

**VITAMINA D<sub>3</sub> (COLECALCIFEROL) E 25-  
HIDROXI-COLECALCIFEROL (25-OHD<sub>3</sub>)  
EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE**

**JERÔNIMO ÁVITO GONÇALVES DE BRITO**

**2008**

**JERÔNIMO ÁVITO GONÇALVES DE BRITO**

**VITAMINA D<sub>3</sub> E 25-HIDROXI-COLECALCIFEROL (25-OHD<sub>3</sub>) EM  
RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte das exigências do curso de Doutorado  
em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de  
Monogástricos, para a obtenção do título de  
“Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Antonio Gilberto Bertechini

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Brito, Jerônimo Ávito Gonçalves de.

Vitamina D<sub>3</sub> e 25-hidroxi-colecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) em rações de frangos de corte / Jerônimo Ávito Gonçalves de Brito. -- Lavras : UFLA, 2008.

120 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Antonio Gilberto Bertechini

Bibliografia.

1. Frango de corte. 2. Vitaminas. 3. Nutrição de monogástrico. 4. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 636.513  
- 636.508528

**JERÔNIMO ÁVITO GONÇALVES DE BRITO**

**VITAMINA D<sub>3</sub> E 25-HIDROXI-COLECALCIFEROL (25-OHD<sub>3</sub>) EM  
RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte das exigências do curso de Doutorado  
em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de  
Monogástricos, para a obtenção do título de  
“Doutor”.

Aprovada 07 de março de 2008

Prof. Dr. Édison José Fassani (co-orientador)	UFVJM
Prof. Dr. Paulo Borges Rodrigues (co-orientador)	UFLA
Prof. Dr. Raimundo Vicente Sousa	UFLA
Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa	UFLA

Prof. Dr. Antonio Gilberto Bertechini  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

A Deus, pela minha existência e por me guiar em todos os momentos,  
Ao meu pai, Atanael Brito, *in memoriam*, pelo significado da vida,

### **DEDICO**

A minha mãe, Marildete Brito, pelo amor, apoio e orações.  
Aos meus irmãos, Natanael, Valdizar, Hélio, Oziel, Mirian, João Mizael  
e André, pelo incentivo e amizade.  
A minha esposa, Jaqueline, pelo amor e dedicação.

### **OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À DSM Produtos Nutricionais, pelo apoio financeiro e fornecimento dos suplementos vitamínicos para a realização deste trabalho.

À Comércio e Indústria Uniquímica Ltda., pela colaboração com o fornecimento de alguns insumos para a realização do experimento e análises laboratoriais.

Ao professor Antonio Gilberto Bertechini, pela orientação, amizade, apoio e ensinamentos, durante longos anos de trabalhos.

Aos professores Édison José Fassani, Paulo Borges Rodrigues, Elias Tadeu Fialho e Angelita Duarte Corrêa, pela cooperação, sugestões e ensinamentos.

Aos funcionários Carlos, Pedro, Keila, Luis Carlos, Gilberto, Geraldo, Cláudio, Eliana, Suelba, José Virgílio, Kátia e, em especial, Márcio Nogueira, pela amizade e auxílio na realização das análises laboratoriais, ao longo da nossa caminhada.

Aos amigos, Reinaldo Kato, Édison Fassani, Adriano Geraldo, Fábio Quintão, Ellen Fukayama, Júlio César Carvalho, Gislene Figueiredo, Livya Queiroz, Fabrício Mesquita e Luciana Naves, pela amizade, sugestões e valiosa colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Aos alunos de graduação, Victor, Eduardo, Camila Meneghetti, Fernando, Roberta, Renata, Antonio, Henrique, Rafaela, Solange, Camila Leão, Bruno e Jamila, entre outros que auxiliaram na condução e análises do experimento e aos integrantes do NECTA, pelo convívio.

Aos colegas de pós-graduação, Luiz Eduardo, Edson Lindolfo, Germano Nascimento, Marcelo Milagres, Márcio Zangerônimo, Ulisses, Erin Caperuto, Elisângela Gomide, Fábio Gomes, Flávio, Vinicius, Asdrúbal, Jefferson e Paula, pelo agradável convívio.

Aos eternos amigos do alojamento, Rogério, Silvânio, Vanderlei, Alisson, Eduardo, Pedro, Tarcísio, Paulo, Danilo, Daniel, Shigueto e Gleimar.

A todos familiares, amigos e aqueles que colaboraram, direta e ou indiretamente, para realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Jerônimo Ávito Gonçalves de Brito, filho de Atanael Januário de Brito (*in memoriam*) e Marildete Gonçalves de Brito, nasceu em 29 de julho de 1980, na cidade de Morro do Chapéu (BA), passando sua infância em Mata do Milho (BA), de onde vem toda a essência que o inspira a trabalhar, estudar e a pesquisar animais.

Em março de 2000, iniciou seus estudos e trabalhos com avicultura e nutrição de monogástricos (iniciação científica), permanecendo até o final da sua graduação. Concluiu a graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), em julho de 2003.

Em fevereiro de 2004, ingressou no curso de mestrado em Zootecnia, na área de concentração Nutrição de Monogástricos, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), defendendo a dissertação em 28 de fevereiro de 2005.

Em março de 2005, ingressou no curso de doutorado em Zootecnia, na área de concentração Nutrição de Monogástricos, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), obtendo o título de doutor em 7 de março de 2008.



## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	iii
CAPÍTULO I .....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Metabolismo e funções da vitamina D nas aves.....	4
2.2 Uso de vitamina D <sub>3</sub> e 25-OHD <sub>3</sub> e anormalidades esqueléticos em aves.....	6
2.3 Vitamina D <sub>3</sub> e 25-OH D <sub>3</sub> – Efeitos sobre o desempenho e o metabolismo de cálcio e de fósforo em frangos de corte.....	13
2.4 Necessidades nutricionais de vitamina D para frangos de corte .....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	21
CAPÍTULO II.....	26
VITAMINA D <sub>3</sub> E 25-HIDROXI-COLECALCIFEROL (25-OHD <sub>3</sub> ) EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE E SEUS EFEITOS SOBRE DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARCAÇA, CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS E MORFOLOGIA INTESTINAL	26
RESUMO .....	27
ABSTRACT .....	28
1 INTRODUÇÃO .....	29
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1 Local e época de realização.....	34
2.2 Aves, instalações e equipamentos.....	34
2.3 Delineamento, tratamentos e manejo experimental .....	34
2.3.1 Delineamento e tratamentos experimentais .....	34
2.3.2 Rações e manejo experimental .....	36
2.4 Análises laboratoriais.....	40
2.5 Análise estatística .....	43
2.5.1 Biodisponibilidade relativa .....	44
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
3.1 Desempenho .....	45
3.1.1 Desempenho fase inicial .....	45
3.1.2 Desempenho na fase de crescimento e período integral.....	50
3.2 Características ósseas.....	60
3.2.1 Mineralização óssea aos 21 dias de idade .....	60

3.2.2	Mineralização óssea aos 45 dias de idade e biodisponibilidade relativa .....	66
3.2.3	Discondroplasia tibial e atividade da fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo.....	75
3.3	Características de carcaça .....	77
3.4	Morfologia intestinal .....	79
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>84</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>85</b>
	<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>90</b>
	<b>VITAMINA D<sub>3</sub> (COLECALCIFEROL) E 25-HIDROXI-COLECALCIFEROL (25-OHD<sub>3</sub>) EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE: BALANÇO E RETENÇÃO DE CÁLCIO E FÓSFORO...90</b>	
	<b>RESUMO .....</b>	<b>91</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>92</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>93</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>95</b>
2.1	Local e época de realização.....	95
2.2	Aves, instalações e equipamentos.....	95
2.3	Delineamento, tratamentos e manejo experimental.....	96
2.3.1	Delineamento e tratamentos experimentais .....	96
2.3.2	Rações e manejo experimental .....	96
2.4	Metodologia.....	98
2.5	Análises laboratoriais.....	99
2.6	Análises das rações experimentais .....	101
2.7	Características avaliadas .....	102
2.8	Análise estatística .....	102
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>103</b>
3.1	Consumo, excreção e retenção (absolutos) de cálcio, fósforo total e fítico.....	103
3.2	Coefficientes de retenção (aparente) de cálcio, fósforo total e fítico .....	109
3.3	Concentração de cálcio, fósforo total e fítico nas excretas .....	113
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>115</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>116</b>
	<b>IV CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>119</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>120</b>

## RESUMO

BRITO, Jerônimo Ávito Gonçalves de. **Vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) e 25-hidroxi-colecalfiferol (25-OHD<sub>3</sub>) em rações de frangos de corte**. 2008. 120p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

O experimento foi conduzido objetivando-se avaliar níveis/programas de vitamina D, proveniente das vitaminas D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub>, em rações de frangos de corte criados em gaiolas. Utilizaram-se 1.500 pintos de um dia, machos, da linhagem Cobb-700, provenientes de incubatório comercial, alojados em gaiolas metálicas (100), com dispositivos e manejo adaptados para a criação das aves ao longo do ciclo de criação. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com dois tratamentos adicionais, 10 repetições por tratamento. Os fatores em estudo foram níveis/programas de suplementação de vitamina D (20/16/10; 37,5/30/18,8; 87,5/70/43,8 e 137,5/110/68,8 µg/kg ração), de acordo com a fase em estudo (inicial/crescimento/final), oriunda de duas (2) fontes. Os tratamentos adicionais foram constituídos pela suplementação em conjunto das duas fontes (D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub>), em diferentes proporções (50+37,7/40+30/25+18,8 e 50+70/40+56/25+35 µg/kg). Aos 18 dias, 5 repetições de cada tratamento foram destinadas a um ensaio metabólico para a avaliação da retenção e da excreção de cálcio e fósforo. As rações foram à base de milho e farelo de soja, com suplementação de fitase (500 FTU/kg), reduzindo-se os níveis de fósforo disponível (25%) e de cálcio (10%) em relação às exigências, sendo o programa de alimentação composto por quatro (4) rações, que correspondem às fases pré-inicial, inicial, crescimento e final com níveis nutricionais seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2005). Avaliaram-se o desempenho, as características ósseas e de carcaça, a retenção aparente de cálcio e fósforo, assim como a morfologia intestinal. Observou-se maior (p<0,05) ganho de peso e consumo de ração aos 45 dias de idade, para o grupo de aves dos tratamentos adicionais em relação ao ensaio fatorial, sem efeitos sobre a conversão alimentar. Observou-se resposta quadrática (p<0,05) no teor de cinzas ósseas (CO), aos 21 dias, em função dos níveis de suplementação de vitamina D, com maximização estimada em 111 µg/kg. A fonte 25-OHD<sub>3</sub> gerou maiores (p<0,05) valores de cálcio nas tíbias (Ca), nos dois menores níveis de suplementação, aos 21 dias de idade. Aos 21 dias, observou-se resposta linear (p<0,05) sobre o teor de fósforo (P) nos ossos, com a suplementação crescente de vitamina D. Verificou-se uma maior retenção de fósforo (p<0,05) com a utilização de 25-OHD<sub>3</sub> na fase estudada (19-21 dias), sem efeitos positivos sobre

---

<sup>1</sup>Comitê de orientação: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Orientador); Prof. Édison José Fassani – UFVJM; Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA;

a retenção de cálcio e de fósforo fítico. Houve redução ( $p < 0,05$ ) na incidência de discondroplasia tibial (DT), aos 21 dias, com a utilização de 25-OHD<sub>3</sub> em detrimento da vitamina D<sub>3</sub>, assim como, aos 45 dias, a fonte 25-OHD<sub>3</sub> gerou maiores valores de CO e P nos ossos, sem efeitos sobre a concentração de C. Aves alimentadas com 25-OHD<sub>3</sub> apresentaram maior ( $p < 0,05$ ) rendimento de carcaça, sem efeitos significativos sobre o rendimento de peito e coxa + sobrecoxa. Na maioria das características avaliadas, os tratamentos adicionais (média) proporcionaram benefícios, quando comparados à suplementação isolada das fontes (média fatorial). Pode-se concluir que a adição de 25-OHD<sub>3</sub> em rações contendo vitamina D<sub>3</sub> otimiza características de desempenho e, principalmente, a mineralização óssea, sendo recomendada a sua suplementação em combinação com a vitamina D<sub>3</sub> em 50+37,7; 40+30; 25+18,8 µg/kg de ração, nas fases inicial, crescimento e final, respectivamente.

## ABSTRACT

BRITO, Jerônimo Ávito Gonçalves de. **Vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol) and 25-hidroxi-cholecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) in broiler chickens**. 2008. 120p. Thesis (Doctorate in Monogastric Nutrition). Federal University of Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

The experiment was conducted aiming to evaluate levels/programs of vitamin D, coming from vitamin D<sub>3</sub> and 25-OHD<sub>3</sub> in broiler chicken feeds reared in cages. 1,500 male chickens one day old of the Cobb-700 strain, coming from commercial incubatory were utilized, being housed in metallic cages (100), with both appliances and management adapted for bird raising along the rearing cycle. The completely randomized design in a factorial scheme with two additional treatments and 10 replicates per treatment was adopted. The factor in study were levels/programs of supplementation of vitamin D (20/16/10; 37.5/30/18.8; 87.5/70/43.8 and 137.5/110/68.8 µg/kg feed) according to the phase in study (start/growing/final), coming from two (2) sources. The additional treatments were constituted by the joint supplementation of the two sources (D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub>) at different proportions (50+37.7/40+30/25+18.8 and 50+70/40+56/25+35 µg/kg). At 18 days, five (5) replicates of each treatment were intended to a metabolism trial for evaluation of retention and excretion of calcium and phosphorus. The diets were based upon corn and soybean meal with supplementation of phytase (500 FTU/kg) reducing the levels of available phosphorus (25%) and calcium (10%) in relation to the requirements, the feeding program being consisting of four (4) diets which correspond to the pre-starter, starter, growing and finish phases with nutritional levels following the recommendations by Rostagno et al. (2005). Performance, bone characteristics and carcass, apparent retention of calcium and phosphorus as well as the intestinal morphology were evaluated. Increased weigh gain ( $p < 0.05$ ) and feed consumption at 45 days of age for the group of birds of the additional treatments in relation to the factorial trial without any effects on feed conversion was found. A quadratic response ( $p < 0.05$ ) was observed in the content of bone ashes (CO) at 21 days as related to the levels of supplementation of vitamin D, with the maximization estimated at 111 µg/kg. The source 25-OHD<sub>3</sub> generated increased

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Adviser); Prof. Édison José Fassani – UFVJM; Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA

( $p < 0.05$ ) values of calcium in the tibias (Ca) at the lower levels of supplementation at 21 days old. At 21 days, a linear response ( $p < 0.05$ ) on the P content (P) in the bones with a growing supplementation of vitamin D was noticed. A greater retention of total phosphorus ( $p < 0.05$ ) was verified with use of 25-OHD<sub>3</sub> in the investigated phase (19-21days), without any positive effects on the retention of calcium and phytic phosphorus. There was a reduction ( $p < 0.05$ ) in the incidence of tibial dyschondroplasia (TD) at 21 days with use of 25-OHD<sub>3</sub> to the detriment of vitamin D<sub>3</sub>, as well as at 45 days, the source 25-OHD<sub>3</sub> generated higher values of CO and P in the bones, without any effects on the concentration of C. Birds fed 25-OHD<sub>3</sub> presented greater ( $p < 0.05$ ), carcass yield, without significant effects on the yield of breast and thigh + drumstick. In the most of the evaluated characteristics, the additional treatments (mean) supplied benefits, when compared with the single supplementation of the sources (factorial mean). One can conclude that the addition of 25-OHD<sub>3</sub> in diets containing vitamin D<sub>3</sub> optimizes performance characteristics and mainly bone mineralization, its supplementation being recommended in combination with vitamin D<sub>3</sub> at 50+37.7;40+30;25+18.8 µg/kg of diet in starter, growing and finish phases, respectively.

**CAPÍTULO I**  
**CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O potencial do Brasil, como produtor e exportador, na cadeia avícola de corte mundial é, sem dúvida, incontestável. Esta posição é resultado, principalmente, da alta competitividade do frango aqui produzido a baixo custo quando comparado ao de outros países exportadores e, mais recentemente, devido ao valor agregado dos produtos (cortes) oriundos do frango de corte.

A busca incessante por possíveis alternativas que venham a reduzir os custos e otimizar cada vez mais a produção é uma tarefa de técnicos, extensionistas, produtores e pesquisadores, no dia-a-dia. Nesse contexto, a redução das perdas no processo produtivo, seja diminuição na mortalidade e ou desuniformidade do lote, é sempre uma meta a ser atingida.

Dentre as diversas causas de altos índices de mortalidade e desuniformidade na produção de frangos de corte, destacam-se os problemas de pernas/ósseos que, geralmente, aparecem como principal fator. No Brasil, não há estatística do custo/prejuízo gerado com problemas de pernas na produção de frangos de corte. No entanto, nos EUA, dados apontam um prejuízo no valor de US\$ 120 milhões, somando-se a produção de frangos e perus, sem contabilizar, no entanto, a avicultura de postura que, sabidamente, enfrenta também esse problema (Cook, 2000).

Os fatores associados a problemas de pernas são inúmeros e o fator genético parece ser o principal deles. Linhagens atuais apresentam um crescimento acelerado, com alterações de algumas características fisiológicas que resultam em anomalias de diversas ordens.

Secundariamente, aspectos nutricionais, como níveis de cálcio, de fósforo, de alguns microminerais, principalmente zinco e manganês, de alguns aminoácidos e de algumas vitaminas, dentre as quais destaca-se a vitamina D, que apresenta papel primordial no metabolismo de cálcio e fósforo e,



conseqüentemente, na formação e no desenvolvimento do esqueleto, podem influenciar, de acordo com os níveis e as fontes (metabólitos) de suplementação utilizadas, a incidência e a severidade desses problemas.

De maneira geral, a utilização de níveis práticos (campo) de suplementação da vitamina D, em diferentes fases de criação, foge às recomendações do National Research Council (1994), assim como há uma série de trabalhos, na literatura científica, divergentes em relação à fonte usada e aos resultados de desempenho e de redução de problemas de pernas e anomalias ósseas.

Existem, no mercado, vários metabólitos de vitamina D produzidos artificialmente pela indústria. Entre os principais, destacam-se:  $1\alpha$ -hidroxicolecalciferol, 25-hidroxicolecalciferol ( $25\text{-OHD}_3$ ) e 1,25-dihidroxicolecalciferol ( $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ).

No Brasil, há carência de estudos relacionados ao efeito do uso de diferentes fontes (metabólitos) em rações de frangos, matrizes e poedeiras, avaliando características produtivas e ósseas.

Assim sendo, objetivou-se, com a realização do presente estudo, avaliar a utilização do metabólito  $25\text{-OHD}_3$ , comparado com a forma tradicional/padrão de suplementação (vitamina  $\text{D}_3$  - colecalciferol) em rações de frangos de corte criados em gaiolas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Metabolismo e funções da vitamina D nas aves

Classificada como vitamina lipossolúvel, a vitamina D pode ser sintetizada pelas plantas e pelos animais. Um esteróide das plantas, o ergosterol, pela incidência de raios solares, é convertido em ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) e é, usualmente fonte de vitamina D das rações. O colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) é produzido exclusivamente pelos animais, por meio da conversão do 7-deidrocolesterol, derivado do colesterol ou esqualeno, que é sintetizado no fígado e está presente em grandes quantidades na pele, na parede intestinal e em outros tecidos, também pela incidência da luz solar (Bertechini, 2006).

O ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) possui propriedades muito limitadas ao ser usado em dietas como fator antiosteopenia, em aves (Macari et al., 2002). Ainda segundo esses mesmos autores, a concentração de vitamina D na maioria dos ingredientes comumente utilizados na formulação de rações para aves é relativamente baixa.

Normalmente, o colecalciferol é absorvido na porção final do duodeno, juntamente com lipídeos e outras vitaminas e compostos lipossolúveis, pela ação conjunta de ácidos e sais biliares e das lipases. Na ave, o colecalciferol passa para a corrente sanguínea na forma de portamícrons, a qual chega até o fígado (Klasing, 1998).

As vitaminas D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> não são biologicamente ativas, mas são convertidas *in vivo* à forma ativa da vitamina D por duas reações sequenciais de hidroxilação. A primeira hidroxilação ocorre na posição 25 e é catalisada por uma hidroxilase específica no fígado. O produto da reação, 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>), é a forma predominante da vitamina D no plasma, sendo uma importante forma de armazenamento da vitamina. O 25-OH

D<sub>3</sub> é posteriormente hidroxilado na posição 1 por uma 25-hidroxicolecalciferol 1-hidroxilase específica, encontrada primariamente no rim. O resultado é a formação do composto denominado 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). Esta hidroxilase, bem como a 25-hidroxilase hepática, utiliza também, em sua catálise, citocromo P<sub>450</sub>, oxigênio molecular e NADPH (Champe & Harvey, 1996).

A função geral de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> é manter níveis plasmáticos adequados (ação combinada com o paratormônio- PTH) de cálcio e fósforo, funcionando basicamente como um hormônio esteróide. O metabólito fisiologicamente ativo realiza estas funções (1) por meio da captação crescente de cálcio e fósforo pelo intestino, (2) por minimizar a perda de cálcio e fósforo pelos rins e (3) por estimular a reabsorção óssea, quando necessário (Edwards, 2000).

O 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> entra na célula intestinal e liga-se a um receptor citosólico. O complexo 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-receptor move-se, então, ao núcleo, onde interage seletivamente com o DNA celular. Como resultado, a captação de cálcio é aumentada pelo aumento da síntese de proteínas específicas de ligação ao cálcio. Assim, o mecanismo de ação do 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> é típico dos hormônios esteróides (Edwards, 2000; Macari et al., 2002; Sullivan, 1994).

Da mesma forma, segundo Macari et al. (2002), a ligação do 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> com um receptor de membrana promove uma amplificação no sistema adenilatociclase-AMPC-proteína quinase, que resulta na ativação da cascata do fosfatidilinositol. Como consequência, ocorre a abertura de vários canais de cálcio presentes nas células (mecanismo não-genômico), estimulando a entrada de cálcio como segundo mensageiro. Finalmente, ocorre também a ativação pelas proteínas quinases da transcrição gênica de proteínas transportadoras de cálcio.

O 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> diminui a excreção renal de Ca<sup>2+</sup> e Pi. Tanto o 1,25 quanto o 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> podem exercer efeitos de retroalimentação sobre a

síntese e ou a excreção de hormônio paratireóideo. Todavia, tais efeitos não foram definitivamente estabelecidos (Pizauro Júnior, 2002).

O 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> estimula a mobilização de cálcio e de fosfato dos ossos por um processo que requer síntese de proteínas e a presença de PTH. O resultado é um aumento no cálcio e no fosfato plasmáticos. Assim, o osso é um importante reservatório de cálcio, que pode ser mobilizado para manter os níveis plasmáticos também nas aves (Soares, 1995).

Secundariamente, algumas funções também são relacionadas com a vitamina D. No entanto, com origem ainda não totalmente esclarecida, um exemplo seria o efeito da vitamina D em amplificar a resposta imune. Aslam et al. (1998) verificaram depressão na resposta celular imune em frangos de corte alimentados com dietas deficientes em vitamina D<sub>3</sub>.

Lokahare et al. (2005) não observaram efeitos da suplementação de vitamina D<sub>3</sub> acima das recomendações do National Research Council (1994) sobre características relacionadas à resposta imune. Da mesma forma, não verificaram efeito da suplementação de vitamina C em associação com a vitamina D para essas variáveis.

Fritts et al. (2005) concluíram que os níveis de suplementação normalmente usados na avicultura industrial (2.000-4.000 UI/kg) não foram suficientes para alterar a resposta imune em frangos de corte. Os autores também relataram que o metabólito 25-OHD<sub>3</sub> tem efeito similar à vitamina D<sub>3</sub>, quando se trata de características relacionadas ao sistema imune.

## **2.2 Uso de vitamina D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub> e anormalidades esqueléticas em aves**

No Brasil, não existem estatísticas estimando o custo com problemas esqueléticos na produção avícola industrial (frangos de corte, matrizes e poedeiras), no entanto, perdas com desuniformidade e mortalidade oneram os

custos de produção de toda a cadeia avícola nacional. O surgimento de problemas ósseos, assim como outras desordens metabólicas de linhagens modernas de frangos e poedeiras, apresenta como principal origem o intenso melhoramento e a seleção genética ocorridos nas últimas décadas e coincide, sem sombras de dúvidas, com os excelentes índices zootécnicos apresentados pelas aves de produção industrial modernas.

Nos Estados Unidos (EUA), durante a realização de um simpósio na Universidade de Nebraska, Sullivan (1994) alertava o Departamento de Ciência Avícola Americano de que os custos gerados por problemas ósseos associados à exploração industrial de frangos, perus e matrizes correspondiam a cerca de US\$ 160 milhões por ano. O mesmo autor também descreveu as principais anomalias ósseas, com seus sintomas e principais causas.

Entre essas anomalias, a discondroplasia tibial (DT), o raquitismo e a condrodistrofia são as principais causadoras de perdas em frangos de corte e perus. Além do componente genético e de fatores ainda não totalmente esclarecidos, aspectos nutricionais também estão associados a esses problemas. Em uma revisão, Edwards (2000) relata que a literatura científica aponta evidências de que pode haver o envolvimento de, pelo menos, 8 vitaminas, 13 minerais e 6 aminoácidos com estes problemas. Essa associação multifatorial das causas indica a gravidade do problema.

Durante as duas últimas décadas, o foco de interesse dos nutricionistas, em relação a esses problemas, gerou uma série de estudos, entre os quais se destacam artigos sobre os efeitos da vitamina D, do cálcio, do fósforo, do cloro, do zinco, do manganês, do cobre, das vitaminas A e C, da piridoxina, da colina, do ácido fólico, da niacina, da metionina, da cistina, da cisteína e da homocisteína (Cook, 2000).

Especificamente sobre a vitamina D, há uma série de trabalhos que buscam associar a suplementação (nível e forma) com a incidência de problemas ósseos e o desenvolvimento esquelético das aves.

Por estar diretamente associada à absorção de cálcio e fósforo, a vitamina D, na sua forma ativa, pode influenciar o surgimento de anomalias ósseas. A discondroplasia tibial, principal distúrbio ósseo de frangos de corte, consiste na hipertrofia de condrócitos na zona pré-hipertrófica, que resulta numa massa de cartilagem avascular na região de crescimento dos ossos longos (Pizauro Jr., 2002). A variação na relação cálcio e fósforo nas dietas e a deficiência de vitamina D parecem ser principais causas nutricionais relacionadas à discondroplasia tibial (Sullivan, 1994).

