de aves altamente especializadas com potencial genético para crescimento. O rápido desenvolvimento muscular não foi acompanhado pelo suporte ósseo adequado, que permaneceu imaturo,

sobrecarregando o sistema locomotor. Como consequência, há alta mortalidade, redução do bem estar das aves e aumento nas fraturas, decorrentes da fragilidade óssea, levando a perdas econômicas significativas (Silva et al., 2001, Araújo et al., 2012, Souza, 2012). Portanto, a formulação de dietas específicas utilizando vitamina D e seus metabólitos é apontada como alternativa para reduzir essas perdas. A qualidade óssea e os efeitos da vitamina D₃ são tradicionalmente avaliados pela histologia, estimativa de cinzas, cálcio e fósforo, e pela força de quebra dos ossos (Thorp e Waddington, 1997, Whitehead, 2004).

O conteúdo de vitamina D presente nos ingredientes utilizados na alimentação das aves é usualmente ignorado durante a formulação e a necessidade vitamínica é suprida, completamente, pela adição de suplementos vitamínicos (Nutrient..., 1994). Como a potência da vitamina D₂ é cerca de 10 vezes inferior à da vitamina D₃ (colecalfiferol), para frangos de corte, esta última é mais utilizada. A vitamina D₃ é absorvida no intestino delgado, e, para alcançar a sua principal forma metabolicamente ativa, o 1,25- dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂D₃), deve ser hidroxilada, primeiro, no fígado em 25-hidroxicolecalciferol (25-(OH)D₃), e, em seguida, nos rins (McDonald et al., 1995). A ação do 1,25-(OH)₂D₃ é semelhante a de um hormônio esteroide, e ele possui importante papel na homeostase do cálcio e fósforo, crescimento e remodelamento ósseo e no sistema imune (Klasing, 1998, Kochupillai, 2008, Muszkat et al., 2010).

De acordo com o NRC e manual Cobb[®] 500, os níveis recomendados de vitamina D₃ são 200 UI/kg e 5.000 UI/kg, respectivamente (Nutrient..., 1994, Suplemento..., 2012). A deficiência ou desequilíbrio de vitaminas e minerais, como a vitamina D, cálcio e fósforo, podem estar associados ao desenvolvimento de desordens esqueléticas, como o raquitismo (Leeson et al., 1995). Entretanto, a indústria de suplementos trabalha com uma margem de segurança cinco a 10 vezes superiores à real necessidade das aves (Coelho et al., 2001). Esse excesso de vitamina D₃ pode ser tóxico para os tecidos, apresentar efeito negativo nos problemas de perna, redução no ganho de peso e é responsável pelo aumento dos custos dos alimentos (Cruickshank e Sim, 1987, Nutrient..., 1994).

A suplementação com diferentes metabólitos e uma fonte de vitamina D₃ é um método para maximizar o desempenho de frangos de corte. O uso de metabólitos pode reduzir a energia despendida pelo frango, pois os metabólitos se encontram em uma forma avançada e disponível para utilização imediata. Por essa razão, podem melhorar os resultados de desempenho das aves (Garcia, 2013).

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos de dietas com dois níveis de vitamina D₃ com e sem a suplementação de 1,25-(OH)₂D₃ no desempenho e desenvolvimento ósseo de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e condições experimentais

A execução deste experimento foi aprovada pelo Comitê de Ética e Princípios de Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG – n.º. 225/2014). O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso (DIC), consistindo de um arranjo fatorial 2x2: inclusão ou não de 1,25-(OH)₂D₃ e dois diferentes níveis de vitamina D₃, oito repetições e 30 aves por unidade experimental.

Pintos Cobb500[®] machos, de um dia (n=960), foram obtidos de um incubatório local e distribuídos em boxes em um galpão de cortinas laterais, com design comercial e experimental. Trinta pintos foram alojados em cada um dos 32 boxes (14 frangos/m²). A cama utilizada foi de cepilho de madeira e cada box foi equipado com bebedouro automático e comedor tubular, fornecendo acesso *ad libitum* a água e alimento durante o experimento. O programa de luz foi de 24h de luz nos primeiros 14 dias de idade e iluminação natural após esse período.

As dietas foram a base de milho e soja e formuladas para o período inicial (1 a 21 dias) e de crescimento (22 a 40 dias). Para a formulação das dietas, foram considerados os níveis nutricionais das matérias primas de acordo com Rostagno et al. (2011). A composição das dietas iniciais e de crescimento estão na Tabela 1. Em todas as dietas, o suplemento vitamínico foi utilizado para fornecer a quantidade adequada de todas as vitaminas, exceto a vitamina D₃.

Os dois níveis de vitamina D₃ foram: 2.500 e 2.000 UI/kg para a fase inicial e de crescimento, respectivamente, de acordo com os níveis comercialmente utilizados (100%); e 1.250 e 1.000 UI/kg para a fase inicial e de crescimento, respectivamente, representando a redução de 50%. A fonte de 1,25-(OH)₂D₃ utilizada foi um produto comercial obtido de folhas secas da planta Sul Americana *Solanum glaucophyllum* (SG) (10ppm). A inclusão foi de 50g/ton, de acordo com as recomendações do fabricante, resultando na adição de 0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg na forma glicosada. A presença do metabólito no extrato da planta e sua atividade foram caracterizados por Napoli et al. (1977), Gil et al. (2007) e Bachmann et al. (2013).

