

**VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25 –
HIDROXICOLECALCIFEROL (25-OHD₃) EM
RAÇÕES DE POEDEIRAS COMERCIAIS**

DIEGO FERNANDO REMOLINA RIVERA

2010

DIEGO FERNANDO REMOLINA RIVERA

**VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25 –
HIDROXICOLECALCIFEROL (25-OHD₃) EM RAÇÕES DE
POEDEIRAS COMERCIAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Antonio Gilberto Bertechini

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

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

Remolina Rivera, Diego Fernando.

Vitamina D₃ (Colecalciferol) e 25–hidroxicolecalciferol (25-OHD₃) em rações de poedeiras comerciais / Diego Fernando Remolina Rivera. – Lavras : UFLA, 2010.

36 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Antônio Gilberto Bertechini.

Bibliografia.

1. Desempenho. 2. Qualidade óssea. 3. Qualidade de ovo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.5142

DIEGO FERNANDO REMOLINA RIVERA

**VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25 –
HIDROXICOLECALCIFEROL (25-OHD₃) EM RAÇÕES DE
POEDEIRAS COMERCIAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 19 de fevereiro de 2010

Prof. Dr. Paulo Borges Rodrigues

UFLA

Prof. Dr. Édison José Fassani

UFLA

Dr. Jerônimo Ávito Gonçalves de Brito

Prof. Dr. Antonio Gilberto Bertechini
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, minha irmã e minha família por acreditarem sempre.

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de ter meus pais e minha família.

Aos meus pais Diego Fernando e Ana Jasmile, minha irmã Silvia Juliana por estarem sempre do meu lado e serem o melhor exemplo a seguir.

A minha família pelo apoio e a colaboração sempre e em qualquer lugar.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), por meio do Departamento de Zootecnia (DZO).

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Gilberto Bertechini, pela paciência, competência, amizade, dedicação e oportunidades de aprendizado.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Paulo Borges Rodrigues (DZO/UFLA) e Prof. Dr. Édson Josè Fassani (DZO/UFLA).

Ao CPTA, convênio UFLA, ao seu proprietário, Prof. Dr. Antonio Gilberto Bertechini, por todo o apoio concedido no desenvolvimento deste experimento. Ao Anderson pela colaboração, e a Maria, Thais e Mariana pela companhia.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento deste projeto.

Aos amigos Antonio, Camila, Fabrício, Jerônimo, Julio, Henrique, Matheus, Vitor e Wander pela amizade.

Aos amigos Bruno, Eduardo, Rodrigo e Solange pela ajuda e a dedicação durante o experimento.

Aos amigos de NECTA, Jamila, Jackeline, Letícia, Lucas e Mariana pela colaboração e ajuda em momentos importantes.

BIOGRAFIA

DIEGO FERNANDO REMOLINA RIVERA, filho de Diego Fernando Remolina e Ana Jasmile Rivera, nasceu na cidade de Bucaramanga, Departamento de Santander, em 5 de Agosto de 1984, formou-se em Medicina Veterinária e Zootecnia pela Universidade Cooperativa de Colômbia, em dezembro de 2007. Durante a graduação trabalhou como técnico de produção da empresa Avícola Villa Ana. Em março de 2008, iniciou o mestrado em Nutrição Animal de Monogástricos no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras - MG/Brasil.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS	iii
RESUMO GERAL	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral	1
2 Revisão de Literatura	3
2.1 Vitamina D nas poedeiras comerciais.....	3
2.1.1 Fontes de vitamina D para poedeiras comerciais.....	5
2.2 Cálcio e Fósforo para poedeiras comerciais	6
2.2.1 Cálcio.....	6
2.2.2 Fósforo	7
2.2.3 Estrutura óssea	7
2.2.4 Formação da casca do ovo	8
2.2.5 Fornecimento de cálcio e fósforo na ração	9
3 Referencias Bibliograficas.....	12
CAPITULO 2: Vitamina D ₃ (Colecalciferol) e 25–hidroxicolecalciferol (25-OHD ₃) em rações de poedeiras comerciais.....	14
1 Resumo	14
2 Abstract.....	15
3 Introdução	16
4 Material e Métodos	18
5 Resultados e Discussão	23
6 Conclusões.....	34
7 Refêrencias Bibliográficas	35

LISTA DE TABELAS

	Página
Capítulo 1	
TABELA 1	Efetividade relativa ao colecalciferol da 25-hidroxicolecalciferol e da 1 α , 25-hidroxicolecalciferol. Atividade do colecalciferol considerada como 100%..... 05
Capítulo 2	
TABELA 1	Combinações do fatorial..... 19
TABELA 2	Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais..... 20
TABELA 3	Resultados de desempenho em poedeiras comerciais de acordo com os períodos experimentais..... 23
TABELA 4	Consumo de ração, produção de ovo e peso de ovo em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo..... 24
TABELA 5	Massa de ovos, perdas de ovos por quebra e conversão alimentar por grama em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo..... 25
TABELA 6	Resultados de qualidade de ovos em poedeiras comerciais, de acordo com os períodos experimentais..... 27
TABELA 7	Peso específico de ovos em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo..... 27
TABELA 8	Porcentagem de gema, clara e casca de ovos em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo..... 29

TABELA 9	Porcentagem de cálcio ósseo na tíbia de poedeiras comerciais, de acordo com as fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo.....	30
TABELA 10	Porcentagem de cinzas, fósforo e densitometria óssea na tíbia de poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo.....	31

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

D ₂	Ergocalciferol
D ₃	Colecalciferol
25-OHD ₃	25-Hidroxicolecalciferol
1 α -OHD ₃	1 α -Hidroxicolecalciferol
1,25-OHD ₃	1,25-Dihidroxicolecalciferol
UI	Unidade internacional
P	Fósforo
Ca	Cálcio
%O	Produção de ovo em porcentagem
PO	Peso de ovo
MO	Massa de ovo
QO	Perda de ovo por quebra
CR	Consumo de ração
C _{Ag}	Conversão alimentar por grama de ovo produzido
PE	Peso específico de ovo
%CL	Porcentagem de clara de ovo
%G	Porcentagem de gema de ovo
%CO	Porcentagem de casca de ovo
DEN	Densitometria óssea radiográfica
%CZ	Porcentagem de cinzas ósseas
%Ca	Porcentagem de cálcio ósseo
%P	Porcentagem de fósforo ósseo

RESUMO GERAL

REMOLINA RIVERA, Diego Fernando. **Vitamina D₃ (Colecalciferol) e 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD₃) em rações de poedeiras comerciais.** 2010. 36 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*

Realizou-se um experimento utilizando 960 poedeiras Dekalb White de 24 semanas de idade, durante 4 períodos de 4 semanas cada um, com um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial composto por 2 níveis de cálcio e fósforo (Ca 3,8% P 0,36% e Ca 3,2% e 0,3%) e 5 diferentes associações entre as duas fontes de vitamina D (1. 100% D₃, 2. 75% D₃ 25% 25-OHD₃, 3. 50% D₃ e 50% 25-OHD₃, 4. 25% D₃ e 75% 25-OHD₃, 5. 100% de 25-OHD₃.) e 8 repetições por tratamento. Foi mensurada a produção diária de ovo (%O), consumo de ração (CR), peso de ovo (PO), porcentagem de perda de ovos por quebra (%OQ) e calculada a massa de ovo (MO) e a conversão alimentar por grama de ovo (CAGr). Ao final de cada período, foram feitas análises de peso específico (PE), porcentagem de clara (%CL), gema (%G) e casca (%CO) dos ovos e no final do experimento foi abatida uma poedeira por repetição para fazer análise de densitometria (DEN) óssea e teor de cinzas (%CZ), cálcio (%Ca) e fósforo (%P). Não houve interação ($P>0,05$) entre as fontes de variação para desempenho e qualidade de ovos. Foram encontradas para desempenho diferenças para todas as variáveis menos PO, ($P<0,01$) com relação a níveis de Ca e P, em que os melhores resultados foram obtidos com o uso de 3,8% de Ca e 0,36% de Pd. As diferenças encontradas em CR e CAGr sugerem um melhor desempenho das associações de fontes de vitamina D estudadas ($P<0,05$). Associações com até 50% de 25-OHD₃ e o maior nível de Ca e Pd aumentaram a porcentagem de casca dos ovos. Houve interação ($P<0,01$) entre níveis de Ca e Pd e as fontes de vitamina D para %CZ, %P e DEN, verificando uma resposta diferenciada das fontes de acordo com o nível de Ca e Pd da ração; e maior %Ca quando se forneceu 3,8% de Ca e 0,36% de Pd.