Segundo Edwards (1994), a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) necessária para otimizar cinzas ósseas e reduzir a incidência de raquitismo em frangos de corte criados em condições de ausência de luz ultravioleta (UV) seria de, aproximadamente, 500 e 900 UI/kg de ração, respectivamente (1 µg da fonte padrão de vitamina D<sub>3</sub> ou de qualquer um dos seus metabólitos equivale, para fins de padronização, a 40 UI/kg). Ainda segundo o mesmo autor, a presença e a intensidade de luz ultravioleta são primordiais no que tange à síntese de vitamina D e à incidência de problemas ósseos. A existência de lâmpadas fluorescente em gaiolas/boxes ou a simples exposição a ambientes abertos podem reduzir a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> de 2.000 para 200 UI/kg, reduzindo a incidência e severidade da discondroplasia tibial.

Soares et al. (1995) citam que o 25-OHD<sub>3</sub> é cerca de duas vezes mais potente que o colecalfiferol normalmente usado como fonte de vitamina D, para maximizar cinzas ósseas e não o diferencia em relação à incidência e à severidade de discondroplasia tibial. No entanto, estes autores relatam que o 25-OHD<sub>3</sub> é o metabólito com maior potencial de uso, em substituição à vitamina

D<sub>3</sub>, visto que a forma propriamente ativa produzida artificialmente/industrialmente, o 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, apresenta efeito tóxico com pequenas doses de inclusão.

Sobre a toxidez do 25-OHD<sub>3</sub>, Yager et al. (1995a), verificaram que a concentração plasmática deste metabólito aumenta rapidamente, em detrimento de outros tecidos (pele, peito e ossos). A evidência de problemas relacionados à calcificação renal ocorre quando a suplementação na ração é maior que 10 vezes a exigência (cerca de 690 µg ou 27.600 UI/kg de ração). Os autores concluem que o 25-OHD<sub>3</sub> é de 5 a 10 vezes mais tóxico que a vitamina D<sub>3</sub>.

Em estudo conduzido com dietas purificadas, Kasim et al. (1996) concluíram que a suplementação de 400 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub> é suficiente para prevenir problemas ósseos.

Rennie & Whitehead (1996), com a realização de três experimentos com dietas à base de trigo e de farelo de soja, verificaram que a incidência de DT reduziu de 65% para 10%, ao substituírem a suplementação de 75 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub> por 25-OHD<sub>3</sub> (mesmo nível). Os autores verificaram, nos demais ensaios, que a suplementação até 250 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> alivia a severidade e a incidência de DT, independente da presença de vitamina C suplementada na ração. Isso indica, segundo os autores, que este metabólito mostrou-se efetivo em melhorar a saúde óssea de frangos de corte.

Edwards et al. (1996), ao estudarem dois níveis (1.000 e 1.250 UI/kg de ração) de suplementação de vitamina D<sub>3</sub>, verificaram que, mesmo o nível mais alto não foi suficiente para prevenir o raquitismo e maximizar o teor de cinzas ósseas em frangos de corte. Estes autores concluíram que, em rações à base de milho e farelo de soja deficientes em fósforo, é necessário um nível de suplementação acima de 1.250 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub>.

Em um amplo estudo, Mitchell et al. (1997) verificaram que, em linhagens de frangos de corte de alta incidência de DT, a presença de luz

ultravioleta e o nível de suplementação da vitamina D<sub>3</sub> e ou de seus metabólitos (exceto 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) não foram capazes de prevenir a incidência desta anomalia em linhagens de alta incidência. No entanto, em linhagens de baixa incidência de DT, a suplementação crescente (5 a 40 µg/kg) de 25-OHD<sub>3</sub> e 1α-OHD<sub>3</sub> reduz a incidência e a severidade deste distúrbio. Ainda segundo os mesmos autores, o metabolismo da vitamina D entre as diferentes linhagens (alta e baixa incidência de DT) pode ser diferente.

Zhang et al. (1997), verificaram que, a cada aumento de 10 µg até 70 µg/kg na suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> a uma ração basal com 55 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub>, há uma redução de 1% e 2% em incidência de DT para fêmeas e machos, respectivamente, de frangos de corte selecionados para baixa incidência de DT. Também em outros trabalhos, em linhagens de alta incidência o metabólito não se mostrou eficaz na redução desta anomalia.

Segundo Baker et al. (1998), em dietas com deficiências marginais e ou adequadas para cálcio e fósforo, a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> acima de 40 µg/kg (1.600 UI/kg) não é efetiva em reduzir a incidência de problemas ósseos.

Altos níveis de vitamina A nas rações afetam negativamente a absorção de vitamina D<sub>3</sub>. De acordo com Aburto et al. (1998), em rações iniciais de frangos de corte com 45.000 UI/kg de vitamina A, a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> em 80 µg/kg (3.200 UI/kg) não foi suficiente para eliminar a incidência de DT e raquitismo, ao passo que, nas mesmas condições, a suplementação de 20 µg/kg (800UI/kg) de 25-OHD<sub>3</sub> foi efetiva em eliminar a ocorrência de problemas ósseos.

Aburto et al (1998), verificaram que a suplementação de vitamina A e E acima de 20.000 e 10.000 UI, respectivamente, aumenta a incidência de raquitismo e DT em frangos jovens (até 16 dias) e, como consequência, aumenta as necessidades suplementares de vitamina D<sub>3</sub>.



Utilizando dietas purificadas, Silva et al. (2001) avaliaram a associação entre a suplementação de ácido L-glutâmico e vitamina D<sub>3</sub> e verificaram que, para o desenvolvimento adequado e a minimização da incidência de problemas de pernas de frangos de corte até 14 dias de idade, é recomendada a inclusão de 10% de ácido L-glutâmico e de 15.000 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração.

Edwards (2002) verificou redução na incidência de raquitismo relacionado à deficiência de fósforo e aumento de teor de cinzas ósseas ao suplementar uma ração basal contendo 1.100 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub> com 5 µg/kg (200UI/kg) de 25-OHD<sub>3</sub>, para frangos de corte de 1 a 16 dias de idade, com níveis de cálcio e fósforo disponível abaixo dos recomendados (0,75% e 0,30%, respectivamente).

Fritts & Waldroup (2003) verificaram redução na incidência e na severidade de DT e aumento das cinzas ósseas de uma linhagem de alta incidência de problemas ósseos, ao substituírem a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> por 25-OHD<sub>3</sub>. Estes autores sugeriram também que as necessidades de suplementação podem ser menores ao se utilizar este metabólito em rações de frangos de corte.

Applegate et al. (2003) observaram aumento no teor de cinzas de tíbias de frangos de corte (Ross-308), aos 16 dias, com a suplementação de 210 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> a uma ração basal contendo 1.650 UI/kg de colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) com nível de cálcio deficiente (0,4%) e ou adequado (0,9%).

Ledwaba & Roberson (2003) conduziram uma série de experimentos com o objetivo de verificar a eficiência da suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> na prevenção de DT em uma linhagem de baixa incidência desta anomalia (Ross) com a variação nos níveis de cálcio das rações. Estes autores verificaram que a suplementação de 10 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> eliminou a incidência de raquitismo, reduziu a incidência e a severidade de DT e aumentou as cinzas ósseas em frangos de corte (17 dias) alimentados com rações com baixa relação

cálcio/fósforo (que induzem à incidência de DT) e contendo 27,5 µg ou 1.100 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub>, na presença de luz UV. Os mesmos autores observaram também que, nas mesmas condições descritas anteriormente, excetuando-se a presença de luz UV, a suplementação de 40 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> otimizou essas características.

Diferentemente da maioria dos trabalhos, Fritts & Waldroup (2005), verificaram aumento na incidência e na severidade de DT em frangos, quando a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> nas rações foi substituída por 25-OHD<sub>3</sub>, na presença ou na ausência de fitase (1.000 FTU/kg) e com dois níveis de fósforo disponível na ração (0,4% e 0,3%).

Ao avaliar a associação entre a vitamina C e a vitamina D<sub>3</sub>, Lohakare et al. (2005), concluíram que a suplementação de 200 mg de vitamina C/kg de ração, associada à suplementação 200 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração, é suficiente para manter um bom desenvolvimento do esqueleto de frangos de corte.

Roberson et al. (2005) concluíram que não há efetividade do 25-OHD<sub>3</sub> em reduzir a incidência e a severidade de DT e em alterar o conteúdo de cinzas em tíbias, quando os níveis de cálcio das rações estão adequados de acordo com a fase em estudo.

Em um estudo conduzido com matrizes pesadas e sua progênie, Atencio et al. (2005), verificaram que o valor biológico do 25-OHD<sub>3</sub>, em relação à vitamina D<sub>3</sub>, foi de 138%, 133%, 128% e 111%, para as características produção de ovos, eclodibilidade, taxa de mortalidade embrionária e cinzas corporal da progênie, respectivamente. No entanto, a superioridade deste metabólito é pronunciada, principalmente em baixos níveis de suplementação (125 UI/kg).

Yan & Waldroup (2006), baseados no critério cinzas ósseas em frangos de corte, concluíram que, para maximizar esta variável, os níveis de fósforo disponível com a utilização de milho dentado nas rações são estimados em 0,4%,

0,35%, 0,32% e 0,27% (até 21 dias), com a suplementação de vitamina D<sub>3</sub>, D<sub>3</sub> + fitase (1.000 FTU/kg), 25-OHD<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub>+fitase (1.000 FTU/kg), respectivamente, não havendo diferenças entre as fontes de vitamina D, quando o milho usado nas rações for geneticamente modificado para baixo teor de fósforo fítico.

### **2.3 Vitamina D<sub>3</sub> e 25-OH D<sub>3</sub> – Efeitos sobre o desempenho e o metabolismo de cálcio e de fósforo em frangos de corte**

Com uma série de 10 ensaios envolvendo 36 mil frangos de corte, Yarger et al. (1995b) verificaram melhoria no desempenho (ganho de peso e eficiência alimentar) quando a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> foi substituída por 25-OHD<sub>3</sub>, sem afetar a mortalidade. Os autores observaram também melhoria nas características de desempenho com a suplementação de níveis crescentes de 25-OHD<sub>3</sub>. Entretanto, o mesmo não foi verificado com a suplementação de vitamina D<sub>3</sub>. A concentração sérica de 25-OHD<sub>3</sub> aumentou mais rapidamente em aves alimentadas com rações contendo este metabólito em relação a aves alimentados com colecalciferol. A concentração deste metabólito no sangue foi correlacionada positivamente com as características de desempenho, o que não foi observado para a concentração de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> no sangue.

Soares et al. (1995), relatam que o 25-OHD<sub>3</sub> é cerca de 3 vezes mais potente quando a característica em questão é a concentração de cálcio plasmático.

Yager et al. (1995a), também verificaram melhor desempenho de frangos de corte com a fonte de suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> (69 µg/kg) em relação ao colecalciferol. O aumento na concentração sérica 25-OHD<sub>3</sub> foi de 13,3 para 42,5 ng/mL (colecalciferol e 25-hidroxicolecalciferol, respectivamente).

Rennie & Whitehead (1996), verificaram que o desempenho não foi afetado ao substituir a suplementação de 75 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub> por 25-OHD<sub>3</sub> (mesmo nível). Estes autores verificaram, ainda, que a suplementação até 250 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> também não afetou o desempenho, o cálcio ionizável no sangue e o cálcio plasmático. No entanto, o fósforo plasmático foi maior com a suplementação associada de 25-OHD<sub>3</sub> (75 e 250 µg/kg) e vitamina C (250 mg/kg), em detrimento dos tratamentos com colecalciferol (75µg/kg) e 25-OHD<sub>3</sub> sem suplementação de vitamina C (75 e 250 µg/kg) e colecalciferol + 1α-hidroxicolecalciferol (75 + 5 µg/kg).

Em um estudo avaliando os efeitos da suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> em rações (55 µg de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração ou 2.200 UI/kg) para linhagens de frangos de corte com baixa e alta incidência de problemas de pernas, Zhang et al. (1997), verificaram que a suplementação adicional (69 e 344,5 µg/kg) do metabólito de vitamina D não melhorou o desempenho das aves.

Mitchell et al. (1997), avaliaram diversos fatores associados ao desempenho e a incidência de problemas de pernas em frangos de corte. Os autores verificaram que a luz UV aumentou o ganho de peso e a concentração de fósforo plasmático, aos 16 dias, independente da linhagem estudada (baixa e alta incidência de DT), porém, não afetou a eficiência alimentar e o cálcio plasmático. Verificaram também efeito quadrático dos níveis suplementares de colecalciferol sobre o ganho de peso, cálcio e fósforo plasmático, com valores máximos estimados para estas variáveis em, aproximadamente, 20 µg/kg de ração. Ainda segundo os mesmos autores, não houve efeitos da suplementação (5 µg/kg a uma ração basal contendo 27,5 µg/kg de colecalciferol) de diferentes metabólitos de vitamina D (1α-OHD<sub>3</sub>, 25 OHD<sub>3</sub>, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 24R,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) na ração sobre o desempenho e o cálcio plasmático das diferentes linhagens estudadas. Porém, os metabólitos 25 OHD<sub>3</sub> e 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> foram

efetivos em aumentar o fósforo plasmático. Com base nos resultados, concluíram que a suplementação crescente de 25 OHD<sub>3</sub> a uma ração basal (isenta de colecalciferol) aumentou o ganho de peso, a concentração de fósforo e o 25 OHD<sub>3</sub> plasmático, porém, não afetou a eficiência alimentar, o cálcio e o 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> plasmático, nas duas linhagens.

Aburto et al. (1998) verificaram, em estudo dos efeitos de rações iniciais de frangos de corte com 45.000 UI/kg de vitamina A, que esse nível não afetou o desempenho. No entanto, a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> e 25 OHD<sub>3</sub>, em 20 e 10 µg/kg, respectivamente, melhorou o ganho de peso e a eficiência alimentar e aumentou as concentrações plasmáticas de cálcio e fósforo, independente da suplementação de vitamina A.

Aburto et al (1998) verificaram, que a suplementação de vitamina A e E acima de 20.000 e de 1.000 UI/kg piorou o desempenho em frangos jovens (até 16 dias) e, como consequência, aumentou as necessidades suplementares de vitamina D<sub>3</sub>.

Silva et al. (2001) avaliaram a associação entre a suplementação de ácido L-glutâmico e vitamina D<sub>3</sub> e verificaram que, para maximizar o ganho de peso e melhorar a conversão alimentar de frangos de corte até 14 dias de idade, é recomendada a inclusão de 8% de ácido L-glutâmico e 15.000 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub>.

Edwards (2002) verificou que a suplementação de 5 µg/kg (200UI/kg) de 25-OHD<sub>3</sub> a uma ração basal contendo 1.100 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub>, para frangos de corte de 1 a 16 dias de idade, com níveis de cálcio e fósforo disponível abaixo dos recomendados (0,75 e 0,30%, respectivamente), não afetou o desempenho e as concentrações plasmáticas de cálcio e fósforo, assim como a retenção de cálcio e de fósforo total, aos 8 e aos 16 dias. Porém, aumentou significativamente a retenção de fósforo fítico aos 8 e aos 16 dias

(38% para 44% e 53% para 64%, respectivamente) em relação à ração basal contendo 1.100 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração.

Ledwaba & Roberson (2003) verificaram que a suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> (dieta basal 27,5 µg ou 1.100 UI vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração) na presença de luz UV não afetou o desempenho, o cálcio e o fósforo sérico e a retenção de fósforo fítico em frangos de corte (17 dias) alimentados com rações com baixa relação cálcio/fósforo. Os mesmos autores observaram também que, nas mesmas condições descritas anteriormente, excetuando-se a presença de luz UV, a suplementação de 25-OH (0,10, 40 e 70 µg/kg) aumentou linearmente a retenção de fósforo fítico, sem afetar as demais características estudadas.

Fritts & Waldroup (2003) verificaram efeito linear crescente no ganho de peso e melhoria na conversão alimentar com a suplementação de vitamina D, sem efeito sobre a mortalidade. A suplementação de 25-OH na ração foi mais eficaz na melhoria nos índices de desempenho em detrimento de colecalciferol, sugerindo que as necessidades de suplementação para maximizar o desempenho podem ser menores ao se utilizar este metabólito.

Fritts & Waldroup (2005) não encontraram diferenças entre colecalciferol e 25-OHD<sub>3</sub> sobre características de desempenho de frangos de corte. No entanto, estes autores verificaram aumento do ganho de peso sem efeito sobre a conversão alimentar e a mortalidade quando a suplementação aumentou de 1.000 para 4.000 UI/kg de ração, independente da fonte usada, na presença ou na ausência de fitase (1.000 FTU) e com dois níveis de fósforo disponível na ração (0,4% e 0,3%).

Ao avaliar a associação entre a vitamina C e a vitamina D<sub>3</sub>, Lohakare et al. (2005) concluíram que a suplementação de 200 mg de vitamina C/kg de ração associada à suplementação 200 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração é suficiente para se obter um bom desempenho produtivo de frangos de corte.

Roberson et al. (2005) não observaram diferenças no ganho de peso e na conversão alimentar de frangos de corte aos 35 dias, com a inclusão de 40 µg/kg 25-OHD<sub>3</sub> a uma ração basal contendo 55 µg/kg de colecalciferol. Porém, verificaram maior aproveitamento do fósforo fítico pelo grupo de aves alimentadas com rações contendo 25-OHD<sub>3</sub>.

Atencio et al. (2005) verificaram que o desempenho de frangos de corte aos 16 dias de idade, advindos de matrizes alimentadas com rações contendo 125 UI/kg de 25-OHD<sub>3</sub>, foi superior em relação aos frangos originados de matrizes alimentadas com vitamina D<sub>3</sub> (mesmo nível). Porém, não houve diferenças para o desempenho das progênies quando a suplementação das matrizes foi de 500 UI/kg, para as fontes em questão.

A associação de uma série de fatores ligados ao aproveitamento e às exigências de fósforo foram estudados por Angel et al. (2005). Estes autores concluíram que o uso de fitase (600 FTU/kg), associada à suplementação adicional de 70 µg ou 2.800 UI25-OHD<sub>3</sub>/kg ração (ração basal com 4.630 UI colecalciferol/kg de ração) e à redução de 0,1% de fósforo disponível da ração, não alterou o desempenho de frangos de corte até os 49 dias, criados em sistema de cama. No entanto, apresentaram menor relação entre o consumo de fósforo (g) disponível e o ganho de peso (kg).

Yan & Waldroup (2006) verificaram que o teor de fósforo das excretas de frangos de corte variou de 1,06%, 1,11%, 0,98% e 0,78%, com a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (69 µg ou 2.760 UI/kg), vitamina D<sub>3</sub> + fitase (1.000 FTU/kg), 25-OHD<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub> + fitase (1.000 FTU/kg), respectivamente, não havendo diferenças para características de desempenho entre as fontes de vitamina D. Concluíram os autores que a associação de fitase e 25-OHD<sub>3</sub> pode ser boa alternativa para a redução do nível de fósforo dietético e a conseqüente redução na excreção deste mineral, que é potencial poluidor ambiental.

## **2.4 Necessidades nutricionais de vitamina D para frangos de corte**

Estudos conduzidos por Lofton & Soares (1986) e Waldroup (1965) definiram as recomendações preconizadas pelo NRC (1994). Estes estudos basearam-se em características de crescimento e relacionadas à mineralização e à incidência de problemas de pernas das linhagens existentes em cada período específico.

No entanto, com a evolução e o intenso melhoramento genético, surgiram linhagens comerciais de frangos de corte de alto potencial de formação de tecido magro, assim como inúmeros problemas metabólicos.

Independente da fase de criação, as recomendações do NRC (1994) para vitamina D<sub>3</sub> são 200 UI/kg de ração. As condições de determinação das exigências de vitamina D são imprescindíveis para a interpretação correta. Assim sendo, fatores, como a variável estudada (desempenho, características óssea, absorção e retenção de cálcio e fósforo, etc.), presença de luz UV, fonte de vitamina, linhagem em estudo e condições das instalações, podem afetar a determinação das necessidades nutricionais de suplementação de vitamina D em rações de frangos de corte.

Edwards et al. (1994) determinaram as necessidades nutricionais de vitamina D para frangos de corte (até 16 dias) em 275 UI/kg de ração para o máximo crescimento; 503 UI/kg para maximizar cinzas ósseas; 552 UI/kg para cálcio plasmático e 904 UI/kg para a prevenção de raquitismo, em condições de ausência de luz. Segundo estes autores, a luz UV é bastante representativa (cerca de 800 UI/kg) em reduzir a suplementação de colecalciferol para as aves.

Mitchell et al. (1997) determinaram as necessidades de suplementação de vitamina D para otimizar as principais características de interesse em linhagens de baixa e de alta incidência de problemas de pernas em frangos de corte na ausência de luz UV. Utilizando-se colecalciferol como fonte



suplementar, a maioria das variáveis foi maximizada ou estabilizou quando a suplementação foi de 20 µg ou 800 UI/kg, independente da linhagem. Por outro lado, esse valor é reduzido à metade quando a fonte suplementar é o 25-OHD<sub>3</sub>. Independente da fonte ou do nível de vitamina D, linhagens de alta incidência de DT não reduzem significativamente esta anomalia.

As indústrias de suplementos normalmente trabalham com margens de segurança, principalmente para vitaminas lipossolúveis, em torno de 5 a 10 vezes às reais necessidades das aves. Há, nestas recomendações, uma série de fatores intrínsecos à exploração e ao manejo na avicultura de corte industrial (Coelho, 2001).

O Guia DSM de Suplementação Vitamínica para Animais Domésticos (2004) preconiza a suplementação de 2.000-4.000 UI/kg, independente da fase de criação.

No Brasil, Rostagno et al. (2005) preconizam a suplementação de 2.000 UI/kg na fase inicial de criação de frangos de corte, reduzindo-se para 1.600 e 800 UI/kg nas fases de crescimento e final, respectivamente. Porém, estas recomendações, provavelmente, são baseadas nos níveis utilizados pela indústria de suplementos vitamínicos.

Nascimento (2005) relata que os níveis médios usados pela indústria da área de suplementos vitamínicos no Brasil são, em média, de 3.100, 2.415, 1.880 e 1.235 UI/kg ração (Colecalciferol), para as fases pré-inicial, inicial, crescimento e final, respectivamente.

Diante da complexidade e da ampla variação das condições da avicultura nacional, torna-se necessária a realização de pesquisas nessa área, visando esclarecer possíveis efeitos do aumento ou da redução da suplementação de vitamina D<sub>3</sub> e seus metabólitos, enfocando, principalmente, problemas de pernas, que causam grandes perdas na produção avícola nacional, redução na excreção de elementos potencialmente poluidores, como fósforo, ou o melhor

aproveitamento do fósforo fítico, assim como variação das condições de elaboração de dietas vegetais. Isso porque o Brasil é o principal exportador mundial e barreiras comerciais surgem rapidamente nesse sentido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABURTO, A.; BRITTON, W. M. Effects and interactions of dietary levels of vitamins A and E and cholecalciferol in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, N. 5, p. 666–673, MAY 1998.
- ABURTO, A.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; BRITTON, W. M. The Influence of vitamin A on the utilization and amelioration of toxicity of cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol, and 1,25-dihydroxycholecalciferol in young broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, N. 4, p. 585–593, Apr. 1998.
- ANGEL, R.; SAYLOR, W. W.; DHANDU, A. S.; POWERS, W.; APPLGATE, T. J. Effects of dietary phosphorus, phytase and 25-hydroxycholecalciferol on performance of broiler chickens grown in floor pens. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p. 1031–1044, July 2005.
- APPLGATE, T. J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H. L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 7, p. 1140-1148, July 2003.
- ASLAM, S. M., GARLICH, J. D., QURESHI, M. A., 1998. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 842–849, June 1998.
- ATENCIO, A.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; PESTI, G. M. Twenty-five hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute in broiler breeder hen diets and its effect on the performance and general health of the progeny. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n.8, p. 1277-1285, Aug. 2005.
- BAKER, D. H.; BIEHL, R. R.; EMMERT, J. L. EMMERT. Vitamin D3 Requirement of young chicks receiving diets varying in calcium and available phosphorus. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 39, N. 3, p. 413–417, July 1998.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 301 p.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed.- Porto Alegre: ARTMED, 1996.

COELHO, M.; MCKNIGHT, W.; COUSINS, B.; Effect of a targeted B-vitamin regimen on rate and efficiency of fast growing broilers from 0 to 49 days. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 832, 2001. Supp 1.

COOK, M. E. Skeletal deformities and their causes: Introduction. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 7, p. 982–984, July 2000.

DSM Vitamins Supplementation Guidelines for domestic animals. Switzerland: DSM Nutritional Products, 2005.

EDWARDS JUNIOR, H. M.; ELLIOT, M. A.; SOONCHARERNYING, S.; BRITTON, W. M. Quantitative requirement for cholecalciferol in the absence of ultraviolet light. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, n. 2, p. 288–294, Feb. 1994.

EDWARDS JUNIOR, H. M.; CARLOS, A. B.; KASIM, A. Evaluation of commercial cholecalciferol (D3) sources. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, n. 1, 1996. Suppl., Abstr.

EDWARDS JUNIOR, H. M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n.7, p. 1018–1023, July, 2000.

EDWARDS JUNIOR, H. M. Studies on the efficiency of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 7, p.1026–1031, July 2002.

FRITTS, C. A., WALDROUP, P. W. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 12, n. 1, p. 45-52, 2003.

FRITTS, C. A.; ERF, G. F; BERSI, T. K.; WALDROUP, P. W. Effect of source and level of vitamin D on immune function in growing broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v. 13, n. 2, p. 263-273, 2004.

FRITTS, C. A.; WALDROUP, P. W. Comparasion of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in broilers diets designed to minimize phosphorus excretion. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 14, n. 1, p.156-166, 2005.

KASIM, A. B.; CARLOS, A. B., EDWARDS JUNIOR, H. M. The responses of broilers to increasing levels of cholecalciferol in diets derived from purified

soybean protein or soybean meals. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, n. 69, 1996. Suppl. 1, Abstr.