Tabela 1. Composição das dietas

| Ingredientes | Inicial ¹ | | Crescimento ² | |
|--------------------------------------|----------------------|--------|--------------------------|--------|
| Milho | 57,50 | 57,50 | 63,00 | 63,0 |
| Farelo de Soja (45% PB) | 35,00 | 35,00 | 29,17 | 29,17 |
| Farinha de carne/ossos (40% PB) | 3,67 | 3,67 | 2,16 | 2,16 |
| Óleo degomado de soja | 2,25 | 2,25 | 3,66 | 3,66 |
| Calcário | 0,55 | 0,54 | 0,66 | 0,66 |
| Sal | 0,39 | 0,40 | 0,42 | 0,42 |
| Suplemento mineral e vitamínico* | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| DL-Metionina (98%) | 0,32 | 0,32 | 0,31 | 0,31 |
| L-Lisina HCL (98%) | 0,18 | 0,17 | 0,27 | 0,28 |
| Cloreto de Colina (60%) | 0,06 | 0,06 | 0,05 | 0,05 |
| L-Treonina | 0,04 | 0,04 | 0,08 | 0,08 |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | - | 0,005 | - | 0,005 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Níveis nutricionais | | | | |
| EM, kcal/kg | 2,997 | 2,997 | 3,152 | 3,152 |
| Proteína Bruta, % | 22,535 | 22,535 | 19,792 | 19,792 |
| Extrato Etéreo, % | 5,319 | 5,319 | 6,640 | 6,640 |
| Cálcio, % | 0,932 | 0,932 | 0,764 | 0,764 |
| P disp, % | 0,467 | 0,467 | 0,363 | 0,363 |
| Sódio, % | 0,203 | 0,203 | 0,199 | 0,199 |
| Lisina dig. aves, % | 1,211 | 1,211 | 1,129 | 1,129 |
| Metionina dig. aves, % | 0,607 | 0,607 | 0,567 | 0,567 |
| Met + Cis dig. aves, % | 0,899 | 0,899 | 0,829 | 0,829 |
| Treonina dig. aves, % | 0,791 | 0,791 | 0,729 | 0,729 |
| Triptofano dig. aves, % | 0,237 | 0,237 | 0,203 | 0,203 |

* Suplemento Vitamínico Mineral (inicial) contém por kg: Vit. A 9.000 UI, Vit. E 14 mg, Vit. K₃ 2 mg, Vit. B₁ 2.5 mg, Vit. B₂ 6.2 mg, Vit. B₆ 4 mg, Vit. B₁₂ 14 mcg, Niacina 40 mg, Ácido Fólico 1 mg, Ácido Pantotênico 15 mg, Se 0,2 mg, I 1.2 mg, Fe 50 mg, Cu 10 mg, Mn 80, Zn 60 mg, Finase 500 FTU, Halquinol 0,03g, MNGrow 0,5g, BHT 0,1 g. Suplemento Vitamínico Mineral (crescimento) contém por kg: Vit. A 7.000 UI, Vit. E 11 mg, Vit. K₃ 1.6 mg, Vit. B₁ 1.6 mg, Vit. B₂ 4.5 mg, Vit. B₆ 2.2 mg, Vit. B₁₂ 10 mcg, Niacina 32 mg, Ácido Fólico 0.8 mg, Ácido Pantotênico 12 mg, Se 0.2 mg, I 1.2 mg, Fe 50 mg, Cu 10 mg, Mn 80, Zn 60 mg, Finase 500 FTU, Halquinol 0,03g, Salinomicina 0,066g, BHT 0,1 g

¹Vitamina D₃: 2.500 (100%) e 2.000 (50%) UI/kg. ²Vitamina D₃: 1.250 (100%) e 1.000 (50%) UI/kg.

Desempenho e medidas de qualidade óssea

Os frangos e as rações foram pesados semanalmente, durante todo o período experimental, para avaliar o desempenho (consumo de ração, peso corporal e conversão

alimentar). Esses dados foram utilizados para calcular os valores acumulados de um a 21 dias de idade e de 21 a 40 dias de idade. A mortalidade foi registrada diariamente, e usada para ajustar a taxa de conversão alimentar, obtida pelo consumo de ração:ganho de peso.