Comitê orientador: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Orientador); Prof. Paulo Borges Rodríguez – UFLA; Prof. Édison José Fassani – UFLA.

GENERAL ABSTRACT

REMOLINA RIVERA, Diego Fernando. **Vitamin D3 (Cholecalciferol) and 25-hidroxycholecalciferol (25-OHD₃) in laying hens feed.** 2010. 36 p. Dissertation (Master degree in Zootecnia) – Federal University of Lavras, Lavras, MG[†]

An experiment utilizing 960 Dekalb White layers of 24 weeks of age during four periods of 4 weeks each, with a completely randomized design in a factorial scheme constituted of 2 levels of calcium and phosphorus (Ca 3.8% P 0.36% and Ca 3.2% and 0.3%) and 5 different associations between the two phases of vitamin D (1. 100% D₃, 2. 75% D₃ 25% 25-OHD₃, 3. 50% D₃ and 50% 25-OHD₃, 4. 25% D₃ and 75% 25-OHD₃, 5. 100% of 25-OHD₃.) and 8 replicates per treatment was conducted. The daily egg yield (%O), feed intake (CR), egg weight (PO), egg loss percentage per break (%OQ) and calculated egg mass (MO) and feed conversion per gram of egg (CAGr). At the end of each period were performed analyses of specific weight (PE), percentage of white (%CL), yolk (%G) and shell (%CO) of the eggs and at the end of the experiment, a layer per replicate was slaughtered to undertake the bone densitometry analysis (DEN) and content of ashes (%CZ), calcium (%Ca) and phosphorus (%P). There was no interaction ($P>0.05$) among the sources of variation for performance and egg quality. Differences were found for performance for all the variables except for PO, ($P<0.01$), with relation to the levels of Ca and P, in which the best results were obtained with the use of 3.8% of Ca and 0.36% of Pd. The differences in CR and CAGr suggest a better performance of the associations of sources of vitamin D studied ($P<0.05$). Association with up to 50% of 25-OHD₃ and the highest level of Ca and Pd increased %CO. There was an interaction ($P<0.01$) between levels of Ca and Pd and the sources of vitamin D for %CZ, %P and DEN, verifying a distinct response of the sources according to the level of Ca and Pd of the diet; and increased %Ca when 3.8% of Ca and 0.36% of Pd were fed.

Guidance Committee: Prof. Antonio Gilberto Bertechini – UFLA (Advisor); Prof. Paulo Borges Rodrigues – UFLA; Prof. Édison José Fassani – UFLA.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Ao longo da história da avicultura, observou-se uma otimização dos índices de produção, que resultou em um fenômeno de expansão industrial com consequente aumento na importância econômica global da indústria avícola, levando a avicultura a ser considerada uma empresa na qual muito se investe econômica e cientificamente.

As poedeiras comerciais têm sido aperfeiçoadas pelos pesquisadores, em relação às características de produção, com o melhoramento genético, a nutrição e o manejo. Por terem visado principalmente índices produtivos, hoje há alguns problemas de desbalanço no organismo das aves, o que pode afetar o desempenho dos lotes.

Para produzir ovos, as poedeiras precisam disponibilizar altos níveis de diversos nutrientes fornecidos pela alimentação, para manutenção e produção. Com um desempenho tão alto, pode ocorrer desbalanço de nutrientes ou problemas de qualidade interna ou externa dos ovos.

Cálcio e fósforo são vitais no processo de formação da casca dos ovos, sendo importante o fornecimento adequado dos minerais e dos fatores que afetam a utilização dos mesmos pelas aves.

Metabolicamente, o organismo controla os níveis dos minerais no plasma, com sistemas hormonais, através do paratormônio e da calcitonina e em caso de níveis baixos de cálcio e fósforo o paratormônio promove a ativação da vitamina D (Macari et al., 2002).

O 1,25-hidroxicolecalciferol (1,25-OHD₃) é a forma ativa da vitamina D no organismo, a qual pode ser fornecida na ração na forma dos precursores

colecalfiferol (D_3), 25-hidroxicolecalciferol ($25-OHD_3$), 1- α hidroxicolecalciferol ($1\alpha-OHD_3$) e a própria forma ativa da vitamina D.

Segundo Lesson e Summers (2001), as fontes de vitamina D usadas atualmente diferem em atividade e vida média dentro do organismo da ave, características que determinam a efetividade da vitamina nos processos de maior demanda de cálcio e fósforo.

De forma semelhante ao fornecimento de fontes com diferentes solubilidades *in vitro*, estratégia nutricional que disponibiliza cálcio e fósforo, em todos os períodos do ciclo diário de produção, é possível que relações entre fontes de vitamina D aperfeiçoem o aproveitamento do cálcio e do fósforo pelas aves. Isso ocorre porque há um aproveitamento diferenciado das características de cada uma das fontes que participam desta relação, melhorando o desempenho e as características de qualidade dos ovos e da estrutura óssea das aves.

Conhecendo a necessidade de esclarecimentos sobre a efetividade das fontes em associação, objetivou-se com esta pesquisa estudar as fontes de vitamina D, a D_3 e a $25-OHD_3$ isoladas ou em associação, em dois programas de cálcio e fósforo para poedeiras comerciais avaliando os seus efeitos sobre o desempenho e a qualidade dos ovos e óssea das aves.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Vitamina D nas poedeiras comerciais

A vitamina D faz parte das vitaminas lipossolúveis, na forma de ergocalciferol (D_2) ou vitamina D_3 , principais fontes de vitamina D para animais de produção.

A D_2 é produzida pelas plantas a partir do esteróide ergosterol através da incidência de luz solar (UV) e, geralmente, colabora pouco no fornecimento de vitamina D já que as aves não a utilizam com eficiência (Bertechini, 2006).

A D_3 pode ser produzida pela ave através da transformação do colesterol a 7-deidrocolesterol em determinados tecidos e após a incidência de luz solar (UV) sobre esse metabólito, ou ser fornecida na ração sendo absorvida na parte final do duodeno, junto a outras vitaminas e compostos lipossolúveis, o que é favorecido pela presença de lipídeos, sais biliares e formação de micelas. Após a absorção, a D_3 é distribuída pela corrente sanguínea por quilomicrons estabelecendo altas concentrações no plasma, fígado e rins (Klasing, 1998).

A vitamina D_3 não é biologicamente ativa e o processo de ativação precisa de duas hidroxilações nas posições 1 e 25, feitas no organismo de acordo com as necessidades metabólicas de cálcio e fósforo.

Após a absorção, ocorre a primeira hidroxilação do processo, sendo realizada no fígado e catalisada por uma hidroxilase presente neste órgão, como resultado há formação da 25-OHD₃ que depois é liberado na corrente sanguínea (Macari et al., 2002). Esse e todos os metabólitos do processo de ativação podem ser sintetizados quimicamente e fornecidos na ração como fonte de vitamina D, em poedeiras comerciais.

De acordo com o estímulo hormonal, a hidroxilação do rim pode produzir a forma ativa ou um metabólito de reserva, isso dependendo dos níveis

plasmáticos de cálcio e fósforo. Com níveis normais dos minerais não há secreção de paratormônio o que faz com que o rim hidroxile a posição 24, produzindo 24,25 hidroxicolecalciferol (24,25-OHD₃), que precisa depois de uma terceira hidroxilação na posição 1, em presença de paratormônio para produzir 1,24,25 hidroxicolecalciferol (1,24,25-OHD₃), que é a forma ativa produzida nessa rota metabólica (Lesson e Summers, 2001).

No caso da secreção de paratormônio por níveis plasmáticos baixos de cálcio e fósforo o metabólito é convertido no rim por uma hidroxilação na posição 1 que resulta na forma ativa da vitamina (1,25-OHD₃).