KLASING, K. C. **Comparative avian nutrition**. Wallingford: CAB International, 1998. p. 350.

LEDWABA, M. F.; ROBERSON, K. D. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyschondroplasia in Ross cockerels depends on dietary calcium level. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n.11, p. 1769–1777, Nov. 2003.

LOFTON, J. T.; SOARES JUNIOR, J. H. The effects of vitamin D3 on leg abnormalities in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 65, n. 4, p. 749-756, Apr. 1986.

LOHAKARE, J. D.; KIM, J. K.; RYU, M. H.; HAHN, T. W.; CHAE, B. J. Effects of vitamin C and D interaction on the performance, immunity and bone characteristics of commercial broilers. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 14, n. 4, p. 670-678, 2005.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.

MITCHELL, R. D.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; MCDANIEL, G. R. The effects of ultraviolet light and cholecalciferol and its metabolites on the development of leg abnormalities in chickens genetically selected for a high and low incidence of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 346–354, Feb. 1997.

NASCIMENTO, A. H.; SILVA, M. A.; LIMA, I. L. Níveis nutricionais utilizados para frangos de corte pela indústria no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 2., 2005, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 331-347.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirement of Poultry**. 9. ed. Washington: National Academic Science, 1994. 155 p. (Nutrient Requirements of Domestic Animals).

PIZAURO JUNIOR, J. M.; CIACAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: Mecanismos de lesão e controle. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, Campinas, v. 4, n. 3, p. 169-185, dez. 2002.

RENNIE, J. S.; WHITEHEAD, C. C. Effectiveness of dietary 25- and 1-hydroxy cholecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 37, n.2, p. 413-421, May 1996.

ROBERSON, K. D.; LEDWABA, M. F.; CHARBENEAU, R. A. Studies on the efficacy of twenty-five hydroxycholecalciferol to prevent tibial dyschondroplasia in ross broilers fed marginal calcium to market age. **International Journal Poultry Science**, Farsalabad, v. 4, n. 2, p. 85-90, 2005.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 141.

SILVA, F. A.; MORAES, G. H. K.; RODRIGUES, A. C. P.; FONSECA, C. C.; OLIVEIRA, M. G. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; MINAFRA, C. S. Efeitos de ácido glutâmico e da vitamina D3 na composição química de fêmures e tibio-tarsos de pintos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 6S, p. 2078-2085, nov./dez. 2001.

SOARES JUNIOR, J. H.; KERR, J. M.; GRAY, R. W. 25-Hydroxycholecalciferol in poultry Nutrition. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 12, p. 1919-1934, dez. 1995

SULLIVAN, T. W. Skeletal problems in poultry: Estimated annual cost and description. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, n.6, p. 879-882, June 1994.

XU, T.; LEACH JUNIOR, R. M.; HOLLIS, B.; SOARES JUNIOR, J. H. Evidence of increased cholecalciferol requirement in chicks with tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 47-53, Jan. 1997.

WALDROUP, P. W.; STEARNS, J. E.; AMMERMAN, C. B.; HARMS, R. W. Studies on the vitamin D3 requirement of the broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 44, n. 2, p. 543-548, 1965

YARGER, J. G.; QUARLES, C. L.; HOLLIS, B. W.; GRAY, R. W. Safety of 25-hydroxycholecalciferol in poultry rations. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p.1437–1446, sept. 1995a.

YARGER, J. G.; SAUDERS, C. A.; MCNAUGHTON, J. L.; QUARLES, C. L.; HOLLIS, B. W.; GRAY, R. W. Comparison of dietary 25 hydroxycholecalciferol and cholecalciferol in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 7, p. 1159–1167, July 1995b.

YAN, F.; WALDROUP, P. W. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn as influenced by phytase supplementation and vitamin d source. **International Journal Poultry Science**, Farsalabad, v. 5, p. 219-228, 2006.

ZHANG, X.; LIU, G.; MCDANIEL, G. R.; ROLAND, A. Response of broiler lines selected for tibial dyschondroplasia incidence to supplementary 25-hydroxycholecalciferol. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 6, n. 4, p. 410–416, 1997.

## **CAPÍTULO II**

### **VITAMINA D<sub>3</sub> E 25-HIDROXI-COLECALCIFEROL (25-OHD<sub>3</sub>) EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE E SEUS EFEITOS SOBRE DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇAÇA, CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS E MORFOLOGIA INTESTINAL**



## RESUMO

BRITO, Jerônimo Ávito Gonçalves de. **Vitamina D<sub>3</sub> e 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) em rações de frangos de corte e seus efeitos sobre desempenho, rendimento de carcaça, características ósseas e morfologia intestinal**. 2008. 120p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar níveis/programas de vitamina D, proveniente das vitaminas D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub>, em rações de frangos de corte criados em gaiolas. Utilizaram-se 1.500 pintos de um dia, machos, da linhagem Cobb-700, alojados em gaiolas metálicas (100), com dispositivos e manejo adaptados para criação das aves. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, com mais dois tratamentos adicionais e 10 repetições por tratamento. Os fatores em estudo foram níveis/programas (20/16/10; 37,5/30/18,8; 87,5/70/43,8 e 137,5/110/68,8 µg/kg ração) de suplementação de vitamina D, de acordo com a fase em estudo (inicial/crescimento/final), oriunda de duas (2) fontes. Os tratamentos adicionais foram constituídos pela suplementação em conjunto das duas fontes (D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub>), em diferentes proporções (50+37,7/40+30/25+18,8 e 50+70/40+56/25+35 µg/kg). As rações foram à base de milho e farelo de soja, com suplementação de fitase (500 FTU/kg), seguindo as recomendações das tabelas nacionais. Avaliaram-se desempenho, características ósseas e de carcaça, assim como a morfologia intestinal. Observaram-se maior (p<0,05) ganho de peso e consumo de ração aos 45 dias, para o grupo de aves dos tratamentos adicionais. Houve resposta quadrática (p<0,05) no teor de cinzas ósseas (CO) aos 21 dias, com maximização estimada em 111 µg/kg. A fonte 25-OHD<sub>3</sub> gerou maiores (p<0,05) teores de cálcio nas tíbias (Ca) nos dois menores níveis de suplementação, aos 21 dias. Ainda aos 21 dias, observou-se resposta linear (p<0,05) sobre o teor de fósforo (P) nos ossos e redução (p<0,05) na incidência de discondroplasia tibial (DT), aos 21 dias, com o uso de 25-OHD<sub>3</sub> em detrimento da vitamina D<sub>3</sub>. Aos 45 dias, a fonte 25-OHD<sub>3</sub> gerou maiores valores de CO e P nos ossos, sem efeitos sobre a concentração de Ca. Houve aumento no rendimento de carcaça em função do uso de 25-OHD<sub>3</sub>. Na maioria das características avaliadas, os tratamentos adicionais (média) proporcionaram benefícios (p<0,05), quando comparados à suplementação isolada das fontes. Pode-se concluir que a adição de 25-OHD<sub>3</sub> em rações contendo vitamina D<sub>3</sub> otimiza as características de desempenho e, principalmente, a mineralização óssea.

<sup>1</sup>Comitê de orientação: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Orientador); Prof. Édison José Fassani – UFVJM; Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA;

## ABSTRACT

BRITO, Jerônimo Ávito Gonçalves de. **Vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxycholecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) in broiler chicken diets and their effects on the performance, carcass yield, bone characteristics and intestinal morphology.** 2008. 120p. Thesis (Doctorate in Monogastric Nutrition). Federal University of Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

The experiment was conducted intending to evaluate the levels/programs of vitamin D, coming from vitamin D<sub>3</sub> and 25-OHD<sub>3</sub> in broiler chicken diets raised in cages. 1,500 male chicks of one day, of the Cobb-700 strain, housed in metal cages(100) were utilized, with appliances and management adapted for bird raising. A completely randomized design with further two additional treatments and 10 replicates per treatment was adopted. The factors in study were levels/programs (20/16/10; 37,5/30/18.8; 87.5/70/43.8 and 137.5/110/68.8 µg/kg diet) of supplementation of vitamin D according to the phase in study (starter/growing/finish), coming from two (2) sources. The additional treatments consisted of the joint supplementation of the two sources (D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub>) at different proportions (50+37.7/40+30/25+18.8 and 50+70/40+56/25+35 µg/kg). The diets were based on corn and soybean meal, with supplementation of phytase (500 FTU/kg), following the recommendations of the national tables. The performance, bone and carcass characteristics well as the intestinal morphology were evaluated. Greater (p<0.05) weight gain and feed intake at 45 days for the group of birds of the additional treatments were found. A quadratic response (p<0.05) was observed in bone ash content (CO) at 21 days was noticed, with maximization estimated at 111 µg/kg. The source 25-OHD<sub>3</sub> generated higher contents of calcium (p<0.05) in the tibias (Ca) at the lower levels of supplementation at 21 days. Still at 21 days, a linear response (p<0.05) on the content of phosphorus (P) in the bones and a reduction (p<0.05) in the incidence of tibial dyschondroplasia (DT0) at 21 days with use of 25-OHD<sub>3</sub> to the detriment of vitamin D<sub>3</sub> was found. At 45 days, the source 25-OHD<sub>3</sub> generated higher values of both CO and P in the bones, without nay effect on the concentration of Ca. There was an increase in carcass yield as related to the use of 25-OHD<sub>3</sub>. In most of the evaluated characteristics, the additional treatments (mean) supplied benefits (p<0.05), when compared with the single supplementation of the sources. It can be concluded that the addition of 25-OHD<sub>3</sub> in diets containing vitamin D<sub>3</sub> optimizes performance characteristics and chiefly bone mineralization.

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Adviser); Prof. Édison José Fassani – UFVJM; Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA;

## 1 INTRODUÇÃO

A incidência de problemas esqueléticos na avicultura de corte industrial traz sérios prejuízos a toda cadeia produtiva, desde produtores e gestores da granja a profissionais de logística dentro dos abatedouros. A busca incessante dos técnicos por alternativas que venham a reduzir ou a minimizar os efeitos destes problemas está intimamente ligada a aspectos de produtividade.

Além do fator genético, que é o principal agente gerador de problemas locomotores, o fator nutricional é amplamente pesquisado e tem apresentando grandes avanços no conhecimento das causas e apontado soluções para reduzir ou amenizar essas perdas.

Dentre os aspectos nutricionais, destaca-se a tríade cálcio, fósforo e vitamina D, que estão metabolicamente associados quando a função em questão está associada à formação e à manutenção óssea. A função geral da vitamina D ativa ( $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ) é manter níveis plasmáticos adequados de cálcio e fósforo, promovendo a captação crescente de cálcio e fósforo pelo intestino, minimizando a perda desses elementos pelos rins e estimulando a reabsorção óssea, quando necessário (Edwards, 2000).

O NRC (1994) preconiza, para vitamina  $\text{D}_3$ , uma suplementação de 200 UI/kg de ração. As condições de determinação das exigências de vitamina D são imprescindíveis para a interpretação correta, assim como fatores como a variável estudada, a presença de luz UV, a fonte de vitamina, a linhagem em estudo e as condições das instalações.

Edwards et al. (1994) determinaram as necessidades nutricionais de vitamina D para frangos de corte em 275 UI/kg de ração, para o máximo crescimento; 503 UI/kg para maximizar cinzas ósseas; 552 UI/kg para cálcio plasmático e 904 UI/kg para a prevenção de raquitismo, em condições de ausência de luz. Segundo os mesmos autores, a luz UV, fornecida por luzes

fluorescentes (4% entre 260 e 400 nm), é bastante representativa na síntese endógena de colecalciferol, representando cerca de 800 UI/kg de ração de vitamina D<sub>3</sub> para as aves.

Mitchell et al. (1997) verificaram que a suplementação de vitamina D<sub>3</sub>, em níveis crescentes, em rações de frangos de corte provenientes de linhagens de alta e baixa incidência de DT na presença de luz ultravioleta, não afeta o desempenho na fase inicial. Por outro lado, para maximizar as cinzas ósseas e minimizar a incidência de raquitismo, recomendam a suplementação de 1.100 UI/kg (27,5µg/kg). Os mesmos autores verificaram, ainda, que a suplementação extra de 25-OHD<sub>3</sub> (5-10 µg/kg) reduz a incidência e a severidade de DT em aves consideradas de baixa incidência para esta anomalia.

Edwards (2002) verificou redução na incidência de raquitismo relacionado à deficiência de fósforo e ao aumento de teor de cinzas ósseas ao suplementar uma ração basal contendo 1.100 UI vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração, com 5 µg de 25-OHD<sub>3</sub>/kg ração (200UI/kg), para frangos de corte de 1 a 16 dias de idade, com níveis de cálcio e fósforo disponível abaixo dos recomendados (0,75% e 0,30%, respectivamente), sem influência sobre o desempenho.

Fritts & Waldroup (2003) verificaram redução na incidência e na severidade de DT e aumento das cinzas ósseas de uma linhagem de alta incidência de problemas ósseos, ao substituírem a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> por 25-OHD<sub>3</sub>. Os resultados de desempenho (ganho de peso e conversão alimentar aos 42 dias) e de características ósseas (cinzas na tíbia, incidência e severidade de DT) revelam, ainda, que a suplementação de 500 UI de 25-OHD<sub>3</sub>/kg (12,5 µg/kg) é equivalente a 2.000 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg ração (50 µg/kg).

De acordo com Applegate et al. (2003), há um aumento no teor de cinzas nas tíbias de frangos de corte (linha de baixa incidência de DT) com a

suplementação de 210 µg de 25-OHD<sub>3</sub>/kg, a uma ração basal contendo 1.650 UI de colecalciferol/kg de ração, independente da adequação dietética de cálcio.

Com o objetivo de verificar a eficiência da suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> na prevenção de DT, em uma linhagem de baixa incidência desta anomalia, Ledwaba & Roberson (2003) conduziram uma série de experimentos variando os níveis de cálcio dietético. Verificaram estes autores que a suplementação de 10 µg de 25-OHD<sub>3</sub>/kg de ração eliminou a incidência de raquitismo, reduziu a incidência e a severidade de DT e aumentou as cinzas ósseas em frangos de corte (17 dias) alimentados com rações com baixa relação cálcio/fósforo que induzem a incidência de DT e contendo 27,5 µg ou 1.100 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração, na presença de luz UV.

Diferentemente da maioria dos trabalhos de pesquisa, Fritts & Waldroup (2005) verificaram aumento na incidência e na severidade de DT em frangos quando a suplementação dietética de vitamina D<sub>3</sub> foi substituída por 25-OHD<sub>3</sub>, na presença de fitase fúngica (1.000 FTU/kg) e dois níveis de fósforo disponível (normal e subótimo), porém, sem efeitos sobre o desempenho. Os autores concluíram que, independente da fonte de vitamina D, a suplementação de 4.000 UI/kg melhora o desempenho em detrimento da suplementação com 1.000 UI/kg.

Roberson et al. (2005) concluíram que não há efetividade do 25-OHD<sub>3</sub> em reduzir a incidência e a severidade de DT ou em alterar o conteúdo de cinzas em tíbias, quando os níveis de cálcio dietéticos estão adequados à fase em estudo.

Em um estudo conduzido com matrizes pesadas e sua progênie, Atencio et al. (2005) verificaram que os valores biológicos do 25-OHD<sub>3</sub>, em relação à vitamina D<sub>3</sub>, foram de 138%, 133%, 128% e 111%, para as características produção de ovos, eclodibilidade, taxa de mortalidade embrionária e cinzas corporal da progênie, respectivamente. No entanto, a superioridade deste

metabólito é pronunciada, principalmente em baixos níveis de suplementação (125 UI/kg).

Angel et al. (2005) concluíram que o uso de fitase (600 FTU/kg), associada à suplementação adicional de 70 µg ou 2800 UI/kg 25-OHD<sub>3</sub> (ração basal com 4.630-3.310-3.310-2.645 UI/kg de colecalciferol correspondente às fases inicial, crescimento, final e retirada, respectivamente) e a redução de 0,1% de fósforo disponível da ração não alteraram o desempenho de frangos de corte até os 49 dias criados em sistema de cama. No entanto, apresentaram menor relação entre o consumo de fósforo (g) disponível e o ganho de peso (kg).

Rama Rao et al. (2006) verificaram aumento no ganho de peso e melhor eficiência alimentar ao longo do ciclo de criação, quando frangos de corte foram submetidos a rações com níveis 90 µg/kg (3.600 UI de vitamina D<sub>3</sub>/kg de ração) com níveis reduzidos de cálcio (0,50%) e fósforo disponível (0,25%) em detrimento de níveis suplementação menores (5 e 30 µg/kg). Os autores verificaram, ainda, que aves alimentadas com rações contendo 90 µg/kg apresentaram cinzas ósseas semelhantes às aves do tratamento controle, que continha 1% e 0,9 % de cálcio e 0,45% e 0,40% de fósforo disponível, nas fases inicial e final, respectivamente. Da mesma forma, verificaram maior retenção de microminerais no fígado e redução em US\$ 0,13/ave, com a utilização desta dieta com redução nos níveis de cálcio e fósforo e incremento na suplementação de colecalciferol.

Poucos trabalhos de pesquisa retrataram rendimento de cortes. Esta preocupação surgiu recentemente, com relatos de melhoria no rendimento de peito. Nesse sentido, Korver (2005) verificou maior rendimento de carcaça e peito (42 dias de idade) quando a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (2.500 UI/kg) foi efetuada em conjunto com 25-OHD<sub>3</sub> (69µg ou 2.760 UI/kg na fase inicial – 1-21 dias), sem efeitos sobre o desempenho na fase integral de criação. Os mesmos autores verificaram, ainda, que a densidade cortical de tíbias foi maior

em ossos provenientes de frangos alimentados continuamente com 25-OHD<sub>3</sub> (2.760 UI/kg). Ainda segundo Korver (2005), outra anomalia que condena carcaças de frangos é o escurecimento ósseo, ou “black bone”, que ocorre com ruptura da epífise femoral e o conseqüente extravasamento de sangue para o tecido muscular, tornando a carne escura e com baixa aceitação pelo mercado consumidor. Nesse sentido, ao pesquisar o efeito da adição de 25-OHD<sub>3</sub> (2.760 UI/kg) sobre a incidência de “black bone”, verificou redução deste tipo de anomalia, além de resultados positivos sobre o desempenho, o rendimento de peito e a densidade cortical da tíbia.

Larroudé et al. (2005), em ensaio conduzido com perus (1-15 semanas), verificaram que a suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> (92 µg/kg de 1-9 semanas; 46 µg/kg de 10-15 semanas) melhorou a conversão alimentar (1%), aumentou o rendimento de filé de peito (4,5%) e aumentou a resistência óssea (5,5%).

Por outro lado, Angel et al. (2006), em um amplo estudo finalizado na plataforma de um abatedouro comercial, não verificaram benefícios da suplementação extra com 25-OHD<sub>3</sub> (69µg ou 2.760 UI/kg) em dietas de frangos de corte (ração basal com 4.630-3.310-3.310-2.645 UI de colecalciferol/kg de ração, correspondente às fases inicial, crescimento, final e retirada, respectivamente) sobre o rendimento de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa, nem tampouco na redução da incidência de escoriações nas assas, pernas, peito e dorso. No entanto, o foco principal do trabalho seria a avaliação das necessidades práticas de fósforo, com o uso de fitase e altos níveis de suplementação de vitamina D<sub>3</sub>.

Assim sendo, objetivou-se com a realização do presente estudo, avaliar a utilização do metabólito 25-OHD<sub>3</sub>, comparado com a forma tradicional/padrão de suplementação (vitamina D<sub>3</sub> - colecalciferol) em rações de frangos de corte, utilizando o desempenho, o rendimento de carcaça, as características ósseas e a morfologia intestinal, como variáveis pesquisadas.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local e época de realização**

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisas em Tecnologia Avícolas (CPTA/Convênio UFLA), rodovia BR 265, km 144 (Lavras, MG) no período de setembro de 2005 a dezembro de 2005.

O município de Lavras localiza-se na região Sul do estado de Minas Gerais, a uma altitude de 910 metros, tendo como coordenadas geográficas 21°14' de latitude Sul e 45° de longitude Oeste de Greenwich (Brasil, 1992).

### **2.2 Aves, instalações e equipamentos**

Foram utilizados 1.500 pintos de um dia, machos, da linhagem Cobb-700, provenientes de incubatório comercial, alojados em galpão (15x6m) equipado com gaiolas de 0,473 m<sup>2</sup>, cobertura de telhas de cimento amianto, cortinas laterais com dispositivos de catraca (subida e descida) para controle parcial da temperatura e ventilação e dispositivos adaptados para a primeira semana de criação, comedouros tipo calha e bebedouros tipo copo, contendo válvula.

A iluminação foi intermitente e o aquecimento, nos primeiros 10 dias, foi realizado com lâmpadas incandescentes de 150W, instaladas no interior das gaiolas.

### **2.3 Delineamento, tratamentos e manejo experimental**

#### **2.3.1 Delineamento e tratamentos experimentais**



Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com dois tratamentos adicionais ( $2 \times 4 + 2$ ), totalizando 10 tratamentos e 10 repetições. Os fatores foram fontes de suplementação de vitamina D e níveis/programas de suplementação, de acordo com as fases de criação. A parcela experimental foi constituída de 15 aves, no período de 1 a 21 dias; 8 aves; no período de 22 a 38 dias e 6 aves; no período de 39 a 45 dias. A redução no número de aves foi necessária, em função dos abates e do ajuste da densidade de criação.

Os tratamentos experimentais foram constituídos por 4 níveis de suplementação de vitamina D (20; 37,5; 87,5 e 137,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ração), provenientes de duas fontes de suplementação (Vitamina  $\text{D}_3$  e 25-OHD $_3$ ) com dois tratamentos adicionais, constituídos pela combinação das duas fontes em diferentes proporções. De acordo com a fase de criação, a suplementação de vitamina D foi reduzida gradativamente em todos os tratamentos (20% crescimento e 50% final), em relação à suplementação inicial. Os tratamentos estão apresentados na Tabela 1.

Os tratamentos adicionais corresponderam às formas mais usuais de utilização do metabólito 25-OHD $_3$  em rações de frangos de corte (níveis recomendados pelo fornecedor em função de pesquisas realizadas). Assim sendo, não é comum e tampouco prático retirar a fonte padrão (vitamina  $\text{D}_3$ ) de suplementos e núcleos em condições práticas da avicultura. Por outro lado, para fins de pesquisa, torna-se necessário, conhecer e comparar as respostas obtidas nas diferentes situações de utilização.

**TABELA 1.** Níveis e fontes de suplementação de vitamina D para frangos de corte em diferentes fases de criação.

<b>Fase 1 (1-21)</b>	<b>Fase 2 (22-38) - 20% de redução na suplementação</b>	<b>Fase 2 (39-45) - 50% de redução na suplementação</b>
20 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (800 UI/kg)	16 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (6400 UI/kg)	10 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (400 UI/kg)
37,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (1.500 UI/kg)	30 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (1.200 UI/kg)	18,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (750 UI/kg)
87,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (3.500 UI/kg)	70 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (2.800 UI/kg)	43,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (1.700 UI/kg)
137,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (5.500 UI/kg)	110 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (4.400 UI/kg)	68,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (2.750 UI/kg)
20 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (800 UI/kg)	16 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (640 UI/kg)	10 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (400 UI/kg)
37,5 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (1.500 UI/kg)	30 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (1.200 UI/kg)	18,8 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (750 UI/kg)
87,5 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (3.500 UI/kg)	70 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (2.800 UI/kg)	43,8 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (1.750 UI/kg)
137,5 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (5.500 UI/kg)	110 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (4.400 UI/kg)	68,8 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (2.750 UI/kg)
50 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 37,5 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (3500 UI/kg)	40 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 30 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (2800 UI/kg)	25 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 18,8 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (1750 UI/kg)
50 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 70 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (4800 UI/kg)	40 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 56 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (3840 UI/kg)	25 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 35 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (2400 UI/kg)

### 2.3.2 Rações e manejo experimental

As rações experimentais (Tabela 2) foram à base de milho e farelo de soja, de acordo com o programa alimentar composto por 4 rações (pré-inicial 1-7 dias; inicial 8-21 dias; crescimento 22-38 dias e final 39-45 dias), seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2005), com suplementação de fitase em todas as rações (Ronozyme P CT - 500 FTU/kg) e redução de, aproximadamente, 25% no teor de fósforo disponível e 10% nas exigências de cálcio. Na fase pré-inicial, foi efetuada a suplementação de vitamina C (200 mg/kg de ração), em função da

baixa síntese endógena nesta fase, aliada aos efeitos benéficos de sua suplementação na formação óssea.

**TABELA 2.** Composição percentual e níveis nutricionais calculados das rações experimentais.

Ingredientes (%)	Ração/Fase			
	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho	49,557	55,066	60,980	64,900
Farelo de soja	41,913	36,329	30,315	26,816
Fosfato bicálcico	1,408	1,285	1,064	0,899
Calcário calcítico	0,985	0,955	0,895	0,845
Óleo de soja	4,358	4,817	5,229	5,192
Sal comum	0,478	0,457	0,425	0,402
DL-metionina (99%)	0,312	0,240	0,222	0,197
L-Lisina (78%)	0,213	0,145	0,196	0,204
L-Treonina (99%)	0,068	0,025	0,042	0,042
Fitase 5000 FTU/g	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto de colina (70%)	0,0668	0,060	0,047	0,030
Salinomicina sódica (12%)	0,050	0,050	0,050	-
Suplemento vitamínico <sup>1</sup>	0,200	0,200	0,160	0,100
Suplemento mineral <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix selênio (0,45%) <sup>3</sup>	0,0011	0,0011	0,002	0,0035
Vitamina C (97,5%) <sup>4</sup>	0,0205	-	-	-
BHT	0,010	0,010	0,010	0,010
Tratamento (inerte + vitamina)	0,250	0,250	0,250	0,250
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>NÍVEIS NUTRICIONAIS CALCULADOS:</b>				
EMAn (kcal/kg)	3.000	3.100	3.200	3.250
Proteína bruta (%)	23,01	21,02	18,780	17,52
Cálcio (%)	0,83	0,78	0,65	0,62
Fósforo disponível (%)	0,38	0,35	0,30	0,27
Lisina digestível(%)	1,34	1,16	1,05	0,98
Metionina digestível(%)	0,61	0,53	0,49	0,45
Metionina+Cistina (%)	0,94	0,82	0,76	0,71
Treonina digestível (%)	0,86	0,74	0,68	0,64
Sódio (%)	0,21	0,20	0,19	0,18

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico (Roche/DSM). Níveis de garantia/kg do produto: Vitamina A 10.000.000 UI; Vit. E 40.000 UI; Vit. K<sub>3</sub> 3.000mg; Vit B<sub>1</sub> 2.000mg; Vit B<sub>2</sub> 7.000mg; Vit. B<sub>6</sub> 5.000mg; Vit. B<sub>12</sub> 20.000µg; Ac. fólico 1.500mg; Ac. pantotênico 15.000 mg; Niacina 50.000mg; Biotina 100mg; Selênio 125mg, Antioxidante 125mg.

