

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

VITAMINA A E VITAMINA D₃ NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE

Autor: Ana Flávia Quiles Garcia Guerra
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VITAMINA A E VITAMINA D₃ NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE

Autor: Ana Flávia Quiles Garcia Guerra
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

G934v Guerra, Ana Flávia Quiles Garcia
Vitamina A e Vitamina D₃ na alimentação de
frangos de corte / Ana Flávia Quiles Garcia Guerra.
- - Maringá, 2016.
80 f. : il. figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Alice Eiko Murakami.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, 2016.

1. Retinol. 2. Colecalciferol. 3. Coloração de
carne. 4. Resistência óssea. I. Murakami, Alice
Eiko, orient. II. Universidade Estadual de Maringá.
Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21. ed. 636.5

MGC-001716



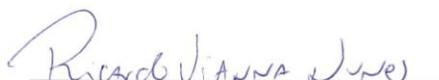
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

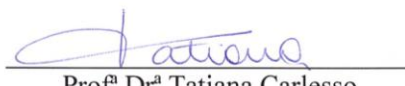
**VITAMINA A E VITAMINA D3 NA ALIMENTAÇÃO
DE FRANGOS DE CORTE**

Autora: Ana Flávia Quiles Garcia Guerra
Orientadora: Profª Drª Alice Eiko Murakami

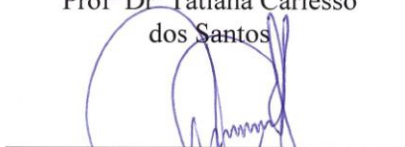
TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal


APROVADA em 29 de fevereiro de 2016.


Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes


Profª Drª Tatiana Carlesso
dos Santos


Profª Drª Cinthia Eyng


Profª Drª Jovanir Inês
Müller Fernandes


Profª Drª Alice Eiko Murakami
(Orientadora)

Depois de algum tempo...

"Você aprende que o tempo não é algo que se possa voltar para trás.

Portanto, plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar

que alguém lhe traga flores. E você aprende realmente que pode

suportar... que realmente é forte, e que pode ir mais longe, depois de

pensar que não pode mais. E que realmente você tem valor diante

da vida !!!"

Shakespeare

Ao meu pai, Fábio Marques Garcia, à minha mãe, Gracecleia Quiles Marques Garcia, meus irmãos Fábio Marques Garcia Junior e Daniele Quiles Marques Garcia e ao meu marido, Rafael Lachinski de Holanda Guerra e a minha filha Maria Luiza Garcia Guerra que me apoiaram e deram forças para que eu superasse as dificuldades.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, nosso pai, por me abençoar e dar forças nos momentos mais difíceis.

À Universidade Estadual de Maringá, em especial ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, por ter possibilitado a minha formação acadêmica, e o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Meus agradecimentos a Capes, pelo fornecimento da bolsa de estudos durante o período de realização deste doutorado.

À Professora Dr^a. Alice Eiko Murakami, pela orientação, incentivo e exemplo de dedicação.

Aos demais Professores do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pelo aprendizado e amizade durante o Curso, em especial aos Professores Dr. Antônio Cláudio Furlan, Paulo César Pozza, Carlos Antônio Lopes de Oliveira, Ricardo Souza Vasconcellos e Dra Tatiana Carlesso dos Santos.

Aos funcionários técnicos e administrativos do Departamento de Zootecnia, pela colaboração.

À Professora Dr^a. Simara Márcia Marcato, pela ajuda, prestabilidade e amizade.

Aos alunos de graduação e pós-graduação, integrantes do grupo de pesquisa em Avicultura da UEM e demais amigos, que de forma direta e indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho, em especial à Cristiane Regina do Amaral Duarte, Raíssa Bocchi Pedroso, Cristiano da Cruz, Cinthia Eyng, Jamile Corina Fanhani, Karla Paola Picoli, Camila Dias Blasques, Bianca Mascarin, Ivan Camilo Ospina Rojas, Maíra Mangili Puzotti, Mayra Diaz Vargas, Marília Carvalho Figueredo Alves, Guilherme Rodrigues do Nascimento, Humberto Marques Lipori, Alisson Figueiredo e Ester Romero.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, em especial aos senhores: Antônio Silvério Sobrinho e Mauro dos Santos.

Enfim, todo este trabalho só foi possível com a participação de toda a equipe, desde a elaboração, montagem e condução do experimento, desde já agradeço a todos aqueles que de uma forma ou de outra fizeram este trabalho acontecer.

Aos meus pais, Fábio Marques Garcia e Gracecleia Quiles Marques Garcia, pelo exemplo de vida, pelos conselhos, pelo amor, apoio, confiança e por acreditarem em meu potencial. Ao meu marido Rafael Lachinski de Holanda Guerra e minha filha Maria Luiza Garcia Guerra, por todo apoio, aprendizado e carinho dedicado.

BIOGRAFIA

Ana Flávia Quiles Garcia Guerra, filha de Fábio Marques Garcia e Gracecleia Quiles Marques Garcia, nasceu em Marília, São Paulo, no dia 24 de fevereiro de 1987.

Em Janeiro de 2009, concluiu o Curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2010, iniciou no Curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Aves e no dia 05 de abril de 2012, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

Em março de 2012, iniciou no Curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Aves

No dia 06 de Abril de 2015, submeteu-se à banca de qualificação.

No dia 29 de Fevereiro de 2016, submeteu-se à banca para defesa da Tese.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xv
ABSTRACT	xviii
I. INTRODUÇÃO.....	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
1.1. <i>Metabolismo e funções da vitamina A</i>	2
1.2. <i>Metabolismo e funções da vitamina D₃ em frangos de corte</i>	6
1.3. <i>Utilização de metabólitos da vitamina D₃ em frangos de corte</i>	9
1.4. <i>Interação entre vitamina A e D₃ no metabolismo de frangos de corte</i>	10
1.4.1. <i>Vitamina A e vitamina D₃ e o metabolismo ósseo</i>	12
1.4.2. <i>Vitamina A e vitamina D₃ e o sistema imune</i>	14
1.4.3. <i>Vitamina A e vitamina D₃ e a qualidade de carne</i>	16
LITERATURA CITADA	17
II. OBJETIVOS GERAIS	24
Objetivos específicos.....	24
III. METABÓLITOS DE VITAMINA D ₃ EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL.....	25
INTRODUÇÃO.....	27
MATERIAL E MÉTODOS.....	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS	42
IV. VITAMINA A E VITAMINA D ₃ EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS SOBRE O DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇAÇA E QUALIDADE DA CARNE	45
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAL E MÉTODOS.....	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS	58
V. VITAMINA A E VITAMINA D ₃ NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 1 A 42 DIAS SOBRE A QUALIDADE ÓSSEA E SISTEMA IMUNE.....	60
INTRODUÇÃO.....	62
MATERIAL E MÉTODOS.....	63

RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS	75
VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

LISTA DE TABELAS

	Página
III. Metabólitos da vitamina D₃ em dietas de frangos de corte na fase inicial	25
Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 7 dias e 8 a 21 dias de idade	29
Tabela 2. Descrição dos tratamentos dos metabólitos da vitamina D ₃	32
Tabela 3. Valores médios das variáveis de desempenho (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D ₃ em diferentes níveis, nos períodos de 1 a 7 e 1 a 21 de idade (Experimento I).....	33
Tabela 4. Valores médios das variáveis de peso relativo dos órgãos (%) e comprimento do intestino (cm) (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D ₃ em diferentes níveis, aos 21 dias (Experimento I).....	34
Tabela 5. Valores médios das variáveis ósseas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D ₃ em diferentes níveis, aos 7 e 21 dias (Experimento I).....	36
Tabela 6. Valores médios das variáveis de níveis séricos de cálcio e fósforo (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D ₃ em diferentes níveis, aos 21 de idade (Experimento I).....	37
Tabela 7. Valores médios das variáveis de morfometria intestinal (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D ₃ em diferentes níveis, aos 21 dias (Experimento I).....	38
Tabela 8. Valores médios das variáveis de desempenho (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D ₃ , nos períodos de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade (Experimento II).....	39
Tabela 9. Valores médios das variáveis ósseas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D ₃ , nos períodos de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade (Experimento II).....	40
Tabela 10. Valores médios das variáveis séricas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D ₃ em diferentes níveis (Experimento II).....	42
IV. Vitamina A e vitamina D₃ em dietas de frangos de corte de 1 a 42 dias sobre o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne.....	45
Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade.....	49
Tabela 2. Médias das variáveis de desempenho (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D ₃ no período de 1 a 7; 1 a 21 e 1 a 42 dias.....	52
Tabela 3. Médias das variáveis de rendimento (\pm erro padrão) de carcaça e cortes de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D ₃ aos 42	54

dias.....	
Tabela 4. Médias das variáveis de qualidade de carne (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D ₃ aos 42 dias.....	56
V. Vitamina A e vitamina D₃ em dietas de frangos de corte no período de 1 a 42 dias sobre a qualidade óssea e sistema imune.....	60
Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade.....	64
Tabela 2. Médias das variáveis ósseas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D ₃ aos 7, 21 e 42 dias.....	67
Tabela 3. Desdobramento da interação vitamina A x vitamina D ₃ nas cinzas ósseas (%), aos 7 dias de idade.....	68
Tabela 4. Médias de variáveis do corte histológico da epífise proximal das tíbias (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D ₃ aos 21 e 42 dias.....	70
Tabela 5. Médias das variáveis séricas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e D ₃ aos 7, 28 e 42 dias.....	72
Tabela 6. Médias das variáveis imunológicas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D ₃ aos 28 dias.....	74

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Metabolismo da vitamina A.....	3
Figura 2. Metabolismo da vitamina D ₃	7

RESUMO

Foram realizados quatro experimentos com o intuito de avaliar a vitamina A e a vitamina D₃ na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça, qualidade de carne, qualidade óssea e sistema imune. No **experimento I**, para avaliar níveis de metabólitos da vitamina D₃ sobre o desempenho, variáveis ósseas e morfometria intestinal, foram utilizados 1.344 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em um esquema fatorial 2x4, sendo dois metabólitos da vitamina D₃ (D₃ e 1,25(OH)₂D₃) e quatro níveis (200, 950, 1.700 e 2.400 UI/kg de ração), com seis repetições e 28 aves por unidade experimental. Não houve interação (p>0,05) entre os metabólitos e os níveis de vitamina D₃ para nenhuma das variáveis avaliadas. O consumo de ração e o ganho de peso (1 a 21 dias) apresentaram efeito quadrático (p<0,05) com maior consumo de ração e melhor ganho de peso estimado em 1.772,39 e 1.760,14 UI/kg, respectivamente. Para peso relativo dos órgãos aos 7 dias, observou-se efeito linear crescente (p<0,05) para intestino delgado em relação ao aumento de vitamina D₃ na dieta e aos 21 dias o peso relativo do fígado foi influenciado de forma quadrática (p<0,05), com maiores pesos estimados em 1.811,40 UI/kg. Dentre os diferentes metabólitos, a vitamina D₃ apresentou melhor ganho de peso (p<0,05), maior comprimento de intestino (p<0,05) e menor peso de fígado (p<0,05) aos 21 dias comparada ao metabólito 1,25(OH)₂D₃. Para as variáveis ósseas, houve efeito linear crescente para cinzas (p<0,05) aos 7 e 21 dias em função dos níveis de vitamina D₃ e efeito quadrático para resistência óssea, com melhor resultado estimado em 1.768,49 UI/kg. As porcentagens de cálcio nas cinzas aos 7 dias, de fósforo nas cinzas e cálcio sérico aos 21 dias foram influenciadas de forma linear crescente (p<0,05) em função dos níveis de vitamina D₃. As demais variáveis não foram influenciadas pelos diferentes níveis de vitamina D₃ (p>0,05). No **experimento II**, para avaliar o melhor nível de vitamina definido no experimento I, com a adição de metabólitos (25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ e 1α(OH)D₃) *on top* sobre o desempenho e qualidade óssea foram utilizados 625 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (T1-2.375 UI D₃/kg); T2-1.780 UI/kg D₃/kg; T3- 1.780 UI/kg D₃ + 100mg de 1,25(OH)₂D₃/kg; T4- 1.780 UI D₃/kg + 0,069μg de 25(OH) D₃/kg e T5-1.780 UI D₃/kg + 500mg de 1α (OH)D₃/kg), com cinco repetições e 25 aves por unidade experimental. Não houve efeito (p>0,05) dos metabólitos da vitamina D₃ para as variáveis de desempenho, ósseas e variáveis séricas. Os demais fatores não foram influenciados pelos metabólitos da vitamina D₃. Níveis variando de 1768 a 1772UI/kg de ração, seja de vitamina D₃ ou 1,25(OH)₂D₃, para frangos de corte na fase inicial, permitiram maximizar o ganho de peso das aves e aumentar a resistência óssea. A resposta à suplementação dos metabólitos *on top* (25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃ e 1α(OH)D₃) mostrou-se similar às dietas com vitamina D₃