A função geral da 1,25-OHD₃ é manter níveis plasmáticos adequados de cálcio e fósforo, funcionando basicamente como um hormônio esteróide. A forma ativa realiza essas funções promovendo a síntese de proteínas que participam nos processos da captação crescente de cálcio e fósforo pelo intestino, minimizam a perda de cálcio e fósforo pelos rins e estimulam a reabsorção óssea, quando necessário (Edwards, 2000).

Além do mecanismo direto, a forma ativa da vitamina D pode interagir com receptores de membrana específicos, que ativam sistemas de amplificação do sinal intracelular, que produzem entrada de cálcio na célula para agir como mensageiro secundário e ativam a síntese de proteínas (Soares et al., 1995).

Segundo Lesson e Summers (2001), a absorção de fósforo no epitélio intestinal incrementa 3 – 4 vezes em presença de vitamina D e o paratormônio além de ativar a vitamina D, incrementa a reabsorção dos túbulos distais renais dos minerais cálcio e fósforo, em presença de baixos níveis plasmáticos dos minerais. O mesmo efeito de reabsorção é feito através da ativação dos osteoclastos presentes nos ossos que disponibilizam cálcio e fósforo da reserva óssea.

Algumas outras funções estão envolvidas na biossíntese do colágeno, em preparação da mineralização óssea como é descrito por Gonnerman et al. (1976).

Além de ter funções imunológicas não muito esclarecidas, como explica Aslam et al. (1998).

2.1.1 Fontes de vitamina D para poedeiras comerciais

Atualmente, além da vitamina D₃, comercialmente existem vários produtos utilizados como fontes de vitamina D nas rações de poedeiras comerciais. A maioria são metabólitos intermediários do processo de ativação da vitamina no organismo, em que se destacam a 25-OHD₃ e a 1 α -OHD₃ ou a forma ativa da vitamina, o 1,25-OHD₃, sendo essas fontes diferentes, tanto na atividade como na vida média, no organismo das aves.

Soares et al. (1978), estudaram as atividades biológicas relativas estimando que a 25-OHD₃ tem 2,5 a 4,5 vezes a atividade da D₃. A vida média da D₃ no organismo da ave é de mais ou menos 25 dias, da 25-OHD₃ é perto de 20 dias, da 1,25-OHD₃ é 2 dias e da forma ativa, 1,25-OHD₃, é somente de 6 horas. As diferenças entre as atividades dos principais metabólitos são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1 Efetividade relativa ao colecalciferol da 25- hidroxicolecalciferol e da 1 α , 25-hidroxicolecalciferol. Atividade do colecalciferol considerada como 100%

Resposta Biológica	Atividade relativa da vitamina D ₃	
	25-OHD ₃	1 α , 25-OHD ₃
Absorção Intestinal de cálcio	200%	1300% – 1500%
Reabsorção óssea de cálcio	150%	500% – 600%
Cinza óssea %	160%	200%

Fonte: Adaptada de Lesson & Summers (2001).

Keshavarz (2003) não verificou efeito positivo da 25-OHD₃ sobre o desempenho e qualidade de casca com diferentes associações dietéticas dos elementos cálcio e fósforo e o uso de fitase.

Salvador et al. (2009) verificaram melhor conversão alimentar para poedeiras, utilizando a 25-OHD₃ como fonte isolada de vitamina D na ração, e que essa fonte junto à suplementação de vitamina C aumenta a porcentagem de gema e de casca dos ovos.

Brito (2008) verificou melhor desempenho e qualidade óssea quando usou associações entre as fontes de vitamina D, em frangos de corte. No mesmo trabalho destacou maior efetividade da associação de D₃ e 25-OHD₃ para retenção dos minerais cálcio e fósforo, no organismo de frangos de corte.

Verifica-se que os trabalhos sobre fontes de vitamina D são escassos para poedeiras comerciais, havendo a necessidade de pesquisa sobre os níveis de suplementação e associação das fontes, para comprovar os efeitos sobre o desempenho e a qualidade óssea e dos ovos de poedeiras comerciais.

2.2 Cálcio e Fósforo para poedeiras comerciais

O cálcio e o fósforo são minerais com estreita relação e desempenham funções importantes no metabolismo e nos diferentes sistemas corporais das aves, porém em poedeiras comerciais a importância desses minerais aumenta pelos processos de formação da casca dos ovos.

2.2.1 Cálcio

O cálcio é o mineral de maior presença no organismo das aves. Macari et al. (2002), relataram que 97% da sua concentração está nos ossos, porém esse mineral também é constituinte essencial das células e dos fluidos extracelulares. Dentre as principais funções desse mineral destacam-se a transmissão de impulsos nervosos, contração muscular, coagulação, regulação da atividade

enzimática e principal constituinte da estrutura óssea e da casca do ovo, sendo essas últimas as que provocam altas necessidades diárias do mineral na ração e são o papel nutricional mais importante do cálcio.

2.2.2 Fósforo

Embora a maior parte do fósforo esteja presente na estrutura óssea, segundo Bertechini (2006) esse mineral tem outras funções de muita importância no metabolismo das aves. O fosfato é parte importante dos ácidos nucleicos, coenzimas, compostos de alta energia como trifosfato de adenosina e compostos fosforilados de glicose, entre outras. Além disso, tem muita importância no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídios e todos os processos dependentes ou que produzem energia e, durante o processo de formação da casca, reduz a acidose sanguínea.

2.2.3 Estrutura óssea

O osso é composto, segundo Lesson & Summers (2001), em sua maioria, por fosfato de cálcio, 13% de carbonato de cálcio, 2% de fosfato de magnésio e 5% de outras substâncias, das quais 0,5 - 3% estão na forma de citratos. A matriz orgânica do osso é composta de fibras de colágeno, recebendo cálcio e fósforo na placa de crescimento, e em certas concentrações pode precipitar e formar cristais de hidroxiapatita.

Os encarregados de incorporar o cálcio e o fósforo na matriz orgânica são os osteoblastos e em contraposição os osteoclastos têm como função a remoção do material inorgânico da matriz óssea. O osso medular é único nas fêmeas adultas, porque um osso tipo esponja toma o lugar da medula nos ossos longos. Essa reserva de cálcio é a principal fonte de contribuição do sistema ósseo quando é necessário cálcio para o processo de calcificação da casca. Essa reserva é substituída entre os processos de calcificação (Etches, 1978).

A poedeira adulta recebe um incremento nos níveis de cálcio sanguíneos, estimulado por estrógenos e pelo aumento da anidrase carbônica, que é responsável pela calcificação da casca do ovo. Antes da ave atingir a maturidade sexual, o estrogênio liberado pelo ovário em desenvolvimento e androgênios, são responsáveis por induzirem a formação de osso na cavidade da medula óssea dos ossos longos (Lesson & Summers, 2001).

Segundo Candlish (1971), a formação desse osso medular pode ser influenciada pelos níveis de cálcio, fósforo e de vitamina D₃ nas dietas, podendo aumentar para garantir qualidade da casca do ovo.

2.2.4 Formação da casca do ovo

O mais importante no metabolismo de cálcio e fósforo em poedeiras comerciais adultas é o processo de formação da casca do ovo. Embora a casca seja composta em sua maioria por carbonato de cálcio, o fósforo também é fundamental para esse processo.

A formação da casca do ovo, que leva de 18 a 20 horas e começa após a ovulação, quando a gema recebe um envoltório de albumina, sendo depois revestida por uma malha de fibras de queratina que formam a membrana interna da casca, logo quando está na junção istmo-uterina os núcleos dos botões mamilares da casca são ligados com a membrana externa. Depois, o ovo chega na glândula de formação da casca, onde a formação é por crescimento dos cristais com deposição de matriz. Finalmente, ocorre a formação da cutícula que é o envoltório com porosidade externa (Hualopathi et al., 2007).

A reabsorção dos minerais da reserva óssea é necessária porque essa parte do processo de calcificação é realizada convencionalmente no período noturno, quando normalmente a poedeira não tem acesso à ração, mas ainda tem minerais, provenientes da ração, no sistema digestivo.

Clunies et al. (1992) relataram que poedeiras têm cerca de 740 mg de reserva medular de cálcio e com o uso de rações com baixos níveis de cálcio essa reserva diminui até 50 mg de cálcio; nesse momento o ovário paralisa sua atividade ou a ave destrói osso cortical para garantir a qualidade da casca.