Aos 21 e aos 40 dias de idade, um frango por repetição, selecionado dentro de uma faixa de $\pm 10\%$ da média de peso da repetição, foi abatido por deslocamento cervical. Os fêmures direitos, tíbias direitas e esquerdas foram removidos, dissecados e limpos de qualquer tecido aderente. Para a avaliação bruta dos ossos longos (fêmur direito e tíbia direita) dos frangos, os ossos foram seccionados longitudinalmente para revelar as placas de crescimento (zonas hipertróficas e de proliferação), a espessura do córtex, e a quantidade e densidade de osso trabecular e cartilagem nas regiões metafisárias e epifisárias. Os fêmures direitos foram analisados para determinação do conteúdo de cinzas, cálcio e fósforo em ossos desengordurados, conforme descrito pela AOAC (Official..., 2012). As tíbias esquerdas foram submetidas a um ensaio biomecânico utilizando a máquina universal modelo EMIC® DL 300, em um teste de flexão de três pontos, com célula de carga de 2000N. Os valores de resistência à quebra (determinada por força máxima), rigidez e tenacidade foram gravados pelo software Instron Series IX. As tíbias direitas foram fixadas em formalina neutra tamponada a 10% por 56 a 72 horas, e, em seguida, descalcificadas em ácido fórmico 24%. Para a preparação das lâminas histológicas, os tecidos foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, diafanizados em xilol e embebidos em parafina para obtenção de cortes seriados de 4- μm de espessura, os quais foram corados com hematoxilina-eosina (HE) de acordo com Luna (1968) e analisados em microscópio de luz.

Análises estatísticas

As médias de cada repetição foram a unidade experimental para os dados de desempenho. O frango foi a unidade experimental para os dados de qualidade óssea. As médias foram submetidas a ANOVA em um arranjo fatorial com níveis de vitamina D₃ e presença ou ausência de 1,25-(OH)₂D₃ como os principais efeitos. Todas as possíveis interações dentro e entre os principais efeitos foram avaliados usando o programa SAS (SAS Institute, 2002), quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os dados não normais foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, utilizando o mesmo programa. Os parâmetros de significância utilizados foram baseados em $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho

As médias e resultados da ANOVA para consumo de ração, peso corporal e taxa de conversão alimentar estão na Tabela 2.

Tabela 2. Efeito do 1,25-(OH)₂D₃ e dos níveis de vitamina D₃ sobre o consumo de ração (CR), peso corporal (PC) e conversão alimentar (CA) dos frangos aos 21 e 40 dias de idade

| Tratamentos | 1 – 21 d | | | 1 – 40 d | | |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | CR (kg) | PC (kg) | CA (kg/kg) | CR (kg) | PC (kg) | CA (kg/kg) |
| Vit. D ₃ | | | | | | |
| 100% | 1,301 | 1,043 | 1,300 | 4,746 | 3,154 | 1,525 |
| 50% | 1,309 | 1,055 | 1,292 | 4,756 | 3,183 | 1,515 |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | | | | | | |
| Com | 1,312 | 1,054 | 1,296 | 4,792 | 3,194 | 1,520 |
| Sem | 1,298 | 1,043 | 1,296 | 4,710 | 3,143 | 1,519 |
| ANOVA | | | | | | |
| Vit. D ₃ | 0,610 ^{ns} | 0,283 ^{ns} | 0,215 ^{ns} | 0,818 ^{ns} | 0,438 ^{ns} | 0,324 ^{ns} |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | 0,328 ^{ns} | 0,340 ^{ns} | 0,955 ^{ns} | 0,083 ^{ns} | 0,173 ^{ns} | 0,916 ^{ns} |
| Vit. D ₃ x 1,25(OH) ₂ D ₃ | 0,640 ^{ns} | 0,655 ^{ns} | 0,059 ^{ns} | 0,443 ^{ns} | 0,102 ^{ns} | 0,061 ^{ns} |
| CV (%) | 3,155 | 2,988 | 1,442 | 2,735 | 3,298 | 1,867 |

^{ns} Não significativo

Médias não seguidas por letras são semelhantes pelo teste F (p>0,05)

Não houve interação dos níveis de vitamina D₃ com ou sem a inclusão de 1,25-(OH)₂D₃ (p>0,05). Aos 21 e 40 dias, o consumo de ração, peso corporal e conversão alimentar não foram influenciados pelo nível ou fonte adicional de vitamina D₃ (p>0,05).

A deficiência severa de vitamina D₃ pode resultar em redução no consumo de ração e levar ao desenvolvimento corporal anormal (Andriguetto et al., 2002). Esse fato não foi observado no estudo, já que não foram observadas diferenças no consumo de ração entre os tratamentos. Isso indica que, a redução em 50% dos níveis de vitamina D₃, com ou sem a adição de 1,25-(OH)₂D₃, fornece a quantidade necessária de vitamina D₃ para um desempenho normal dos frangos. Os pesos corporais registrados no presente estudo, para todos os tratamentos, foram superiores aos determinados pelo guia da linhagem de 971 g aos 21 dias e 2832 g aos 40 dias de idade (Broiler..., 2015).