<sup>2</sup>Suplemento micromineral (Roche/DSM). Níveis de garantia/kg do produto: Mn 80.000mg; Zn 80.000mg; Fe 60.000mg; Cu 10.000mg; I 1.000mg; Co 1.000 mg.

<sup>3</sup> Enriquecimento de selênio por kg de ração 0,05mg

<sup>4</sup>Vitamina C - 200 mg/kg de ração.

A fonte de vitamina D<sub>3</sub> utilizada era proveniente da DSM Produtos Nutricionais do Brasil (DSM), contendo 500 mg/kg (20.000.000 UI/kg) e a fonte de 25-OHD<sub>3</sub>, 69mg/kg (2.760.000 UI/kg) de suplemento. Para a confecção das rações, em todas as fases, foram misturadas, inicialmente, as rações com os níveis mais concentrados de cada fonte avaliada e uma ração isenta de vitamina D (qualquer das fontes). Procedeu-se, posteriormente, às misturas destas rações para a obtenção dos tratamentos com menores níveis de vitamina D, a fim de evitarem-se erros de pesagem e perda de precisão com misturas de menores quantidades.

As rações experimentais, para cada fase, foram isonutrientes, com exceção dos níveis de vitamina D, que constituíram os tratamentos. A composição, em nutrientes, dos principais alimentos usados na formulação foi obtida nas tabelas brasileiras (Rostagno et al., 2005).

As rações experimentais foram preparadas e estocadas em sala isenta de incidência de luz solar direta e com temperatura máxima e mínima de 37° e 20°C, respectivamente. Os tratamentos foram sorteados para cada parcela experimental e as rações fornecidas, à vontade, duas vezes ao dia. A água também foi fornecida à vontade, em todo o período experimental e foram efetuadas vacinações contra a doença infecciosa da bursa (Gumboro), aos 7 e aos 14 dias.

As temperaturas (máxima e mínima) e a umidade relativa foram registradas diariamente, às 16 horas, por meio de um termo-higrômetro localizado na parte central do galpão, cujas médias encontram-se nas Tabelas 1 e 2 do anexo.

As pesagens das aves foram efetuadas no final do 7°, do 21°, do 38° e do 45° dia de idade das aves. O controle do consumo de ração foi realizado com a pesagem das sobras em cada período. A mortalidade foi monitorada diariamente

para cálculo da viabilidade de criação e correção do consumo e de conversão alimentar.

Aos 21 dias de idade, quatro aves por parcela foram abatidas, para a coleta das pernas e avaliação das características ósseas, como cinzas, cálcio e fósforo (1 ave por parcela), incidência e severidade de DT (3 aves por parcela) e atividade da fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo.

Para esta finalidade, logo que abatidas, as aves tiveram suas pernas retiradas, sendo as tíbias esquerdas identificadas e armazenadas imediatamente em freezer, a  $-5^{\circ}\text{C}$ , para a realização de análises de mineralização. As tíbias direitas foram descarnadas imediatamente após abate, envolvidas em papel alumínio, identificadas, mergulhadas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer convencional ( $-5^{\circ}\text{C}$ ).

Aos 45 dias, uma ave por parcela foi abatida, sendo metade das aves por tratamento destinadas à avaliação de rendimentos de cortes e a outra metade, à avaliação de características intestinais. De cada ave abatida (totalizando 10 por tratamento), a tíbia esquerda foi retirada para análises ósseas (cinzas, cálcio e fósforo).

A avaliação do rendimento de cortes foi realizada por meio da pesagem individual de aves antes do abate (peso vivo), após período de jejum de, aproximadamente, 8 horas, seguida de sangria, escaldagem, depenagem e evisceração (repouso da carcaça em gelo por 2 horas). O rendimento de carcaça foi obtido pela relação entre o peso da carcaça (sem vísceras, pés e pescoço) e o peso vivo, ao passo que o rendimento de peito e de coxa+sobrecoxa, pela relação entre seus respectivos pesos e o peso da carcaça eviscerada (sem vísceras, pés e pescoço).

## 2.4 Análises laboratoriais

Foram realizadas análises das rações experimentais em seus principais componentes de interesse (proteína bruta, cálcio, fósforo, colecalciferol e 25-OHD<sub>3</sub>). Também foram analisadas as cinzas e as concentrações de cálcio e fósforo nas tíbias, além da atividade da fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo e realizada a determinação da incidência e da severidade de discondroplasia tibial.

As análises do teor de nitrogênio das rações experimentais foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal da UFLA, pelo método micro Kjeldahl, conforme metodologia proposta pelo AOAC (1990). A determinação das cinzas ósseas, assim como cálcio e fósforo (rações e ossos), foi realizada seguindo métodos descritos por Silva (2002).

Os resultados das análises bromatológicas das rações experimentais são apresentados na Tabelas 3.

**TABELA 3.** Teores de proteína bruta (PB), cálcio (Ca) e fósforo total (Pt) calculados (analisados<sup>1</sup>) nas rações experimentais, em diferentes fases de criação.

Nutriente	Fase/idade (dias)			
	1-7	8-21	22-38	39-35
PB (%)	23,01 (22,60)	21,02 (20,50)	18,80 (18,70)	17,50 (17,70)
Ca (%)	0,83 (0,90)	0,78 (0,86)	0,65 (0,73)	0,62 (0,70)
Pt (%)	0,60 (0,67)	0,56 (0,63)	0,51 (0,58)	0,48 (0,55)

<sup>1</sup> Análises realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal DZO/UFLA

As análises de vitamina D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub> nas rações (Tabela 4) foram encaminhadas para o Laboratório da DSM Nutritional Products (R&D, Analytical Research Center – ARC), na Suíça. Para análise de vitamina D<sub>3</sub>, adotou-se a metodologia descrita por Mattila (1995), enquanto, para 25-OHD<sub>3</sub>,

adotaram-se os procedimentos descritos por Hofmann et al. (2003). Nas duas metodologias, a detecção foi realizada utilizando-se cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

**TABELA 4.** Recuperação/análise (suplementação calculada) dos diferentes níveis de vitamina D, em função das fontes de suplementação, nas rações experimentais, em diferentes fases de criação.

<b>Fase 1 (1-21)</b>	<b>Fase 2 (22-38) - 20% de redução na suplementação</b>	<b>Fase 2 (39-45) - 50% de redução na suplementação</b>
24,3 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (20 µg/kg)	18,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (16 µg/kg)	11,3 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (10 µg/kg)
35,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (37,5 µg/kg)	29,3 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (30 µg/kg)	17,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (18,8 µg/kg)
83,3 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (87,5 µg/kg)	60,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (70 µg/kg)	48,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (43,8 µg/kg)
128,3 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (137,5 µg/kg)	99 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (110 µg/kg)	61,3 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> (68,8 µg/kg)
31,1 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (20 µg/kg)	16,4 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (16 µg/kg)	8,8 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (10 µg/kg)
56,6 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (37,5 µg/kg)	23,8 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (30 µg/kg)	14,5 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (18,8 µg/kg)
98,4 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (87,5 µg/kg)	50,3 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (70 µg/kg)	25,6 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (43,8 UI/kg)
150 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (137,5 µg/kg)	82,3 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (110 µg/kg)	38,1 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (68,8 µg/kg)
55 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 52,5 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (50 + 37,5 µg/kg)	36,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 27,3 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (40 + 30 µg/kg)	22,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 14 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (25 + 18,8 µg/kg)
43,8 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 77,3 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (50 + 70 µg/kg)	38,5 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 66,9 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (40 + 56 µg/kg)	25 µg/kg Vit. D <sub>3</sub> + 28 µg/kg 25-OHD <sub>3</sub> (25 + 35 µg/kg)

<sup>†</sup> Análises realizadas no R&D, Analytical Research Center – ARC – DSM Nutritional Products

A análise de vitamina D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub> nas rações não revelou grandes variações que pudessem comprometer as interpretações e as conclusões da pesquisa, mas contribuem para a interpretação dos resultados. De forma generalizada em relação ao esperado, a recuperação de 25-OHD<sub>3</sub> foi sempre superior nas rações iniciais (quando comparada à recuperação da vitamina D<sub>3</sub>).

Diferentemente das rações iniciais, a recuperação das duas fontes em diferentes níveis nas fases de crescimento e final apresentou maior concentração para D<sub>3</sub> e menor para 25-OHD<sub>3</sub>, em relação ao esperado.

A determinação da incidência e da severidade de DT foi realizada seguindo padrões descritos por Edwards & Veltmann (1983), que estabeleceram escores de 0 a 3 (0 - placa de crescimento normal; 1 - 25% da área da placa de crescimento ósseo com cartilagem remanescente; 2 - 25%-50% da área da placa de crescimento ósseo com cartilagem remanescente e 3 - mais de 50% da área da placa de crescimento ósseo com cartilagem remanescente - grau severo).

A atividade de fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo foi determinada seguindo a metodologia descrita por Pizauro et al. (1993) e expressa na base protéica do tecido em estudo (Hartree, 1972), após corte e homogeneização do tecido na placa de crescimento ósseo.

As análises da altura das vilosidades e profundidade de criptas do duodeno, jejuno e íleo foram realizadas por meio de leituras de lâminas com cortes histológicos dos respectivos segmentos ao microscópio óptico com aumento de 32 vezes (abate de cinco aves por tratamento, no 45º dia do experimento, por meio de deslocamento cervical, mantidas em jejum por 8 horas). Após a coleta criteriosa dos segmentos do intestino, os mesmos foram lavados em água destilada, devidamente identificados e armazenados em solução de formol tamponado (10%), para posterior confecção das lâminas histológicas segundo técnica descrita por Junqueira & Junqueira (1983), com adaptações descritas por Carvalho (2006). A preparação das lâminas foi realizada no Laboratório de Patologia, no Departamento de Medicina Veterinária da UFLA e as leituras micrométricas, no Laboratório de Biologia Molecular, no Departamento de Biologia da UFLA.



## 2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando-se o software Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados (Sisvar), descrito por Ferreira (2000). Realizou-se a análise de regressão linear (efeito linear e ou quadrático) para os níveis da vitamina em estudo, na avaliação até 21 dias (utilizando o QME geral para testar significância) e teste F para verificar possíveis diferenças entre as fontes. No período total de avaliação, 1-45 dias, foram realizados testes de média e contrastes de interesse para analisar os programas de suplementação (4) para cada fonte de vitamina (2). As comparações entre os tratamentos adicionais e os demais foram realizadas por meio de contrastes, a 5% de probabilidade.

As análises de variância em cada fase são demonstradas nos Quadros 1 e 2.

QUADRO 1 Esquema de análise de variância (1-21 dias).

Fontes de variação	Graus de liberdade
Tratamentos	(9)
Vitamina	1
Nível	3
Vitamina X nível	3
Adicionais	1
Adicionais X fatorial	1
Erro	90
Total	99

QUADRO 2 Esquema de análise de variância (1-45 dias).

Fontes de variação	Graus de liberdade
Tratamentos	(9)
Vitamina	1
Programa	3
Vitamina X programa	3
Adicionais	1
Adicionais X fatorial	1
Erro	90
Total	99

### 2.5.1 Biodisponibilidade relativa

Foi realizada a determinação da biodisponibilidade relativa da fonte 25-OHD<sub>3</sub> em relação à vitamina D<sub>3</sub>, utilizando-se a técnica Slope Ratio, segundo procedimentos descritos por Litell et al. (1997). Utilizou-se o consumo de vitamina D ao longo do ciclo de criação como variável independente e características de mineralização óssea, aos 45 dias, como alvo. A avaliação da mineralização óssea aos 45 dias de idade possibilitou a comparação das duas fontes em estudo, com a relação entre o consumo de vitamina D ao longo do ciclo de produção (variável independente) e a mineralização óssea como variáveis dependentes, estabelecendo como padrão a vitamina D<sub>3</sub>. Nesse sentido, primeiramente, foram verificados os efeitos e a significância dos diferentes programas. Posteriormente, foi estimada uma equação de regressão linear múltipla para cada variável (de acordo com a resposta obtida) e compararam-se as fontes (biodisponibilidade) pela relação entre os coeficientes angulares (Slope Ratio).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Desempenho

#### 3.1.1 Desempenho fase inicial

Na fase pré-inicial (1-7 dias), não houve significância ( $p>0,05$ ) da interação ou de qualquer dos fatores em estudo sobre as características de desempenho avaliadas.

Os resultados referentes ao consumo de ração (CR), ao ganho de peso (GP) e à conversão alimentar (CA), na fase inicial (1-21 dias), estão apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7, respectivamente.

Houve interação ( $p=0,081$ ) entre as fontes de vitamina D e os níveis de suplementação na fase inicial, para o consumo de ração. O desdobramento da interação (significância menor que 10% para interação procedeu-se desdobramento) revelou que, no menor nível de suplementação, frangos alimentados com dietas contendo vitamina D<sub>3</sub> apresentaram maior consumo quando comparadas com o grupo de aves alimentadas com 25-OHD<sub>3</sub>.

Não houve interação ( $p>0,05$ ) entre os fatores em estudo sobre o ganho de peso e a conversão alimentar, na fase de 1 a 21 dias, assim como não houve efeito das diferentes fontes de vitamina D ( $p>0,05$ ) sobre o desempenho na fase inicial. Por outro lado, verificou-se efeito significativo dos níveis suplementares de vitamina D sobre o ganho de peso e a conversão alimentar. A análise de regressão revelou efeito linear ( $p<0,05$ ), com melhoria do desempenho à medida que se elevaram os níveis de vitamina D nas rações.

**TABELA 5.** Consumo de ração (g/ave) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 21 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Nível de suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Médias adicionais
	20	37,5	87,5	137,5		50+37,5	50+70	
<b>D<sub>3</sub></b>	1,124a	1,110	1,112	1,123	<b>1,117</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	1,103b	1,115	1,113	1,117	<b>1,112</b>	1,146	1,140	1,143*
<b>Média</b>	<b>1,113</b>	<b>1,113</b>	<b>1,112</b>	<b>1,120</b>	<b>1,115*</b>			
Erro padrão					5,104			
CV (%)					1,44			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>				<b>Probabilidade</b>			
Tratamento	(9)				0,000			
Vitamina	1				0,152			
Nível	3				0,436			
Vit. X nível	3				0,081			
Adicionais	1				0,418			
Fatorial X adic.	1				0,000			

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,01).

**TABELA 6.** Ganho de peso (g/ave) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 21 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Nível de suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Médias adicionais
	20	37,5	87,5	137,5		50+37,5	50+70	
<b>D<sub>3</sub></b>	804	805	813	821	<b>811</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	806	810	811	821	<b>812</b>	823	835	829*
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>805</b>	<b>807</b>	<b>812</b>	<b>821</b>	<b>811*</b>			
Erro padrão					5,144			
CV (%)					2,00			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>				<b>Probabilidade</b>			
Tratamento	(9)				0,0006			
Vitamina	1				0,788			
Nível	3				0,011			
Ef. linear	1				0,009			
Ef. quadrático	1				0,923			
Vit. X nível	3				0,910			
Adicionais	1				0,128			
Fatorial X adic.	1				0,00004			

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,01).

<sup>1</sup> Efeito linear: GP = 802,001 + 0,133 x Suplementação de vitamina D; R<sup>2</sup>=97,36%.

**TABELA 7.** Conversão alimentar (g/g) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 21 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Nível de suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> <sup>1</sup> (µg/kg)		Médias aAdicionais
	20	37,5	87,5	137,5		50+37,5	50+70	
<b>D<sub>3</sub></b>	1,399	1,379	1,367	1,368	<b>1,378</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	1,370	1,378	1,374	1,360	<b>1,370</b>	1,387b	1,367a	1,377
<b>Média<sup>2</sup></b>	<b>1,385</b>	<b>1,378</b>	<b>1,371</b>	<b>1,364</b>	<b>1,374</b>			
Erro padrão					0,009			
CV (%)					2,08			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>				<b>Probabilidade</b>			
Tratamento	(9)				0,053			
Vitamina	1				0,165			
Nível	3				0,109			
Ef. linear	1				0,016			
Ef. quadrático	1				0,730			
Vit. X nível	3				0,227			
Adicionais	1				0,04			
Fatorial X adic.	1				0,312			

<sup>1</sup>Médias com letras diferentes na linha são estatisticamente diferentes (p<0,05).

<sup>2</sup>CA (g/g) = 1,3861 - 0,00017 x suplementação de vitamina D; R<sup>2</sup>=97,39%.

Estes resultados corroboram os obtidos por Rama Rao et al. (2006) que verificaram aumento no ganho de peso e melhor eficiência alimentar nesta fase, quando frangos de corte foram submetidos à dieta com rações com níveis de 60 µg/kg (2.400 UI/kg) e 90 µg/kg (3.600 UI/kg) de vitamina D<sub>3</sub>, com níveis reduzidos de cálcio (0,50%) e fósforo disponível (0,25%), em detrimento de níveis de suplementação menores (5 e 30 µg/kg).

Por outro lado, os resultados encontrados na fase inicial contradizem respostas sobre o desempenho encontradas por Mitchell (1997), que não verificou melhorias no ganho de peso e ou conversão alimentar em níveis acima de 5 µg/kg (200 UI/kg) de vitamina D<sub>3</sub>, avaliando níveis crescentes de suplementação (0, 5, 10, 20 e 40 µg/kg).

A não diferenciação das fontes sobre o desempenho das aves confirma resultados obtidos por diversos autores, que obtiveram repostas semelhantes (Edwards, 2002 ; Fritts & Waldroup 2005; Ledwaba et al. 2003; Rennie & Whitehead, 1996; Zhang et al. 1997). De forma contrária, alguns trabalhos apontam maior efetividade da 25-OHD<sub>3</sub> sobre o desempenho de frangos, principalmente na fase inicial, quando consideram que aves apresentam maior sensibilidade às fontes e níveis de suplementação de vitamina D (Fritts & Waldroup, 2003; Yarger et al., 1995).

As aves alimentadas com rações contendo as duas fontes de vitamina D conjuntamente, em diferentes relações (tratamentos adicionais), apresentaram maior ( $p < 0,001$ ) consumo de ração em relação à média do consumo de ração dos frangos provenientes da suplementação isolada de cada fonte de vitamina D em níveis crescentes (ensaio fatorial). Como consequência, estas aves (grupo dos tratamentos adicionais) apresentaram maior ( $p < 0,001$ ) ganho de peso nessa fase sem, no entanto, apresentar diferenças significativas entre si (adicionais).

A conversão alimentar foi pior ( $p < 0,05$ ) para frangos alimentados com dietas contendo a combinação de 50  $\mu\text{g}$  de vitamina  $\text{D}_3/\text{kg}$ , somada a 37,5  $\mu\text{g}$  de 25-OHD<sub>3</sub>/kg, em detrimento do segundo tratamento adicional que apresentava mesmo nível de suplementação de vitamina  $\text{D}_3$ , porém, com 70  $\mu\text{g}$  de 25-OHD<sub>3</sub>/kg.

De forma generalizada, os resultados revelaram respostas sensíveis do desempenho de frangos de corte na fase inicial de criação, em função do incremento na suplementação de vitamina D.

Estimativas da análise de regressão revelaram que, para cada aumento em, aproximadamente, 59  $\mu\text{g}/\text{kg}$  na suplementação de vitamina D (dentro do intervalo estudado), houve uma melhoria na conversão alimentar de 0,01 ponto porcentual.

### **3.1.2 Desempenho na fase de crescimento e período integral**

Os resultados referentes aos efeitos das diferentes fontes de vitamina D, em níveis crescentes e combinadas entre si, sobre o desempenho na fase de crescimento, somados aos efeitos da fase inicial (1-38 dias), estão apresentados nas Tabelas 8 (CR), 9 (GP) e 10 (CA), respectivamente.

Os efeitos positivos sobre o desempenho encontrados na primeira fase com o incremento da suplementação de vitamina D (independente da fonte), quando incorporados na fase de crescimento e associados à redução na suplementação vitamínica em 20%, não foram acumulativos. Ou seja, os diferentes programas de suplementação (fatorial) não geraram diferenças ( $p > 0,05$ ) para as características de desempenho, indicando que níveis altos de suplementação de vitamina D não foram eficientes em melhorar o desempenho, considerando o período de 1 a 38 dias de idade das aves.



**TABELA 8.** Consumo de ração (g/ave) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 38 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, programas e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Nível de Suplementação nas fases (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Média Adicionais
	20/16	37,5/30	87,5/70	137,5/110		50/40+37,5/30	50/40+70/56	
<b>D<sub>3</sub></b>	3.885	3.867	3.865	3.869	<b>3.872</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	3.861	3.863	3.874	3.891	<b>3.872</b>	3.930	3.940	3.935*
<b>Média</b>	<b>3.873</b>	<b>3.865</b>	<b>3.870</b>	<b>3.880</b>	<b>3.872*</b>			
Erro padrão					14,752			
CV (%)					1,20			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>				<b>Probabilidade</b>			
Tratamento	(9)				0,0006			
Vitamina	1				0,877			
Programa	3				0,785			
Vit. X programa	3				0,460			
Adicionais	1				0,638			
Fatorial X adic.	1				0,000			

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,01).

**TABELA 9.** Ganho de peso (g/ave) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 38 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Nível de suplementação nas fases (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Média Adicionais
	20/16	37,5/30	87,5/70	137,5/110		50/40+37,5/30	50/40+70/56	
<b>D<sub>3</sub></b>	2.372	2.365	2.372	2.396	<b>2.376</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	2.364	2.370	2.379	2.392	<b>2.376</b>	2.430	2.436	2.432*
<b>Média</b>	<b>2.368</b>	<b>2.368</b>	<b>2.376</b>	<b>2.394</b>	<b>2.376*</b>			
Erro padrão					18,988			
CV (%)					2,52			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>		<b>Probabilidade</b>					
Tratamento	(9)		0,066					
Vitamina	1		0,999					
Programa	3		0,481					
Vit. X programa	3		0,975					
Adicionais	1		0,817					
Fatorial X adic.	1		0,0003					

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,01).

**TABELA 10.** Conversão alimentar (g/g) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 38 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Nível de Suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Média Adicionais
	20/16	37,5/30	87,5/70	137,5/110		50/40+37,5/30	50/40+70/56	
<b>D<sub>3</sub></b>	1,639	1,637	1,630	1,618	<b>1,630</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	1,634	1,631	1,630	1,627	<b>1,630</b>	1,618	1,618	1,618
<b>Média</b>	<b>1,637</b>	<b>1,634</b>	<b>1,630</b>	<b>1,622</b>	<b>1,630</b>			
Erro padrão					0,011			
CV (%)					2,16			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>		<b>Probabilidade</b>					
Tratamento	(9)		0,873					
Vitamina	1		0,992					
Programa	3		0,617					
Vit. X programa	3		0,861					
Adicionais	1		0,990					
Fatorial X adic.	1		0,152					

No entanto, a combinação entre as duas fontes até esta fase mostrou-se superior sobre o ganho de peso das aves ( $p < 0,01$ ) em relação aos programas com fontes isoladas. Não foram observadas ( $p > 0,05$ ) diferenças entre os grupos de aves submetidas aos dois programas adicionais, na fase de 1 a 38 dias. Este resultado sugere que maior proporção na suplementação com vitamina  $D_3/25\text{-OHD}_3$  e menor nível de suplementação proporcionam desempenho semelhante, em comparação com maiores níveis de inclusão de  $25\text{-OHD}_3$ .

Os resultados relatados por diferentes estudos, geralmente, não revelam grandes diferenças no desempenho, em função da suplementação de vitamina D, na fase final de criação. As exigências para máximo desempenho, normalmente, são menores que  $25 \mu\text{g/kg}$  ração (Edward et al., 1994; NRC, 1994). A fase inicial, por se tratar proporcionalmente da alta taxa de crescimento do tecido esquelético, além da imaturidade do trato digestório (digestão e absorção de lipídios e compostos lipossolúveis) é, provavelmente, mais sensível ao incremento na suplementação.

Os resultados de desempenho que abrangem toda a fase de criação (1-45 dias) estão apresentados nas Tabelas 11 (CR), 12 (GP) 13 (CA) e 14 (viabilidade), respectivamente.

De forma semelhante aos resultados encontrados na fase de 1 a 38 dias, na avaliação em todo o período experimental (1 a 45 dias de idade), não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) no desempenho de aves em função dos programas de suplementação (fatorial) de vitamina D, independente da fonte usada neste estudo. Portanto, pode-se inferir que a suplementação de  $20 \mu\text{g/kg}$  de ração ( $800 \text{ UI/kg}$ ) na fase inicial com redução de 20% e 50% nas fases de crescimento e final, respectivamente, foi suficiente para manter o desempenho adequado, quando a suplementação de vitamina  $D_3$  ou  $25\text{-OHD}_3$  for realizada isoladamente.

**TABELA 11.** Consumo de ração (g/ave) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 45 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, programas e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação nas fases (µg/kg)				Média	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg))		Média Adicionais
	1	2	3	4		5	6	
D <sub>3</sub>	5.322	5.275	5.286	5.312	<b>5.299</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	5.302	5.291	5.305	5.325	<b>5.306</b>	5.369	5.385	5.377*
<b>Média</b>	<b>5.312</b>	<b>5.283</b>	<b>5.296</b>	<b>5.319</b>	<b>5.302*</b>			
Erro padrão					19,517			
CV (%)					1,16			
ANAVA	GL	Probabilidade						
Tratamento	(9)	0,0018						
Vitamina (V)	1	0,618						
Programa (P)	3	0,261						
V X P	3	0,738						
Adicionais	1	0,544						
Fat. X adic.	1	0,0000...						