Segundo Etches (1987), a diminuição nos níveis de estrogênio pode ser a causa do início da atividade de reabsorção óssea dos minerais. Isso poderia explicar os incrementos nas necessidades dos minerais, com o aumento da idade da poedeira.

Como o osso é composto, em sua maior parte, de fosfato de cálcio, acontece uma liberação de fósforo durante a mobilização da reserva de cálcio medular. O papel do fósforo em função da importância do cálcio, é a grande relação dos dois minerais no metabolismo da poedeira comercial, principalmente pelo uso da reserva de fosfato de cálcio do osso, que é responsável por disponibilizar cálcio para a formação da casca, sendo que a maior parte do fósforo disponibilizado será excretado pelos rins. Além disso, o fósforo reduz a acidose sanguínea produzida no processo de formação da casca.

Por existir tão importante relação entre os dois minerais, o desbalanço de qualquer um pode afetar o desempenho normal do outro, alterando a formação da casca, a estrutura óssea e o desempenho das aves.

2.2.5 Fornecimento de cálcio e fósforo na ração

O fornecimento de cálcio e fósforo na ração tem sido estudado pelos pesquisadores por causa da importância dos minerais para a produção de ovos, pela forte relação metabólica entre os minerais e pelos altos custos econômicos das fontes minerais de fósforo, por isso várias estratégias e diferentes indicações têm sido feitas por muitos autores em relação a esta necessidade.

Existem diferenças entre as recomendações dos principais autores, não permitindo unificar uma exigência para as poedeiras comerciais leves. As

recomendações médias diárias do NRC (1994) são de 3,25 g de cálcio e 250 mg de fósforo disponível, entretanto Rostagno et al. (2005) recomendam 4,02 g de cálcio e 375 mg de fósforo disponível na ração, enquanto Bertechini (2006) preconiza 3,5 g de cálcio e 370 mg de fósforo disponível ave/dia, para poedeiras comerciais leves.

Além disto, alguns artigos que avaliam diferentes níveis de cálcio e fósforo nas rações de poedeiras comerciais, não concluem uma indicação pontual sobre o fornecimento dos minerais nas rações, mas é claramente perceptível o efeito dos minerais no desempenho e na qualidade óssea e dos ovos em poedeiras.

Keshavarz (2003), trabalhando com as fontes isoladas de 25-hidroxicolecalciferol e colecalciferol com quatro níveis de cálcio diferentes (3,34; 4,3; 4,73 e 4,94%) e com 0,4% de fósforo disponível, encontrou apenas diferenças para peso específico entre o maior e o menor nível de cálcio utilizado, com poedeiras de 49 semanas de idade. Concluiu que 3,34% de cálcio na ração e consumo médio de 108,8 g ou fornecimento de 3,63 g de cálcio por poedeira é suficiente para satisfazer as necessidades metabólicas do mineral pela ave.

Em outro experimento do mesmo trabalho Keshavarz (2003) utilizou um nível de cálcio de 3,8% com três diferentes níveis de fósforo não fítico (0,11, 0,21 e 0,41%) e suplementação de 300 FTU/kg de fitase ou não. Verificou que os níveis de fósforo não fítico de 0,41% resultam em maiores consumo de ração, massa de ovo e peso de ovo do que os resultados obtidos no nível de 0,11%.

Scott et al. (1999), avaliaram a utilização de dois níveis de cálcio (3,7 e 4,0%) com dois níveis de fósforo disponível (0,2 e 0,4%) e três suplementações de fitase (0, 250 e 500 FTU) em poedeiras, concluindo que o menor nível de fósforo disponível diminuía a produção de ovo embora a suplementação com fitase neste nível não tenha apresentado diferenças.

Sabendo da importância do cálcio e fósforo na fisiologia e desempenho produtivo das poedeiras comerciais, é importante estudar a utilização de fontes de vitamina D, em associação, como possível estratégia para melhorar o aproveitamento destes minerais

3 REFERENCIAS BLIBLIOGRAFICAS

ASLAM, S. M.; GARLICH, J. D.; QURESHI, M. A. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 842-849, June 1998.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Ed. UFLA, 2006.

BRITO, J. A. G. **Vitamina D3 e 25-hidroxicolecalciferol em rações de frangos de corte**. 2008. 134 p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CANDLISH, J. K. The formation of mineral and organic matrix of fowl cortical and medullary bone during shell calcification. **Poultry Science**, Champaign, v. 12, n. 1, p. 119-127, Jan. 1971.

CLUNIES, M. J.; EMSLIE, J.; LEESON, S. Effect of dietary calcium level on medullary bone calcium reserves and shell weight of Leghorn hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 71, n. 8, p. 1348-1356, Aug. 1992.

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

ETCHES, R. J. Calcium logistics in the laying hens. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 117, n. 3, p. 619-628, Mar. 1987.

GONNERMAN, W. A.; TOVERUD, S. V.; RAMP, W. K.; MECHANIC, G. L. Effects of the dietary vitamin D and calcium on lysyl oxidase activity in chick bone. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 151, n. 3, p. 453-456, Mar. 1976.

HUALOPATHI, R.; LÓPEZ-FANDIÑO, R.; ANTON, M.; SCHADE, S. **Bioactive egg compounds**. New York: Springer, 2007. 298 p.

KESHAVARZ, K. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and egg shell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 9, p. 1415-1422, Sept. 2003.

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

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Scott's nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph: University Books, 2001. 591 p.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement of poultry**. 9. ed. Washington: National Academic Science, 1994. 155 p.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2005. 186 p.

SALVADOR, D.; FARIA, D. E. de; MAZZIELLI, M. Vitaminas D e C para poedeiras na fase inicial de produção de ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 5, p. 887-892, maio 2009.

SCOTT, T.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F. The effects of phosphorus, phytase enzyme and calcium on the performance of layers fed corn-based diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 78, n. 12, p. 1742-1749, Dec. 1999.

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

SOARES JÚNIOR, J. H.; SWERDEL, M. R.; BOSSARD, E. H. Phosphorus availability. 1. The effect of chick age and vitamin D metabolites on the availability of phosphorus in defluorinated phosphate. **Poultry Science**, Champaign, v. 57, n. 5, p. 1305-1312, Sept. 1978.

CAPÍTULO 2

VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-HIDROXICOLECALCIFEROL (25-OHD₃) EM RAÇÕES DE POEDEIRAS COMERCIAIS

(O artigo será transcrito no formato do Periódico Científico **Revista Brasileira de Zootecnia** e encaminhado para submissão)

D.F. Remolina¹, T. A.G Bertechini¹,

¹Departamento de Zootecnia -UFLA

1 RESUMO

Realizou-se um experimento utilizando 960 poedeiras Dekalb White de 24 semanas de idade, durante 4 períodos de 4 semanas cada um, com um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial composto por 2 níveis de cálcio e fósforo (Ca 3,8% P 0,36% e Ca 3,2% e 0,3%) e 5 diferentes associações entre as duas fontes de vitamina D (1. 100% D₃, 2. 75% D₃ 25% 25-OHD₃, 3. 50% D₃ e 50% 25-OHD₃, 4. 25% D₃ e 75% 25-OHD₃, 5. 100% de 25-OHD₃.) e 8 repetições por tratamento. Foi mensurada a produção diária de ovo (%O), consumo de ração (CR), peso de ovo (PO), porcentagem de perda de ovos por quebra (%OQ) e calculado massa de ovo (MO) e conversão alimentar por grama de ovo (CAGr). Ao final de cada período foram feitas análises de peso específico (PE), porcentagem de clara (%CL), gema (%G) e casca (%CO) dos ovos e no final do experimento foi abatida uma poedeira por repetição para fazer análise de densitometria (DEN) óssea e teor de cinzas (%CZ), cálcio (%Ca) e fósforo (%P). Não houve interação ($P>0,05$) entre as fontes de variação para desempenho e qualidade de ovo. Foram encontradas para desempenho diferenças para todas as variáveis menos PO, ($P<0,01$), com relação a níveis de Ca e P, em que os melhores resultados foram obtidos com o uso de 3,8% de Ca e 0,36% de Pd. As diferenças em CR e CAGr sugerem um melhor desempenho das associações de fontes de vitamina D estudadas ($P<0,05$). Associações com até 50% de 25-OHD₃ e o maior nível de Ca e Pd aumentaram a %CO. Houve interação ($P<0,01$) entre níveis de Ca e Pd e as fontes de vitamina D para %CZ, %P e DEN, verificando uma resposta diferenciada das fontes de acordo com o nível de Ca e Pd da ração; e maior %Ca quando se forneceu 3,8% de Ca e 0,36% de Pd.