Resultados contrários foram encontrados por Souza et al. (2013). Esses autores avaliaram o desempenho de frangos suplementados com 1,25-(OH)₂D₃ em níveis variando de zero a 5.0 µg/kg, com redução em 20% na quantidade de cálcio e fósforo disponíveis. O consumo de ração não foi influenciado pelos tratamentos. Entretanto, houve melhora significativa no ganho de peso e taxa de conversão alimentar quando os frangos foram alimentados com 1.0 e 2.0 µg 1,25-(OH)₂D₃/kg aos 42 dias.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os achados de Alves (2014). O autor comparou um grupo controle com diferentes níveis de vitamina D₃ suplementados com a mesma quantidade de 1,25-(OH)₂D₃. Os níveis de cálcio e fósforo foram balanceados para todos os tratamentos. A redução em 50% dos níveis de vitamina D₃, com a adição de 1,25-(OH)₂D₃, não diferiu do grupo controle para nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados aos 21 e 42 dias.

Igualmente, Vieites et al. (2014) estudaram a inclusão de seis diferentes níveis de 1,25-(OH)₂D₃ (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 e 2.5 µg/kg), com níveis fixados de cálcio e fosforo. Os autores concluíram que a suplementação com até 2.5µg 1,25-(OH)₂D₃ /kg não influenciou nos parâmetros de desempenho aos 8 e 42 dias.

Esses resultados, assim como os resultados do presente estudo, estão de acordo com estudos relacionados à vitamina D₃ e níveis balanceados de minerais. Isso indica que, quando níveis de cálcio e fósforo estão adequados, não há efeito direto da suplementação com vitamina D₃ no desempenho de frangos (Edwards Jr. et al., 2002). A adição de mais de 1.200 a 1.600 UI de vitamina D₃ por kg de ração resulta em pequena resposta nesse parâmetro (Baker et al., 1998).

A mortalidade durante o experimento não foi afetada significativamente pelos níveis de vitamina D₃ ou inclusão do metabólito, sem interação entre os níveis e a presença ou ausência de 1,25-(OH)₂D₃ (p>0,05).

Desenvolvimento ósseo

As médias e resultados da ANOVA para conteúdo mineral ósseo estão na Tabela 3.

Tabela 3. Efeito do 1,25(OH)₂D₃ e dos níveis de vitamina D₃ nas cinzas (C), cálcio (Ca) e fósforo (P) dos ossos dos frangos aos 21 e 40 dias de idade

| Tratamentos | 1 – 21d | | | 1 – 40d | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | C (%) | Ca (%) | P (%) | C (%) | Ca (%) | P (%) |
| Vit. D ₃ | | | | | | |
| 100% | 43,69 | 16,73 | 7,10 | 43,27 | 15,38 | 6,76 |
| 50% | 43,24 | 16,65 | 7,00 | 42,02 | 14,94 | 6,91 |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | | | | | | |
| Com | 43,21 | 16,90 | 7,07 | 41,87 | 15,17 | 6,90 |
| Sem | 43,72 | 16,48 | 7,03 | 43,41 | 15,17 | 6,77 |
| ANOVA | | | | | | |
| Vit D ₃ | 0,567 ^{ns} | 0,779 ^{ns} | 0,643 ^{ns} | 0,304 ^{ns} | 0,072 ^{ns} | 0,460 ^{ns} |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | 0,516 ^{ns} | 0,169 ^{ns} | 0,883 ^{ns} | 0,193 ^{ns} | 0,945 ^{ns} | 0,534 ^{ns} |
| Vit. D ₃ x 1,25(OH) ₂ D ₃ | 0,413 ^{ns} | 0,539 ^{ns} | 0,240 ^{ns} | 0,565 ^{ns} | 0,307 ^{ns} | 0,729 ^{ns} |
| CV | 5,073 | 5,051 | 8,586 | 7,749 | 4,441 | 8,315 |

^{ns} Não significativo

Médias não seguidas por letras são semelhantes pelo teste F (p>0,05)

Não houve interação dos níveis de vitamina D₃ com a adição ou não de 1,25-(OH)₂D₃ para cinzas, cálcio e fósforo aos 21 e 40 dias de idade (p>0,05). O conteúdo mineral dos ossos foi semelhante entre os tratamentos para as duas idades (p>0,05).

Resultados semelhantes foram encontrados por Alves (2014). O autor observou que a redução de 50% dos níveis de vitamina, com a adição de 1,25-(OH)₂D₃, não diferiu do grupo controle para o conteúdo de cinzas e cálcio no osso aos 21 e 42 dias de idade.

Elliot et al. (1995) avaliaram dois níveis de cálcio (1.00% e 0,65%) e 1,25-(OH)₂D₃ (0 e 5µg/kg) em frangos de 3 semanas. Ambos 1.00% de cálcio e 5µg/kg de 1,25-(OH)₂D₃ aumentaram as cinzas ósseas nessa idade, o que não foi observado no presente estudo, com a suplementação de 0,5 µg 1,25-(OH)₂D₃ e nível balanceado de cálcio.

As médias e resultados da ANOVA para resistência (força máxima a quebra), rigidez e tenacidade dos ossos estão na Tabela 4.