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,001)

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração

**TABELA 12.** Ganho de peso (g/ave) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 45 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, programas e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação nas fases (µg/kg)				Média	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> ) (µg/kg)		Média Adicionais
	1	2	3	4		5	6	
D <sub>3</sub>	3.051	3.054	3.057	3.078	<b>3.060</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	3.053	3.068	3.064	3.081	<b>3.067</b>	3.104	3.123	3.114*
<b>Média</b>	<b>3.052</b>	<b>3.061</b>	<b>3.061</b>	<b>3.080</b>	<b>3.063*</b>			
Erro padrão					17,592			
CV (%)					1,81			
ANAVA	GL							Probabilidade
Tratamento	(9)							0,069
Vitamina (V)	1							0,590
Programa (P)	3							0,481
V X P	3							0,988
Adicionais	1							0,444
Fat. X adic.	1							0,0004

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,001)

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração

**TABELA 13.** Conversão alimentar (g/g) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 45 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, programas e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação nas fases (µg/kg)				Média	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> ) (µg/kg)		Média Adicionais
	1	2	3	4		5	6	
D <sub>3</sub>	1,745	1,726	1,731	1,726	<b>1,731</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	1,737	1,725	1,732	1,729	<b>1,731</b>	1,729	1,724	1,727
<b>Média</b>	<b>1,741</b>	<b>1,726</b>	<b>1,731</b>	<b>1,728</b>	<b>1,731</b>			
Erro padrão					0,008			
CV (%)					1,45			

ANAVA	GL	PROBABILIDADE
Tratamento	(9)	0,747
Vitamina (V)	1	0,786
Programa (P)	3	0,277
V X P	3	0,919
Adicionais	1	0,626
Fat. X adic.	1	0,284

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração

**TABELA 14.** Viabilidade de criação (%) de frangos de corte Cobb-700, na fase de 1 a 45 dias, submetidos a rações com diferentes fontes, programas e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D.

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação nas fases (µg/kg)				Média	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg))		Média Adicionais
	1	2	3	4		5	6	
D <sub>3</sub>	98,1	98,8	97,4	96,3	<b>97,6</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	95,8	98,7	97,4	96,7	<b>97,1</b>	95,1	98,7	96,9
<b>Média</b>	<b>96,9</b>	<b>98,7</b>	<b>97,4</b>	<b>96,5</b>	<b>97,4</b>			
Erro padrão					1,75			
CV (%)					5,70			

ANAVA	GL	Probabilidade
Tratamento	(9)	0,461
Vitamina (V)	1	0,315
Programa (P)	3	0,199
V X P	3	0,811
Adicionais	1	0,151
Fat. X adic.	1	0,928

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração



Os resultados obtidos seguem o mesmo padrão verificado nas fases anteriores, ou seja, a suplementação das duas fontes de vitamina D em diferentes proporções, conjuntamente, proporcionou maior ( $p < 0,05$ ) consumo de ração e ganho de peso das aves no período total avaliado. Porém, a conversão alimentar não foi influenciada ( $p > 0,05$ ) por nenhum fator em estudo, assim como a viabilidade de criação, que não foi sensível aos diferentes programas estudados.

Os resultados obtidos para desempenho estão de acordo com a maioria dos estudos que envolvem vitamina D, ou seja, quando níveis de cálcio e ou fósforo disponível estão dentro de limites de deficiência marginal ou atendendo às necessidades nutricionais, não são verificados efeitos diretos do incremento da suplementação de vitamina D (Baker et al., 1998; Edwards, 2002; Fritts & Waldroup, 2005; Mitchel et al., 1997; Zhang et al., 1997).

Por outro lado, respostas mais sensíveis sobre o desempenho são observadas em condições de redução nos níveis de cálcio e fósforo (Rama Rao et al., 2006), com recuperação no desempenho. Este fato sugere adaptação do organismo, que otimiza processos absorptivos e um metabolismo mais eficiente de cálcio e fósforo dietéticos (Nahm, 2007).

Resumidamente, a utilização das duas fontes em combinação gerou um ganho de peso 1,66% superior à média dos demais programas. Porém, quando se comparam os tratamentos adicionais ao programa com maior nível de suplementação em cada fonte isolada (137,5/110/68,8), essa diferença seria de 1,1%. Este efeito pode estar relacionado a uma melhor adequação do metabolismo de cálcio e fósforo originário de ingredientes minerais/inorgânicos (calcário e fosfato) e também de origem orgânica nos macroingredientes (milho e farelo de soja).

É necessário ressaltar que não houve benefício do uso de altos níveis de suplementação em qualquer das fontes de vitamina D sobre a eficiência alimentar.

## 3.2 Características ósseas

### 3.2.1 Mineralização óssea aos 21 dias de idade

Os resultados das cinzas, cálcio e fósforo nas tíbias, expressos na base seca e desengordurada, aos 21 dias de idade, estão apresentados nas Tabelas 15, 16 e 17, respectivamente.

Observa-se que não houve interação ou efeito das fontes de vitamina D ( $p>0,05$ ) sobre o teor de cinzas nas tíbias, aos 21 dias.

Houve efeito quadrático ( $p=0,058$ ) dos níveis de suplementação de vitamina D sobre o teor de cinzas ósseas, indicando que há uma estabilização nos valores de cinzas acima de 87,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de vitamina D, independente da fonte. Com a equação quadrática, é possível estimar o nível suplementar de 111  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de vitamina D para a maximização das cinzas ósseas, que corresponde a 4.440 UI de vitamina D/kg de ração.

O grupo de aves que receberam rações contendo a suplementação conjunta entre as fontes apresentou maior conteúdo de cinzas nas tíbias ( $p=0,089$ ), quando comparadas às médias das aves com suplementação isolada de cada fonte.

A realização de contrastes de interesse entre as médias, revelou que, pela comparação do menor nível de suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (20  $\mu\text{g}$ ) com o primeiro tratamento adicional (50  $\mu\text{g}$  D<sub>3</sub>/kg + 37,5  $\mu\text{g}$  de 25-OHD<sub>3</sub>), pode-se verificar que o teor de cinzas com a suplementação conjunta das duas fontes apresentou maior valor. O mesmo aconteceu quando se comparou o menor nível de suplementação com 25-OHD<sub>3</sub>. Por outro lado, não houve ( $p>0,05$ ) incremento no teor de cinzas nas tíbias com a suplementação adicional de 25-OHD<sub>3</sub> (70 X 37,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), em conjunto com a vitamina D<sub>3</sub>.

**TABELA 15.** Cinzas ósseas (%) em tíbias de frangos de corte Cobb 700, aos 21 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D (valores expressos em base de matéria seca desengordurada).

Fonte	Nível de suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Média Adicionais
	20	37,5	87,5	137,5		50+37,5	50+70	
<b>D<sub>3</sub></b>	52,08	54,08	54,25	54,37	<b>53,83</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	53,37	53,97	54,05	54,44	<b>53,96</b>	54,49	54,08	54,29*
<b>Média<sup>1,2</sup></b>	<b>52,73</b>	<b>54,03</b>	<b>54,15</b>	<b>54,41</b>	<b>53,89*</b>			
Erro padrão					0,288			
CV (%)					1,69			

ANAVA	GL	Probabilidade
Tratamento	(9)	0,0006
Vitamina	1	0,529
Nível	3	0,0003
Ef. linear	1	0,0001
Ef. quadrático	1	0,0576
Vit. X nível	3	0,410
Adicionais	1	0,316
Fatorial X adic.	1	0,089

\* Médias estatisticamente diferentes.

<sup>1</sup>Cinzas (%) = 53,225 + 0,011 x suplementação de vitamina D; R<sup>2</sup>=64,27%.

<sup>2</sup>Cinzas (%) = 52,689 + 0,0311(Vit D) – 0,00014 (Vit D)<sup>2</sup>; R<sup>2</sup>=78,66%.

**TABELA 16.** Cálcio (%) em tíbias de frangos de corte Cobb 700, aos 21 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D (valores expressos em base de matéria seca desengordurada).

Fonte	Nível de suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Médias adicionais
	20 <sup>1</sup>	37,5 <sup>1</sup>	87,5	137,5		50+37,5	50+70	
D <sub>3</sub> <sup>2</sup>	19,32b	19,35b	20,23	19,84	<b>19,68</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	20,06a	20,17a	20,01	20,08	<b>20,08</b>	20,05	20,20	20,13
<b>Média<sup>2</sup></b>	<b>19,69</b>	<b>19,76</b>	<b>20,12</b>	<b>19,96</b>	<b>19,88</b>			
Erro padrão					0,208			
CV (%)					3,30			

ANAVA	GL	Probabilidade
Tratamento	(9)	0,011
Vitamina	1	0,0084
Nível	3	0,152
Vit. X nível	3	0,0503
Adicionais	1	0,605
Fatorial X adic.	1	0,145

<sup>1</sup>Médias com letras diferentes na coluna, dentro de cada nível de suplementação, são estatisticamente diferentes (p<0,05).

<sup>2</sup>Efeito quadrático (níveis dentro de vitamina D3):  $\text{Calcio}(\%) = 18,624 + 0,031(\text{Vit D3}) - 0,0002(\text{Vit D3})^2$ ; R<sup>2</sup>=86,25%.

**TABELA 17.** Fósforo (%) em tíbias de frangos de corte Cobb 700, aos 21 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes, níveis crescentes e associação entre as fontes de suplementação de vitamina D (valores expressos na base de matéria seca desengordurada).

Fonte	Nível de suplementação (µg/kg)				Média	D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg)		Médias Adicionais
	20	37,5	87,5	137,5		50+37,5	50+70	
<b>D<sub>3</sub></b>	9,89	10,09	10,14	10,18	<b>10,08</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	10,01	10,16	10,20	10,24	<b>10,15</b>	10,18	10,22	10,20
<b>Média<sup>1</sup></b>	<b>9,95</b>	<b>10,13</b>	<b>10,17</b>	<b>10,21</b>	<b>10,12</b>			
Erro padrão					0,084			
CV (%)					2,68			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>		<b>Probabilidade</b>					
Tratamento	(9)		0,111					
Vitamina	1		0,220					
Nível	3		0,013					
Ef. linear	1		0,006					
Ef. quadrático	1		0,198					
Vit. X nível	3		0,985					
Adicionais	1		0,757					
Fatorial X adic.	1		0,189					

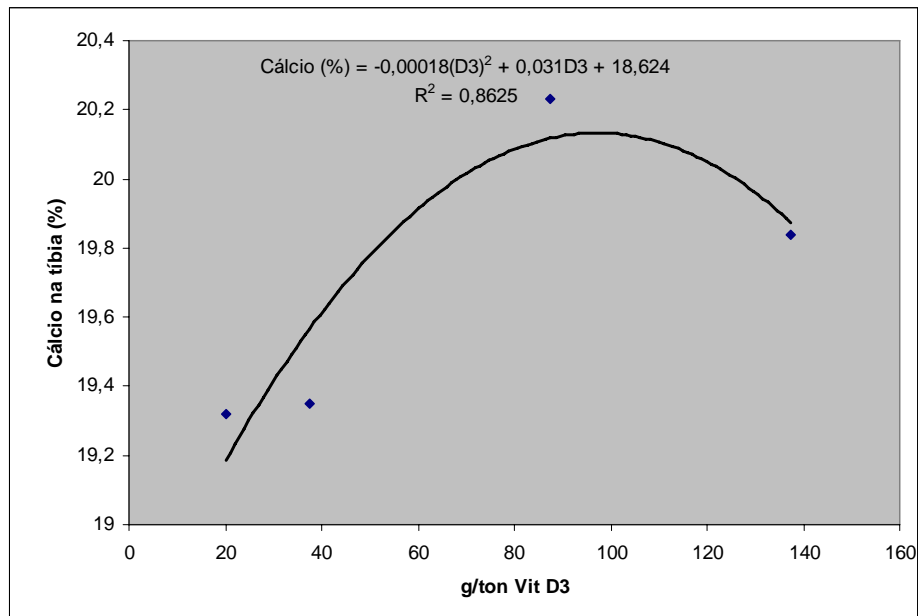
<sup>1</sup> P (%) = 9,988 + 0,0018 x suplementação de vitamina D; R<sup>2</sup>=70,71%.

Os resultados obtidos diferem dos encontrados por Edwards et al. (1994), que determinaram a exigência para maximização das cinzas ósseas em, aproximadamente, 500 UI/kg (12,5 µg/kg). Por outro lado, Mitchel et al. (1997) verificaram aumento no teor de cinzas ósseas até 30 µg de colecalciferol suplementar /kg de ração.

Rama Rao et al. (2006), verificaram efeito linear da suplementação de vitamina D<sub>3</sub> entre 200 e 3.600 UI/kg (5-90 µg/kg). As respostas de mineralização óssea em função da suplementação de vitamina D dependem de alguns fatores, como linhagem utilizada, ambiente de criação (luz, piso, gaiolas) e concentração de elementos envolvidos metabolicamente com a vitamina D (lipídios, cálcio, fósforo, vitamina A e E).

A utilização de níveis reduzidos de cálcio e fósforo disponível (0,4% e 0,2%, respectivamente) com suplementação crescente de vitamina D<sub>3</sub> (até 9.600 UI/kg ou 240 µg/kg), ao longo do ciclo de criação de frangos de corte em baterias metálicas, resultou em menor conteúdo de cinzas, comparada ao tratamento controle com 1,00% e 0,95% de cálcio e 0,45% e 0,35% de fósforo disponível (inicial e final, respectivamente), com suplementação de 1.200 UI/kg (30 µg/kg), demonstrando a importância da adequação destes nutrientes na dieta (Rama Rao et al., 2008).

Houve interação ( $p < 0,05$ ) entre os fatores em estudo para concentração de cálcio nas tíbias aos 21 dias de idade. O desdobramento da interação revelou que, nos menores níveis de suplementação de vitamina D (20 e 37,5 µg/kg), a fonte 25-OHD<sub>3</sub> gerou maior concentração de cálcio nas tíbias. Estes resultados corroboram os encontrados em vários estudos e que revelam maior eficiência de 25-OHD<sub>3</sub> em relação à vitamina D<sub>3</sub> em níveis reduzidos de suplementação (Atencio et al., 2005; Edwards, 2002; Ledwaba & Roberson, 2003; Rennie & Whitehead, 1996). Houve efeito quadrático ( $p < 0,05$ ) dos níveis de suplementação dentro da fonte D<sub>3</sub> (Figura 1).



**FIGURA 1.** Concentração de cálcio na tíbia, em função da suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (matéria seca desengordurada).

Os resultados obtidos permitem estimar o nível de 86,1 µg/kg (3.444 UI/kg) de vitamina D<sub>3</sub> para a maximização de cálcio na tíbia.

Não houve interação ( $p > 0,05$ ) entre os fatores em estudo sobre a concentração de fósforo nas tíbias, aos 21 dias de idade, assim como não houve diferenciação das fontes para esta variável. Diferentemente de algumas características avaliadas, não houve efeito da suplementação das duas fontes conjuntamente, em detrimento da suplementação isolada das fontes nos diferentes níveis estudados.

Por outro lado, a concentração de fósforo nas tíbias aos 21 dias de idade das aves aumentou ( $p < 0,05$ ) linearmente, em função da suplementação de vitamina D. De acordo com a equação estimada, há um aumento de 0,1 ponto

porcentual na concentração deste elemento nas tíbias, a cada aumento de, aproximadamente, 56 µg vitamina D/kg de ração dentro do intervalo avaliado.

### **3.2.2 Mineralização óssea aos 45 dias de idade e biodisponibilidade relativa**

Os resultados referentes à concentração de cinzas, cálcio e fósforo em tíbias, aos 45 dias de idade das aves, estão apresentados nas Tabelas 17, 18 e 19, respectivamente.

Não houve interação ( $p > 0,05$ ) entre as fontes avaliadas e os diferentes programas de suplementação de vitamina D para mineralização óssea (cinzas, cálcio e fósforo nas tíbias). Por outro lado, de acordo com os resultados obtidos, verifica-se a superioridade da fonte 25-OHD<sub>3</sub> em relação à vitamina D<sub>3</sub> ( $p < 0,05$ ) para o teor de cinzas e fósforo nos ossos, aos 45 dias de idade. Os programas com menores níveis de suplementação de vitamina D geraram menores valores ( $p < 0,05$ ) de cinzas ósseas, com valores intermediários para o programa 37,5/30/18,8 µg/kg e superioridade destacada dos dois programas com maiores níveis de suplementação de vitamina D, em diferentes fases de criação. Os programas de suplementação das duas fontes conjuntamente proporcionaram maior teor de cinzas ( $p < 0,05$ ), em detrimento da média dos programas com a suplementação isolada de cada fonte (fatorial).

O conteúdo de cálcio nas tíbias aos 45 dias não foi afetado ( $p > 0,05$ ) pelos fatores em estudo, nem tampouco pela associação das duas fontes de suplementação de vitamina D nas rações. Estes resultados revelam que os efeitos positivos com o incremento dos níveis de suplementação de vitamina D<sub>3</sub> na fase inicial, assim como uma maior efetividade da fonte 25-OHD<sub>3</sub> nos menores níveis de suplementação em relação à vitamina D<sub>3</sub>, não foram cumulativos.



**TABELA 18.** Cinzas ósseas (%) em tíbias de frangos de corte Cobb 700, aos 45 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes em diferentes programas de suplementação de vitamina D (valores expressos na base de matéria seca desengordurada).

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação (µg/kg)				Média <sup>3</sup>	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg))		Média Adicionais
	1	2	3	4		5	6	
D <sub>3</sub>	54,37	54,66	55,02	55,21	<b>54,82B</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	54,70	55,15	55,46	55,57	<b>55,22A</b>	55,62	55,64	55,63*
<b>Média<sup>2</sup></b>	<b>54,53b</b>	<b>54,91ab</b>	<b>55,24a</b>	<b>55,39a</b>	<b>55,02*</b>			
Erro padrão					0,279			
CV (%)					1,60			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>				<b>Probabilidade</b>			
Tratamento	(9)				0,0107			
Vitamina (V)	1				0,039			
Programa (P)	3				0,0508			
V X P	3				0,992			
Adicionais	1				0,872			
Fat. X adic.	1				0,0065			

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,01)

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração

<sup>2</sup>Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de SNK (p<0,05).

<sup>3</sup>Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste de F (p<0,05).

**TABELA 19.** Cálcio (%) em tíbias de frangos de corte Cobb 700, aos 45 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes em diferentes programas de suplementação de vitamina D (valores expressos na base de matéria seca desengordurada).

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação (µg/kg)				Média	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> ) (µg/kg)		Média adicionais
	1	2	3	4		5	6	
<b>D<sub>3</sub></b>	19,99	20,39	20,51	20,52	<b>20,35</b>			
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	20,45	20,50	20,52	20,56	<b>20,51</b>	20,79	20,74	20,76
<b>Média</b>	<b>20,22</b>	<b>20,45</b>	<b>20,51</b>	<b>20,54</b>	<b>20,43</b>			
Erro padrão					0,296			
CV (%)					4,56			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>	<b>Probabilidade</b>						
Tratamento	(9)	0,848						
Vitamina (V)	1	0,455						
Programa (P)	3	0,695						
V X P	3	0,865						
Adicionais	1	0,913						
Fat. X adic.	1	0,159						

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração

**TABELA 20.** Fósforo (%) em tíbias de frangos de corte Cobb 700, aos 45 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes em diferentes programas de suplementação de vitamina D (valores expressos na base de matéria seca desengordurada).

Fonte	Programa <sup>1</sup> de suplementação (µg/kg)				Média <sup>3</sup>	Programa (D <sub>3</sub> +25OHD <sub>3</sub> (µg/kg))		Média Adicionais
	1	2	3	4		5	6	
D <sub>3</sub>	10,06	10,35	10,75	11,06	<b>10,55B</b>			
25-OHD <sub>3</sub>	10,44	10,79	11,06	11,22	<b>10,88A</b>	11,18	11,28	11,23*
<b>Média<sup>2</sup></b>	<b>10,25d</b>	<b>10,57c</b>	<b>10,91b</b>	<b>11,14a</b>	<b>10,72*</b>			
Erro padrão					0,106			
CV (%)					3,11			
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>	<b>Probabilidade</b>						
Tratamento	(9)	0,0000						
Vitamina (V)	1	0,00004						
Programa (P)	3	0,0000						
V X P	3	0,579						
Adicionais (A)	1	0,504						
Fatorial X A	1	0,0000						

\* Médias estatisticamente diferentes (p<0,01).

<sup>1</sup>Programas de suplementação das fontes de vitamina D: 1- 20/16/10; 2 - 37,5/30/18,8; 3 - 87,5/70/43,8; 4 - 137,5/110/68,8; 5 - 50/40/25+37,5/30/18,8 e 6 - 50/40/25+70/56/35 µg/kg de ração

<sup>2</sup>Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de SNK (p<0,05).

<sup>3</sup>Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste de F (p<0,05).

De maneira semelhante ao observado para o teor de cinzas ósseas, o conteúdo de fósforo em tíbias originadas de aves alimentadas com rações suplementadas com 25-OHD<sub>3</sub> foi superior ( $p < 0,05$ ) ao observado em tíbias de aves submetidas a rações suplementadas com vitamina D<sub>3</sub>. Também se obteve um incremento ( $p < 0,05$ ) no teor deste mineral nas tíbias à medida que se aumentou a suplementação de vitamina D, independente das fontes avaliadas. Observou-se, ainda, superioridade dos programas de suplementação das duas fontes conjuntamente ( $p < 0,05$ ), em detrimento da média dos programas com a suplementação isolada de cada fonte (fatorial).

Estes resultados corroboram os encontrados em vários estudos que revelam maior eficiência de 25-OHD<sub>3</sub> em relação à vitamina D<sub>3</sub> sobre a mineralização óssea (Fritts & Waldroup 2003; Ledwaba & Roberson, 2003; Rennie & Whitehead, 1996; Yan & Waldroup, 2006). Da mesma forma, os resultados corroboram os obtidos por Rama Rao et al. (2006), que verificaram aumento linear na mineralização óssea com a elevação na suplementação de vitamina D.

Na Tabela 21, são apresentadas resumidamente as respostas com significância em função do consumo de vitamina D, ao longo do ciclo de criação.

**TABELA 21.** Variável independente e características de mineralização óssea (cinzas e fósforo) avaliadas para a determinação da biodisponibilidade relativa das fontes.

Fonte	Programa (µg/kg na fase)	Consumo de vitamina D (µg/ave)	Cinzas <sup>1</sup> (%)	Fósforo <sup>2</sup> (%)
<b>D<sub>3</sub></b>	<b>20/16/10</b>	81,02	54,37	10,06
	<b>37,5/30/18,8</b>	150,75	54,66	10,35
	<b>87,5/70/43,8</b>	352,18	55,02	10,75
	<b>137,5/110/68,8</b>	555,71	55,21	11,06
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>284,91</b>	<b>54,82</b>	<b>10,55</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	<b>20/16/10</b>	80,60	54,70	10,44
	<b>37,5/30/18,8</b>	151,03	55,15	10,79
	<b>87,5/70/43,8</b>	353,25	55,46	11,06
	<b>137,5/110/68,8</b>	557,31	55,57	11,22
<b>Média (25-OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>285,29</b>	<b>55,22</b>	<b>10,88</b>

<sup>1</sup>Efeito linear simples: cinzas(%)=54,337+0,017x(cons.vit.D3); cinzas(%)=54,746+0,017x(cons.25-OHD3);

<sup>2</sup>Efeito linear simples: P(%)=9,978+0,002x(Cons.Vit.D3); P(%)=10,451+0,0015x(Cons.25-OHD3);

A avaliação da biodisponibilidade, assim como os parâmetros estimados (intercepto, e coeficientes) e a análise estatística, encontra-se na Tabela 22.

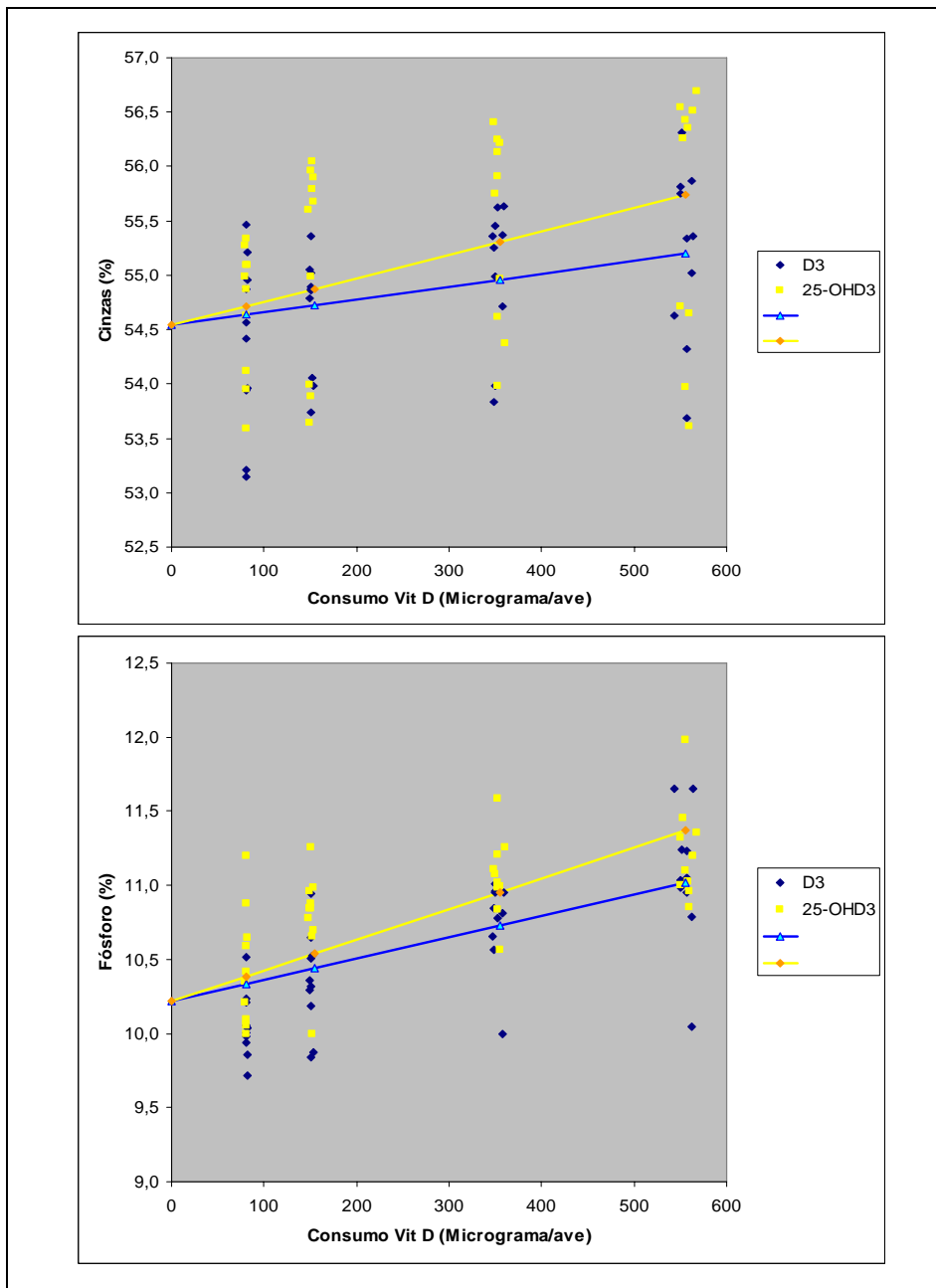
**TABELA 22.** Análise da biodisponibilidade relativa da vitamina D usando a técnica do Slope Ratio, adotando o consumo de vitamina D como variável independente e características de mineralização óssea (cinzas e fósforo) como alvo.