isolada. No **experimento III**, objetivou-se avaliar a vitamina A e vitamina D₃ em dietas de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne. Foram utilizados 1.520 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em um esquema fatorial 5x4, sendo cinco níveis de vitamina A (0, 9.000, 18.000, 36.000 e 54.000 UI) e quatro de vitamina D₃ (200, 950, 1.700 e 2.450 UI) com quatro repetições e 19 aves por unidade experimental. Não houve interação ($p>0,05$) entre os níveis de vitamina A e vitamina D₃ para o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne. A suplementação de vitamina A afetou de forma linear crescente o ganho de peso e o consumo de ração no período de 1 a 21 dias, e de forma quadrática no período total (42 dias) com melhor ganho de peso e maior consumo de ração nos níveis de 35.193,58 e 37.016,72 UI. No entanto, não foram observadas diferenças ($p>0,05$) para conversão alimentar em nenhum dos períodos avaliados. O rendimento de carcaça não foi influenciado pelos níveis de vitamina A, entretanto o rendimento de peito, coxa e sobrecoxa apresentaram efeito quadrático ($p<0,05$), com melhores resultados estimados em 29.430,75 e 30.630,83 UI/kg. Além disso, a vitamina A apresentou influência sobre a intensidade de amarelo da carne do peito, da coxa e sobrecoxa. A adição de vitamina D₃ nas dietas afetou o ganho de peso e consumo de ração de forma linear crescente ($p<0,05$) no período de 1 a 21 dias e apresentou comportamento quadrático no período de 1 a 42 dias, com maior ganho de peso estimado em 1.841,70 UI de Vitamina D₃/kg e maior consumo no nível de 1.900,32 UI de Vitamina D₃/kg. A conversão alimentar não foi influenciada ($p>0,05$) pelos níveis de vitamina D₃ utilizados. De modo semelhante, o rendimento de carcaça seguiu a mesmo comportamento do ganho de peso, apresentando melhores rendimentos de peito, coxa e sobrecoxa nos níveis estimados de 1.663,27 e 1.763,33 UI de vitamina D₃/kg. A vitamina D₃ influenciou de forma quadrática ($P<0,05$) a intensidade de vermelho da carne da coxa, com menor nível estimado em 1.559 UI/kg. Dentre os níveis avaliados, não houve interação entre vitamina A e vitamina D₃ para o desempenho, rendimento de carcaça e cortes e qualidade de carne. A suplementação de níveis independentes de vitamina A de 54.000 UI/kg no período de 1 a 21 dias e 35.195,38 UI/kg de ração no período de 1 a 42 dias e de 2.450UI/kg de vitamina D₃ no período de 1 a 21 dias e 1.841,70 UI/kg no período de 1 a 42 dias, permitem maximizar o desempenho, sem prejudicar o rendimento de carcaça e a qualidade de carne. No **experimento IV**, com o objetivo de avaliar a vitamina A e a vitamina D₃ nas dietas de frangos de corte sobre a qualidade óssea e sistema imune, foram utilizados 1.520 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em esquema fatorial 4x5, sendo quatro níveis de vitamina D₃ (200, 950, 1.700 e 2.450 UI) e cinco níveis de vitamina A (0, 9.000, 18.000, 36.000 e 54.000 UI), com quatro repetições e 19 aves por unidade experimental. Houve interação ($p<0,05$) para cinzas ósseas aos 7 dias, com melhor deposição mineral no nível estimado de 36.000 UI de vitamina A/kg associado a 200 UI de vitamina D₃/kg. Para o diâmetro, comprimento, índice de *seedor*, resistência óssea e concentração de cálcio e fósforo não houve interação ($p>0,05$) entre as vitaminas A e D₃. A suplementação de vitamina A influenciou de forma quadrática ($p<0,05$) o fósforo nas tíbias aos 21 dias, com maiores teores deste mineral no nível estimado de 29.607,23 UI de vitamina A/kg e de forma linear crescente ($p<0,05$) o fósforo sérico (21 dias) e o comprimento ósseo (42 dias). Com a suplementação dos níveis de vitamina D₃ a resistência óssea aos 7 e 21 dias apresentou comportamento quadrático ($p<0,05$) com maiores resistências em níveis estimados de 1.937,48 e 2.011,57 UI de vitamina D₃/kg e comportamento linear decrescente ($p<0,05$) aos 42 dias para área epifisária total e zona de cartilagem, confirmando a importância da vitamina D₃ no metabolismo ósseo e na prevenção de discondroplasia tibial. Para título de anticorpos contra a doença de *Newcastle*, a vitamina D₃ apresentou efeito linear

crescente, com aumento da resposta conforme aumentou os níveis de vitamina D₃. Para vitamina A, o título de anticorpos contra a doença de *Newcastle* apresentou comportamento quadrático ($p < 0,05$), com menor resposta no nível estimado de 23.763,78 UI/kg. A suplementação de vitamina A, independente, em nível de 29.607,23 UI/kg proporcionou melhor deposição mineral nos ossos, e a de vitamina D₃ em nível de 2.011,57 UI/kg resultou em melhor resistência óssea e prevenção de discondroplasia tibial. As concentrações utilizadas de vitamina A e D₃ não interferiram no sistema imune.

Palavras-chave: retinol, colecalciferol, coloração da carne, resistência óssea

ABSTRACT

Four experiments have been conducted to evaluate the vitamin A and D₃ on performance, carcass yield, meat and bone quality and immune system of broilers feed. In Experiment I, in order to assess levels of vitamin D₃ metabolites on performance, bone quality and intestinal morphometry 1,344 Cobb male chicks were distributed in a factorial 2x4, with two metabolites of vitamin D₃ (D₃ and 1.25 (OH)₂D₃) and four levels (200, 950, 1,700 and 2,400 IU vitamin D₃/kg of diet), with six replicates of 28 birds each. There was no interaction (P>0.05) among metabolites and vitamin D₃ levels for any of the variables evaluated. Feed intake and weight gain (1 to 21 days) presented a quadratic effect (P<0.05) in which the higher feed intake and better weight gain were estimated at 1,772.39 and 1,760.14 IU of vitamin D₃/kg, respectively. For relative weight of organs at 7 days there was an increasing linear response for small intestine in relation to vitamin D₃ in the diet, and at 21 days the relative weight of liver presented a quadratic response with higher weights estimated at 1,811.40 IU/kg. Among metabolites, vitamin D₃ had better (p<0.05) weight gain, higher (p<0.05) intestine length and lower (P<0.05) liver weight on day 21 compared to metabolite 1.25 (OH)₂D₃. Regarding the bone variables, there was a positive linear effect on ash (P<0.05) at days 7 and 21 due to the levels of vitamin D₃ and quadratic effect on bone strength, in which the best result was obtained at 1,768.49 IU/kg. The percentages of calcium in the ash at day 7, of phosphorus in the ash and serum calcium at day 21 were increasing linearly influenced due to vitamin D₃ levels. The other variables were not affected (p> 0.05) by different levels of vitamin D₃. In Experiment II, in order to evaluate the vitamin D₃ metabolites (25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃ and 1α(OH)D₃) on top associated with the best level of vitamin D₃ obtained in Experiment I on performance and bone quality, 625 one-day-old Cobb male chicks were distributed in a completely randomized experimental design with five treatments (T1-2375UI D₃ / kg); T2-1780UI / kg D₃ / kg; T3 1780 IU / kg + D₃ 100mg of 1,25(OH)₂D₃ / kg; T4 1780UI D₃ / kg + 0,069μg 25(OH)D₃ / kg and T5-1780UI D₃ / kg + 500 mg of 1α(OH)D₃ / kg), with five replicates and 25 birds each. There was no effect (P>0.05) of vitamin D₃ metabolites on performance variables. There was effect of different sources of vitamin D₃ on the activity of alkaline phosphatase enzyme, which was more active (P<0.05) due to supplementation of active analogue of vitamin D₃, 1α(OH)D₃. Other factors were not affected by vitamin D₃ metabolites. The supplementation of vitamin D₃ level of 1,772.39 IU/kg of diet, regardless the metabolite for broilers in the initial phase, enabled maximize weight gain of birds and increased bone strength. However, the

administration of various metabolites of vitamin D₃ on top did not improve the use of vitamin D₃. In Experiment III, with the objective of evaluate vitamin A and D₃ in broilers feed on performance, carcass yield and meat quality 1.520 one-day-old Cobb male chicks were distributed in a factorial scheme 5x4, with five levels of vitamin A (0, 9,000, 18,000, 36,000 and 54,000 IU) and four different levels of vitamin D₃ (200, 950, 1,700 and 2,450 IU), with four replicates and 19 birds each. There was no interaction ($p>0.05$) among levels of vitamin A and vitamin D₃ for performance, carcass yield and meat quality. Vitamin A supplementation affected increasing linearly the weight gain and feed intake of birds from 1 to 21 days and quadratically in the total period (1-to-42 days) with better weight gain and higher feed intake at levels 35,193.58 and 37,016.72 IU Vitamin A/kg. However, there were no differences ($p>0.05$) for feed conversion in any periods evaluated. The carcass yield was not affected by vitamin A levels, however for breast and thighs + drumsticks yield (%) we observed quadratic effect ($p<0.05$), with better yields estimated at 29,430.75 and the 30,630.83IU of vitamin A/Kg. Additionally, vitamin A presented influence on yellow color intensity of breast meat and thighs + drumsticks. Vitamin D₃ addition in diets affected increasing linearly the weight gain and feed intake ($p<0.05$) from 1 to 21 days and showed quadratic effect between 1 and 42 days, with higher weight gain estimated in 1,841.70 IU of vitamin D₃/kg and higher feed intake at 1,900.32 IU of Vitamin D₃/kg. The feed conversion was not affected ($p>0.05$) by levels of vitamin D applied. Similarly, carcass yield presented the same trend of weight gain, presenting better breast yield (%) and thigh + drumstick (%) on the estimated levels of 1,663.27 and 1,763,33 IU of vitamin D₃/kg, respectively. Vitamin D₃ had a quadratic effect ($P<0.05$) on the intensity of red on thigh meat, with lower level estimated at 1,559 IU vitamin D₃/kg Within the assessed levels there is no interaction among vitamin A and vitamin D₃ on performance, carcass yield and cuts and meat quality. Supplementation of independent vitamin A levels of 54,000 IU/kg from 1 to 21 days and 35,195.38 IU/kg from 1 to 42 days, and 2,400 IU/kg of vitamin D₃ from 1 to 21 days and 1,841.70 IU/kg from 1 to 42 days allow performance improvement without harming the carcass yield and meat quality. In Experiment IV, in order to evaluated vitamins A and D₃ in broilers feed on bone quality and immune system, 1,520 one-day-old Cobb male chicks were distributed in a factorial scheme 4x5, with four different levels of vitamin D₃ (200, 950, 1,700 and 2,450UI) and five levels of vitamin A (0, 9,000, 18,000, 36,000 and 54,000 IU), with four replicates and 19 birds each. There was interaction ($p<0.05$) for bone ash (%) on day 7, with the best mineral deposition at the level of 36,000 IU of vitamin D₃/kg associated with 200 IU of vitamin D₃/kg. For diameter, length, seedor index, bone strength and concentration of calcium and phosphorus, there was no interaction ($p>0.05$) among the vitamins A and D₃. Vitamin A supplementation had a quadratic effect ($p<0.05$) on phosphorus in the tibia (%) on the 21st day, with higher levels of this mineral in the estimated level of 29,607.23 IU of vitamin A/kg and increasing linearly ($p<0.05$) the serum phosphorus (21 days) and the bone length (42 days). With supplementation of vitamin D₃ levels the bone strength at 7 and 21 days showed quadratic behavior ($p<0.05$) with higher resistances at estimated levels of 1,937.48 and 2,011.57 IU of vitamin D₃/kg and decreasing linear effect ($p<0.05$) at 42 days for total epiphyseal area and cartilage zone, confirming the importance of vitamin D₃ in bone metabolism and in the prevention of tibial dyschondroplasia. For serum antibodies against Newcastle disease, vitamin D₃ showed increasing linear effect, elevating the response as levels of vitamin D₃ increased. For vitamin A, the antibody title against Newcastle disease showed a quadratic behavior ($p<0.05$), with lower response for estimated level of 23,763.78 IU/kg. Supplementation of vitamin A, independently, at level of 29,607.23 IU/kg resulted in better mineral

deposition in the bone and vitamin D₃ supplementation in level of 2,011.57 IU/kg resulted in the best bone strength and prevention of tibial dyschondroplasia. The concentrations of vitamin A and D₃ used did not interfere the immunological system.