Palavras-chave: Desempenho, qualidade de ovo, qualidade óssea.

VITAMIN D₃ (CHOLECALCIFEROL) AND 25-HIDROXYCHOLECALCIFEROL (25-OHD₃) IN LAYING HENS FEED

2 ABSTRACT

An experiment utilizing 960 Dekalb White layers of 24 weeks of age during four periods of 4 weeks each, with a completely randomized design in a factorial scheme constituted of 2 levels of calcium and phosphorus (Ca 3.8% P 0.36% and Ca 3.2% and 0.3%) and 5 different associations between the two phases of vitamin D (1. 100% D₃, 2. 75% D₃ 25% 25-OHD₃, 3. 50% D₃ and 50% 25-OHD₃, 4. 25% D₃ and 75% 25-OHD₃, 5. 100% of 25-OHD₃.) and 8 replicates per treatment was conducted. The daily egg yield (%O), feed intake (CR), egg weight (PO), egg loss percentage per break (%OQ) and calculated egg mass (MO) and feed conversion per gram of egg (CAGr). At the end of each period were performed analyses of specific weight (PE), percentage of white (%CL), yolk (%G) and shell (%CO) of the eggs and at the end of the experiment, a layer per replicate was slaughtered to undertake the bone densitometry analysis (DEN) and content of ashes (%CZ), calcium (%Ca) and phosphorus (%P). There was no interaction ($P > 0.05$) among the sources of variation for performance and egg quality. Differences were found for performance for all the variables except for PO, ($P < 0.01$), with relation to the levels of Ca and P, in which the best results were obtained with the use of 3.8% of Ca and 0.36% of Pd. The differences in CR and CAGr suggest a better performance of the associations of sources of vitamin D studied ($P < 0.05$). Association with up to 50% of 25-OHD₃ and the highest level of Ca and Pd increased %CO. There was an interaction ($P < 0.01$) between levels of Ca and Pd and the sources of vitamin D for %CZ, %P and DEN, verifying a distinct response of the sources according to the level of Ca and Pd of the diet; and increased %Ca when 3.8% of Ca and 0.36% of Pd were fed.

Key words: Performance, egg quality, bond quality.

3 INTRODUÇÃO

As poedeiras comerciais precisam do fornecimento de cálcio na ração para suprir as necessidades de manutenção e produção. Entre as muitas funções fisiológicas que precisam de cálcio, os processos de calcificação da casca do ovo merecem especial atenção por utilizar a maior parte do cálcio fornecido. Segundo Bertechini (2006), cerca de 2200 mg são utilizados para formação da casca, dos quais 2130 mg são fornecidos pela ração e 70 mg por reabsorção óssea.

A importância da casca do ovo na indústria avícola é principalmente econômica, por ser quem garante as características nutricionais ao consumidor e determina o tempo de vida do produto. Múltiplas causas afetam o processo de formação da casca, sendo a mais comum o desbalanço ou desequilíbrio dos nutrientes necessários para o processo de formação, entre eles o cálcio, fósforo e a vitamina D (Hualopathi et al., 2007).

Convencionalmente, o processo de formação da casca tem diferentes etapas e cada etapa com necessidade diferenciada de cálcio, sendo o período noturno a etapa de maior exigência. Como a ave não tem, normalmente, acesso à ração nesta parte do processo de formação, parte do cálcio necessário é reabsorvido da estrutura óssea. Diante disso os pesquisadores desenvolveram métodos como o uso de matérias primas com diferentes solubilidades *in vitro*, que garantem o cálcio disponível da ração nas diferentes etapas do processo de formação da casca do ovo.

O cálcio tem forte relação com o fósforo por compartilhar mecanismos de absorção, excreção e porque a maior reserva de cálcio no organismo está nos ossos, na forma de fosfato de cálcio. Portanto, qualquer desbalanço em um deles tem consequências no metabolismo do outro.

Os níveis plasmáticos de cálcio são regulados por sistemas hormonais e dependendo da situação, níveis baixos de cálcio produzem liberação de paratormônio permitindo a produção da forma ativa da vitamina D, que na verdade é quem aumenta os níveis plasmáticos disponíveis de cálcio mediante diminuição da eliminação do mineral e aumento da absorção no trato intestinal e reabsorção óssea do mesmo (Macari et al. 2002).

A vitamina D nas poedeiras comerciais pode ser produzida pelo organismo a partir de 7 – dehidrocolesterol, na presença de luz ultravioleta ou pelo fornecimento de colecalciferol, que após ser absorvido, tem que sofrer hidroxilações no fígado e no rim nas posições 25 e 1, respectivamente, para se tornar ativa, sendo a hidroxilação no rim na posição 1, a forma pela qual o paratormônio regula o processo (Klasing, 1998).

Para atender às necessidades de vitamina D, usa-se como fonte na ração, geralmente o colecalciferol (D₃) e atualmente os metabolitos intermediários ou a mesma forma ativa da vitamina. Segundo Lesson e Summers (2001), a forma ativa tem maior atividade que os metabolitos e esses mais que a D₃; em contrapartida a vida média desses compostos tem relação inversa.

Brito (2008) verificou melhor desempenho e qualidade óssea em frangos de corte quando utilizou como fonte de vitamina D a associação entre colecalciferol e 25-hidroxicolecalciferol.

Assim, tendo em vista a necessidade de esclarecimentos sobre a efetividade das fontes de vitamina D, objetivou-se com esta pesquisa estudar a D₃ e a 25-OHD₃ como fonte isolada ou em associação de vitamina D, em dois programas de cálcio e fósforo para poedeiras comerciais, avaliando os seus efeitos sobre o desempenho e a qualidade óssea e dos ovos das aves.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em galpão convencional de produção, entre os meses de outubro de 2008 a janeiro de 2009, sendo aprovado pelo comitê de bioética da UFLA.

Foram utilizadas 960 poedeiras leves Dekalb White, iniciando na 24ª semana de idade, distribuídas em 80 gaiolas, adotando-se uma densidade de alojamento de 375 cm²/ave. Cada gaiola foi dotada de bebedouro tipo copo com válvula e comedouro tipo calha. As aves foram submetidas a um regime de iluminação de 16 horas diárias.

Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (5x2), com cinco associações das fontes de vitamina D e dois programas de cálcio e fósforo que produzem 10 (dez) combinações (Tabela 1), com 8 (oito) repetições cada. A parcela experimental foi composta por 12 poedeiras e o período experimental de 112 dias, divididos em quatro períodos de avaliação de 28 dias cada.

As dietas foram à base de milho e farelo de soja, isocalóricas e isoprotéicas sendo suplementadas com vitaminas (pré-mistura comercial sem vitamina D) e minerais (pré-mistura comercial). Seguiram-se as recomendações mínimas sugeridas por Rostagno et al. (2005) exceto de metionina para atender às exigências nutricionais das aves no período experimental. A diminuição no fornecimento de metionina foi para controlar o tamanho do ovo, como sugerem Safaa et al (2008) e também para evitar problemas de perda de aves, por prolapso da mucosa do oviduto. Para fornecimento das 2500UI/kg de vitamina D utilizou-se D₃ e 25-OHD₃ (Hy-D®) nas diferentes proporções, segundo as associações. A composição centesimal e nutricional das dietas experimentais está apresentada na Tabela 2.

TABELA 1 Combinações do fatorial

FONTES UI		PROGRAMAS %		COMBINAÇÕES %	
D ₃	25-OHD ₃	CÁLCIO	FOSFORO		
2500	-	3,8	0,36	100	0
1875	625	3,8	0,36	75	25
1250	1250	3,8	0,36	50	50
625	1875	3,8	0,36	25	75
-	2500	3,8	0,36	0	100
2500	-	3,2	0,30	100	0
1875	625	3,2	0,30	75	25
1250	1250	3,2	0,30	50	50
625	1875	3,2	0,30	25	75
-	2500	3,2	0,30	0	100

Incluiu-se 300 FTU de fitase/kg de ração, considerando a liberação de 0,1% de cálcio e 0,1% de fósforo pela enzima, na formulação. Os níveis de cálcio e fósforo foram corrigidos para cada combinação do fatorial com a diminuição de fosfato bicálcico e calcário, quando necessário.