<b>Cinzas ósseas*</b>				
	<b>Coefficientes</b>	<b>E. padrão</b>	<b>Probabilidade</b>	<b>Biodisponibilidade</b>
<b>Intercepto</b>	54,542	0,1674	0,0000	-
<b>D<sub>3</sub></b>	0,00118	0,0006	0,0388	100%
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	0,00216	0,0006	0,0002	183%
<b>R<sup>2</sup></b>		0,162		-
<b>Fósforo nos ossos*</b>				
<b>Intercepto</b>	10,215	0,0741	0,0000	-
<b>D<sub>3</sub></b>	0,00144	0,00025	0,0000	100%
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	0,00208	0,00025	0,0000	144%
<b>R<sup>2</sup></b>		0,486		-

\* 80 observações.

A avaliação da biodisponibilidade relativa comprova maior eficácia da fonte 25-OHD<sub>3</sub> em aumentar a mineralização óssea no que concerne às cinzas e ao fósforo nas tíbias. Estes resultados corroboram os achados de Atencio et al. (2005), que verificaram biodisponibilidade relativa da fonte 25-OHD<sub>3</sub> de 111%, quando avaliaram as cinzas ósseas de pintinhos aos 10 dias de idade, originários de matrizes pesadas alimentadas com esta fonte, em comparação com a vitamina D<sub>3</sub>, utilizada como padrão.

A apresentação dos resultados em gráficos específicos pode possibilitar uma melhor visualização dos resultados encontrados (Figura 2).



**FIGURA 2.** Representação gráfica do comportamento das cinzas e do fósforo nas tíbias, em função do consumo de vitamina D, ao longo do ciclo de criação.

Utilizando-se a técnica da abscissa (Gillis, 1954), estimou-se o valor relativo dos tratamentos adicionais, ou seja, quando a suplementação das duas fontes foi realizada conjuntamente, considerando as equações lineares simples para cinzas e fósforo nos ossos (Tabela 23).

**TABELA 23.** Análise da biodisponibilidade relativa para tratamentos com uso em conjunto das duas fontes de vitamina D, utilizando a técnica da abscissa.

<b>Fonte</b>	<b>Cinzas</b>		<b>Fósforo</b>	
<b>Vit. D<sub>3</sub></b>	Y=54,337+0,0017x; R <sup>2</sup> =0,935		Y=9,978+0,002x; R <sup>2</sup> =0,972	
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	Y=54,746+0,0017x; R <sup>2</sup> =0,821		Y=10,451+0,0015x; R <sup>2</sup> =0,883	
<b>Cinzas (Vitamina D<sub>3</sub> usada como padrão)</b>				
<b>Adicionais (D<sub>3</sub>+25OHD<sub>3</sub>)</b>	<b>Cons. Vit D(µg/ave)</b>	<b>Cinzas observadas</b>	<b>Cinzas estimadas</b>	<b>Biodisponibilidade (%)</b>
<b>50/40/25+37,5/30/18,8</b>	358,1	55,62	54,94	101,2
<b>50/40/25+70/56/35</b>	492,3	55,64	55,17	100,9
<b>Cinzas (25OHD<sub>3</sub> usada como padrão)</b>				
<b>50/40/25+37,5/30/18,8</b>	358,1	55,62	55,35	100,5
<b>50/40/25+70/56/35</b>	492,3	55,64	55,58	100,1
<b>Fósforo (Vitamina D<sub>3</sub> usada como padrão)</b>				
<b>50/40/25+37,5/30/18,8</b>	358,1	11,18	10,69	104,6
<b>50/40/25+70/56/35</b>	492,3	11,28	10,96	102,9
<b>Fósforo (25OHD<sub>3</sub> usada como padrão)</b>				
<b>50/40/25+37,5/30/18,8</b>	358,1	11,18	10,99	101,7
<b>50/40/25+70/56/35</b>	492,3	11,28	11,19	100,8

Os resultados revelaram maior diferencial, em termos porcentuais (independente da fonte usada como padrão), do tratamento adicional com menor inclusão de 25-OHD<sub>3</sub>. Este fato sugere que a suplementação adicional desta fonte (25-OHD<sub>3</sub>) em conjunto com a vitamina D<sub>3</sub> não gerou grandes diferenciais sobre estas variáveis estudadas. Como observado para diversas características avaliadas, o uso da suplementação em conjunto proporcionou valores de



mineralização óssea superiores àqueles encontrados quando as fontes foram utilizadas isoladamente.

### **3.2.3 Discondroplasia tibial e atividade da fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo**

Os resultados da incidência e da severidade de discondroplasia tibial, assim como a atividade da fosfatase alcalina aos 21 dias de idade das aves, estão apresentados na Tabela 24.

Não houve interação ( $p > 0,05$ ) entre os fatores em estudo para incidência, severidade ou atividade da fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo. Do mesmo modo, não houve efeito de qualquer dos fatores em estudo sobre a severidade de DT, assim como na atividade da fosfatase alcalina.

Por outro lado, verificou-se redução ( $p = 0,0504$ ) na incidência de DT quando as aves foram alimentadas com 25-OHD<sub>3</sub>, confirmando a efetividade desta fonte em reduzir o surgimento desta anomalia óssea (Fritts & Waldroup, 2003; Ledwaba & Roberson, 2003; Mitchell et al, 1997; Zhang et al, 1997). No entanto, os resultados encontrados são contraditórios aos verificados por outros autores, que concluíram sobre a não efetividade da 25-OHD<sub>3</sub> em reduzir a incidência de DT em frangos de corte (Fritts & Waldroup, 2005; Roberson et al, 2005; Soares et al, 1995).

Maior efetividade do metabólito 25-OHD<sub>3</sub> em reduzir problemas ósseos (redução na incidência) pode ser uma das explicações para melhoria na uniformidade dos lotes relatados a campo, com redução nas condenações no abate. As aves com DT têm crescimento comprometido primariamente, devido ao acesso dificultado aos comedouros e, principalmente, aos bebedouros.

**TABELA 24.** Incidência e severidade de discondroplasia tibial (DT) e atividade de fosfatase alcalina na placa de crescimento ósseo, em frangos de corte (Cobb-700), aos 21 dias, submetidos às fontes e níveis de vitamina D.

Dietas		Característica		
Fonte	Nível (µg/kg)	Incidência DT <sup>1</sup> (%)	Severidade DT (%)	Ativ. Fos.alcalina (U/mgProteína)
<b>D<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	75	25	338
	<b>37,5</b>	75	16,7	380
	<b>87,5</b>	58,3	16,7	381
	<b>137,5</b>	50	8,3	331
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>64,6B</b>	<b>16,7</b>	<b>357,4</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	58,3	16,7	368
	<b>37,5</b>	50	16,7	339
	<b>87,5</b>	41,7	16,7	354
	<b>137,5</b>	33,3	0,0	371
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>45,8A</b>	<b>8,4</b>	<b>358,0</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+37,5</b>	41,7	16,7	385
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+70</b>	50	16,7	378
<b>Média adicionais</b>		<b>45,85</b>	<b>16,7</b>	<b>381,0</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>55,2</b>	<b>12,5</b>	<b>357,7</b>
Erro padrão		9,21	7,23	34,3
CV(%)		27,69	31,30	18,88
ANAVA	GL	Probabilidade		
Tratamento	(9)	0,087	0,852	0,560
Vitamina (V)	1	0,0504	0,384	0,98
Nível (N)	3	0,642	0,523	0,76
V X N	3	0,283	0,473	0,304
Adicionais (A)	1	0,754	0,954	0,873
Fatorial X A	1	0,412	0,593	0,532

<sup>1</sup> Efeito de fonte: Médias com letras diferentes na coluna diferem estatisticamente

Os resultados confirmam a dificuldade em avaliar a discondroplasia tibial, que apresenta caráter primariamente genético (principalmente a severidade), com grandes variações em respostas fisiológicas obtidas, como a atividade da fosfatase alcalina, enzima que é diretamente ligada à calcificação

óssea, sendo portanto, uma medida para auxiliar ou explicar possíveis efeitos fisiológicos das diferentes fontes de vitamina D, sobre o metabolismo ósseo.

Os resultados demonstram que a utilização em conjunto das duas fontes, no menor nível de suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> nas rações, gerou valores semelhantes na incidência de DT, quando comparada com níveis crescentes de 25-OHD<sub>3</sub> isoladamente, confirmando os benefícios do metabólito mais ativo como fonte de vitamina D.

### **3.3 Características de carcaça**

Os resultados do rendimento de cortes (rendimento de carcaça – RC; rendimento de peito – RP e rendimento de coxa + sobrecoxa - RCS) estão apresentados na Tabela 25.

Não houve interação ( $p > 0,05$ ) entre fontes e programas avaliados para as características de carcaça, porém, verificou-se aumento ( $p < 0,05$ ) no rendimento de carcaça em função das fontes de vitaminas avaliadas, ou seja, 25-OHD<sub>3</sub> aumentou o rendimento em comparação à vitamina D<sub>3</sub>. Estes resultados corroboram aqueles observados por Korver (2005), porém, diferem dos encontrados por Angel (2006). O estudo sobre os efeitos de diferentes fontes de vitamina D sobre características de carcaça ganhou força nos últimos anos, com relatos de redução nas perdas e condenações das carcaças nos abatedouros, em função da melhoria na qualidade ou densidade óssea. Assim sendo, há muito o que pesquisar sobre estes efeitos.

**TABELA 25.** Avaliação de características de carcaça (rendimento de carcaça – RC; rendimento de peito – RP e rendimento de coxa + sobrecoxa - RCS) de frangos de corte, aos 45 dias, submetidos a rações contendo duas fontes de vitamina D e diferentes programas de suplementação, de acordo com a fase de criação.

Dietas		Característica		
Fonte	Nível ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	RC <sup>1</sup> (%)	RP (%)	RCS (%)
<b>D<sub>3</sub></b>	20-16-10	74,97	33,72	30,64
	37,5-30-18,8	73,90	33,72	30,36
	87,5-70-43,8	74,51	34,25	28,49
	137,5-110-68,8	74,49	33,99	30,49
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>74,47B</b>	<b>33,92</b>	<b>29,99</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	20-16-10	75,10	33,19	30,06
	37,5-30-18,8	75,87	33,27	30,86
	87,5-70-43,8	75,02	33,93	29,21
	137,5-110-68,8	75,83	34,92	29,83
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>75,46A</b>	<b>33,82</b>	<b>29,99</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	50+37,5;40+30;25+18,8	75,65	34,33	29,26
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	50+70;40+56;25+35	75,72	33,10	31,12
<b>Médias adicionais</b>		<b>75,69</b>	<b>33,72</b>	<b>30,19</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>74,96</b>	<b>33,87</b>	<b>29,99</b>
Erro padrão		0,66	0,73	0,76
CV(%)		1,96	4,83	5,67
ANOVA		GL	Probabilidade	
Tratamento	(9)	0,512	0,781	0,323
Vitamina (V)	1	0,039	0,857	0,997
Nível (N)	3	0,938	0,459	0,113
V X N	3	0,503	0,726	0,724
Adicionais (A)	1	0,566	0,240	0,091
Fatorial X A	1	0,421	0,790	0,744

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )

Possível explicação sobre o efeito no rendimento de carcaça pode, realmente, estar associado à maior mineralização óssea verificada neste experimento para aves alimentadas com a fonte 25-OHD<sub>3</sub> nas rações (0,7% e 3,1% a mais de cinzas e fósforo nas tíbias, respectivamente). Extrapolando-se esses valores para o esqueleto da ave como um todo, o peso ósseo poderia ter gerado um efeito significativo, pois o principal fator associado ao rendimento de carcaça, o peso médio da ave, não apresentou grandes variações em função das fontes avaliadas. Outra possível explicação seria uma maior retenção de minerais (principalmente cálcio) que reduz a perda de água da carcaça.

Por outro lado, nenhum dos fatores em estudo afetou ( $p>0,05$ ) o rendimento de peito e coxa + sobrecoxa, assim como os diferentes programas de suplementação e ou tratamentos adicionais não afetaram o rendimento de carcaça.

Os resultados do rendimento de peito diferem dos encontrados por Korver (2005) e Larroudé (2005), que verificaram aumento no rendimento de peito em frangos de corte e no rendimento de filé de peito em perus, respectivamente, com o uso de 25-OHD<sub>3</sub>. Esse efeito positivo é relatado pelo fabricante e distribuidor do produto, porém, necessita de melhor embasamento científico.

### **3.4 Morfologia intestinal**

Há diferentes relatos a campo sobre a incidência de sinais de hemorragia ao longo do intestino de aves alimentadas com a fonte 25-OHD<sub>3</sub> ou com altos níveis de inclusão de vitamina D<sub>3</sub>. Também há trabalhos sobre a inter-relação do metabolismo das vitaminas lipossolúveis que, em alguma extensão, estão associadas ao bom desenvolvimento das células intestinais, principalmente as vitaminas A e E que, porventura, poderiam ser metabolicamente afetadas pela

maior ou menor atividade e absorção da vitamina D dietética. Diante disso, realizou-se, ao final do ciclo de criação (45 dias), uma avaliação da morfologia intestinal por meio da quantificação da altura de vilosidades, profundidade de criptas e a relação entre estas duas características, no intuito de esclarecer possíveis efeitos.

De forma generalizada, não foram verificados ( $p>0,05$ ) efeitos dos diferentes fatores em estudo sobre a morfologia intestinal (duodeno, jejuno e íleo), de acordo com as características avaliadas. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 26, 27 e 28, respectivamente.

Estes resultados sugerem que os programas adotados com as duas fontes em estudo, assim como a combinação entre elas, não geraram qualquer alteração que possa ter ocasionado modificação na capacidade absorptiva de nutrientes ao longo do intestino delgado, o que pode ter refletido na não significância sobre o desempenho.

**TABELA 26.** Morfologia do duodeno (altura de vilosidades – AV; profundidade de cripta – PC e relação vilo/cripta - VC) em aves, aos 45 dias de idade, submetidas a rações contendo duas fontes de vitamina D e diferentes programas de suplementação, de acordo com a fase de criação.

Dietas		Característica		
Fonte	Programa (UI ou $\mu\text{g}/\text{kg}$ )/Fase	AV <sup>1</sup> . ( $\mu\text{m}$ )	PC <sup>1</sup> ( $\mu\text{m}$ )	VC <sup>1</sup>
<b>D<sub>3</sub></b>	20-16-10	1437	166	8,66
	37,5-30-18,8	1505	179	8,41
	87,5-70-43,8	1424	159	8,96
	137,5-110-68,8	1502	173	8,68
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>1467</b>	<b>169</b>	<b>8,68</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	20-16-10	1534	184	8,33
	37,5-30-18,8	1553	188	8,26
	87,5-70-43,8	1484	176	8,43
	137,5-110-68,8	1475	171	8,63
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>1512</b>	<b>180</b>	<b>8,41</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub></b>	50+37,5;40+30;25+18,8	1521	178	8,54
<b>D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub></b>	50+70;40+56;25+35	1514	173	8,75
<b>Média adicionais</b>		<b>1518</b>	<b>176</b>	<b>8,65</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>1490</b>	<b>175</b>	<b>8,55</b>
Erro padrão		65,3	15,2	2,5
CV(%)		19,2	21,3	20,1
ANOVA		Probabilidade		
	GL			
Tratamento	(9)	0,542	0,684	0,865
Vitamina (V)	1	0,684	0,665	0,950
Nível (N)	3	0,341	0,446	0,771
V X N	3	0,712	0,689	0,835
Adicionais (A)	1	0,651	0,543	0,561
Fatorial X A	1	0,442	0,387	0,614

**TABELA 27.** Morfologia do jejuno (altura de vilosidades – AV; profundidade de cripta – PC e relação vilo/cripta - VC) em aves, aos 45 dias de idade, submetidas a rações contendo duas fontes de vitamina D e diferentes programas de suplementação de acordo com a fase de criação.

Dietas		Característica		
Fonte	Programa (UI ou $\mu\text{g}/\text{kg}$ )/Fase	AV <sup>1</sup> . ( $\mu\text{m}$ )	PC <sup>1</sup> ( $\mu\text{m}$ )	VC <sup>1</sup>
<b>D<sub>3</sub></b>	20-16-10	1231	142	8,67
	37,5-30-18,8	1215	134	9,07
	87,5-70-43,8	1204	128	9,40
	137,5-110-68,8	1254	138	9,10
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>1226</b>	<b>136</b>	<b>9,06</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	20-16-10	1223	132	9,27
	37,5-30-18,8	1194	124	9,63
	87,5-70-43,8	1199	121	9,91
	137,5-110-68,8	1218	130	9,37
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>1209</b>	<b>127</b>	<b>9,55</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub></b>	50+37,5;40+30;25+18,8	1210	131	9,24
<b>D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub></b>	50+70;40+56;25+35	1204	127	9,48
<b>Média adicionais</b>		<b>1207</b>	<b>129</b>	<b>9,36</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>1218</b>	<b>132</b>	<b>9,31</b>
Erro padrão		51,1	12,8	2,5
CV(%)		17,8	19,7	20,8
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>	<b>Probabilidade</b>		
Tratamento	(9)	0,415	0,743	0,598
Vitamina (V)	1	0,615	0,765	0,486
Nível (N)	3	0,523	0,654	0,512
V X N	3	0,421	0,666	0,416
Adicionais (A)	1	0,493	0,541	0,521
Fatorial X A	1	0,938	0,805	0,797



**TABELA 28.** Morfologia do íleo (altura de vilosidades – AV; profundidade de cripta – PC e relação vilo/cripta - VC) em aves, aos 45 dias de idade, submetidos a rações contendo duas fontes de vitamina D e diferentes programas de suplementação de acordo com a fase de criação.

Dietas		Característica		
Fonte	Programa (UI ou $\mu\text{g}/\text{kg}$ )/Fase	AV <sup>1</sup> . ( $\mu\text{m}$ )	PC <sup>1</sup> ( $\mu\text{m}$ )	VC <sup>1</sup>
<b>D<sub>3</sub></b>	20-16-10	947	145	6,53
	37,5-30-18,8	951	146	6,51
	87,5-70-43,8	937	142	6,60
	137,5-110-68,8	921	134	6,87
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>939</b>	<b>142</b>	<b>6,63</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	20-16-10	954	149	6,40
	37,5-30-18,8	962	148	6,50
	87,5-70-43,8	975	151	6,46
	137,5-110-68,8	940	140	6,71
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>958</b>	<b>147</b>	<b>6,52</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub></b>	50+37,5;40+30;25+18,8	951	145	6,56
<b>D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub></b>	50+70;40+56;25+35	968	151	6,41
<b>Média adicionais</b>		<b>960</b>	<b>148</b>	<b>6,49</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>949</b>	<b>145</b>	<b>6,58</b>
Erro padrão		47,1	13,4	1,96
CV(%)		18,8	20,9	23,8
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>	<b>Probabilidade</b>		
Tratamento	(9)	0,589	0,701	0,526
Vitamina (V)	1	0,654	0,825	0,421
Nível (N)	3	0,541	0,569	0,489
V X N	3	0,499	0,651	0,652
Adicionais (A)	1	0,615	0,498	0,714
Fatorial X A	1	0,608	0,882	0,520

#### 4 CONCLUSÕES

De acordo com as respostas encontradas nas condições experimentais aqui descritas, pode-se concluir que a utilização conjunta das duas fontes de suplementação de vitamina D (vitamina D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub>) é mais efetiva, quando se levam em consideração o desempenho e as características de desenvolvimento ósseo, importantes na cadeia avícola industrial de frangos de corte. Portanto, recomenda-se uma suplementação de 37,5/30/18,8 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> complementando rações com níveis de 50/40/25 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub>, nas fases inicial, crescimento e final, que bem representam a média nacional de suplementação de vitamina D nas rações de frangos de corte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGEL, R.; SAYLOR, W. W.; DHANDU, A. S.; POWERS, W.; APPLGATE, T. J. Effects of dietary phosphorus, phytase and 25-hydroxycholecalciferol on performance of broiler chickens grown in floor pens. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p. 1031–1044, July 2005.

ANGEL, R.; SAYLOR, W. W.; MITCHELL, A. D.; POWERS, W.; APPLGATE, T. J. Effect of dietary phosphorus, phytase and 25-hydroxycholecalciferol on broiler chicken bone mineralization litter phosphorus, and processing yields. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, n. 7, p. 1200–1211, July 2006.

APPLGATE, T. J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H. L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 7, p. 1140-1148, July 2003.

ATENCIO, A.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; PESTI, G. M. Twenty-five hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute in broiler breeder hen diets and its effect on the performance and general health of the progeny. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n.8, p. 1277-1285, Aug. 2005

BAKER, D. H.; BIEHL, R. R.; EMMERT, J. L. Vitamin D3 Requirement of young chicks receiving diets varying in calcium and available phosphorus. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 39, N. 3, p. 413–417, July 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normais climatológicas**: 1961 - 1990. Brasília: MARA, 1992. 84 p.

CARVALHO, J. C. C. **Complexos enzimáticos em rações fareladas de frangos de corte**. 2006. 64p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

EDWARDS JUNIOR, H. M.; VELTMANN JUNIOR, J. R. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in yougns chicks. **Journal Nutrition**, Bethesda, v. 113, n. 8, p. 1568-1575, Aug. 1983.

EDWARDS JUNIOR, H. M.; ELLIOT, M. A.; SOONCHARERNYING, S.; BRITTON, W. M. Quantitative requirement for cholecalciferol in the absence of

ultraviolet light. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, n. 2, p. 288–294, Feb. 1994.

EDWARDS JUNIOR, H. M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n.7, p. 1018–1023, July, 2000.

EDWARDS JUNIOR, H. M. Studies on the efficiency of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 7, p.1026–1031, July 2002.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema para análise de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, versão 4.3. Lavras: UFLA, 2000.

FRITTS, C. A., WALDROUP, P. W. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. **Journal Applied Poultry Research**., Savoy, v. 12, n. 1, p. 45-52, 2003.

FRITTS, C. A.; WALDROUP, P. W. Comparasion of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in broilers diets designed to minimize phosphorus excretion. **Journal Applied Poultry Research**., Savoy, v. 14, n. 1, p.156-166, 2005.

GILLIS, M.B.; NORRIS, L.C.; HEUSER, G.F. Studies on the biological valeu of inorganic phosphates. **Journal of Nutrition**, v.52, n.1, p.115-25, 1954.

HARTREE, E. F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 48, n. 2, p. 422-427, 1972.

HOFMANN, P.; GOESSL, R.; DENU, L. **Determination of 25-hidroxyvitamin D3 (Hy-D) in animal feeds using d<sub>6</sub>-25-hidroxyvitamin as internal standard**: DSM report, n. 1012520, Method Report. Switzerland: DSM Nutricional Products, 2003.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1983. 123 p.

KORVER, D. Research, analytical techniques and practical experiences using HyD™. In: ARKANSAS NUTRITION CONFERENCE, 2005. **Proceedings...** Arkansas: [s.n.], 2005. 12 p.

LARROUDE, P.; CASTAING, J.; HAMELIN, C.; BALL, A.; Effet d'une supplementation en HY-D® pour deux niveaux d'apports en vitamines sur les performances, le developpement osseux et les troubles locomoteurs des dindons. **Sixièmes Journées de la Recherche Avicole**, St Malo, n. 3, p. 244-248, 2005.

LEDWABA, M. F.; ROBERSON, K. D. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyscondroplasia in Ross cockerels depends on dietary calcium level. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n.11, p. 1769–1777, Nov. 2003.

LITELL, R. C.; HENRY, P. R.; LEWIS, A. J.; AMMERMAN, C. B.; Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 10, p. 2672-2683, Oct. 1997.

LOHAKARE, J. D.; KIM, J. K.; RYU, M. H.; HAHN, T. W.; CHAE, B. J. Effects of vitamin C and D interaction on the performance, immunity and bone characteristics of commercial broilers. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 14, n. 4, p. 670-678, 2005.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.

MATTILA, P. **Analysis of cholecalciferol, ergocalciferol and their 25-hydroxylated metabolites in food by HPLC**. 1995. Dissertation (Ph.D.) – University Helsinki, Helsinki, Finland.

MITCHELL, R. D.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; MCDANIEL, G. R. The effects of ultraviolet light and cholecalciferol and its metabolites on the development of leg abnormalities in chickens genetically selected for a high and low incidence of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 346–354, Feb. 1997.

NAHM, K. H. Efficient phosphorus utilization in poultry feeding to lessen the environmental impact of excreta. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 63, n. 4, p. 625-654, Dec. 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirement of Poultry**. 9. ed. Washington: National Academic Science, 1994. 155 p. (Nutrient Requirements of Domestic Animals).

PIZAURO, J. M.; CIANCAGLINI, P.; LEONE, F. A. Allosteric modulation by ATP, calcium and magnesium ions of rat osseous plate alkaline phosphatase. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1202, n. 1, p. 22-28, Sept. 1993.

RAO, S. V. R.; RAJU, M. V. L. N.; PANDA, A. K. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 15, n. 4, p. 493-501, 2006.

RAO, S.V. R.; RAJU, M. V. L. N.; PANDA, A. K.; SAHARAY, P. N.; REDDY, M. R.; SHYAM SUNDER, G.; SHARMA, R. P.; SHARMA, R. P. Effect of surfeit concentrations of vitamin D3 on performance, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks. **Journal of Poultry Science**, Tokyo, v. 45, n. 1, p. 25-30, 2008.