Key words: retinol, cholecalciferol, meat color, bone strength

I. INTRODUÇÃO

Na avicultura industrial, o desenvolvimento de linhagens de frangos com alto potencial genético, para ganho de peso e conversão alimentar, exigiu formulações de dietas com maior valor energético e balanço de nutrientes adequado, de modo a atender as exigências para crescimento e proporcionar melhor rendimento de carcaça (Sakomura et al., 2004).

Existe um interesse na utilização de vitaminas e minerais que atuam de forma a melhorar o desempenho dos animais, a qualidade da carcaça, o sistema imune e atenuar problemas locomotores, como por exemplo, as vitaminas A e D₃ e os minerais, cálcio e fósforo. As vitaminas A e D₃ são lipossolúveis e atuam na absorção e utilização do cálcio e fósforo, devido à presença de um receptor retinoíde em comum, exigido na ligação de ambas as vitaminas para ativação das mesmas (Lemon et al., 1997). A vitamina A possui diversas funções no organismo como na visão, na hematopoiese, no sistema imune, na diferenciação celular, na reprodução, além de estar envolvida no crescimento (Moghaddam et al., 2010). A vitamina D₃ tem um papel imunomodulador (Cheng et al., 2013) e atua de forma direta sobre a formação óssea, uma vez que a vitamina D₃ é indispensável na homeostase de cálcio e fósforo (Guillot et al., 2010)

A inter-relação entre estas vitaminas ocorre quando há um desequilíbrio, podendo a vitamina A diminuir a eficiência de utilização de vitamina D₃, prejudicando a homeostase do cálcio e do fósforo (Veltmann et al., 1986). As atividades no organismo dependente destes minerais e destas vitaminas, como a qualidade de carne, sistema imune e em especial, a formação óssea que pode vir a desencadear problemas locomotores em frangos de corte.

A vitamina D₃ também vem sendo estudada, através de seus diferentes metabólitos de forma que possa ser melhor aproveitada no metabolismo das aves. Dessa forma, são encontrados comercialmente o 25(OH)D₃, o 1,25(OH)₂D₃ e o 1α(OH)D₃.

Os níveis de vitamina, tanto A quanto a D₃ praticados nos suplementos mineral e vitamínicos e recomendados por Rostagno et al. (2011), são bastante discrepantes comparados aos níveis sugeridos pelo NRC (1994), de modo que exista uma grande divergência entre a literatura.

Dessa forma, este trabalho visa avaliar níveis de vitaminas A e D₃ na alimentação de frangos de corte.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Metabolismo e funções da vitamina A

A vitamina A é um importante componente para a função de visão, reprodução, crescimento e saúde dos animais, melhorando a formação de anticorpos e a resistência humoral, bem como a regulação do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (Suddem et al., 1980). Além disso, é essencial para o desenvolvimento, atuando na formação, regeneração e proteção de mucosas (Toledo et al., 2006). Esta vitamina é encontrada nos tecidos sob a forma de retinol, retinaldeído, ácido retinoico e ésteres de retinil. O retinol se constitui do principal retinoide circulante e a partir de seu metabolismo são sintetizados os demais retinoides funcionais. Este pode ser oxidado a retinal sem perder suas atividades biológicas, ou ainda ser oxidado ao metabolito mais importante para o crescimento: o ácido retinoico (Debier & Larondelle, 2005). A vitamina A e os carotenos, após absorvidos no organismo, são convertidos à forma de retinol (Figura 1).

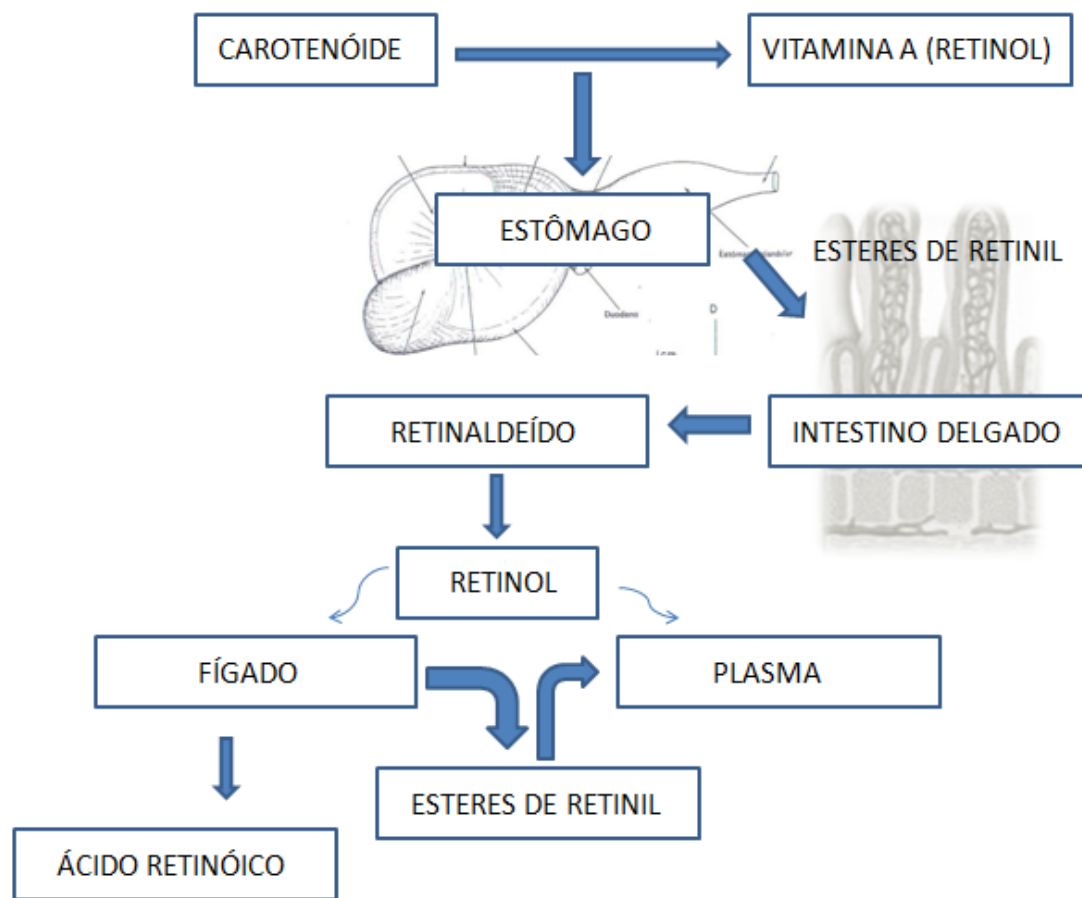


Figura 1. Metabolismo da vitamina A (adaptado de Beitune et al., 2004)

O β -caroteno pode ser um dos precursores de vitamina A, através da clivagem de sua molécula com produção de duas moléculas de retinol (Nelson & Cox, 2000). A maior parte da conversão dos carotenoides ocorre na mucosa intestinal, pelos enterócitos. Os carotenóides devem conter um anel beta para ser ativado, esta conversão envolve duas enzimas a β -caroteno-15, 15'-dioxigenase, que catalisa a clivagem do β -caroteno em duas moléculas de retinaldeído. A segunda enzima, retinaldeído redutase reduz o retinaldeído a retinol (Reece, 2006).

Carotenoides são hidrocarbonetos com atividade pró-vitamina A convertidos no intestino e absorvidos como vitamina A. Alguns fatores como o isomerismo da molécula, e os lipídeos, proteínas e antioxidantes da dieta são importantes para a utilização e absorção dos carotenoides (McDowell, 1989).

A absorção da vitamina A ocorre na porção proximal do intestino delgado, sendo absorvida juntamente com compostos lipossolúveis na forma de quilomicrons (Debier & Larondelle, 2005). Os ésteres de retinol são hidrolisados no lúmen intestinal

pelas enzimas lípase pancreática (PTL) e proteína relacionada à lípase pancreática (PLRP2) ou sofrem hidrólise na membrana da borda em escova, sendo catalisadas pela enzima éster-retinil hidrolase (REH). O retinol, dentro do enterócito, é carregado pela proteína carreadora de retinol celular II (CRBP2). Quando o metabolismo necessita de retinol a enzima lecitina:retinil-aciltransferase (LRAT) irá catalisar aproximadamente 90% da formação de éster de retinil, enquanto a acil-CoA:retinol aciltransferase (DGAT1) irão catalisar o restante da formação de éster retinil (Maciel, 2007).

O retinol resultante desta hidrólise penetra no interior da célula, onde é reesterificado com ácidos graxos de cadeia longa, ocorrendo então à formação de quilomicrons que são secretados pelo sistema linfático para rins, músculos e principalmente para o fígado. Do total absorvido, cerca de 80 a 90% são depositados no fígado na forma de ésteres de retinol (D'Ambrosio et al., 2011). O retinil hepático é mobilizado conforme as necessidades do organismo, hidrolisado a retinol, este circula no plasma ligado a uma proteína específica, a *Retinol Binding Protein* (RBP). Os quilomicrons remanescentes são captados pelo fígado, e armazenados nos hepatócitos, sob a forma de palmitato de retinol (Chagas et al., 2003).

O ácido retinoico atua como mensageiro intracelular combinando-se com receptores nucleares e modificando a expressão de genes. São conhecidos dois tipos de receptores para ácido retinoico, o RAR (receptor de ácido retinoico) e o RXR (receptor X de retinoides), ambos possuem três subtipos α , β e γ (Solomin et al., 1998).

A vitamina A possui uma participação na rota do desenvolvimento esquelético, que pode ser explicada em parte por estimular a secreção de paratormônio, juntamente com outros fatores, de modo que animais com deficiência de vitamina A apresentaram uma pior calcificação e, conseqüentemente, pior desenvolvimento ósseo. Em contrapartida, os excessos desta vitamina e de compostos a ela relacionados também irão induzir a problemas locomotores (Li et al., 2008).

Quando em deficiência, a vitamina A, proporciona um retardamento do crescimento endocondral, e em excesso, uma aceleração no crescimento (Lesson & Summers, 2001), pois age diretamente na formação da cartilagem e nos ossos, interferindo na formação de colágeno, impedindo a diferenciação normal dos osteoblastos e aumentando o número de osteoclastos e a taxa de liberação de cálcio dos ossos (Frankel et al., 1986).

Este processo pode estar associado a uma queda na atividade da enzima fosfatase alcalina e, conseqüentemente, como atua na formação e mobilização óssea e

também na formação da cartilagem nos ossos (Whitehead, 1992). Assim, com o aumento da concentração de vitamina A, aumenta a liberação de cálcio dos ossos e da mobilização óssea irá ocorrer um aumento nas concentrações séricas de cálcio (Rhode et al., 1999). E uma deficiência de cálcio resulta em uma maior mobilização a partir dos ossos e assim um aumento na secreção de calcitonina que poderia ser alterada por uma deficiência em vitamina A.