Tabela 4. Efeito do 1,25(OH)₂D₃ e dos níveis de vitamina D₃ na força máxima (FM – resistência), rigidez (R) e tenacidade (T) aos 21 e 40 dias de idade

| Tratamentos | 1 – 21d | | | 1 – 40d | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | FM (N) | R (N/mm) | T (mJ) | FM (N) | R (N/mm) | T (mJ) |
| Vit. D ₃ | | | | | | |
| 100% | 197,73 | 113,24 | 326,56 | 372,78 | 171,81 | 753,38 |
| 50% | 192,94 | 110,86 | 316,69 | 384,75 | 175,28 | 823,50 |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | | | | | | |
| Com | 187,62 | 117,82 | 289,25 b | 401,72 | 178,60 | 771,19 |
| Sem | 203,05 | 106,29 | 354,00 a | 355,81 | 168,49 | 805,69 |
| ANOVA | | | | | | |
| Vit D ₃ | 0,611 ^{ns} | 0,755 ^{ns} | 0,649 ^{ns} | 0,640 ^{ns} | 0,777 ^{ns} | 0,243 ^{ns} |
| 1,25(OH) ₂ D ₃ | 0,108 ^{ns} | 0,138 ^{ns} | 0,005* | 0,080 ^{ns} | 0,412 ^{ns} | 0,562 ^{ns} |
| Vit. D ₃ x 1,25(OH) ₂ D ₃ | 0,381 ^{ns} | 0,829 ^{ns} | 0,399 ^{ns} | 0,301 ^{ns} | 0,648 ^{ns} | 0,929 ^{ns} |
| CV | 13,488 | 19,102 | 18,890 | 18,923 | 19,800 | 21,101 |

^{ns} Não significativo

* $p \leq 0,05$

a-b Na mesma coluna, médias seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Não houve interação de níveis de vitamina D₃ com ou sem o uso de 1,25-(OH)₂D₃ para resistência a quebra, rigidez e tenacidade aos 21 e 40 dias de idade ($p > 0,05$). A resistência a quebra e rigidez foram semelhantes entre os tratamentos aos 21 e 40 dias de idade ($p > 0,05$).

Bachmann et al. (2013) investigaram a suplementação de dieta controle contendo 1.000 UI vitamina D₃/kg, e Ca:P desequilibrado, com uma fonte sintética de 1,25-(OH)₂D₃ (2,5 µg/kg e 5µg/kg), extrato purificado de *Solanum glaucophyllum* (9,5 µg/kg e 37,8µg/kg) e folhas secas de *Solanum glaucophyllum* (10 µg/kg). Os autores não encontraram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos para resistência a quebra e rigidez das tíbias aos 14 dias de idade. O presente estudo também utilizou um produto derivado de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* como fonte de 1,25-(OH)₂D₃, no entanto, a inclusão utilizada (0,5 µg/kg) não foi suficiente para melhorar essas variáveis.

As propriedades mecânicas dos ossos são determinadas, primariamente, pela quantidade, arranjo e estrutura molecular de colágeno e conteúdo mineral. Resistência e rigidez estão estreitamente relacionadas à mineralização dos ossos (Turner, 2006), o que está de acordo com o presente estudo, uma vez que não houve diferença entre os tratamentos para conteúdo mineral, resistência e rigidez ósseas.

A tenacidade foi influenciada por 1,25-(OH)₂D₃ aos 21 dias ($p \leq 0,05$) (Tabela 4). Quando o metabólito foi usado, a tenacidade foi menor quando comparado aos tratamentos em que o metabólito não foi utilizado. Essa diferença não persistiu aos 40 dias de idade ($p > 0,05$).

A tenacidade é uma variável diretamente influenciada pelo conteúdo de colágeno dos ossos (Wang et al., 2002). Esse conteúdo não foi mensurado no presente estudo, e poderia explicar os resultados encontrados. Essa propriedade biomecânica indica a quantidade de energia absorvida necessária para causar a falha do material (Turner e Burr, 1993).

Apesar de ter ocorrido redução na tenacidade quando o 1,25-(OH)₂D₃ foi utilizado ($p \leq 0,05$), esse fato não indica que os ossos sejam mais frágeis. A força máxima sustentada pelos ossos de todos os tratamentos foi semelhante ($p > 0,05$), o que demonstra uma habilidade de dobrar e resistir à carga aplicada.

A avaliação histológica da placa de crescimento ósseo é um método de diagnóstico histopatológico de enfermidades ósseas. Quando há doença no sistema locomotor, como o raquitismo e a discondroplasia tibial, é possível caracterizar mudança na espessura da placa de crescimento, redução da vascularização e menor diferenciação e organização celular (Thorp e Waddington, 1997).

A mudança mais característica observada em casos de deficiência de vitamina D₃ em frangos é o alargamento da placa de crescimento devido ao aumento das zonas de proliferação e hipertrófica. Provavelmente, a deficiência causa atraso na hipertrofia dos condrócitos. Quando a deficiência progride, há aumento na porosidade do osso cortical devido a reabsorção, determinando redução da força mecânica de ossos longos (Klasing, 2008). Essas alterações não foram encontradas durante a avaliação histopatológica das tíbias de frangos aos 21 e 40 dias de idade (Fig. 1). As placas de crescimento ósseo das aves de todos os tratamentos foram regulares, com espessura semelhante, vasos sanguíneos e trabéculas ósseas bem distribuídos e sem a presença de retenção de cartilagem, o que indica ausência de doença.