ROBERSON, K. D.; LEDWABA, M. F.; CHARBENEAU, R. A. Studies on the efficacy of twenty-five hydroxycholecalciferol to prevent tibial dyschondroplasia in ross broilers fed marginal calcium to market age. **International Journal Poultry Science**, Farsalabad, v. 4, n. 2, p. 85-90, 2005.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 141.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235 p.

SOARES JUNIOR, J. H.; KERR, J. M.; GRAY, R. W. 25-Hydroxycholecalciferol in poultry Nutrition. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 12, p. 1919-1934, dez. 1995

SULLIVAN, T. W. Skeletal problems in poultry: Estimated annual cost and description. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, n.6, p. 879-882, June 1994.

YARGER, J. G.; QUARLES, C. L.; HOLLIS, B. W.; GRAY, R. W. Safety of 25-hydroxycholecalciferol in poultry rations. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p.1437–1446, Sept. 1995a.

YAN, F.; WALDROUP, P. W. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn as influenced by phytase supplementation and vitamin d source. **International Journal Poultry Science**, Farsalabad, v. 5, p. 219-228, 2006.

ZHANG, X.; LIU, G.; MCDANIEL, G. R.; ROLAND, A. Response of broiler lines selected for tibial dyschondroplasia incidence to supplementary 25-hydroxycholecalciferol. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 6, n. 4, p. 410–416, 1997.

## **CAPÍTULO III**

### **VITAMINA D<sub>3</sub> (COLECALCIFEROL) E 25- HIDROXICOLECALCIFEROL (25-OHD<sub>3</sub>) EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE: BALANÇO E RETENÇÃO DE CÁLCIO E FÓSFORO**



## RESUMO

BRITO, Jerônimo Ávito Gonçalves de. **Vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) e 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) em rações de frangos de corte: balanço e retenção de cálcio e fósforo**. 2008. 120p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar níveis de vitamina D, proveniente das vitaminas D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub>, em rações de frangos de corte criados em gaiolas, sobre o balanço e a retenção de cálcio e fósforo. Foram utilizados 750 pintos de um dia, machos, da linhagem Cobb-700, alojados em gaiolas metálicas (50), com dispositivos e manejo adaptados para a criação das aves. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x2), com mais dois tratamentos adicionais e cinco (5) repetições por tratamento. Os fatores em estudo foram níveis (20; 37,5; 87,5 e 137,5 µg/kg ração) de suplementação de vitamina D oriunda de duas ((D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub>) fontes. Os tratamentos adicionais foram constituídos pela suplementação em conjunto das duas fontes em diferentes proporções (50+37,5 e 50+70 µg/kg). As rações foram à base de milho e farelo de soja, com suplementação de fitase (500 FTU/kg), com níveis nutricionais seguindo as recomendações das tabelas nacionais para a espécie. Aos 18 dias, as rações foram pesadas e marcadas com óxido férrico (marcador fecal), iniciando-se o ensaio metabólico, que teve duração de três dias de coleta de excretas. Avaliaram-se a excreção e a retenção aparente de cálcio e de fósforo total e fítico. Observou-se maior (p<0,05) retenção porcentual de fósforo total com o uso de 25-OHD<sub>3</sub>, porém, com ausência de significância para a retenção de cálcio e fósforo fítico. Houve maior (p<0,05) concentração de fósforo total em excretas de aves alimentadas com vitamina D<sub>3</sub>. A suplementação conjunta das duas fontes proporcionou maiores retenções (absoluta e relativa) de cálcio, fósforo total e fítico em detrimento das aves dos tratamentos do ensaio fatorial. Pode-se concluir que a adição de 25-OHD<sub>3</sub>, em rações contendo vitamina D<sub>3</sub> otimiza a retenção de fósforo e cálcio, elementos diretamente ligados ao seu metabolismo.

---

<sup>1</sup>Comitê Orientador: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Orientador); Prof. Édison José Fassani – UFVJM; Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA;

## ABSTRACT

BRITO, Jerônimo Ávito Gonçalves de. **Vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol) and 25-hydroxicholecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) in broiler chicken diets: balance and retention of calcium and phosphorus.** 2008. 120p. Thesis (Doctorate in Monogastric Nutrition). Federal University of Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

The experiment was conducted aiming to evaluate levels of vitamin D, coming from vitamins D<sub>3</sub> and 25-OHD<sub>3</sub> in broiler chicken diets reared in cages on the balance and retention of calcium and phosphorus. 750 chicks of one day, males, of the Cobb-700 strain, housed in metal cages (50), with appliances and management adapted for bird raising. A completely randomized design in factorial scheme (4x2), with two further additional treatments and five (5) replicates per treatment was adopted. The factors in study were levels (20; 37.5; 87.5 and 137.5 µg/kg diet) of supplementation of vitamin D, coming from two (D<sub>3</sub> + 25-OHD<sub>3</sub>) sources. The additional treatments consisted of the joint supplementation of the two sources at different proportions (50+37.5 and 50+70 µg/kg). The diets were based upon corn and soybean meal with phytase supplementation (500 FTU/kg), with nutritional levels following the recommendations of the national tables for the species. At 18 days, the diets were weighed and labeled with ferric oxide (fecal label) starting the metabolism trial which lasted three days of excreta collection. Both excretion and apparent retention of calcium, total and phytic phosphorus was evaluated. Greater (p<0.05) percent retention of total phosphorus with the use of 25-OHD<sub>3</sub> was found, but with the absence of significance for calcium and phytic phosphorus. There was a higher concentration (p<0.05) of total phosphorus in excreta of birds fed vitamin D<sub>3</sub>. The joint supplementation of the two sources supplied greater retentions (absolute and relative) of calcium, total and phytic phosphorus to the detriment of the birds of the treatments of the factorial trial. It can be concluded that addition of 25-OHD<sub>3</sub> in diets containing vitamin D<sub>3</sub> optimizes phosphorus and calcium retention, elements directly linked to their metabolism.

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Adviser); Prof. Édison José Fassani – UFVJM; Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA;

## 1 INTRODUÇÃO

Por estar diretamente envolvida no metabolismo de cálcio e de fósforo, a vitamina D pode influenciar a retenção destes minerais pela ave e, como consequência, a excreção para o ambiente. Envolvidos em uma série de funções a interação destes três nutrientes, de forma generalizada, é imprescindível, nutricionalmente, para a produção adequada de frangos de corte.

De acordo com inúmeros trabalhos de pesquisas, é evidente a participação do cálcio na mineralização óssea, sendo sua deficiência ou baixa retenção diretamente ligadas a anomalias, como raquitismo e incidência de discondroplasia tibial. Além disso, há uma relação não muito bem definida entre a retenção de cálcio e de fósforo.

Em relação ao fósforo, alguns relatos da literatura (Abelson, 1999; Mullaney et al., 2000) consideram que as reservas de fósforo, que não são renováveis, em médio prazo, deverão estar escassas. Estima-se que cerca de 14,4 milhões de toneladas de fósforo fítico são gerados anualmente no mundo, nas colheitas de grãos/sementes e frutas, número que representaria 65% nas vendas de fertilizantes fosfatados anualmente em todo o mundo (Lott et al., 2000).

O baixo aproveitamento do P de ingredientes vegetais está diretamente relacionado à forma de armazenamento deste elemento nas plantas (fítico), pois, sabidamente, animais não-ruminantes não possuem microfauna que possibilitaria a produção de fitase “endógena”. Além disso, o P advindo de fontes minerais (inorgânicas), como os fosfatos, também apresenta baixa absorção e retenção em aves, além do alto custo.

Resultados atuais revelam melhor utilização do fósforo fítico por frangos de corte, em função do aumento do nível suplementar de vitamina D, assim como a fonte utilizada (Vitamina  $D_3 < 25\text{-OHD}_3 < 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ). Da mesma forma, trabalhos recentes revelam um efeito sinérgico entre o uso de fitases e

metabólitos ativos de vitamina D (Edwards 2002; Ledwaba & Roberson, 2003; Quian et al, 1997).

Soares et al. (1995) citam que o 25-OHD<sub>3</sub> é mais potente cerca de 2 vezes que o colecalciferol normalmente usado como fonte de vitamina D na absorção de cálcio.

Edwards (2002) verificou que a suplementação de 5 µg/kg (200UI/kg) de 25-OHD<sub>3</sub> uma ração basal contendo 27,5 µg/kg (1.100 UI/kg) de vitamina D<sub>3</sub>, para frangos de corte de 1 a 16 dias de idade, com níveis de cálcio e fósforo disponível abaixo dos recomendados (0,75% e 0,3%, respectivamente) não afetou a retenção de cálcio e de fósforo total, aos 8 e 16 dias. Porém, aumentou significativamente a retenção de fósforo fítico aos 8 e 16 dias (38% para 44% e 53% para 64%, respectivamente) em relação à ração basal contendo 1100 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub>.

Ledwaba & Roberson (2003) conduziram uma série de experimentos e verificaram que a suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> (0,10, 40 e 70 µg/kg) aumentou linearmente a retenção de fósforo fítico.

Roberson et al. (2005) verificaram maior aproveitamento do fósforo fítico pelo grupo de aves alimentadas com rações contendo 25-OHD<sub>3</sub>.

Yan & Waldroup (2006) verificaram que o teor de fósforo das excretas de frangos de corte variou de 1,06%, 1,11%, 0,98% e 0,78%, com a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (69 µg ou 2760 UI/kg), vitamina D<sub>3</sub> + fitase (100 FTU/kg), 25-OHD<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub> + fitase (100FTU/kg), respectivamente. Estes autores concluíram que a associação de fitase e 25-OHD<sub>3</sub> é ótima alternativa para a redução do nível de fósforo dietético e a conseqüente redução na excreção deste mineral, que é potencial poluidor ambiental.

Em uma revisão recente, Nahm (2007) enumerou, entre outros fatores para uma melhor utilização de fósforo pelas aves, a suplementação de vitamina

D, o uso de diferentes metabólitos desta vitamina e a interação destes dois fatores com a suplementação de fitase nas rações.

Assim sendo, objetivou-se, com a realização do presente trabalho, avaliar o balanço e a retenção de cálcio, fósforo e fósforo fítico, em função de diferentes fontes de vitamina D ( $D_3$  e  $25\text{-OHD}_3$ ) e níveis de suplementação em rações de frangos de corte, na fase inicial (1 a 21 dias) de criação.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local e época de realização**

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisas em Tecnologia Avícolas (CPTA/Convênio UFLA), rodovia BR 265, km 144 (Lavras, MG), em outubro de 2005.

### **2.2 Aves, instalações e equipamentos**

Foram utilizados 750 pintos de um dia, machos, da linhagem Cobb-700, provenientes de incubatório comercial, alojados em galpão com cobertura de telhas de cimento amianto, cortinas laterais com dispositivos de catraca (subida e descida) para controle parcial da temperatura e ventilação. Foram utilizadas três fileiras de gaiolas, com divisões de 75x63x50cm, com dispositivos adaptados para a primeira semana de criação, comedouros tipo calha, bebedouros tipo copo, contendo válvula e bandejas coletoras de excretas.

A iluminação foi intermitente e o aquecimento, nos primeiros 10 dias, com lâmpadas incandescentes de 150W, instaladas no interior das gaiolas.

## **2.3 Delineamento, tratamentos e manejo experimental**

### **2.3.1 Delineamento e tratamentos experimentais**

Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com dois tratamentos adicionais ( $2 \times 4 + 2$ ), totalizando 10 tratamentos e 5 repetições. A parcela experimental foi constituída, inicialmente, por 15 aves, tendo, no período de coleta, algumas parcelas eventualmente apresentado menor número de aves em função da mortalidade.

Os tratamentos experimentais foram constituídos por 4 níveis de suplementação de vitamina D (20, 37,5, 87,5 e 137,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ração), provenientes de duas fontes de suplementação (vitamina  $\text{D}_3$  e 25-OHD $_3$ ), com dois tratamentos adicionais, que foram constituídos pela combinação das duas fontes em diferentes proporções (50 + 37,5 e 50 + 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ração -  $\text{D}_3$  + 25OHD $_3$ ).

### **2.3.2 Rações e manejo experimental**

As rações experimentais (Tabela 1) foram à base de milho e de farelo de soja, de acordo com o programa alimentar contendo duas rações (pré-inicial 1-7 e inicial 8-21 dias), seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2005), com suplementação de fitase em todas as rações (Ronozyme P CT - 500 FTU/kg), com redução de, aproximadamente, 25% (0,1 ponto porcentual) no teor de fósforo disponível e 10% (0,1 ponto porcentual) nas exigências de cálcio.

As fontes de vitamina D e respectivas concentrações foram as mesmas descritas no capítulo 2, fabricadas pela DSM Produtos Nutricionais do Brasil (DSM).

**TABELA 1.** Composição percentual e níveis nutricionais calculados das rações experimentais.

INGREDIENTES	FASE (DIAS)	
	1-7 (Pré-inicial)	8-21 (inicial)
Milho	49,557	55,066
Farelo de soja	41,913	36,329
Fosfato bicálcico	1,408	1,285
Calcário calcítico	0,985	0,955
Óleo de soja	4,358	4,817
Sal comum	0,478	0,457
DL-metionina (99%)	0,312	0,240
L-lisina (78%)	0,213	0,145
L-treonina (99%)	0,068	0,0247
Fitase 5000 FTU/g	0,010	0,010
Cl-colina (70%)	0,0668	0,060
Cygro <sup>3</sup>	0,050	0,050
Suplemento vitamínico <sup>1</sup>	0,200	0,200
Suplemento mineral <sup>2</sup>	0,100	0,02750
Premix selênio (0,45%) <sup>4</sup>	0,0011	0,001
Vitamina C (97,5%) <sup>5</sup>	0,0205	-
BHT	0,010	0,010
Tratamento + inerte	0,250	0,250
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
Energia metabolizável (kcal/kg)	3000	3100
Proteína bruta (%)	23,01	21,02
Cálcio (%)	0,830	0,78
Fósforo total (%)	0,60	0,56
Fósforo disponível (%)	0,38	0,35
Lisina digestível (%)	1,34	1,16
Metionina digestível (%)	0,61	0,53
Metionina+cistina (%)	0,94	0,82
Treonina digestível (%)	0,86	0,74
Sódio (%)	0,21	0,20

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico (DSM). Níveis de garantia/kg do produto: Vitamina A 10.000.000 UI; Vit. E 40.000 UI; Vit. K<sub>3</sub> 3.000mg; Vit B<sub>1</sub> 2.000mg; Vit B<sub>2</sub> 7.000mg; Vit. B<sub>6</sub> 5.000mg; Vit. B<sub>12</sub> 20.000µg; Ac. fólico 1.500mg; Ac. pantotênico 15.000 mg; Niacina 50.000mg; Biotina 100mg; Selênio 125mg, Antioxidante 125mg.

<sup>2</sup>Suplemento micromineral (Roche/DSM). Níveis de garantia/kg do produto: Mn 80.000mg; Zn 80.000mg; Fe 60.000mg; Cu 10.000mg; I 1.000mg; Co 1.000 mg.

<sup>3</sup> Enriquecimento de selênio por kg de ração 0,05mg.

<sup>4</sup>Vitamina C - 200 mg/kg.

Para a confecção das rações, nas duas fases, foram misturadas, inicialmente, as rações com os níveis mais concentrados de cada fonte avaliada e uma ração isenta de vitamina D (qualquer das fontes). Posteriormente, procedeu-se à mistura dos tratamentos com menores níveis de vitamina D, com o objetivo de evitar erros de pesagem e perda de precisão com misturas de menores quantidades. As rações experimentais, para cada fase (pré-inicial e inicial), foram isonutrientes, com exceção dos níveis de vitamina D, que constituíram os tratamentos.

A composição, em nutrientes, dos principais alimentos usados na formulação foi obtida em tabelas brasileiras (Rostagno et al., 2005).

As rações experimentais foram preparadas e estocadas em local ao abrigo da luz. Os tratamentos foram sorteados para cada parcela experimental e as rações fornecidas, à vontade, duas vezes ao dia. A água foi fornecida à vontade, em todo o período experimental e foram efetuadas vacinações contra a doença infecciosa da bursa, aos 7 e aos 14 dias.

As temperaturas (máxima e mínima) e a umidade relativa foram registradas diariamente, às 16 horas, por meio de um termo-higrômetro localizado na parte central do galpão (Anexo, Tabela 2).

## **2.4 Metodologia**

Foi utilizado o método tradicional de coleta total de excretas, no qual as aves foram mantidas nas gaiolas de metabolismo durante 21 dias, sendo considerados 18 dias para adaptação às gaiolas e à alimentação e 3 dias para a coleta de excretas (19<sup>o</sup> ao 21<sup>o</sup> dia). O período de 3 dias é menor que o usualmente utilizado neste tipo de experimento, porém, considerado suficiente e confiável, segundo Rodrigues et al. (2003). As rações e as sobras foram pesadas e registradas, respectivamente, no início e no final do período experimental, para



a obtenção do consumo de ração no período de avaliação, para posterior realização dos cálculos.

Após o período de adaptação, o início e o final das coletas de excretas foram determinados utilizando-se óxido férrico (1%) na ração, como marcador fecal. As coletas foram realizadas duas vezes ao dia, às 8 horas e às 16 horas 30 minutos, com a finalidade de evitar possível fermentação. As excretas coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e armazenados em freezer à temperatura de  $-5^{\circ}\text{C}$ , até o período final do experimento. Ao final das coletas, as amostras foram descongeladas, pesadas e homogeneizadas e, delas, foram retiradas alíquotas de 400 gramas para análises laboratoriais posteriores. Estas amostras foram submetidas a uma pré-secagem em estufa de circulação de ar ( $55^{\circ}\text{C}$ ), pelo período de 72 horas. Posteriormente, foram pesadas, para a determinação da matéria seca a  $55^{\circ}\text{C}$  e moídas, utilizando-se “moinho” com peneiras de 0,5 mm e, então, direcionadas para análises posteriores (matéria seca, cálcio, fósforo total e fitato).

## **2.5 Análises laboratoriais**

Foram realizadas análises das rações experimentais em seus principais componentes de interesse (proteína bruta, cálcio, fósforo, fitato, colecalciferol e 25-OHD<sub>3</sub>).

As análises do teor de nitrogênio das rações experimentais foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal da UFLA, pelo método micro Kjeldahl, conforme metodologia proposta pelo AOAC (1990). Os teores de cálcio e fósforo total (rações e excretas) foram determinados seguindo métodos descritos por Silva (2002). As análises de vitamina D<sub>3</sub> e 25-OHD<sub>3</sub> nas rações foram encaminhadas para análises no Laboratório da DSM Nutritional Products (R&D, Analytical Research Center – ARC), na Suíça. Para análise de vitamina

D<sub>3</sub>, adotou-se a metodologia descrita por Mattila (1995), enquanto, para 25-OHD<sub>3</sub>, adotaram-se os procedimentos descritos por Hofmann et al. (2003). Nas duas metodologias, a detecção foi realizada utilizando-se cromatografia líquida de alta performance (HPLC), com resultados apresentados no capítulo II.

A determinação da concentração de fitato nas rações e excretas foi realizada seguindo a metodologia descrita por Latta & Eskin (1980), com adaptações sugeridas por Fruhbeck et al. (1995). Sucintamente, a metodologia utilizada pode ser descrita da seguinte forma: 0,5-1g de amostra (ração ou excretas) foram pesadas e transferidas para recipiente com 10-20 mL de ácido clorídrico (0,6N), mantidas sob agitação, por duas horas, em agitador orbital. Posteriormente, o conteúdo (sólido e líquido) foi centrifugado (17.300Xg), por 30 minutos, a 15°C, sendo, então, filtrado com papel qualitativo. A solução foi coletada e diluída (1:25 ou 2:25), de acordo com a concentração de fitato esperada na amostra. Dez mL foram, então, transferidos para coluna de vidro (0,7 X 15 cm) previamente empacotada com 0,5g resina de troca aniônica (AG 1X4 – 100-200 mesh) e saturada com 15 mL de cloreto de sódio (0,7 mol/L). Os fosfatos inorgânicos e interferentes foram eluídos primeiramente com 15 mL de cloreto de sódio (0,1mol/L) e, finalmente, o fitato foi eluído com cloreto de sódio (0,7 mol/L) e coletado. Em 3 mL do eluído coletado, mistura-se 1 mL de reagente de Wade (ácido sulfosalicílico 0,3% + cloreto férrico hexahidratado 0,03%), sendo misturado em vortex, por 5 segundos e centrifugado (17.300Xg por 5 minutos a 15°C). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (500 nm) previamente zerado com água destilada. A curva padrão foi confeccionada com diferentes concentrações (5-50 µg/mL) de fitato, proveniente do fitato de sódio (solúvel em água) misturado ao reagente de Wade e centrifugado como descrito anteriormente. A reação de cor (rosa) ocorre em função da ligação do íon ferro com o ácido sulfosalicílico, com absorvância máxima a 500 nm. Na presença do fitato, o íon ferro se liga ao fosfato éster desta molécula, tornando-se

indisponível para reagir com o ácido sulfosalicílico, resultando em diminuição da coloração rósea.

A maior proporção (95%) de fitato em rações (à base de milho e farelo de soja) encontra-se na forma de hexa (85%-90%) e pentafosfato (5%-10%) de mioinositol. Angel et al. (2002) consideraram que o teor de fósforo no fitato (fósforo fítico) representa 28,2%, valor este considerado na conversão da concentração de fitato para fósforo fítico.

## 2.6 Análises das rações experimentais

Os resultados das análises bromatológicas das rações experimentais (média dos tratamentos) são apresentados na Tabela 2.

**TABELA 2.** Composição calculada (analisada) de alguns nutrientes (proteína bruta, cálcio, fósforo total e fósforo fítico) nas rações experimentais, em diferentes fases de criação na base natural.

Nutriente	Fase/idade (dias)	
	1-7	8-21
Proteína bruta (%)	23,01 <b>(22,6)</b>	21,02 <b>(20,5)</b>
Calcio (%)	0,830 <b>(0,90)</b>	0,78 <b>(0,86)</b>
Fósforo total (%)	0,60 <b>(0,67)</b>	0,56 <b>(0,63)</b>
Fósforo fítico <sup>1</sup> (%)	<b>(0,28)</b>	<b>(0,26)</b>

<sup>1</sup> Análises realizadas no Laboratório de Bioquímica - DQI/UFLA

Os resultados das análises das rações em diferentes fases mostraram boas adequações para proteína em relação aos valores formulados. Os valores de fósforo fítico estão dentro de limites, porém, são relativamente superiores ao que se esperava (em torno de 0,24%).

## 2.7 Características avaliadas

As características avaliadas foram consumo, excreção e retenção (absoluta e porcentual) de cálcio, fósforo e fósforo fítico, assim como a concentração destes nas excretas.

## 2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o software Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados (Sisvar), descrito por Ferreira (2000). Realizou-se análise de regressão linear (efeitos linear e/ou quadrático) para os níveis da vitamina em estudo (utilizando-se o QME geral para testar significância) e teste F para verificar possíveis diferenças entre as fontes. O quadro da análise de variância, como adotado no experimento, é demonstrado no Quadro 1.

QUADRO 1- Esquema de análise de variância

Fontes de variação	Graus de liberdade
Tratamentos	(9)
Vitamina	1
Nível	3
Vitamina X nível	3
Adicionais	1
Adicionais X fatorial	1
Erro	40
Total	49

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Consumo, excreção e retenção (absolutos) de cálcio, fósforo total e fítico

Os resultados referentes ao consumo, excreção e balanço (absolutos) de cálcio estão apresentados na Tabela 3.

Os resultados não revelaram diferenciação ( $p < 0,05$ ) sobre o consumo e excreção absoluta de cálcio(g/ave), em função dos fatores em estudo (interação, níveis e fontes). Por outro lado, verificou-se maior (2,6%) retenção absoluta de cálcio ( $p = 0,054$ ) em frangos alimentados com a fonte 25-OHD<sub>3</sub>, em relação à vitamina D<sub>3</sub>.

Estes resultados confirmam alguns achados de literatura (Nahm 2007; Soares et al, 1995; Yan & Wladroup, 2006) sobre uma melhor utilização de cálcio pelas aves com o uso de metabólitos de vitamina D mais ativos. Porém, diferem dos encontrados por Edwards (2002), que não verificou alteração na retenção de cálcio para frangos de corte, aos 8 e 16 dias de idade, em função da suplementação de 25-OHD<sub>3</sub> (5 µg/kg), a uma ração basal contendo 27,5 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub>.

**TABELA 3.** Consumo (CCa – g/ave), excreção aparente (ECa – g/ave) e retenção aparente (RCa – g/ave) de cálcio em frangos de corte (19-21 dias), submetidos a fontes e níveis de vitamina D.

Dietas		Característica		
Fonte	Nível (µg/kg)	CCa (g/ave)	ECa (g/ave)	RCa <sup>1</sup> (g/ave)
<b>D<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	0,842	0,355	0,487
	<b>37,5</b>	0,827	0,345	0,482
	<b>87,5</b>	0,847	0,354	0,492
	<b>137,5</b>	0,842	0,344	0,498
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>0,839</b>	<b>0,350</b>	<b>0,490B</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	0,879	0,358	0,521
	<b>37,5</b>	0,836	0,342	0,494
	<b>87,5</b>	0,853	0,350	0,503
	<b>137,5</b>	0,887	0,364	0,523
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>0,864</b>	<b>0,353</b>	<b>0,512A</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+37,5</b>	0,811	0,336	0,475
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+70</b>	0,835	0,327	0,508
<b>Média adicionais</b>		<b>0,823</b>	<b>0,331</b>	<b>0,492</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>0,852</b>	<b>0,351</b>	<b>0,502</b>
Erro padrão		0,025	0,013	0,015
CV(%)		6,65	8,16	6,64
<b>ANAVA</b>	<i>GL</i>	Probabilidade		
Tratamento	(9)	0,612	0,670	0,364
Vitamina (V)	1	0,182	0,899	0,054
Nível (N)	3	0,584	0,990	0,480
V X N	3	0,838	0,991	0,817
Adicionais (A)	1	0,512	0,880	0,133
Fatorial X A	1	0,162	0,527	0,512

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem estatisticamente.

Os resultados referentes a consumo, excreção e balanço (absolutos) de fósforo total são apresentados na Tabela 4.