Da mesma forma, a administração de altas doses de vitamina A aumenta a excreção de cálcio e fósforo e em doses muito elevadas causa perdas ósseas, de colágeno e mucopolissacarídeos dos ossos (Clark & Smith, 1964).

De acordo com Sundeen et al. (1980), o fornecimento de rações deficientes em vitamina A para as aves, afetaram a integridade estrutural do tecido muscular com maior resistência ao corte.

Por outro lado, o excesso de vitamina A mostrou que esta possui influência sobre a enzima fosfatase alcalina, proteína GLA do osso (BGP) e proteína carreadora de cálcio (CaBP), diminuindo o crescimento ósseo em frangos, a atividade das células osteoblásticas e inibindo a expressão do gene *cabp* e a secreção da proteína CaBP (Guo et al., 2011).

Para Friedman et al. (1991), tanto o excesso, como a deficiência de vitamina A traz prejuízos no sistema imunológico. A deficiência de vitamina A geralmente reflete em queda nas imunoglobulinas séricas, imunoglobulinas IgG comprometidas e respostas a IgA e redução da atividade das células *natural killer*. O excesso de vitamina A causa depressão na resposta imunitária, além de atuar diretamente sobre a função dos monócitos.

Assim, além do metabolismo ósseo, a vitamina A é de extrema importância na resposta imune, atuando na imunocompetência do animal. Dessa forma, a deficiência de vitamina A pode levar a uma diminuição no status imunológico do animal (Lin et al., 2002). A vitamina A no sistema imune não se limita apenas a ação dos retinoides, mas também as ações dos carotenoides que são precursores de vitamina A (Shetty, 2010).

A vitamina A pode atuar sobre o sistema imune no mecanismo de defesa, na manutenção da integridade da superfície epitelial ou na habilidade fagocítica de macrófagos. Em deficiência, reduz o *turnover* epitelial, além de prejudicar a produção de células imunes que atuam no desenvolvimento de órgãos linfáticos primários e suas proliferações celulares, prejudicando a atividade fagocitária e células *natural killer*.

Agindo sobre a resposta mediada por células e a resposta humoral (Niu et al., 2009; Shetty, 2010).

A produção de interleucina-2 foi aumentada de acordo com a suplementação de vitamina A, explicando a ação desta vitamina sobre a função dos linfócitos T, além disso, a proliferação de linfócitos T foi diminuída em baixos níveis de vitamina A (Friedman & Sklan, 1989).

O intestino das aves está associado ao tecido linfóide. Dessa forma, a vitamina A possui um importante papel em manter a integridade intestinal associada ao sistema imune e ao controle de patógenos. Baixos valores de vitamina A, deprimem a resposta a linfócitos T, a antígenos específicos e a vacinas virais, e ainda causam uma diminuição das células linfoides no baço e timo (Butera & Krakowka, 1986; Dalloul et al., 2002).

De acordo com Lin et al. (2002), que testaram diferentes níveis de vitamina A (3000 a 12000 UI/kg) em galinhas poedeiras, submetidas a estresse calórico, a utilização de vitamina A melhorou o desempenho e a resposta imunológica, verificando que após a estresse vacinal a suplementação de vitamina A auxiliou na máxima produção de anticorpos, além de aumentar a proporção de linfócitos T, em relação às aves que não receberam vitamina A.

1.2. Metabolismo e funções da vitamina D₃ em frangos de corte

A vitamina D₃ está intimamente relacionada ao metabolismo ósseo e assim sua deficiência ou excesso pode culminar em problemas locomotores, sendo indispensável para a manutenção da homeostase de cálcio e fósforo no organismo, mineralização e mobilização óssea (DeLuca & Shnoes, 1976, Edwards, 1989, Rao et al., 2006).

A vitamina D₃ pode ser sintetizada pela pele através de seu precursor 7-deidrocolesterol sob a ação dos raios ultravioletas ou ser ingerida na dieta. A vitamina D₃ é absorvida no intestino delgado e transportada ao fígado por via sanguínea acoplada a PBD (proteína ligante de vitamina D), onde é convertida em 25(OH)D₃ pela ação da enzima 25-hidroxilase. Esta reação ocorre no retículo endoplasmático e é dependente de magnésio, NADPH, oxigênio molecular e fator citoplasmático (Rutz et al., 2002) (Figura 2).

As enzimas citocromo redutase P-450 NADPH-dependente e citocromo redutase P-450, também atuam como reguladoras deste processo. No entanto, a 25(OH)D₃ é

menos eficiente em termos de reguladora do metabolismo do cálcio, sendo que para ser utilizado, de forma mais eficaz, este metabólito deve ser hidroxilado a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pela enzima $1\text{-}\alpha$ -hidroxilase, o que ocorre principalmente nas mitocôndrias dos túbulos contorcidos proximais nos rins. Para que esta reação ocorra é necessária uma série de fatores (Combs Jr, 2008). A conversão requer a presença de NADPH, magnésio, oxigênio molecular, uma flavoproteína redutase ferredoxina renal, a proteína ferredoxina e o citocromo P-450. Além disso, a ação da $1\text{-}\alpha$ hidroxilase é dependente da concentração de hormônio da paratireóide (PTH), cálcio, fosfato, calcitonina, hormônio do crescimento, estrógeno e prolactina.

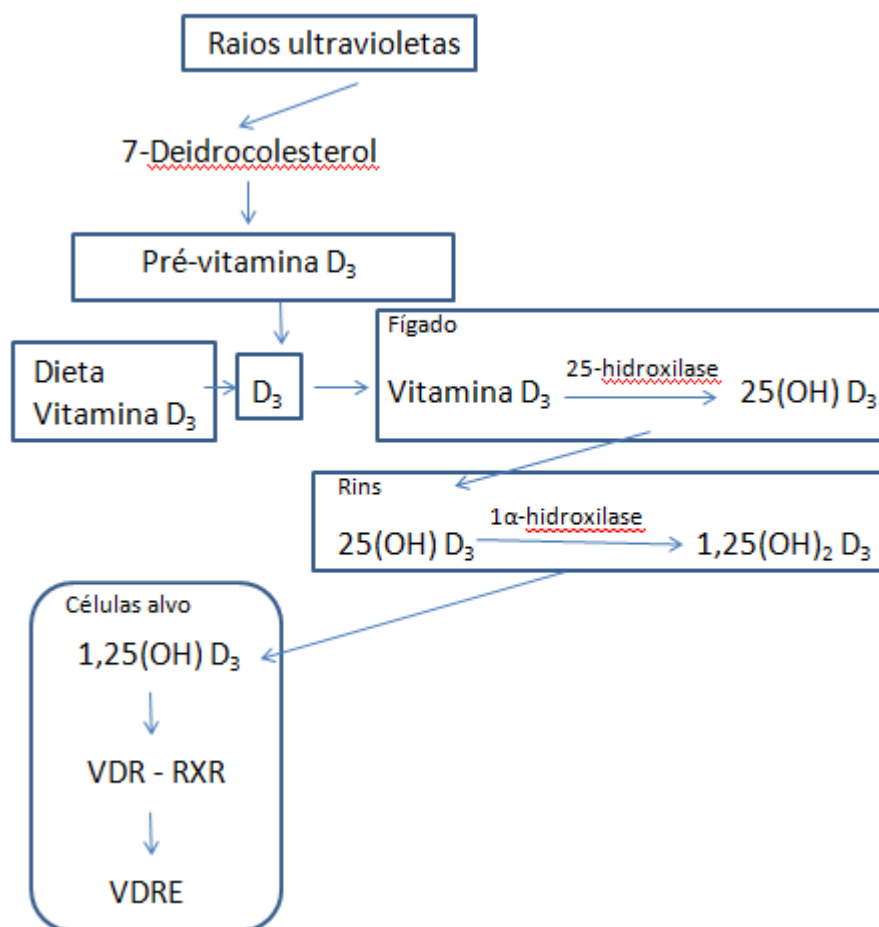


Figura 2. Metabolismo da vitamina D_3 (Adaptado de Mora et al, 2008).

Um dos fatores para a conversão da vitamina D_3 é a diminuição da taxa de cálcio e magnésio no sangue, causando desequilíbrio na homeostase, o que ativa mecanismos β -adrenérgicos, dopamina e secretina, que irão atuar ativando a adenilciclase na

paratireoide e aumentando a taxa de AMPc, o que eleva o hormônio paratireoide (PTH), ativando a síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

O $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ atua induzindo os transportadores intestinais envolvidos na absorção intestinal do cálcio e estimulando, conseqüentemente, a absorção de fósforo. Nos ossos, atua sobre a mobilização de cálcio através da estimulação dos osteoblastos a produzirem RANKL (ligante do receptor para ativador nuclear κ) que irá ativar os osteoclastos. O aumento de cálcio sérico inibe o PTH que é um hormônio muito importante na regulação da homeostase, pois irá promover a reabsorção de cálcio renal juntamente com o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumentando as concentrações destes no sangue, além de regular a síntese do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Navarro-Moreno & Alia-Ramos, 2005; Perez-Lopez et al., 2009; Peixoto et al., 2012).

A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ entra na célula alvo e se liga ao VDR que se complexa ao receptor X do ácido retinoico (RXR) para formar o complexo heterodímero com a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Este complexo interage com o elemento resposta no DNA. Esta interação leva a transcrição de genes e a síntese de RNAm para várias proteínas, como a osteocalcina, e a fosfatase alcalina nos osteoblastos e calbindina nas células intestinais (Peixoto et al., 2012). Este processo ocorre por meio de mecanismos genômicos e não genômicos, podendo ser através da ligação ao seu receptor nuclear e sucessiva transcrição de RNAm ou pela ligação da membrana com o receptor de vitamina D (VDR) (Pfeifer et al., 2002).

Altos níveis de cálcio promovem a liberação de calcitonina, que irá inibir a ação dos osteoclastos e aumentar a eliminação de cálcio nas excretas, atuando como reguladores da conversão e liberação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Marieb & Hoehn, 2009).

A produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é inibida quando há a inibição da enzima 1- α -hidroxilase, que pode ocorrer em situações de hipercalcemia, hiperfosfatemia ou aumento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Em contrapartida, a enzima 24- α -hidroxilase (CYP24) ativa a hidroxilação do $25(\text{OH})\text{D}_3$ na posição 24, formando o $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que é menos ativo no transporte de cálcio intestinal (Peixoto et al., 2012), porém, têm sua função ligada à integridade do sistema ósseo, sendo modulador dos condrócitos na placa de crescimento (Boyan et al., 2003; Torres, 2008).

A enzima 24- α -hidroxilase também desempenha ações catabólicas do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que termina com a excreção do ácido calcitroico na bile, que é a forma de excreção da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Navarro-Moreno & Alia-Ramos, 2005).

Utilizando vitamina D₃ e seus diferentes metabólitos (colecalfiferol, 25(OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃), Garcia et al. (2013) avaliaram diferentes metabólitos de vitamina D₃, igualando-os em unidades internacionais e não encontraram diferenças para os parâmetros ósseos. Da mesma forma, Rath et al. (2007) induziram a discondroplasia tibial em frangos de corte e avaliaram a eficiência dos diferentes metabólitos na homeostase do cálcio. Porém, não houve diferença nas respostas entre os metabólitos.

Mesquita (2012) utilizou diferentes fontes de vitamina D₃ (colecalfiferol e 25(OH) D₃) para frangos de corte, isoladas e em associações, e observaram que com o 25(OH)D₃, em todas as formas de suplementação, promoveu uma melhora para os parâmetros ósseos.

No entanto, a vitamina D₃ também possui atuação sobre o sistema imune indicada, na maior parte das vezes, pela presença do VDR na maioria das células do sistema imune, atuando sobre a inibição da liberação de imunoglobulinas pelos linfócitos B, inibindo a produção de interleucinas, estimulando a fagocitose de macrófagos e monócitos e atuando sobre a atividade antígeno-específico (Bertolini & Tzanno-Martins, 2000; Combs Jr, 2008).