Realizou-se o controle do consumo de ração e pesagem dos ovos semanalmente e diariamente para produção e perda de ovos por quebra. Para análise das medidas zootécnicas, avaliou-se a produção de ovos (%), peso de ovos (g), consumo de ração (g), massa de ovos (g/ave/dia), perdas de ovos por quebra (%) e conversão alimentar por grama (g/g).

No final de cada um dos quatro períodos experimentais foram realizadas análises de porcentagem de casca, clara e gema e peso específico dos ovos produzidos durante os três últimos dias. No final do experimento foi abatida uma ave por repetição, através de deslocamento cervical e as tíbias foram retiradas para análise do teor de cinzas, cálcio, fósforo e densitometria óssea radiográfica.

TABELA 2 Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais

Ingrediente	Dieta experimental									
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
Milho	65,692	65,692	65,692	65,692	65,692	65,692	65,692	65,692	65,692	65,692
Farelo de soja	22,856	22,856	22,856	22,856	22,856	22,856	22,856	22,856	22,856	22,856
Óleo de soja	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Fosfato Bicálcico	0,899	0,899	0,899	0,899	0,899	0,575	0,575	0,575	0,575	0,575
Calcário	8,868	8,868	8,868	8,868	8,868	7,775	7,775	7,775	7,775	7,775
Sal	0,358	0,358	0,358	0,358	0,358	0,358	0,358	0,358	0,358	0,358
Px. Vit ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Px. Min ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
DL-metionina	0,072	0,072	0,072	0,072	0,072	0,072	0,072	0,072	0,072	0,072
Fitase ³	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
D ₃ ⁴	0,04	0,03	0,02	0,01	-	0,04	0,03	0,02	0,01	-
25-OHD ₃ ⁵	-	0,01	0,02	0,03	0,04	-	0,01	0,02	0,03	0,04
Caulim	-	-	-	-	-	1,417	1,417	1,417	1,417	1,417
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

...continua...

“TABELA 2, Cont.”

Composição Nutricional										
EM, kcal/kg	2830	2830	2830	2830	2830	2830	2830	2830	2830	2830
PB, %	15,85	15,85	15,85	15,85	15,85	15,85	15,85	15,85	15,85	15,85
Met, dig%	0,307	0,307	0,307	0,307	0,307	0,307	0,307	0,307	0,307	0,307
Met+Cis, dig%	0,540	0,540	0,540	0,540	0,540	0,540	0,540	0,540	0,540	0,540
Lis, dig%	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720	0,720
Ca,% ⁶	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
P disp,% ⁶	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Na,%	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180

1. Suplemento Vitamínico (DSM) composição, por kg de produto: Vit. A, 10.000.000 U.I.; Vit. E, 40.000 UI; Vit. K₃, 3000 mg; Vit. B₁₂, 20.000 µg; mg; ácido fólico, 1.500 mg; ácido pantotênico, 15.000 mg; biotina, 100 mg; niacina, 50.000 mg; piridoxina, 10.000 mg; riboflavina, 12.500 mg; tiamina, 6.000 mg; antioxidante: 125 mg.

2. Suplemento Mineral (DSM) composição, por kg de produto: Cu 10g; Fe 60 g; I 1 g, Mn 80 g; Zn 80 g, 60 g. Co 1 g.

3. Fitase Ronozyme P® (DSM) composição por kg de produto: 2.000.000 FTU.

4. Colecalciferol (DSM) composição por kg de produto: 6.000.000 UI de D₃.

5. 25-Hidroxicolecalciferol Hy-D® (DSM) por kg de produto: 6.000.000 UI de 25-OHD₃.

6. Total de Ca e Pd, considerando a liberação de 0,1% de Ca e 0,1% de Pd pela fitase.

A metodologia para densitometria óssea radiográfica foi adaptada da descrita por Louzada (1994), utilizando-se as tíbias esquerdas. Em uma primeira etapa, as peças ósseas limpas (sem tecidos envolventes) foram colocadas sob o filme fotográfico (marca Kodak 24x18cm), todas na mesma posição, e então radiografadas através de um aparelho de raios-X a 70X, Classe I – Tipo B comum, calibrado com distância foco-filme de 25 cm, ajustado para 70kVp, e tempo de exposição de 0,3 segundos. Após a obtenção das radiografias, as mesmas foram processadas em uma reveladora A/T2000 XR Air Techniques, utilizando-se um tempo de processamento de quatro minutos. Em uma segunda etapa, as radiografias foram digitalizadas utilizando-se um scanner, com a resolução de 300 DPI (“Dots Per Inch” = pontos por polegada), 26% de brilho, 68% de contraste, e gravadas em arquivos com extensão TIF. A terceira etapa consistiu na leitura das radiografias para a determinação da densidade das peças ósseas. Para isso foi utilizado o software “Image J 1.4”, o qual possui uma ferramenta (“Histograma”), que analisa a densidade radiográfica da área selecionada, que encontra-se distribuída em uma escala de cores, mais especificamente o cinza, possuindo 256 tons, em que o valor 0 (zero) representa o preto e o valor 256 representa o branco. A determinação da densidade óssea foi realizada em uma área específica e não no osso como um todo. A ferramenta “Histograma” permite a delimitação da área na qual pretende-se determinar a densidade. A área escolhida foi a mais central possível. Para teor de cinzas, cálcio e fósforo foram seguidas as metodologias descritas pela AOAC (1980). Os resultados foram submetidos a análise estatística conforme procedimentos do pacote estatístico SISVAR (Ferreira, 2000). Para comparação das médias dos tratamentos utilizou-se o teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre os fatores testados para nenhuma das características de desempenho avaliadas ($p>0,05$). Observou-se efeito ($p<0,05$) dos períodos experimentais para todas as médias de desempenho do experimento exceto perdas de ovos por quebra (Tabela 3), isso devido ao comportamento produtivo das aves, ao longo do ciclo de produção.

TABELA 3 Resultados de desempenho em poedeiras comerciais, de acordo com os períodos experimentais

Parâmetro	Períodos ¹				CV%
	1	2	3	4	
Consumo de ração (g/dia)	108,23 B	108,70 A	108,70 A	108,76 A	0,75
Produção de ovo (%)	89,41 C	92,47 A	92,18 A	90,40 B	1,21
Peso de ovo (g)	60,73 C	62,45 B	62,37 B	63,56 A	1,87
Conversão alimentar (g/g)	1,997 A	1,885 B	1,891 B	1,894 B	2,10
Massa de ovo (g)	54,33 B	57,77 A	57,52 A	57,47 A	2,09
Perda de ovo por quebra (%)	0,57	0,71	0,71	0,62	73,19

¹Letras diferentes na linha diferem pelo teste de Skott Knott ($P<0,05$).

Houve diferença ($p<0,01$) dos programas de cálcio e fósforo sobre todas as médias de desempenho analisadas (Tabelas 4 e 5), em que o nível mais alto desses minerais ocasionou melhores resultados, exceto para o peso de ovos, onde não se observaram esses efeitos. Os maiores níveis de Ca e Pd permitiram consumos médios de 4,02 g e 375 mg para esses elementos, respectivamente.

Esses valores são próximos aos recomendados por Rostagno et al. (2005), que são de 4,02 g de Ca e 375 mg de Pd na ração.

TABELA 4 Consumo de ração, produção de ovos e peso de ovos em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo

ASSOCIAÇÕES		NÍVEIS Ca/P		
UI D ₃	UI 25-OHD ₃	3,8% - 0,36%	3,2% - 0,30%	
Consumo Ração (g/ave/dia)				Média ¹
2400	0	108,56	108,87	108,81 a
1800	600	108,12	108,81	108,46 b
1200	1200	108,09	108,71	108,45 b
600	1800	108,31	108,59	108,45 b
0	2400	108,62	109,18	108,90 a
Média ¹		108,34 B	108,85 A	
CV% 0,75				
Produção de ovos (%)				Média
2400	0	91,53	90,56	91,04
1800	600	91,28	91,03	91,15
1200	1200	91,50	91,03	91,26
600	1800	91,65	90,75	91,20
0	2400	91,25	90,59	90,92
Média ¹		91,44 A	90,79 B	
CV% 1,21				
Peso de ovo (g)				Média
2400	0	62,09	61,71	61,90
1800	600	62,31	62,21	62,26
1200	1200	62,53	62,37	62,45
600	1800	62,34	62,53	62,42
0	2400	62,43	62,25	62,34
Média		62,34	62,21	
CV% 1,87				

¹Letras maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de F (P<0,05) e letras minúsculas, na coluna, pelo teste de Skott Knott (P<0,05).