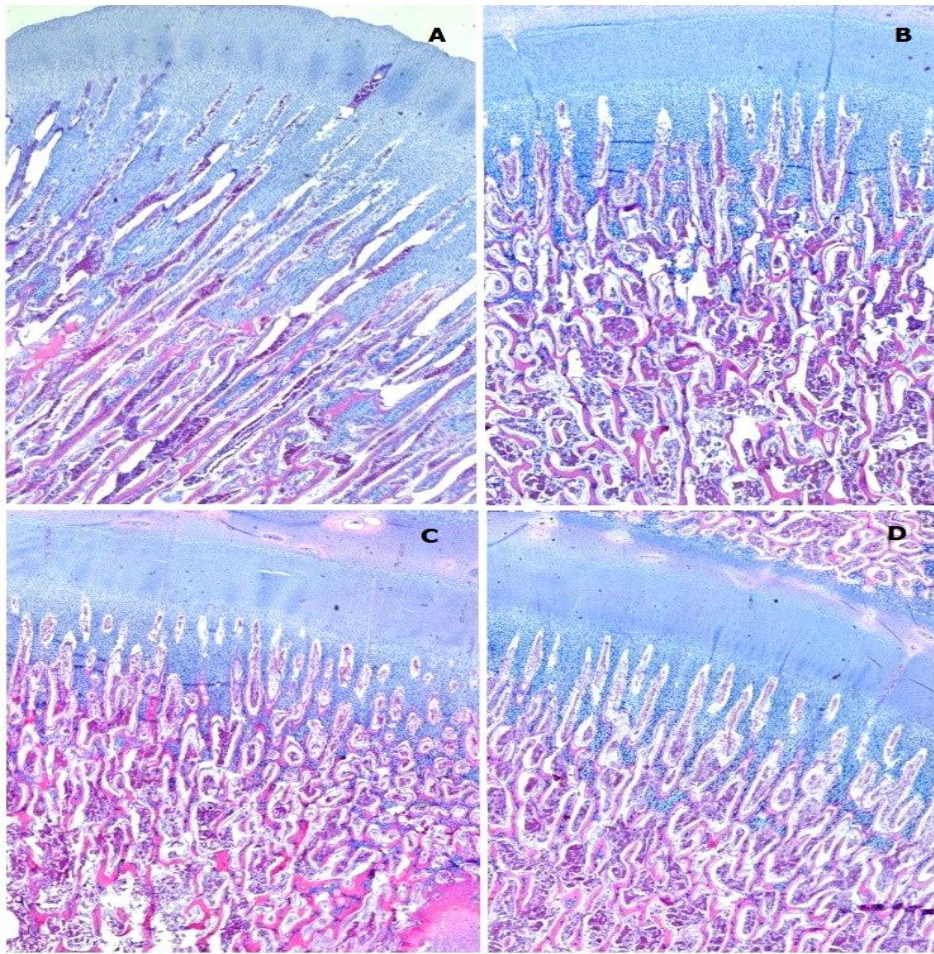


Figura 1. Secções histológicas das tíbias dos frangos aos 40 dias de idade. As imagens A, B, C e D referem, respectivamente, a frangos alimentados com 100% de vitamina D₃ sem 1,25-(OH)₂D₃, 100% de vitamina D₃ com 1,25-(OH)₂D₃, 50% de vitamina D₃ sem 1,25-(OH)₂D₃; e 50% vitamina D₃ com 1,25-(OH)₂D₃. É possível observar, em todas as imagens, a espessura das placas ósseas, formação das trabéculas ósseas e vascularização. HE, 10x.

CONCLUSÕES

No presente estudo, a redução em 50% dos níveis de vitamina D₃ comumente usados na produção comercial de frangos não foi severa o suficiente para alterar o desempenho e desenvolvimento ósseo dos frangos de corte, o que pode explicar o motivo de não terem sido observadas diferenças entre os tratamentos. Esses níveis (1.250 e 1.000 UI/kg para fase inicial e de crescimento, respectivamente) foram suficientes para assegurar o desempenho máximo e desenvolvimento ósseo de frangos aos 21 e 40 dias, em dietas com Ca e P balanceados.

A inclusão de 0,5µg 1,25-(OH)₂D₃/kg, na forma glicosada, em dietas com níveis suficientes de vitamina D₃, não melhorou os parâmetros mensurados, mesmo quando 50% de vitamina D₃ foi usado. O uso de 1,25-(OH)₂D₃ resultou em menor tenacidade, mesmo que a resistência, a rigidez, o conteúdo mineral e a análise histológica tenham sido semelhantes.