Além disso, vitamina D₃ também participa de outros processos da imunidade celular, como a resposta basofílica, que se constitui de uma resposta timo-f mediada por células T (Aslam et al., 1998).

As aves são capazes de particionar a utilização vitamina D₃ em função de seu estado de saúde, além disso, a resposta imune primária é uma resposta fraca. A vitamina D₃ favorece o desenvolvimento de linfócitos Th2, que induzem o crescimento e diferenciação celular e que, conseqüentemente, induzem a produção de imunoglobulinas. Dessa maneira, quando houver resposta secundária, esta tende a ser mais rápida, com grande produção de anticorpos específicos (Chou et al., 2009).

1.3. Utilização de metabólitos da vitamina D₃ em frangos de corte

A utilização de metabólitos da vitamina D₃ é uma realidade na avicultura, principalmente no intuito de melhorar o desempenho e qualidade óssea das aves de forma que a administração desses metabólitos ocorra de maneira “on top”, ou seja, além da exigência de vitamina D₃ para as funções basais já contida nos suplementos mineral e vitamínicos utilizados.

Comercialmente, existem disponível para utilização em frangos de corte o metabólito 25(OH)D₃, que é a principal forma de armazenamento de vitamina D₃, o 1,25(OH)₂D₃, que é o metabólito ativo da vitamina D₃ e o 1α(OH)D₃, hidróxi-análogo da vitamina D₃. O intuito de oferecer fontes mais ativas de vitamina D₃, sugere que o organismo gastará menos energia para metabolizar esta vitamina, visto que algumas reações serão dispensadas, de forma que pode ser mais eficiente a utilização.

A utilização de metabólitos da vitamina D₃ foi estudada por Garcia et al. (2013) incluindo os metabólitos em rações insentas de vitamina D₃, igualando-se as unidades internacionais, como resultado o D₃, o 25(OH)D₃ e o 1,25(OH)₂D₃ apresentaram resultados semelhantes para desempenho, parâmetros ósseos e qualidade de carne.

O 25(OH)D₃ possui uma maior eficiência de utilização na fase inicial, visto que as aves não desenvolveram totalmente um sistema enzimático para hidroxilação da vitamina no fígado (Swiatkiewicz et al. 2006). Naas et al. (2012) avaliaram a utilização 25(OH)D₃ sobre a incidência de discondroplasia tibial e problemas de perna em frangos de corte e observaram uma melhora. Da mesma forma, Brito et al. (2010) encontraram uma melhora no desempenho com a suplementação de 25(OH)D₃ para frangos de corte.

Para Cheng et al. (2004), a utilização de extratos de *Solanum glaucophyllum*, o qual contém o 1,25(OH)₂D₃, para frangos de corte, restauraram a síntese de proteína transportadora de cálcio, aumentando, conseqüentemente, a absorção de cálcio em situação de deficiência de vitamina D₃.

A adição de 1α(OH)D₃ melhorou o crescimento e a mineralização óssea da tibia de frangos de corte (Han et al. 2012), porém, afetou negativamente o desempenho (Han et al. 2009), estando sua eficácia ligada às concentrações de cálcio e fósforo (Driver et al. 2005).

1.4. Interação entre vitamina A e D₃ no metabolismo de frangos de corte

Essenciais ao organismo, as vitaminas A e D₃ estão envolvidas em inúmeras funções vitais, como crescimento, reprodução, desenvolvimento embrionário e sistema imune (Aburto & Britton, 1998). Além disso, são de extrema importância no organismo das aves, principalmente para homeostase do cálcio e fósforo, modulação, deposição e mobilização nos ossos (Aburto et al., 1998; Lohakare et al., 2005).

Os principais metabólitos bioativos da vitamina A e D₃ são o ácido retinoico e o 1,25(OH)₂D₃, respectivamente (Taylor et al., 1968; Garcia et al., 2013). Diferente da vitamina D₃, o organismo não possui capacidade para sintetizar vitamina A (Chagas et al., 2003), de modo que deve ser suplementada na dieta. Porém, a suplementação de vitamina D₃ é obrigatória em criações de frango de corte, devido à dificuldade de exposição direta aos raios solares (Garcia et al., 2013).

Tanto em excesso, quanto deficiente, a vitamina A pode trazer prejuízos aos animais, interferindo na produção e metabolismo da vitamina D₃, pois além de estar envolvida nos mecanismos de liberação de PTH e, conseqüentemente, na síntese de 1,25(OH)₂D₃, atua na mobilização óssea, suprimindo a atividade dos osteoblastos e estimulando a formação dos osteoclastos (Rifka et al., 2011), através da permeabilidade de enzimas lisossomais, que por sua vez liberam enzimas proteolíticas que promovem a remodelação óssea, de modo que na ausência de vitamina A, predomine o efeito osteogênico deformando o esqueleto (Douglas, 2006).

Além disso, a vitamina A é requerida pela enzima citocromo P-450 e uma vez que as enzimas 25-hidroxilase e 1- α -hidroxilase são enzimas citocromo dependente de P-450 é possível que os níveis tóxicos da vitamina A interfiram na síntese dos metabólitos da vitamina D₃ através do P-450. A hidroxilação da vitamina D₃ depende da ação da enzima NADP-citocromo dependente (P450-redutase) tendo seu desenvolvimento no sistema microsomal hepático e sua ação é dependente da concentração de 25(OH)D₃ armazenado (Barral et al., 2007).

A habilidade dos receptores durante a expressão gênica podem explicar o sinergismo ou antagonismo entre o ácido retinoico e o 1,25(OH)₂D₃ (Tsonis et al., 1996). A vitamina A atua como antagonista a vitamina D₃ em resposta a absorção de cálcio no intestino e mobilização óssea, o qual pode ser aumentado em situações de deficiência de vitamina D₃. Em situações de hipervitaminose A pode ocorrer uma hipercalcemia ocasionada devido ao aumento de mobilização óssea (Johansson & Melhus, 2001).

Os efeitos biológicos da vitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) são mediados por seu receptor (VDR) e na vitamina A (ácido retinoico) são mediados por seu receptor RXR. O VDR e o RXR pertencem à superfamília dos receptores nucleares de hormônios que controlam a transcrição da qual o receptor X do ácido retinoico (RXR) também fazem parte, para ativação da resposta (Lemon et al., 1997; Johansson & Melhus, 2001). O 1,25(OH)₂D₃ na célula interage com o receptor VDR, que age por meio de

heterodimerização com uma das três isoformas do receptor de retinoide (RXR). Dessa maneira, em sua estrutura ele apresenta domínios específicos para o acoplamento com o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, heterodimerização com RXR, ligação ao DNA e ativação da transcrição (Rhode et al. 1999). Esse complexo e heterodimerizado com o RXR e este heterodímero $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR-RXR acopla-se a uma sequência específica de DNA nos seus genes alvos denominada VDREs (elementos resposta da vitamina D). Em seguida ocorre o recrutamento do fator transcricional IIB e cofatores, iniciando a transcrição (Ornsrud et al., 2009; Perez-Lopes et al., 2009).

Entretanto, o ácido retinoico também induz a formação de um heterodímero com seu receptor retinoide, aumentando a transcrição de elementos resposta da vitamina A (RXREs) e assim diminuindo a afinidade do RXR:VDR (Lemon et al., 1997), sugerindo a via de antagonismo entre estas duas vitaminas quando desbalanceadas.

A atuação do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e o ácido retinoico, através de seus receptores, pode iniciar ou reprimir a transcrição de um gene, requerendo proteína RXR para a transcrição, dessa forma, quando em excesso, a vitamina A pode utilizar a maior parte das proteínas RXR, comprometendo a ação da vitamina D_3 , sendo, portanto, antagonistas, interferindo sobre a absorção, transporte e conversão a sua forma ativa. No entanto, em níveis adequados podem atuar de forma sinérgica (Rhode et al., 1999).

Dessa forma as vitamina A e a D_3 podem expressar genes ligados ao metabolismo de cálcio e fósforo, o principal ponto chave de ligação entre estas duas vitaminas induzindo a efeitos biológicos via afinidade de fatores de transcrição.

1.4.1. Vitamina A e vitamina D_3 e o metabolismo ósseo

O $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em excesso tem o poder de causar má formação óssea, além disso, pode induzir a expressão de colágeno, osteocalcina, proteína matrix GLA, fosfatase alcalina e canal epitelial de cálcio. No entanto, o ácido retinoico possui um efeito antagônico ao $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inibindo a expressão de osteocalcina, diminuindo a produção de colágeno e aumentando a produção de collagenases.

Embora a vitamina A em excesso ou deficiência possa exercer grande influencia sobre o metabolismo da vitamina D_3 e conseqüentemente no metabolismo ósseo (Clark & Smith, 1964; Tsonis et al., 2000), poucos trabalhos explicam como esta interação ocorre e o que como isto pode interferir nas exigências de cálcio.

A importância destas vitaminas para frangos de corte foi descrita por Taylor et al. (1968), que avaliaram a interação de quatro níveis de vitamina D₃ e quatro níveis de vitamina A e observaram que os maiores níveis de ambas as vitaminas causaram redução no crescimento e alterações nos parâmetros séricos de cálcio, fósforo e fosfatase ácida, fatores envolvidos no metabolismo ósseo. Da mesma forma, Aburto e Britton (1998) relataram que a vitamina A em altos níveis, combinada a níveis baixos de vitamina D₃ diminuíram as cinzas ósseas e aumentaram a incidência de problemas de perna.

O estudo de ambas as vitaminas em salmão por Ornsrud et al., (2009) mostrou que o ácido retinoico inibe a formação da matriz óssea e ativa os genes envolvidos na mineralização desta matriz. A supressão dos níveis de 1,25(OH)₂D₃ poderia explicar, em parte, os efeitos da vitamina A nos ossos.

Níveis de 1500 a 15000 UI de vitamina A para frangos de corte, melhoraram o ganho de peso e a conversão alimentar das aves (Niu et al., 2009). Entretanto, Britton (1992) trabalhando com três níveis de vitamina A (5.000; 50.000 e 150.000UI/kg) em combinação com dois níveis de vitamina D₃ (0 ou 1000 ICU), verificou que níveis de vitamina A diminuíram as cinzas nas tíbias em dietas sem vitamina D₃, porém, não observaram efeito da vitamina A sobre o desempenho das aves.

Avaliando a interação entre vitamina A e vitamina D₃ no metabolismo e mineralização óssea, Johansson & Melhus (2001) comprovaram o efeito antagônico entre as duas vitaminas para resposta ao cálcio no intestino. Além disso, o mecanismo de regulação da expressão gênica para osteocalcina envolve a heteromerização induzida por 1,25(OH)₂D₃, VDR e RXR (MacDonald et al., 1993).

A fim de avaliar o efeito da vitamina A e D₃ sobre o desempenho e a incidência de discondroplasia tibial (DT) em frangos, Luo & Huang (1991) mostraram interação de ambas as vitaminas para a concentração de cálcio sérico. Porém, não houve interação para a incidência de DT. Entretanto, Walter (1992) demonstrou que a DT aumentou em pintos alimentados com dietas deficientes em vitamina D₃ e com excesso de vitamina A, afirmando que o excesso de vitamina A influencia nas exigências de vitamina D₃. A incidência de DT relacionada ao excesso de vitamina A também foi comprovada por Whitehead et al. (2004) e Li et al. (2008).

Utilizando diferentes concentrações de vitamina D₃ (5, 20, 125 e 250 mg/kg), combinadas a diferentes concentrações de cálcio, fósforo e vitamina A, Whitehead et al. (2004) determinaram que a vitamina A nos níveis de 2,4 a 4,5 mg de retinol/kg não

mostraram interação com a vitamina D₃. No entanto, as respostas da vitamina D₃ foram fortemente influenciadas pelo cálcio e fósforo da dieta.

1.4.2. Vitamina A e vitamina D₃ e o sistema imune

O sistema imune tem como objetivo a defesa do organismo contra agentes estranhos. Este sistema de defesa ocorre por, basicamente, dois mecanismos: a resposta imune inata e resposta imune adaptativa.