TABELA 5 Massa de ovos, perdas de ovos por quebra e conversão alimentar por grama em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo

ASSOCIAÇÕES		NÍVEIS Ca/P		Média ¹
UI D ₃	UI 25-OHD ₃	3,8% - 0,36%	3,2% - 0,30%	
Conversão Alimentar (g/g)				
2400	0	1,912	1,951	1,932 a
1800	600	1,904	1,924	1,914 b
1200	1200	1,892	1,919	1,905 b
600	1800	1,901	1,915	1,908 b
0	2400	1,912	1,940	1,926 a
Média ¹		1,904 B	1,930 A	
CV% 2,10				
Massa de ovo (g/ave/dia)				Média
2400	0	56,87	56,06	56,46
1800	600	56,87	56,72	56,75
1200	1200	57,12	56,75	57,10
600	1800	57,25	56,81	56,96
0	2400	57,05	56,40	56,70
Média ¹		57,02 A	56,53 B	
CV% 2,09				
Perda de ovos por quebra (%)				Média
2400	0	0,75	0,78	0,76
1800	600	0,53	0,75	0,64
1200	1200	0,59	0,71	0,65
600	1800	0,40	0,75	0,57
0	2400	0,59	0,68	0,64
Média ¹		0,57 B	0,73 A	
CV% 73,19				

¹Letras maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de F (P<0,05) e letras minúsculas, na coluna, pelo teste de Skott Knott (P<0,05).

O uso de associações entre D_3 e 25-OHD_3 resultou em diminuição ($p<0,05$) do consumo de ração. Os efeitos sobre o consumo de ração das fontes em associação sugerem uma maior efetividade desse tipo de fonte de vitamina D para o aproveitamento do cálcio e fósforo da ração, e explicam, a melhora na conversão alimentar por grama das aves alimentadas com esse tipo de fornecimento de vitamina D. Porém, a utilização de D_3 e 25-OHD_3 como fontes isoladas não diferiram ($p>0,05$) para o desempenho das poedeiras no experimento.

Os resultados deste trabalho não diferem dos encontrados por Keshavarz (2003) que trabalhando com as fontes isoladas de D_3 e 25-OHD_3 e quatro níveis de cálcio (3,34; 4,3; 4,73 e 4,94%) com 0,4% de fósforo disponível, não verificou nenhuma diferença entre as fontes, e concluiu que, com 3,34% de cálcio na ração ou 3,64 g de cálcio ave/dia são suficientes para suprir as necessidades do mineral.

Por outro lado, os resultados obtidos no presente trabalho diferem dos encontrados por Salvador et al (2009) que avaliaram o uso das mesmas fontes isoladas de vitamina D, encontrando melhor conversão alimentar das poedeiras que tiveram como fonte única de vitamina D o 25-OHD_3 . Também diferem dos resultados obtidos por Terry et al. (1999), que verificaram maior peso dos ovos quando se forneceu o 25-OHD_3 como única fonte de vitamina D para poedeiras.

Não houve interação ($p>0,05$) entre as fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo em nenhuma das características analisadas para qualidade dos ovos. Os períodos experimentais diferiram ($p<0,05$) na porcentagem de casca e no peso específico durante o experimento (Tabela 6), isso devido ao aumento do tamanho dos ovos, ao longo do ciclo de produção.

TABELA 6 Resultados de qualidade dos ovos em poedeiras comerciais, de acordo com os períodos experimentais

Parâmetro	Períodos ¹				
	1	2	3	4	CV%
Porcentagem de gema (%)	25,31	25,44	25,46	25,28	3,76
Porcentagem de clara (%)	64,02	64,13	64,05	64,12	1,67
Porcentagem de casca (%)	10,65 A	10,42 B	10,48 B	10,49 B	3,61
Peso específico (g/cm ³)	1,0853 A	1,0847 B	1,0847 B	1,0845 B	0,18

¹Letras diferentes na linha diferem pelo teste de Skott Knott (P<0,05).

Não houve diferença (p>0,05) sobre o peso específico em nenhuma das fontes de variação analisadas no experimento (Tabela 7). Esses resultados corroboram com os obtidos por Salvador et al. (2009), que não encontraram diferenças entre a utilização de D₃ e 25-OHD₃ como fontes isoladas sobre essas medidas de qualidade de ovo. Porém, diferem daqueles observados por Keshavarz (2003), que verificou interação entre o 25-OHD₃ e o nível de cálcio na ração para produzir maiores valores de peso específico dos ovos de poedeiras.

TABELA 7 Peso específico de ovos em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo

ASSOCIAÇÕES		NÍVEIS Ca/P		Média
UI D ₃	UI 25-OHD ₃	3,8% - 0,36%	3,2% - 0,30%	
Peso específico (g/cm ³)				
2400	0	1,0846	1,0840	1,0843
1800	600	1,0853	1,0847	1,0850
1200	1200	1,0853	1,0854	1,0853
600	1800	1,0852	1,0846	1,0849
0	2400	1,0842	1,0845	1,0844
Média		1,0849	1,0846	
CV% 0,18				

Constatou-se que as associações entre as fontes com até 50% de 25-OHD₃ e o maior nível de cálcio e fósforo aumentaram a porcentagem de casca dos ovos analisados. Isso coincide com os resultados de Costa et al. (2008) que observaram maiores porcentagens de casca ao aumentar o nível de cálcio na ração. No entanto, nenhum efeito foi observado para a porcentagem de clara e gema dos ovos avaliados (Tabela 8).

Da mesma forma Salvador et al. (2009) relataram que a utilização de fontes isoladas de D₃ e 25-OHD₃ não produzem diferença para a porcentagem de casca de poedeiras comerciais.

TABELA 8 Porcentagem de gema, clara e casca dos ovos em poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo

ASSOCIAÇÕES		NÍVEIS Ca/P		
UI D ₃	UI 25-OHD ₃	3,8% - 0,36%	3,2% -0,30%	
Porcentagem de gema (%)				Média
2400	0	25,47	25,24	25,35
1800	600	25,18	25,66	25,42
1200	1200	25,27	25,38	25,33
600	1800	25,41	25,31	25,36
0	2400	25,50	25,28	25,39
Média		25,37	25,38	
CV% 1,67				
Porcentagem de clara (%)				Média
2400	0	63,94	64,42	64,18
1800	600	64,11	63,82	63,96
1200	1200	63,97	64,09	64,02
600	1800	64,04	64,21	64,13
0	2400	64,02	64,20	64,10
Média		64,01	64,15	
CV% 3,76				
Porcentagem de casca (%)				Média ¹
2400	0	10,58	10,32	10,45 b
1800	600	10,70	10,51	10,60 a
1200	1200	10,75	10,52	10,63 a
600	1800	10,53	10,47	10,50 b
0	2400	10,46	10,50	10,48 b
Média ¹		10,60 A	10,46 B	
CV% 3,61				

¹Letras maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de F (P<0,05) e letras minúsculas, na coluna, pelo teste de Skott Knott (P<0,05).

Não houve interação ($p>0,05$) entre as fontes de vitamina D e os programas de cálcio e fósforo analisados para a porcentagem de cálcio ósseo, embora o maior nível de cálcio e fósforo na ração tenha aumentado ($p<0,01$) a porcentagem de cálcio nas tíbias das aves do experimento (Tabela 9).

TABELA 9 Porcentagem de cálcio ósseo na tíbia de poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo

ASSOCIAÇÕES		NÍVEIS Ca/P		Média
UI D ₃	UI 25-0HD ₃	3,8% - 0,36%	3,2% - 0,30%	
Porcentagem de calcio (%)				
2400	0	36,07	33,57	34,82
1800	600	36,48	35,30	35,89
1200	1200	36,21	34,73	35,47
600	1800	36,90	35,51	36,20
0	2400	36,28	34,38	35,33
Média ¹		36,39 A	34,70 B	
CV% 5,22				

¹Letras maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de F ($P<0,05$) e letras minúsculas, na coluna, pelo teste de Skott Knott ($P<0,05$).