**TABELA 4.** Consumo (Cpt – g/ave), excreção aparente (EPt – g/ave) e retenção aparente (RPt – g/ave) de fósforo em frangos de corte (19-21 dias), submetidos a fontes e níveis de vitamina D.

Dietas		Característica		
Fonte	Nível (µg/kg)	Cpt (g/ave)	EPt <sup>1</sup> (g/ave)	RPt <sup>1</sup> (g/ave)
<b>D<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	0,635	0,235	0,400
	<b>37,5</b>	0,624	0,234	0,390
	<b>87,5</b>	0,639	0,233	0,406
	<b>137,5</b>	0,635	0,233	0,402
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>0,633</b>	<b>0,234</b>	<b>0,399B</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	0,663	0,243	0,420
	<b>37,5</b>	0,631	0,224	0,407
	<b>87,5</b>	0,644	0,230	0,414
	<b>137,5</b>	0,669	0,237	0,432
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>0,651</b>	<b>0,233</b>	<b>0,418A</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+37,5</b>	0,612	0,219	0,393
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+70</b>	0,630	0,216	0,414
<b>Média adicionais</b>		<b>0,621</b>	<b>0,218B</b>	<b>0,403</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>0,642</b>	<b>0,234A</b>	<b>0,409</b>
Erro padrão		0,019	0,009	0,012
CV(%)		6,64	8,82	6,61
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>	<b>PROBABILIDADE</b>		
Tratamento	(9)	0,612	0,568	0,387
Vitamina (V)	1	0,179	0,944	0,034
Nível (N)	3	0,577	0,666	0,502
V X N	3	0,830	0,759	0,843
Adicionais (A)	1	0,514	0,814	0,226
Fatorial X A	1	0,159	0,032	0,585

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente.

Não houve interação ( $p > 0,05$ ) entre os fatores em estudo sobre consumo, excreção e retenção de fósforo total. Da mesma forma, não houve efeitos ( $p > 0,05$ ) dos níveis de suplementação de vitamina D, independente da fonte avaliada, sobre esta variável. As diferentes fontes não proporcionaram alteração

( $p > 0,05$ ) no consumo e na excreção de fósforo total, no período avaliado, porém, aves alimentadas com rações contendo 25-OHD<sub>3</sub> apresentaram maior (4,76%) retenção ( $p < 0,05$ ) absoluta de fósforo total.

Estes resultados são semelhantes aos observados para a retenção de cálcio. Dessa forma, não houve relação direta entre a retenção absoluta dos dois minerais nesta fase e o desempenho e às cinzas ósseas das aves até 21 dias de idade (como avaliado no capítulo 2), tais variáveis, foram sensíveis aos níveis e não à fonte de suplementação. Por outro lado, a concentração de cálcio nas tíbias (21 dias) aumentou em função da fonte de suplementação, nos menores níveis de inclusão, o que pode estar associado à maior retenção absoluta de cálcio nesta fase.

Há necessidade de se ressaltar que a inter-relação do metabolismo de cálcio e fósforo apresenta uma série de características que ainda não estão totalmente esclarecidas e ou estabelecidas. Some-se a isto o fato de que, em aves com alta incidência de problemas esqueléticos/ósseos, este metabolismo parece ser diferenciado (Mitchell et al., 1997).

Aves alimentadas com rações suplementadas com as duas fontes conjuntamente excretaram menor ( $p < 0,05$ ) quantidade de fósforo em relação às aves alimentadas com suplementação das fontes isoladamente em diferentes níveis (média).

Os resultados de consumo, excreção e retenção de fósforo fítico (Pf) estão apresentados na Tabela 5.



**TABELA 5.** Consumo (CPf – g/ave), excreção aparente (EPf – g/ave) e retenção aparente (RPf – g/ave) de fósforo fítico em frangos de corte (19-21 dias), submetidos a fontes e níveis de vitamina D.

Dietas		Característica		
Fonte	Nível (µg/kg)	CPf <sup>1</sup> (g/ave)	EPf <sup>1</sup> (g/ave)	RPf <sup>1</sup> (g/ave)
<b>D<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	0,237	0,038	0,199
	<b>37,5</b>	0,237	0,038	0,199
	<b>87,5</b>	0,245	0,035	0,210
	<b>137,5</b>	0,238	0,039	0,199
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>0,239B</b>	<b>0,037B</b>	<b>0,202B</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	0,253	0,045	0,207
	<b>37,5</b>	0,242	0,037	0,206
	<b>87,5</b>	0,251	0,040	0,211
	<b>137,5</b>	0,260	0,042	0,218
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>0,251A</b>	<b>0,041A</b>	<b>0,211A</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+37,5</b>	0,245	0,036	0,209
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+70</b>	0,245	0,034	0,211
<b>Média adicionais</b>		<b>0,245</b>	<b>0,035*</b>	<b>0,210</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>0,245</b>	<b>0,039*</b>	<b>0,207</b>
Erro padrão		0,007	0,0026	0,006
CV(%)		6,60	15,33	6,60
<b>ANAVA</b>	<b>GL</b>	<b>Probabilidade</b>		
Tratamento	(9)	0,396	0,136	0,423
Vitamina (V)	1	0,023	0,094	0,054
Nível (N)	3	0,567	0,362	0,483
V X N	3	0,567	0,471	0,526
Adicionais (A)	1	0,974	0,665	0,802
Fatorial X A	1	0,950	0,060	0,436

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem estatisticamente.

\* Médias estatisticamente diferentes (p=0,06)

Não houve interação (p>0,05) entre os fatores em estudo para consumo, excreção ou retenção de fósforo fítico, para frangos de corte na fase avaliada. Verificou-se maior (p<0,05) consumo de fósforo fítico para aves

alimentadas com rações suplementadas com 25-OHD<sub>3</sub>. Este fato pode ter ocorrido em função da maior concentração relativa de fitato e, por consequência, de fósforo fítico, em amostras das rações com 25-OHD<sub>3</sub>, em detrimento das rações com vitamina D<sub>3</sub> (0,284 x 0,276% Pf, respectivamente). A fonte 25-OHD<sub>3</sub> proporcionou menor (p=0,094) excreção absoluta de Pf e, por consequência, aumentou (p=0,054) a retenção absoluta de Pf pelas aves.

Não houve efeitos (p>0,05) dos diferentes níveis de suplementação de vitamina D sobre o metabolismo do Pf, porém, a suplementação em conjunto das fontes foi mais efetiva (p=0,06) em reduzir a excreção deste elemento.

Os resultados encontrados corroboram com achados de literatura que verificaram aumento na retenção de fósforo fítico quando a fonte padrão de suplementação foi substituída por metabólitos mais ativos (Edwards, 2002; Edwards et al., 2002; Mohamed et al., 1991;).

Os resultados confirmam respostas obtidas para outras características, revelando também melhor adequação com o uso das fontes em combinação. As respostas benéficas verificadas com a utilização das fontes em combinação podem estar associadas a uma melhor relação entre a disponibilidade dos nutrientes (particularmente cálcio e fósforo) e seu tempo de retenção, ou seja, enquanto as principais fontes inorgânicas destes dois elementos poderiam disponibilizá-los mais rapidamente (solubilização/ionização) para absorção e ação da fonte mais ativa de vitamina D (25-OHD<sub>3</sub>). Por outro lado, a digestão do fitato ocorre por ação primária da fitase, que disponibilizaria cálcio, fósforo (e outros minerais e nutrientes) mais lentamente, sendo metabolizados por ação da vitamina D<sub>3</sub>, que também apresenta ação mais lenta em detrimento à outra fonte.

De acordo com as respostas obtidas, evidencia-se a importância da digestão do fitato, que contribuiu com cerca de 38% do fósforo consumido e apenas 17% do excretado. Extrapolando-se, portanto, que o fósforo inorgânico seja

de origem do fosfato bicálcico ou outros macroingredientes (milho e farelo de soja) seja responsável, neste caso, por 83% da excreção total de fósforo.

### **3.2 Coeficientes de retenção (aparente) de cálcio, fósforo total e fítico**

A avaliação da absorção e da retenção em função do consumo é mais apropriada para melhor comparação em ensaios metabólicos, pois corrige variações no consumo e também pequenas diferenças da concentração dos nutrientes nas dietas. Neste sentido, na Tabela 6, são apresentados os resultados dos coeficientes de retenção aparente de cálcio, fósforo e fósforo fítico.

Não houve interação ( $p>0,05$ ) entre os fatores em estudo para retenção aparente (porcentual) de cálcio, fósforo total e fósforo fítico. Os diferentes níveis de suplementação de vitamina D estudados não influenciaram ( $p>0,05$ ) estas características na fase avaliada. Da mesma forma, as diferentes fontes mostraram-se semelhantes ( $p>0,05$ ) sobre a retenção de cálcio e fósforo fítico, porém, aves alimentadas com 25-OHD<sub>3</sub> apresentaram maior retenção de fósforo total ( $p<0,05$ ) em relação às aves alimentadas com rações suplementadas com vitamina D<sub>3</sub>. Estes resultados contradizem os obtidos por Edwards (2002), Ledwaba & Roberson (2003) e Roberson (2005), que verificaram efeitos benéficos do metabólito 25-OHD<sub>3</sub> sobre a retenção de fósforo fítico.

**TABELA 6.** Coeficiente de retenção aparente de cálcio (CRACa – %), fósforo total (CRAPt – %) e fósforo fítico (CRAPf – g/ave), em frangos de corte (19-21 dias), submetidos a fontes e níveis de vitamina D.

Diets		Característica		
Fonte	Nível (µg/kg)	CRACa <sup>1</sup> (%)	CRAPt <sup>1</sup> (%)	CRAPf <sup>1</sup> (%)
<b>D<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	57,80	62,96	84,15
	<b>37,5</b>	58,35	62,52	83,93
	<b>87,5</b>	58,22	63,60	85,61
	<b>137,5</b>	59,13	63,32	83,67
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>58,38</b>	<b>63,10B</b>	<b>84,34</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	<b>20</b>	59,31	63,26	82,20
	<b>37,5</b>	59,01	64,51	84,81
	<b>87,5</b>	59,01	64,36	84,21
	<b>137,5</b>	58,95	64,58	83,79
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>59,07</b>	<b>64,17A</b>	<b>83,75</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+37,5</b>	58,78B	64,19	85,26
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+70</b>	60,82A	65,67	86,04
<b>Média adicionais</b>		<b>59,8*</b>	<b>64,9*</b>	<b>85,65*</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>58,7*</b>	<b>63,6*</b>	<b>84,05*</b>
Erro padrão		0,664	0,748	0,881
CV(%)		2,52	2,62	2,34
ANAVA	GL	Probabilidade		
Tratamento	(9)	0,18	0,16	0,151
Vitamina (V)	1	0,15	0,049	0,351
Nível (N)	3	0,64	0,44	0,238
V X N	3	0,46	0,50	0,356
Adicionais (A)	1	0,025	0,17	0,538
Fatorial X A	1	0,065	0,035	0,027

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente.

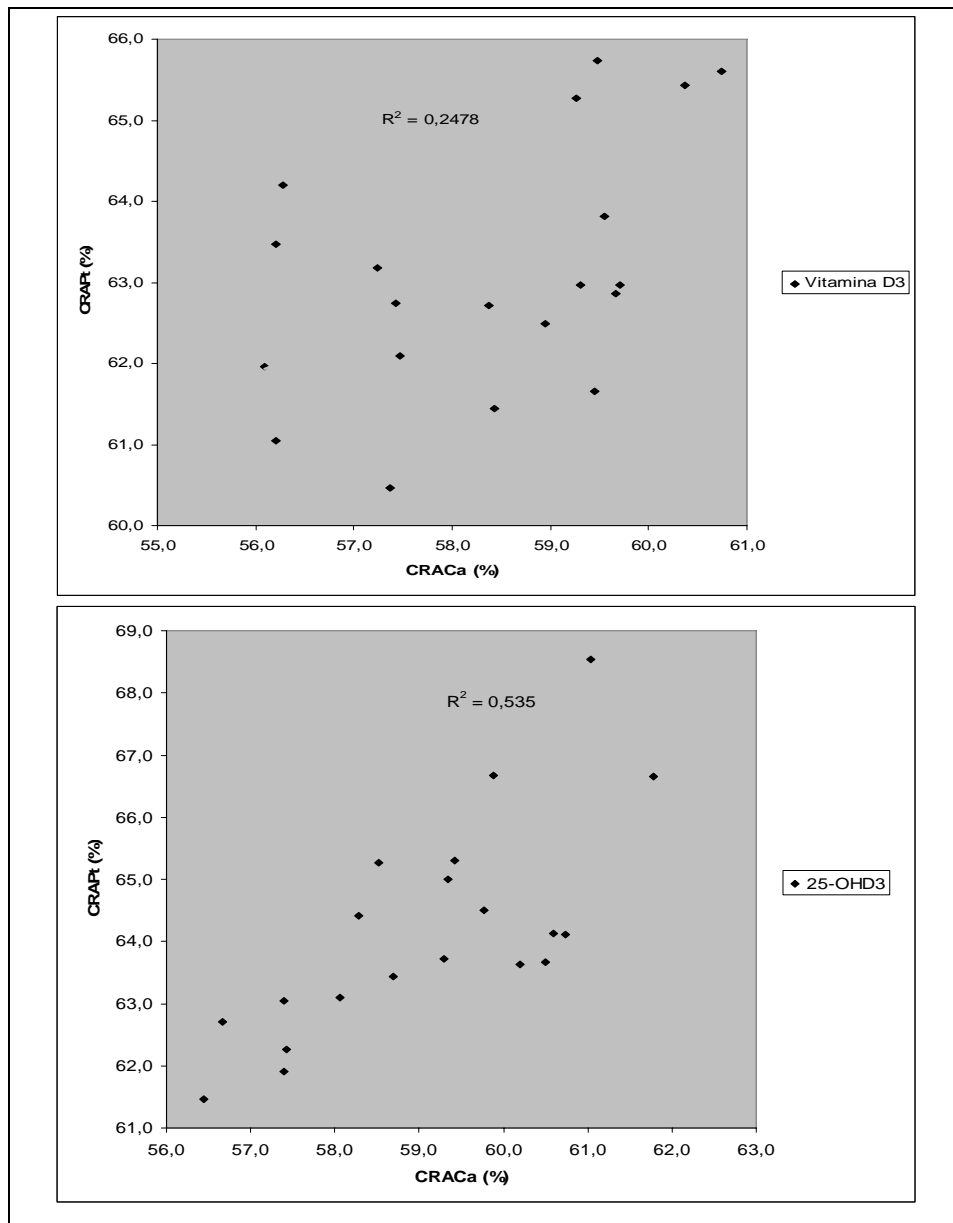
\* Médias estatisticamente diferentes na coluna (significância do contraste – Fatorial X Adicionais).

Os coeficientes de retenção avaliados foram sempre superiores, quando foi adotada a suplementação conjunta das fontes (média dos dois tratamentos adicionais), comparados à média dos demais tratamentos (níveis de suplementação dentro de cada fonte).

Entre os tratamentos adicionais, observou-se diferenciação ( $p < 0,05$ ) para a retenção aparente de cálcio, indicando maior sensibilidade à suplementação adicional de 25-OHD<sub>3</sub>.

Avaliando-se a correlação entre os coeficientes de retenção de cálcio e fósforo, gráficos foram plotados (Figura 1) para melhor visualização dos efeitos das diferentes fontes de vitamina D, na associação dos dois elementos no metabolismo.

Observou-se maior dispersão dos pontos, ou seja, menor correlação (0,248 x 0,535) na absorção dos dois elementos pelas aves, quando alimentadas com rações suplementadas com vitamina D<sub>3</sub>, em relação à 25-OHD<sub>3</sub>. A otimização, ou adequação, na absorção dos dois elementos, além de ser nutricionalmente mais efetiva, é fator muito importante na prevenção de problemas esqueléticos.



**FIGURA 1.** Representação gráfica da relação entre a retenção de cálcio e de fósforo total, em frangos de corte (19-21 dias de idade), em função da fonte de vitamina D.

### **3.3 Concentração de cálcio, fósforo total e fítico nas excretas**

Na Tabela 7 são apresentados os valores percentuais de cálcio, fósforo total e fósforo fítico nas excretas, que traz um caráter interpretativo do potencial de excreção/poluição do ambiente em função das dietas avaliadas.

A suplementação de 70 µg/kg 25-OHD<sub>3</sub> (tratamento adicional) reduziu o teor de cálcio (p=0,026) e fósforo total (p=0,085) nas excretas das aves, quando comparado ao tratamento com suplementação de 37,5 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> em rações contendo 50 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub>, porém, sem efeitos sobre a concentração de fósforo fítico das excretas.

Não houve interação (p>0,05) e tampouco efeito dos níveis de suplementação de vitamina D sobre o teor de cálcio, fósforo total e fítico nas excretas. Da mesma forma, a fonte de suplementação (p>0,05) não afetou o conteúdo de Pf nas excretas, porém, verificaram-se efeitos das fontes sobre a concentração de fósforo total nas excretas, ou seja, aves alimentadas com rações suplementadas com 25-OHD<sub>3</sub> apresentaram menor (p<0,05) conteúdo de Pt nas excretas.

Os resultados revelam a efetividade da fonte 25-OHD<sub>3</sub> em reduzir a concentração de fósforo total nas excretas, elemento com maior potencial poluidor relacionado ao metabolismo da vitamina D. Estes resultados corroboram com os por Yan & Waldroup (2006), que verificaram redução na excreção de fósforo com a utilização desta fonte de vitamina D, suplementação de fitase e milho com alto e baixo conteúdo de fósforo fítico.

**TABELA 7.** Concentração de cálcio (CaE – %), fósforo total (PtE – %) e fósforo fitico (PfE – g/ave) nas excretas de frangos de corte (19-21 dias), expressos na matéria seca, em função das fontes e níveis de vitamina D.

Dieta		Característica		
Fonte	Nível (µg/kg)	CaE (%)	PtE <sup>1</sup> (%)	PfE (%)
<b>D<sub>3</sub></b>	20	1,55	1,03	0,16
	37,5	1,53	1,04	0,17
	87,5	1,54	1,01	0,15
	137,5	1,49	1,01	0,17
<b>Média (D<sub>3</sub>)</b>		<b>1,526</b>	<b>1,023B</b>	<b>0,16</b>
<b>25-OHD<sub>3</sub></b>	20	1,48	1,01	0,19
	37,5	1,54	1,01	0,17
	87,5	1,50	0,98	0,17
	137,5	1,51	0,98	0,18
<b>Média (25OHD<sub>3</sub>)</b>		<b>1,509</b>	<b>0,995A</b>	<b>0,18</b>
<b>Adicionais</b>				
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+37,5</b>	1,54*	1,00	0,17
<b>D<sub>3</sub> + 25OHD<sub>3</sub></b>	<b>50+70</b>	1,47*	0,97	0,15
<b>Média adicionais</b>		<b>1,500</b>	<b>0,985*</b>	<b>0,16</b>
<b>Média fatorial</b>		<b>1,518</b>	<b>1,009*</b>	<b>0,17</b>
Erro padrão		0,021	0,013	0,01
CV(%)		3,14	2,95	12,99
ANOVA	GL	Probabilidade		
Tratamento	(9)	0,069	0,0286	0,446
Vitamina (V)	1	0,26	0,013	0,118
Nível (N)	3	0,32	0,16	0,583
V X N	3	0,138	0,74	0,545
Adicionais (A)	1	0,026	0,085	0,400
Fatorial X A	1	0,28	0,029	0,208

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem estatisticamente.

\* Médias estatisticamente diferentes na coluna (significância do contraste – Fatorial x Adicionais).



#### 4 CONCLUSÕES

A fonte 25-OHD<sub>3</sub> é efetiva em aumentar o coeficiente de retenção aparente do fósforo total e em reduzir seu conteúdo nas excretas.

A utilização das duas fontes de vitamina D, em combinação, nas rações, mostra-se mais eficaz para otimizar a absorção e a retenção de nutrientes relacionadas diretamente ao seu metabolismo.

A suplementação de 70 µg/kg de 25-OHD<sub>3</sub> em rações de frangos de corte na fase inicial contendo 50 µg/kg de vitamina D<sub>3</sub> é a mais indicada em função das respostas de retenção mineral obtidas neste capítulo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELSON, P. H. A potential phosphate crisis. **Science**, Washington, v. 283, n. 5410, p. 2015, Mar. 1999.

ANGEL, R.; SAYLOR, W. W.; DHANDU, A. S.; POWERS, W.; APPLGATE, T. J. Effects of dietary phosphorus, phytase and 25-hydroxycholecalciferol on performance of broiler chickens grown in floor pens. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p. 1031–1044, July 2005.

ANGEL, R.; TAMIM, N. M.; APPLGATE, T. J.; DHANDU, A. S.; ELLESTAD L. E. Phytic acid chemistry: Influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 11, n. 4, p. 471-480, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Arlinggton, 1990. v. 1.

EDWARDS JUNIOR, H. M. Studies on the efficiency of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 7, p.1026–1031, July 2002.

EDWARDS JUNIOR, H. M.; SHIRLEY, R. B.; ESCOE, W. B.; PESTI, W. B.; Quantitative evaluation of 1- $\alpha$ -hydroxycholecalciferol as a colecalciferol substitute for broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 664-669, May 2002.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema para análise de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, versão 4.3. Lavras: UFLA, 2000.

FRUHBECK, G.; ALONSO, R.; MARZO, F.; SANTIDRIAN, S. A Modified method for the indirect quantitative analysis of phytate in foodstuffs. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 225, n. 2, p. 206-212, 1995.

HOFMANN, P.; GOESSL, R.; DENU, L. **Determination of 25-hidroxyvitamin D3 (Hy-D) in animal feeds using d<sub>6</sub>-25-hidroxyvitamin as**

**internal standard:** DSM report, n. 1012520, Method Report. Switzerland: DSM Nutricional Products, 2003

LATTA, M.; ESKIN. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 28, n. 6, p. 1313-1315, Nov./Dec. 1980.

LEDWABA, M. F.; ROBERSON, K. D. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyscondroplasia in Ross cockerels depends on dietary calcium level. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n.11, p. 1769–1777, Nov. 2003.

LOTT, J. N. et al. Phitic acid on phosphorus crop seed and fruit: a global estimate. **Seed Science Research**, Wellington, v. 10, n. 1, p. 11-33, Mar. 2000.

MATTLILA, P., (1995) Analysis of cholecalciferol, ergocalciferol and their 25-hydroxylated metabolities in food by HPLC. Ph.D. Dissertation, University Helsinki, Helsinki, Finland.

MITCHELL, R. D.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; MCDANIEL, G. R. The effects of ultraviolet light and cholecalciferol and its metabolites on the development of leg abnormalities in chickens genetically selected for a high and low incidence of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 346–354, Feb. 1997.

MOHAMMED, A.; GIBNEY, M.; TAULOR, T. G.; The effect of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytate-P by the chick. **British Journal Nutrition**, Wellington, v. 66, n. 2, p. 251-259, Sept. 1991.

MULLANEY, E. J. Advances in phytases research. **Advances Applied Microbiology**, New York, v. 47, n.2, p. 157-199, 2000.

NAHM, K. H. Efficient phosphorus utilization in poultry feeding to lessen the environmental impact of excreta. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 63, n. 4, p. 4 625-654, Dec. 2007.

QUIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 37-46, Jan. 1997.

ROBERSON, K. D.; LEDWABA, M. F.; CHARBENEAU, R. A. Studies on the efficacy of twenty-five hydroxycholecalciferol to prevent tibial dyschondroplasia in ross broilers fed marginal calcium to market age. **International Journal Poultry Science**, Farsalabad, v. 4, n. 2, p. 85-90, 2005.

RODRIGUES, P. B.; MARTINEZ, R. D.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T. Influência do tempo de coleta e metodologias sobre a digestibilidade e o valor energético de rações para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, n.3, p. 882-889, maio/jun. 2005

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 141.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235 p.

SOARES Jr, J.H., KERR, J.M., GRAY, R.W., 1995. 25-Hydroxycholecalciferol in poultry Nutrition. **Poultry Science**. 74:1919-1934.

YAN, F.; WALDROUP, P. W. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn as influenced by phytase supplementation and vitamin d source. **International Journal Poultry Science**, Farsalabad, v. 5, p. 219-228, 2006.

ZHANG, X.; LIU, G.; MCDANIEL, G. R.; ROLAND, A. Response of broiler lines selected for tibial dyschondroplasia incidence to supplementary 25-hydroxycholecalciferol. **Journal Applied Poultry Research**, Savoy, v. 6, n. 4, p. 410-416, 1997.

#### IV CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com as respostas obtidas, nas condições experimentais aqui descritas, pode-se concluir que a fonte 25-OHD<sub>3</sub> apresenta bom potencial de uso na avicultura de corte, em função da redução na incidência de problemas ósseos, na melhor mineralização óssea e na utilização do fósforo dietético, porém, sem efeitos positivos evidentes sobre o desempenho.

A combinação entre as duas fontes de suplementação de vitamina D estudadas, assim como em outros trabalhos, mostra-se mais eficaz em relação ao uso isolado de cada fonte. Considera-se, portanto, pertinente a realização de estudos futuros para estabelecer proporções mais adequadas entre as fontes, em cada fase de criação de frangos de corte.

A suplementação de 37,5 µg de 25-OHD<sub>3</sub>/kg (1.500 UI/kg) em rações contendo 50 µg de vitamina D<sub>3</sub>/kg (2.000 UI/kg), na fase inicial de criação, com redução em 20% e 50% na suplementação de ambas as fontes, nas fases de crescimento e final, respectivamente, reuniu maiores benefícios de acordo com as características globalmente avaliadas nos ensaios, sendo, portanto, recomendada.

## ANEXOS

**TABELA 1. Temperatura e umidade relativa do ar (máxima e mínima), no interior do galpão, ao longo do período experimental**

ÍTEM	MÁXIMA	MÍNIMA
TEMPERATURA (°C)	28,6 (0,3)	18,2 (0,1)
UR (%)	73,4 (0,9)	38,3 (0,6)

**TABELA 2. Temperatura e umidade relativa do ar (máxima e mínima), no interior do galpão, durante ensaio metabólico**

ÍTEM	MÁXIMA	MÍNIMA
TEMPERATURA (°C)	27,0 (0,2)	21,4 (0,1)
UR (%)	75,6 (0,9)	40,3 (0,6)