Considerada a primeira defesa do organismo, a resposta imune inata é constituída por barreiras físicas e biológicas, compreendendo moléculas e células capazes de combater o antígeno nos primeiros estágios de infecção, como macrófagos e neutrófilos, fagocitando moléculas estranhas e outros mecanismos de ação como as células NK (natural killer), que induzem células infectadas ou tumorais a apoptose e também eosinófilos, capazes de aderir a parede dos parasitas com o intuito de lisá-los. Este sistema pode não ser eficiente desencadeando a resposta imune adaptativa que se inicia com células que capturam antígenos e micro-organismos e induzem a resposta de linfócitos T, estimulando a proliferação e diferenciação de linfócitos e liberação de citocinas a longo prazo (Erf, 1998).

O sistema imune se divide em humoral e celular. A resposta imune humoral consiste na participação de anticorpos como imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA), capazes de neutralizar e até destruir antígenos. São secretados por plasmócitos, que são derivados de linfócitos B, sendo estes os principais responsáveis pela resposta humoral. Os antígenos envolvidos na resposta podem ser T-dependentes ou T-independentes de células T auxiliares ou T-Helper. Da resposta imune celular participam linfócitos T ou T-Helper, podendo este último induzir resposta imune celular ou humoral (Mesquita Jr et al., 2010).

A resposta imune pode ser modulada pela dieta, sendo que o status nutricional do animal é um importante fator que contribui para melhorar a imunocompetência do animal, atuando sobre o desenvolvimento do sistema imune das aves desde o ovo, visto que pode afetar o desenvolvimento de órgãos linfóides e proliferação de linfócitos (Maggini et al., 2007).

Existem alguns alimentos e nutrientes que interagem com a resposta imune, reduzindo a susceptibilidade a doenças, como é o caso de algumas vitaminas como a A

e a D, que tem ações diretas sobre a regulação da adesão de leucócitos aos receptores e na ação de citocinas secretadas (Rutz et al., 2000, Kogut, 2009).

Dessa forma, os efeitos das vitaminas A e D₃ não se limitam aos processos de calcificação, também são reguladoras essenciais da função imunitária, atuando de forma sinérgica com ação imunomodulatória, na regulação do sistema imune (Mora et al., 2008; Reilly et al., 2012). O receptor para vitamina D₃ geralmente forma um heterodímero com o receptor nuclear alfa retinoide que irá intermediar o receptor do ácido retinoide via sinalização. Também atuam na geração de células Th17, que são de grande importância no controle de doenças autoimunes (Ikeda et al., 2010; Ovsyannikova et al., 2012). Regulam a ativação e proliferação de linfócitos, diferenciação de linfócitos T-helper, produção de anticorpos específicos e regulação da resposta imune (Mora et al., 2008).

A vitamina A está associada à manutenção de epiderme e mucosas, afetando principalmente a imunidade inata, porque age sobre o muco no trato respiratório, gastrointestinal e urinário. Quando em deficiência causa uma diminuição nos queratinócitos e alterações histopatológicas que levam a destruição de barreiras físicas contra micro-organismos. Além disso, prejudica o crescimento e a função dos linfócitos B, pois deprime a resposta dos linfócitos T (Krishnan et al., 1974, Dalloul et al., 2002).

A deficiência de vitamina A pode comprometer a resposta imune inata e adaptativa atuando sobre linfócitos B e T, reduzem a resposta a anticorpos IgG e IgA e atividade de células NK, levando a um sistema imune com baixa função imunorregulatória (Vlasova et al., 2013), além de reduzir a atividade fagocítica de macrófagos (Maggini et al., 2007). Já o excesso, também reduz a resposta imune e aumenta a proliferação de células T (Macari et al., 2002).

Apesar de rações a base de milho conterem β -caroteno, que se constitui em provitamina A, uma baixa função imunorregulatória faz com que esta conversão não seja eficiente, diminuindo a absorção de vitamina A (Bhuiyan et al., 2004).

Para Lessard et al. (1997) a utilização de níveis de 15000UI/kg de vitamina A na dieta garantiram melhor resposta imune humoral e celular. De acordo com Kidd (2004), a deficiência de vitamina A é associada a redução na resposta imune celular e o excesso pode prejudicar principalmente a resposta a anticorpos.

A vitamina D tem suas funções no sistema imune indicada pela presença de VDR na maior parte das células do sistema imune, sendo conhecido como um poderoso imunorregulador, possuindo ação sobre monócitos, macrófagos e alguns estágios de

diferenciação das células linfóides, possuindo ação sobre a proliferação, diferenciação e funcionamento das células do sistema imune (Guillot et al., 2010).

O calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) age como imunomodulador estimulando a expressão de peptídeos específicos presentes em neutrófilos, monócitos, células NK e células epiteliais protegendo contra infecções (Maggini et al., 2007).

Os efeitos da vitamina D_3 sobre a resposta imune foram avaliados por Aslam et al. (1998), que observaram a influência na resposta imune celular, sem afetar a resposta imune humoral, sugerindo que a deficiência de vitamina D_3 pode reduzir a imunocompetência mediada por células T em frangos de corte. Segundo Bhalla et al. (1983), a vitamina D_3 age regulando as funções do sistema imune no organismo, pois além da presença de VDR em diversos órgãos, também existe a presença da enzima 1- α -hidroxilase, indicando que existe a conversão de $25(\text{OH})\text{D}_3$ em $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em diversas células do sistema imune.

1.4.3. Vitamina A e vitamina D_3 e a qualidade de carne

No pós-abate ocorre a proteólise miofibrilar pelas calpaínas, as quais têm uma importante influência na qualidade final da carne, um grupo de proteínas proteolíticas que são ativadas na presença de cálcio. As proteínas μ - e m - calpaína são as principais responsáveis pela degradação miofibrilar. Este sistema é ativado pelo cálcio que é liberado no animal vivo principalmente sob influência da vitamina D_3 (Turner et al., 2011).

Do cálcio absorvido, parte vai para a corrente sanguínea e é utilizado em diferentes funções, enquanto outra parte é depositado nos músculos (Enright et al., 1999; Stan et al., 2003), onde será utilizado pelas enzimas proteolíticas dependentes de cálcio, como as calpaínas, importantes no processo de amaciamento da carne (Koochmaraie, 1993).

A coloração da carne é influenciada pelo teor de mioglobina, forma química e estrutura da carne, além da composição das fibras, oxidativas (vermelhas) e glicolíticas (brancas) (Lindahl et al., 2001).

A vitamina A possui influência sobre o desenvolvimento do tecido adiposo. Além disso, pode afetar as propriedades da carne fresca e cozida, como a força de cisalhamento, considerada importante para a maciez da carne (Bramblett, 1971, Akio et

al., 1998; Daniel et al., 2009). Uma deficiência de vitamina A interfere na estrutura dos tecidos aumentando a força de cisalhamento (Sundeen et al., 1980).

Em níveis tóxicos a vitamina A leva a uma queda mais lenta de pH *post mortem* e aumento de enzimas lisossomais no fígado (Pommier, 1992). Daniel et al. (2009) verificaram uma queda mais lenta no pH resultante da glicólise *post mortem* e aumento da luminosidade (Lindahl et al., 2001), esta luminosidade em valores acima de 52 podem determinar uma carne PSE (Gaya & Ferraz, 2006).

A vitamina A pode ser produzida através de carotenoides presentes na dieta, que são elementos presentes em dietas à base de milho, não sintetizados de forma endógena pelos animais. Além de precursores de vitamina A, possuem a capacidade de alterar a coloração da carne e carcaça, uma vez que são pigmentos (Álvarez et al., 2014).

A administração de vitamina D₃ a bovinos antes do abate aumentou a maciez através de uma maior mobilidade do cálcio ativando a ação das calpaínas, que levou a um aumento na proteólise da carne, resultando no amaciamento (Montgomery et al. (2000). O mesmo foi observado por Swanek et al. (1999), melhorando a força de cisalhamento devido a um aumento de cálcio no músculo, aumentando a capacidade das proteases dependentes de cálcio em degradar troponina T.

Outro ponto é a correlação que existe entre os parâmetros de qualidade de carne. A maciez da carne possui uma alta correlação com o pH que por sua vez está correlacionado com a coloração da carne, também possui relação com a maciez (Koochmaraie, 1992). A vitamina D₃ possui um efeito antagônico com o cortisol, de forma que o aumento do cortisol, associado ao estresse, afetam a qualidade da carne (Barreto et al., 1982). Para Enright et al. (2004), a vitamina D₃ em maiores níveis, proporcionou maior coloração da carne de suínos, sem afetar a força de cisalhamento.

As vitaminas A e D₃, possuem influencia no metabolismo de cálcio e este possui grande relação com a qualidade de carne.

Através das informações acima, pode-se concluir que a vitamina A e a vitamina D₃ possuem uma interrelação que deve ser melhor estudada com o intuito de melhorar a produção, desempenho, qualidade carne, variáveis ósseas e agente imunoestimulante.

LITERATURA CITADA

Aburto A., and W. M. Britton. 1998. Effects and interactions of dietary levels of vitamin A and E and cholecalciferol in broiler chickens. *Poult. Sci.* 77: 666–673.

- Aburto, A., H. M. Edwards Jr., and W. M. Britton. 1998. The Influence of vitamin A on the utilization and amelioration of toxicity of cholecalciferol, 25 hydroxycholecalciferol, and 1,25-dihydroxycholecalciferol in young broilerchickens. *Poult. Sci.* 77: 585–593.
- Akio, O., Y. Maruo, T. Miki, T. Yamasaki, T. Saito. 1998. Influence of vitamin A on the quality of beef from the Tajima strain of Japanese Black cattle. *Meat Sci.* 48: 159-167.
- Álvarez, R., I. M. Vicario, and A. J., Meléndez-Martinez. 2014. Effect of different carotenoid-containing diets on the vitamin A levels and colour parameters in Iberian pigs' tissues: utility as biomarkers of traceability. *Meat Sci.* 98: 187–192.
- Aslam, S. M., J. D. Garlich, and M. A. Qureshi. 1998. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. *Poult. Sci.* 77: 842–849.
- Barral, D., A. C. Barros, and R. P. C. Araújo, R.P.C. 2007. Vitamina D: uma abordagem molecular. *Pesqui. Bras. Odontopediatria Clin. Integr.* 7: 309-315.
- Barreto, E.M.G., R. S. Pinto, and T. Okamoto. 1982. Influência da vitamina D₃ no processo de reparo em ferida de extração dental: estudo clínico e histológico em ratos. *Rev. odontol.* 11: 91-100.
- Beitume, P.E., G. Duarte, and S. M. Quintana. 2004. Deficiência de vitamina A. *Rev. Bras. Med.* 16:53-59.
- Bertolini D.L, and C. Tzanno-Martins. 2000. Revisão: efeitos imunomoduladores da vitamina D. *J. Bras. Nefrol.* 22: 157-161.
- Bhalla, A. K., E. P. Amento, T. L. CLEMENS, M. F. Hollick, and S. M. Crame. 1983. Specific high-affinity receptors for 1,25 dihydroxyvitamin D₃ in human peripheral blood mononuclear cells: Presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 57: 1308-1310.
- Bhuiyan, M. M., J. Cho, G. Jang, E. Park, S. Kang, B. Lee and H. Wang. 2004. Effect of transfection and passage number of ear fibroblasts on in vitro development of bovine transgenic nuclear transfer embryos. *J. Vet. Med. Sci.* 66: 257-261.
- Boyan, B.D., V. L. Sylvania, D. D. Dean, F. Del Toro, and J. Scharz. 2002. Differential regulation of growth plate membrane receptor-activated phospholipid metabolism. *Crit. Rev. Oral. Bio. Med.* 13:143-154.
- Bramblett V.D., T. G. Martin, R. B., Harrington and C. G. Evans. 1971. Breed, vitamin A supplementation and position effects on quality characteristics of beef short loin steaks. *J. Anim. Sci.* 33:349-354.
- Brito, J. A. G., A. C. Bertechini, E. J. Fassani, P. B. Rodrigues, E. M. C. Lima, and C. Meneghetti. 2010. Efeito da vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. *R. Bras. Zootec.* 39:2656-2663.
- Britton, W.M. 1992. Dietary vitamin A effect on broiler chick cholecalciferol requirement. *Poult. Sci.* 71(Suppl.1) (Abstr.).
- Butera, S. T. and S. Krakowka. 1986. Assessment of lymphocyte function during vitamin A deficiency. *Am. J. Vet. Res.* 47: 850–855.
- Chagas, M. H. C., H. Flores, F. A. C. S.; Campos, R. A. Santana and E. C. B. Lins. 2003. Teratogenia da vitamina A. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.* 3: 247-252.
- Cheng, T. Y., Lacroix, A. Z., Beresford, S. A. G. E. Goodman, M. D. Thorquist, Y, Zheng, R. T. Chlebouskiet, G. I. Ho, and M. L. Neuhausser. 2013. Vitamin D intake and lung cancer risk in the Women's Health Initiative. *Am. J. Clin. Nutr.* 98: 1002–1011.
- Chou, S.H., T. K. Chung, and B. Yu. 2009. Effects of supplemental 25-hydroxycholecalciferol on growth performance, small intestine morphology, and immune response of broiler chickens. *Poult. Sci.* 88: 2333-2341.
- Clark, I and M. R. Smith. 1964. Effects of hypervitaminosis A and D on skeletal metabolism. *J. Biol. Chem.* 239:1266-1271.