Os resultados do estudo indicam que o desempenho e a qualidade óssea dos frangos não foram influenciados pelos níveis de vitamina D₃ ou a inclusão de 1,25-(OH)₂D₃. Esses resultados suportam a afirmativa de que um excesso desnecessário de vitamina D₃ é usado na produção comercial de frangos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro e a UNESP/Araçatuba pelo suporte técnico.

REFERÊNCIAS

ALVES, O.S. *Efeito dos níveis de vitamina D₃ em premix e suplementação com 1,25(OH)₂D₃ na ração de frangos de corte*. 2014. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. *et al. Nutrição animal, as bases e os fundamentos da nutrição animal: os alimentos*. 5.ed. Brasil: Nobel, 2002. p.395

ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. *Arch. Zootec.*, v.61, n.R, p.79-89, 2012.

BACHMANN, H.; AUTZEN, S.; FREY, U. *et al.* The efficacy of a standardized product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol for poultry. *Br. Poult. Sci.*, v.54, n.5, p. 642-652, 2013.

BAKER, D.H.; BIEHL, R.R.; EMMERT, J.L. Vitamin D₃ requirement of young chicks receiving diets varying in calcium and available phosphorus. *Br Poult Sci.*, v.39, n.3, p.413–417, 1998.

BROILER performance & nutrition supplement, Cobb500™. 2015. Disponível em: <<http://www.cobb-vantress.com>> Acessado em: 25 out. 2015.

COELHO, M.; MCKIGHT, W.; COUSINS, B. Effect of targeted B-vitamin regimen on rate and efficiency of fast growing broilers from 0 to 49 days. *Poult. Sci.*, v.80, n.832, supl. 1, p.201, 2001.

CRUICKSHANK, J.J.; SIM, J.S. Effects of excess Vitamin D₃ and cage density on the incidence of leg abnormalities in broiler chickens. *Avian Dis.*, v.31, n.2, p.332–338, 1987.

EDWARDS JR, H.M.; SHIRLEY, R.B.; ESCOE, W.B.; PESTI, G.M. Quantitative evaluation of 1- α -hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute for broilers. *Poult. Sci.*, v.81, n.5, p.664-669, 2002.

ELLIOT, MA.; ROBERSON, K.D.; ROWLAND, G.N.; EDWARDS JR, H.M. Effects of dietary calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broilers during the starter and grower periods. *Poult. Sci.*, v.74, n.9, p.1495-1505, 1995.

GARCIA, A.F.Q.M.; MURAKAMI, A. E.; DUARTE, C. R. A. *et al.* Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, v.26, n.3, p.408-415, 2013.

GIL, S.; DALLORSO, M.; HORST, R. Screening of vitamin d activity (VDA) of *Solanum glaucophyllum* leaves measured by radioimmuniassay (RIA). *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* v.103, n.3-5, p.483-486, 2007.

KLASING, K.C. Vitamins. In: COMPARATIVE avian nutrition. New York: CAB International, 1998. p.352.

KLASING, K.C. Nutritional diseases. In: SWAYNE, D.E (Ed). *Diseases of poultry*. New York: Wiley-Blackwell, 2008. p. 1121-1148.

KOCHUPILLAI, N. The physiology of vitamin D: current concepts. *Indian J. Med. Res.*, v.127, n.3, p.256-262, 2008.

LEESON, S.; DIAZ, M.G.; SUMMERS, J.D. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph: Ed. University Books Guelph, 1995. p.352.

LUNA, L.G.. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. New York: McGraw-Hill, 1968. p.258.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D.; MORGAN, C.A. *Animal nutrition*. 7.ed. New York: Prentice Hall. 1995. p.714.

MUSZKAT, P.; CAMARGO, M.B.; GRIZ, L.H.; LAZARETTI-CASTRO, M. Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v.54, n.2, p.110-117, 2010.

NAPOLI, J.L.; REEVE, L. E.; EISMAN, J. A. *et al.* *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J. Biol. Chem.* v.252, n.8, p. 2580-2583, 1977.

NUTRIENT requirements of poultry. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1994. 155p.

OFFICIAL methods of analysis of AOAC International. 19.ed. Gaithersburg: Pharmabooks. 2012. p.3000.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. *et al.* *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3.ed. Viçosa: Ed. UFV, 2011. 252p.

SAS user's guide: statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2002.

SOUZA, A.F.G.O. Tecido ósseo em frangos de corte. *Ver. Eletr. Nutr.*, v.9, n.1, 2012. Disponível em: <
http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/152v9N1P1663_1679_JAN2012_.pdf
>. Acessado em: 15 out. 2015.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M.; VASCONCELLOS, C.H.F. *et al.* Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.519-525, 2013.

SILVA, F.A.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P. *et al.* Efeitos do ácido L-Glutâmico e da Vitamina D₃ no desempenho e nas anomalias ósseas de pintos de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 30, n. 6, supl. 0, p.2059-2066, 2001.

THORP, B. H.; WADDINGTON, D. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens. *Res. Vet. Sci.*, v.62, n.1, p.67-73, 1997.