Resultados semelhantes relataram Salvador et al. (2009) não encontrando diferenças entre as fontes isoladas de D₃ e 25-OHD₃ para porcentagem de cálcio nas tíbias de poedeiras.

Houve interação entre os fatores analisados ($p<0,01$) para porcentagem de cinzas, fósforo e densitometria óssea radiográfica (Tabela 10), sugerindo um comportamento diferenciado das fontes de vitamina D que depende dos níveis presentes de cálcio e fósforo na ração.

TABELA 10 Porcentagem de cinzas, fósforo e densitometria óssea na tíbia de poedeiras comerciais, de acordo com fontes de vitamina D e níveis de cálcio e fósforo

ASSOCIAÇÕES		NIVEIS Ca/P	
UI D ₃	UI 25-OHD ₃	3,8% Ca -0,36% P	3,2% Ca -0,30% P
Porcentagem de cinzas (%)			
2400	0	53,27 bA	53,36 aA
1800	600	53,88 bA	53,53 aA
1200	1200	55,94 aA	53,23 aB
600	1800	56,37 aA	54,49 aB
0	2400	55,07 aA	54,10 aA
CV % 2,17			
Porcentagem de fósforo (%)			
2400	0	17,99 bA	15,96 bB
1800	600	17,75 bA	16,67 bB
1200	1200	18,73 aA	16,56 bB
600	1800	19,05 aA	16,77 bB
0	2400	17,92 bA	17,87 aA
CV % 5,20			
Densitometria óssea (mm/Al)			
2400	0	2,49 bA	2,70 aA
1800	600	2,46 bA	2,53 bA
1200	1200	2,76 aA	2,44 bB
600	1800	2,91 aA	2,31 bB
0	2400	2,60 bA	2,74 aA
CV % 10,12			

¹Letras maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de F ($P < 0,05$) e letras minúsculas, na coluna, pelo teste de Skott Knott ($P < 0,05$).

Nos resultados de cinzas ósseas observou-se que, quando se utilizou o nível maior de cálcio e fósforo, as porcentagens foram mais altas com uma fonte de, pelo menos 50% de 25-OHD₃. No nível de menor fornecimento dos mineirais não foi observada diferença ($p > 0,05$), porém nos resultados das

relações com acima de 50% da fonte com 25-OHD₃ foram menores comparados aos resultados obtidos no maior nível de fornecimento. Possivelmente, as associações das fontes conseguem uma reabsorção óssea mais eficaz em presença de níveis baixos desses minerais.

Os resultados de fósforo ósseo indicam que as maiores porcentagens desse mineral nas tíbias são produzidas em presença dos níveis mais altos de cálcio e fósforo, exceto quando se utiliza a 25-OHD₃ como fonte única de vitamina D na ração. Além disso, quando se usa mais de 50% de 25-OHD₃ como parte de fontes em associação, verificaram-se maiores porcentagens no nível alto de fornecimento de cálcio e fósforo. Isso sugere que a fonte isolada de 25-OHD₃ pode ter uma melhor capacidade de absorção e regulação do fósforo.

A densitometria óssea radiográfica feita nas tíbias, ao final do experimento, indicou que uso de relações com mais de 50% de 25-OHD₃ produziu piores resultados de densitometria quando se utilizou o menor nível de cálcio e fósforo na ração ($P < 0,05$). Isso pode ser explicado devido à melhor atividade dessas fontes para manter os níveis plasmáticos dos minerais, proporcionando aumento no processo de reabsorção óssea. Pela mesma causa, todas as associações entre as fontes resultou em menores resultados que o fornecimento da vitamina D com fontes isoladas no nível menor de cálcio e fósforo, sugerindo que a atividade de reabsorção óssea é maior pelas fontes em relação ao caso de diminuição do fornecimento dos níveis adequados dos minerais.

Caso oposto ocorreu no nível alto, em que maiores resultados foram observados quando se usaram relações das fontes de vitamina D com mais de 50% de 25-OHD₃. Isso descreve um comportamento diferenciado das relações das fontes dependendo do nível de presença de cálcio e fósforo na ração.

Algumas pesquisas feitas sobre a utilização de diferentes níveis de cálcio sobre a densitometria óssea radiográfica indicam efeito do nível de fornecimento

do mineral sobre os resultados obtidos, como relataram Almeida et al. (2009) que, trabalhando com níveis de 3,8 e 1,8 % de cálcio na ração encontraram diferenças entre as densidades ósseas radiográficas, em poedeiras semipesadas. Da mesma forma, Schreiweis et al. (2003) trabalharam com três níveis diferentes de cálcio em rações de poedeiras (5,4%, 3,6% e 1,8%) e concluíram que a densidade mineral óssea tem uma diminuição linear quando as poedeiras consomem rações com níveis decrescentes de cálcio.

Batista et al. (2009), estudaram diferentes níveis de cálcio (3,9; 4,0 e 4,1%) e relataram que o nível de 4,02% de cálcio melhora a densitometria óssea de poedeiras comerciais.

6 CONCLUSÕES

A utilização de D_3 e 25-OHD_3 em associação melhora a conversão alimentar por grama de poedeiras comerciais. A associação das fontes de vitamina D em até 50% de 25-OHD_3 aumenta a porcentagem de casca dos ovos das poedeiras.

Há uma resposta diferenciada das associações de fontes de vitamina D para a qualidade óssea, dependendo do programa de cálcio e fósforo utilizado.

Em rações contendo fitasse os níveis totais de 3,8% de cálcio e 0,36% de fósforo disponível melhora os índices de desempenho, aumenta a porcentagem da casca dos ovos e produz maiores medidas de todas as características avaliadas para qualidade óssea.

7 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I. C. L.; MENDES, A. A.; BALOG, A. Efeito do cálcio na qualidade óssea e de ovo de poedeiras. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 58, n. 222, p. 173-183, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 3. ed. Washington, 1980.

BATISTA, J. M.; VILAR, J. H.; ARAUJO, J. A. Efeito do fornecimento e granulométrica do calcário sobre a densidade óssea de poedeiras comerciais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009. 1 CD-ROM.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Ed. UFLA, 2006.

BRITO, J. A. G. **Vitamina D3 e 25-hidroxicolecalciferol em rações de frangos de corte**. 2008. 134 p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COSTA, F. G.; SANTOS, C. F.; BARROS, L. R. Níveis de cálcio para poedeiras pesadas após pico de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 624-628, Apr. 2008.

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

HUALOPATHI, R.; LÓPEZ-FANDIÑO, R.; ANTON, M.; SCHADE, S. **Bioactive egg compounds**. New York: Springer, 2007. 298 p.

KESHAVARZ, K. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and egg shell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 9, p. 1415-1422, Sept. 2003.

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

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Scott's nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph: University Books, 2001. 591 p.

LOUZADA, M. J. Q. **Otimização da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas de peças ósseas.** 1994. 191 p. Tese (Doutorado Engenharia Biomédica) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade Engenharia Elétrica, Campinas.

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

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2005. 186 p.

SAFAA, M. P.; SERRANO, D. G.; VALENCIA, X. Effects of the levels of methionine, linoleic acid, and added fat in the diet on production performance and egg quality of Brown laying hens in the late phase of production. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 1595-1602, Aug. 2008.

SALVADOR, D.; FARIA, D. E. de; MAZZIELLI, M. Vitaminas D e C para poedeiras na fase inicial de produção de ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 5, p. 887-892, maio 2009.

SCHREIWEIS, M. A.; ORBAN, J. I.; LEDUR, M. C. The use of densitometry to detect differences in bone mineral density and content of live white leghorns fed varying levels of dietary calcium. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 8, p. 1292-1301, Aug. 2003.

TERRY, M.; LANENGA, M.; MCNAUGHTON, J. L.; STARK, L. E. Safety of 25-hydroxyvitamin D3 as a source of vitamin D3 in layer poultry feed. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 41, n. 5, p. 312-316, Oct. 1999.