- Combs Jr, G.F. 2008. The vitamins – Fundamental aspects in nutrition and health. 3.ed. New York: Elsevier Academic Press, 583p.
- D'Ambrosio, D. N.D., R. D. Clugston, and W. S. Blaner. 2011. Vitamin A metabolism: na update. *Nutrients*. 3: 63-103.
- Dalloul, R.A., H. S. Lillehoj, T.A. Shellem and J. A. Doeer. 2002. Effect of vitamin A deficiency on host intestinal immune response to *Eimeria acervulina*. in broiler chickens. *Poult. Sci.* 81:1509-1515.
- Daniel, M. J., M. E. Dikeman, A. M. Arnett, A.M. and M. C. Hunt. 2009. Effects of dietary vitamin A restriction during finishing on color display life, lipid oxidation, and sensory traits of Ingissimus and triceps brachii steaks from early and traditionally weaned steers. *Meat Sci.* 81:15-21.
- Debier, C. and Y. Larondelle. 2005. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br. J. Nutr.* 93:153-174.
- Deluca, H. F. and H. K. Schnoes. 1976. Metabolism and mechanism of action of vitamin D. *Annu. Rev. Biochem.* 45:631-666.
- Douglas, C. R. 2006. *Fisiologia Aplicada À Nutrição*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1124p.
- Driver, J.P, G. M. Pesti, R.I. Bakalli and W. M. Edwards Jr. 2005. Calcium requirements of the modern broiler chicken as influenced by dietary protein and age. *Poult. Sci.* 84:1629-1639.
- Edwards Jr, H. M. 1989. The effect of dietary cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol and 1,25-dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens in the absence and presence of disulfiram. *J. Nutr.* 119:647-652.
- Enright K., M. Ellis, F. Mckeith, L. Berger, D. Baker, and B. Anderson. 1999. The influence of level of dietary vitamin D₃ supplementation and post-mortem aging time on pork quality. *University of Illinois Swine Research Repot.* 5:1141-1148.
- Erf, G. F., W. G. Bottje, and T. K. Bersi. 1998. CD4, CD8, and TCR defined T cell subsets in thymus and spleen of 2- and 7-week-old commercial broiler chickens. *Vet. Immunopathol.* 30:339-348.
- Frankel T. L., M. S. Seshadri, D. B. Mcdowall, C. J, Cornish. 1986. Hypervitaminosis A and calcium-regulating hormones in the rat. *J. Nutr.* 116:578–587.
- Friedman, A. and D. SKLAN. 1989. Antigen-specific immune response impairment in the chick as influenced by dietary vitamin A. *J. Nutr.* 119:790-795.
- Friedman, A., A. Meidovsky, G. Leitner, and D. Sklan. 1991. Decreased resistance and immune response to *Escherichia coli* infection in chicks with low or high intakes of vitamin A. *J. Nutr.* 121:395-400.
- Garcia, A.F.Q.M., A. E. Murakami, C. R. A. Duarte, I. C. Ospina-Rojas, K. P. Picolli and M. M. Puzotti. 2013 Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26: 408-415.
- Gaya, L. G. and J. B. S. Ferraz. 2006. Aspectos genético-quantitativos da qualidade da carne em frangos. *Ciênc Rural.* 36: 349-356.
- Guillot, X., L. Semerani, N. Saidenberg, G. Falgarone and M. C. Boissier. 2010. Vitamin D and inflammation. *Joint Bone Spine.* 77:552-557.
- Guo, X., S. Yan, B. Shi, and Y. Feng. 2011. Effect of Excessive Vitamin A on Alkaline Phosphatase Activity and Concentrations of Calcium-binding Protein and Bone Gla-protein in Culture Medium and CaBP mRNA Expression in Osteoblasts of Broiler Chickens. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 24: 239 – 245.
- Han J. C., Wang Y. L., Qu H. X., Liang F., Zhang J. L., Shi C. X., Zhang X. L., Li and Q. Xie. 2012. One alpha-hydroxycholecalciferol improves growth performance, tibia

- quality, and meat color of broilers fed calcium- and phosphorus-deficient diets. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 25:267–271.
- Han, J.C.; X.D. Yang, T. Zhang, H. Li, W.L. Li, Z.Y. Zhang and J.H. Yao. 2009. Effects of 1α -hydroxycholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one-to-twenty-one-day-old broilers. *Poult. Sci.* 88:2. 323-329.
- Ikeda U., D. Wakita. T. Ohkuri, K. Chamoto, H. Kitamura, Y. Iwakura and T. Nishimura. 2010. $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D_3 and all-trans retinoic acid synergistically inhibit the differentiation and expansion of Th17 cells. *Immunol. Letters.* 34: 7-16.
- Johansson, S. and H. Melhus. 2001. Vitamin A antagonizes calcium response to vitamin D in man. *J. Bone Miner. Res.* 16:1899–1905.
- Kidd M. T. 2004. Nutritional modulation of immune function in broilers. *Poult. Sci.* 83: 650-657.
- Kogut M. H. 2009. Impact of nutrition on the innate immune response to infection in poultry. *J. Appl. Poult. Res.* 18:111-124.
- Koohmaraie, M. 1993. The role of the neutral proteinases in post-mortem muscle protein degradation and meat tenderness. *Proc. Recip. Meat Conf.* 45:63-71.
- Krishnan, S., U. N. Bhuyan, G. P. Talwar, and V. Ramalingaswami. 1974. Effect of vitamin A and protein-calorie undernutrition on immune responses. *Immunology.* 27:383-392.
- Lemon, B., J. Fondell, and L. P. Freedman. 1997. Retinoid X Receptor: Vitamin D_3 Receptor Heterodimers Promote Stable Preinitiation Complex Formation and Direct $1,25$ -Dihydroxyvitamin D_3 -Dependent Cell-Free Transcription. *Mol. Cell. Biol.* 17:1923-1937.
- Lessard, M., D. Hutchings, and N. Cave. 1997. Cell-mediated and humoral immune responses in broiler chickens maintained on diets containing different levels of vitamin A. *Poult. Sci.* 76:1368-1378.
- Lesson, S. and J. D. Summers. 2001. *Nutrition of the chicken.* 4.ed. Guelph: University Books, 591p.
- Li, J., D. Bi, S. Pan, Y. Zhang and D. Zhou. 2008. Effects of high dietary vitamin A supplementation on tibial dyschondroplasia, skin pigmentation and growth performance in avian broilers. *Res. Vet. Sci.* 84:409–412.
- Lin, H., L. F. Wang, J. L. Song. Y. M. Xie, and Q. M. Yang. 2002. Effect of Dietary Supplemental Levels of Vitamin A on the Egg Production and Immune Responses of Heat-Stressed Laying Hens. *Poult. Sci.* 81:458–465.
- Lindahl, G., K. Lundstrom, and E. Tornberg. 2001. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Sci.* 59:141-151.
- Lohakare, J. D., J. Y. Choi, J. K. Kim, J. S. Yong, Y. H. Shim, T. M. Hawn, and B. J. Chae. 2005. Effects of dietary combinations of vitamin A, E and methionine on growth performance, meat quality and immunity in commercial broilers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 18:516-523.
- Luo, L. and J. Huang. 1991. Effects of vitamin A and D supplementation on tibial dyschondroplasia in broilers. *Anim. Feed Sci. Tech.* 34:21-27.
- Macari, M., R. L. Furlan, and L. Gonzales. 2002. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte.* Jaboticabal, Editora FUNEP/UNESP, 375p.
- Macdonald, P. M., D. R. Dowd, S. Nakajima, M. A. Galligan, M. C. Reeder, K. Ozato, and M. R. Haussler. 1993. Retinoids X receptors stimulate and 9-cis retinoic acids inhibits $1,25$ -dihydroxyvitamin D_3 -ativates expression on the rat osteocalcin gene. *Mol. Cell Biol.* 13:5907-5917.

- Maciel, A.A.F.L. 2007. Modulação do retinol na lesão da barreira morfofuncional induzida pela toxina a do *clostridium difficile* em cultura de células intestinais. Tese de Doutorado (Doutorado em farmacologia) 238p. Universidade Federal do Ceara.
- Maggini S., E. S. Wintergerst, S. Beveridge, and D. H. Hornig. 2007. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *Br. J. Nutr.* 1:29-35.
- Marieb, E.N. and K. Hoehn. 2009. Anatomia e Fisiologia, São Paulo, 3ª ed., ArtMed..
- Mcdowell, L. R. 1989. Vitamins in Animal Nutrition. ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Mesquita Junior, D., J. A. P. Araujo, T. T. T. Catelan, A. W. S. Souza, W. M. Cruvinel, L. E. C. Andrade, and N. P. Silva. 2010. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Rev. Bras. Reumatol.* 50:552-580.
- Mesquita, F.R. 2012. Níveis e formas de vitamina D em rações para frangos de corte. Tese de doutorado (Doutorado em zootecnia). 100p. Universidade Federal de Lavras.
- Moghaddam, H. S., H. N. Moghaddam, H. Kermanshahi, A. H. Monssavi, and A. Raji. 2010. The Effect of Vitamin A on Mucin2 Gene Expression, Histological and Performance of Broiler Chicken. *Global Veterinaria.* 5:168-174.
- Montgomery, J.L. F. C. Parrish, D. C. Beitz, R. L. Horzt, E. J. Hoff-Lonergan and A. H. Trenklee. 2000 The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 78:2615-2621.
- Mora J.R., M. Iwata, H. H. Von Andrian. 2008. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat. Rev. Immunol.* 8:685-698.
- Nääs I.A., M.S. Baracho, L.G.F. Bueno, D.J. Moura, R.A. Vercelino and D.D. Salgado. 2012. Use of Vitamin D to Reduce Lameness in Broilers Reared in Harsh Environments. *Braz. J. Poult. Sci.* 14:3, 159-232.
- Navarro-Moreno, M.A., and P. Alia-Ramos. 2006. Metabolismo óseo. Vitamina D y PTH. *Endocrinol. Nutr.* 53:199-208.
- Nelson, D. L. and M. M. Cox. 2000. Lehninger Principles of Biochemistry, 3rd ed.
- Niu, Z.Y., F. Z. Wei, X. G. Liu, X. G. Qin, Y. M. Min, and Y. P. Gao. 2009. Dietary vitamin A can improve immune function in heat-stressed broilers. *Animal.* 3:1442-1448.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1994. NRC-Nutrient requirements of poultry. 9.ed. Washington, DC: National Academic Press, 155p.
- Ørnsrud, E., E. J. Lock, and C. N. Glover. 2002. Retinoic acid cross-talk with 1,25(OH)₂ D₃ activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Endocrinol.* 202:473-482.
- Ovsyannikova I. G., L. H. Haralambieva, R.A. Vierkant, M. M. O'Braime, R. M. Jacobson, and G. A. Poland. 2012. Effects of vitamin A and D receptor gene polymorphisms/haplotypes on immune responses to measles vaccine. *Pharmacogenet Genomics.* 22:20-31.
- Peixoto, P. V., M. Klen, and T. N. França. 2012. Hipervitaminose D em animais. *Pesq. Vet. Bras.* 32:573-594.
- Perez-Lopez, F.R., A. Cano, J. Calaf, F. Vazquez, and J. F. Barriendos. 2009. Factores reguladores del recambio óseo:estrógenos y vitamina D. *Prog. Obstet. Ginecol.* 52: 99-108.
- Pfeifer M., B. Begerow, and H. W. Minne. 2002. Vitamin D and muscle function. *Osteoporos. Int.* 13:187-194.
- Pommier, S. A. 1992. Vitamin A, electrical stimulation and chilling rate effects on lysosomal enzyme activity in ageing bovine muscle. *J. Food Sci.* 57:30-35.
- Rao, S.V., M. V. L. N. Raju, and A. K. Panda. 2006. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. *J. Appl. Poultry Res.* 15:493-501.