TURNER, C.H. Bone strength: current concepts. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v.1068, p.429-446, 2006.

TURNER, C.H.; BURR, D.B. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*, v.14, n.4, p.595-608, 1993.

VIEITES, F.M.; NALON, R.P.; SANTOS, A.L. *et al.* Desempenho, rendimento de carcaça e cortes nobres de frangos de corte alimentados com rações suplementadas com *Solanum glaucophyllum*. *Semina: Cienc. Agr.*, v.35, n.3, p.1617-1626, 2014.

WANG, X.; SHEN, X.; LI, X.; AGRAWAL, C.M. Age-related changes in the collagen network and the toughness of bone. *Bone*, v.31, n.1, p.1-7, 2002.

WHITEHEAD, C.C. Nutritional and metabolic disorders in meat poultry. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 22. 2004, Istanbul. *Resumos...* Istanbul: 2004. p.574.

APÊNDICE

Densidade Mineral Óssea

As tíbias esquerdas foram submetidas à análise de densitometria óssea (g/cm^2) usando o densitômetro de modelo DPX-ALPHA para determinação da densidade mineral óssea (DMO).

A densidade mineral óssea é a massa de material ósseo, orgânico e inorgânico, mensurado em uma área (g/cm^2) e depende da absorção de radiação pelo esqueleto (Silva, 2003). Como a fração inorgânica é o principal constituinte da matriz extracelular dos ossos, a DMO é um bom indicativo da mineralização óssea (Hailey et al., 1996). A mensuração da DMO através da absorção de raios x de dupla energia (DXA) não é usada largamente em animais, entretanto é considerada um método padrão para determinação de osteoporose em humanos (Pinto Neto, 2002).

Os resultados da análise de DMO aos 21 dias estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5. DMO (g/cm^2) aos 21 dias de acordo com os tratamentos

| Vitamina D ₃ | DMO (g/cm^2) | | Média |
|-------------------------|---|---|--------|
| | Com 1,25-(OH) ₂ D ₃ | Sem 1,25-(OH) ₂ D ₃ | |
| 100% | 0,1148 Aa | 0,0832 Ab | 0,0990 |
| 50% | 0,0495 Bb | 0,1090 Aa | 0,0792 |
| Média | 0,0821 | 0,0961 | |

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, são diferentes pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$). CV=21,57 %

Houve interação entre os tratamentos para DMO aos 21 dias de idade ($p \leq 0,05$). Animais alimentados com ração contendo 100% de vitamina D₃ apresentaram, nos ossos, a maior DMO com a utilização de 1,25-(OH)₂D₃ ($p \leq 0,05$). Para animais alimentados com 50% de vitamina D₃ a maior DMO foi obtida sem a utilização de 1,25-(OH)₂D₃ ($p \leq 0,05$). A suplementação com 1,25-(OH)₂D₃ nas rações favoreceu a DMO quando associado a 100% de vitamina D₃ ($p \leq 0,05$). Quando não houve suplementação com 1,25-(OH)₂D₃ nas rações, não houve diferença entre os níveis de vitamina utilizados ($p > 0,05$).

Não foi encontrada explicação biológica para os resultados de DMO encontrados aos 21 dias ou dados semelhantes na literatura.

Os resultados da análise de DMO aos 40 dias estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6. DMO (g/cm²) aos 40 dias de acordo com os tratamentos

| Vitamina D ₃ | DMO (g/cm ²) | | Média |
|-------------------------|---|---|----------|
| | Com 1,25-(OH) ₂ D ₃ | Sem 1,25-(OH) ₂ D ₃ | |
| 100% | 0,0995 | 0,0856 | 0,0925 A |
| 50% | 0,0767 | 0,0745 | 0,0756 B |
| Média | 0,0881 a | 0,0800 a | |

Médias seguidas por letras maiúsculas e minúsculas distintas são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) CV=23,05 %

Não houve interação entre os tratamentos para DMO aos 40 dias de idade ($p > 0,05$). Animais alimentados com ração contendo 100% de vitamina D₃ apresentaram maior DMO ($p \leq 0,05$) quando comparados àqueles que receberam ração com 50%. Não houve diferença estatística entre a DMO de animais alimentados ou não com 1,25-(OH)₂D₃ ($p > 0,05$).

Referências bibliográficas

HAILEY, D., SAMPIETRO-COLOM, L., MARSHALL, D. *et al.* The effectiveness of bone density measurement and associated treatments for prevention of fractures: An international collaboration review. *Int. J. Technol. Assess.*, v.14, n.2, p.237-254, 1996.

PINTO NETO, A.M.; SOARES, A.; URBANETZ, A.A. *et al.* Consenso brasileiro de osteoporose. *Ver. Bras. Reumatol.*, v.42, n.6, p. 343-354, 2002.

SILVA, LK. Avaliação tecnológica em saúde: densitometria óssea e terapêuticas alternativas na osteoporose pós menopausa. *Cad. Saúde Pública.*, v.19, n4, p.987-1003, 2003.