- Rath, N.C., L. Kannan, P. B. Pillai, W. E. Huff, G. R. Huff, R. L. Horst, and J. L. Emmert. 2007. Evaluation of the efficacy of vitamin D₃ or its metabolites on thiram-induced tibial dyschondroplasia in chickens. *Res. Vet. Sci.* 83:244–250.
- Reece, W.O. 2006. *Dukes Fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856p.
- Reilly, L., N. Nausch, N. Midzi, M. Mduluzi, and L. Mutape. 2012 Association between Micronutrients (Vitamin A, D, Iron) and Schistosome-Specific Cytokine Responses in Zimbabweans Exposed to *Schistosoma haematobium*. *J. Parasitol. Res.* 2012, 9p.
- Rifka C. S., and J. W. Aron. 2011. Nutrition, Bone, and Aging: An Integrative Physiology Approach. *Curr. Osteoporos. Rep.* 9:184-195.
- Rohde C.M., M. Manatt, M. Clagett-Dame, and H. F. DeLuca. 1999. Vitamin A antagonizes the action of vitamin D in rats. *J. Nutr.* 129:2246-2250.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2011. *Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais*. Viçosa: UFV, 3ed. 185p. 2011.
- Rutz, F. 2000. Absorção de vitaminas. In: MACARI, M., FURLAN, R. L., GONZALES, E. *Fisiologia aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 149-165.
- Sakomura; N.K., M. Del Bianchi, J. M. Pizauro Jr., M. B. Café, E. R. Freitas. 2004. Efeito da idade dos frangos de corte na atividade enzimática e digestibilidade dos nutrientes do farelo de soja e da soja integral. *R. Bras. Zootec.* 33: 924-935.
- Shetty, P. 2010. *Nutrition, immunity and infection*. 206p. CABI Publishing.
- Solomin L, C. B. Johansson, R. H. Zetterström, R. P. Bissonnette, R. A. Heyman, L. Olson, U. Lendahl, J. Frisén, and T. Perlmann. 1998. Retinoid-X receptor signalling in the developing spinal cord. *Nature.* 395: 398-402.
- Stan, F. J. G., I. Boulart, J. G. J. Hoenderop, and R. J. Bindels. 2003. Regulation of epithelial Ca²⁺ channels TRPV5 and TRPV6 by 1 α 25-dihydroxy vitamin D₃ and dietary Ca²⁺. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 89-90:303-308.
- Sundeen, G., J. F. Richards, and D. B. Bragg. 1980. The effect of vitamin A deficiency on some post mortem parameters of avian muscle. *Poult. Sci.* 59:2225-2236.
- Swanek, S. S., J. B. Morgan, F. N. Owens, D. R. Gill, C. A. Strasia, H. G., Dolezal, and F. K. Ray. 1999. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases longissimus tenderness. *J. Anim. Sci.* 77:874-881.
- Świątkiewicz S., J. Koreleski and J. Kopowski. 2006. Effect of phytase and 25-Hydroxycholecalciferol on performance and bone quality in broiler chickens. *Medycyna wet.* 62:81–84.
- Taylor, T. G., K. M. L. Morrist, J. Kirkley. 1968. Effects of dietary excesses of vitamins A and D on some constituents of the blood of chicks. *Br. J. Nutr.* 22:713 713.
- Toledo, G.S., P. Kloeckener, J. Lopes, and P. T. Costa. 2006. Níveis das vitaminas A e E em dietas de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. *Ciên. Rural.* 36:624-629.
- Torres, C. 2008. Desempenho produtivo de reprodutoras de frangos de corte suplementadas com 25-hidroxicolecalciferol. 100f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Curso de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Tsonis P. A., M. T. Trombley, T. Rowland, R. A. Chandraratna, and K. Rio-Tsonis. 2000. Role of retinoic acid in lens regeneration. *Dev. Dyn.* 219:588–593.
- Turner, T, J. Pickova, P. Ertbjerg, H. Lindqvist, E. Nadeau, L. Hymoller, and K. Lundstro. 2011. Influence of vitamins A, D₃ and E status on post-mortem meat quality in steers under winter housing or pasture finishing systems. *Animal.* 5:1141-1148.
- Veltmann, J. R., L. S. Jensen, and G. N. Rowland. 1986. Excess dietary vitamin A in the growing chick: effect of fat source and vitamin D. *Poult. Sci.* 65:153–163.

- Vlasova, A.N., S.C. Kuldeep, K. Sukumar, C.S. Siegismund and L.J. Saif. 2013. Prenatally acquired vitamin A deficiency alters innate immune responses to human rotavirus in a gnotobiotic pig model. *J. Immunol.* 190(9): 4742–4753.
- Walter, C. 1992. Interação entre as vitaminas A, D3 e E à tres níveis, nas dietas de frangos de corte (1-49 dias). 66f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria.
- Whitehead, C. C., H. A McCormack, L. Mctair, and R. H. Fleming. 2004. High vitamin D₃ requirements in broilers for bone quality and prevention of tibial dyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitamin A. *Br. Poult. Sci.* 45: 425–436.
- Whitehead, C.C. 1992. Bone biology and skeletal disorders in poultry. 374p.

II. OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos de metabólitos da vitamina D₃ e a interação vitamina A e vitamina D₃ na alimentação de frangos de corte

Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos de metabólitos da vitamina D₃ (D₃, 25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃, 1α(OH)D₃) em diferentes níveis e *on top* na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, parâmetros ósseos e morfometria intestinal (Cápítulo III*);
- Verificar a possível interação entre vitamina A e vitamina D₃, no período total de criação (1 a 42 dias), sobre o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de frangos de corte (Capítulo IV*);
- Avaliar a possível interação entre vitamina A e vitamina D₃, no período total de criação (1 a 42 dias), sobre as variáveis ósseas, perfil bioquímico e sistema imune de frangos de corte (Capítulo V*).

III. METABÓLITOS DE VITAMINA D₃ EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL

RESUMO – Dois experimentos foram realizados com objetivo de avaliar níveis de metabólitos da vitamina D₃, e após a definição do melhor nível foram adicionados três metabólitos “*on top*” (associados a vitamina D₃) na dieta de frangos de corte sobre o desempenho, qualidade óssea e morfometria intestinal. No **experimento I**, para avaliar níveis de metabólitos da vitamina D₃ sobre o desempenho, variáveis ósseas e morfometria intestinal, foram utilizados 1.344 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em um esquema fatorial 2x4, sendo dois metabólitos da vitamina D₃ (D₃ e 1,25(OH)₂D₃) e quatro níveis (200, 950, 1.700 e 2.400 UI de vitamina D₃/kg de ração) em ambos, com seis repetições e 28 aves por unidade experimental. Não houve interação (p>0,05) entre os metabólitos e os níveis de vitamina D₃ para nenhuma das variáveis avaliadas. O consumo de ração e o ganho de peso (1 a 21 dias) apresentaram efeito quadrático (p<0,05), com maior consumo de ração e melhor ganho de peso estimado em 1.772,39 e 1.760,14 UI/kg, respectivamente. Para peso relativo dos órgãos aos 7 dias, observou-se efeito linear crescente (p<0,05) para intestino delgado em relação ao aumento de vitamina D₃ na dieta e aos 21 dias o peso relativo do fígado foi influenciado de forma quadrática (p<0,05), com maiores pesos estimados em 1.811,40 UI/kg. Dentre os diferentes metabólitos, a vitamina D₃ apresentou melhor ganho de peso (p<0,05), maior comprimento de intestino (p<0,05) e menor peso de fígado (p<0,05) aos 21 dias comparada ao metabólito 1,25(OH)₂D₃. Para as variáveis ósseas, houve efeito linear crescente para cinzas (p<0,05) aos 7 e 21 dias em função dos níveis de vitamina D₃ e efeito quadrático para resistência óssea, com melhor resultado estimado em 1.768,49 UI/kg. As porcentagens de cálcio nas cinzas aos 7 dias, de fósforo nas cinzas e cálcio sérico aos 21 dias foram influenciadas de forma linear crescente (p<0,05) em função dos níveis de vitamina D₃. As demais variáveis não foram influenciadas pelos diferentes níveis de vitamina D₃ (p>0,05). No **experimento II**, para avaliar a adição de metabólitos (25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ e 1α(OH)D₃) *on top* sobre o melhor nível de vitamina definido no experimento I sobre o desempenho e qualidade óssea foram utilizados 625 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (T1-2.375 UI D₃/kg); T2-1.780 UI/kg D₃/kg; T3- 1.780 UI/kg D₃ + 100mg de 1,25(OH)₂D₃/kg; T4- 1.780 UI D₃/kg + 0,069μg de 25(OH) D₃/kg e T5-1.780 UI D₃/kg + 500mg de 1α (OH)D₃/kg), com cinco repetições e 25 aves por unidade experimental. Não houve efeito (p>0,05) dos metabólitos da vitamina D₃ para as variáveis de desempenho, ósseas e variáveis séricas. Os demais fatores não foram influenciados pelos metabólitos da vitamina D₃. Níveis variando de 1768 a 1772UI/kg de ração, seja de vitamina D₃ ou 1,25(OH)₂D₃, para frangos de corte na fase inicial, permitiu maximizar o ganho de peso das aves e aumentar a resistência óssea. A resposta à suplementação dos metabólitos *on top* (25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃ e 1α(OH)D₃) mostrou-se similar às dietas com vitamina D₃ isolada.

Palavras-chave: calcitriol, colecalciferol, resistência óssea

VITAMIN D₃ AND ITS METABOLITES IN THE FEEDING OF BROILER CHICKENS IN THE INICIAL PHASE

ABSTRACT – Two experiments were conducted to evaluate the vitamin D₃ metabolites on performance, bone quality and intestinal morphometrics and after evaluated the vitamin D₃ metabolites (25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃ and 1 α (OH)D₃) associated with the best level of vitamin D₃ obtained in experiment I on performance and bone quality. **Experiment I** - in order to assess levels of vitamin D₃ metabolites on performance, bone quality and intestinal morphometry, 1,344 Cobb male chicks were distributed in a factorial 2x4, with two metabolites of vitamin D₃ (D₃ and 1.25 (OH)₂D₃) and four levels (200, 950, 1,700 and 2,400 IU vitamin D₃/kg of diet), with six replicates of 28 birds each. There was no interaction (P>0.05) among metabolites and vitamin D₃ levels for any of the variables evaluated. Feed intake and weight gain (1 to 21 days) presented a quadratic effect (P<0.05) in which the higher feed intake and better weight gain were estimated at 1,772.39 and 1,760.14 IU of vitamin D₃/kg, respectively. For relative weight of organs at 7 days there was an increasing linear response for small intestine in relation to vitamin D₃ in the diet, and at 21 days the relative weight of liver presented a quadratic response with higher weights estimated at 1,811.40 IU/kg. Among metabolites, vitamin D₃ had better (p<0.05) weight gain, higher (p<0.05) intestine length and lower (P<0.05) liver weight on day 21 compared to metabolite 1.25 (OH)₂D₃. Regarding the bone variables, there was a positive linear effect on ash (P<0.05) at days 7 and 21 due to the levels of vitamin D₃ and quadratic effect on bone strength, in which the best result was obtained at 1,768.49 IU/kg. The percentages of calcium in the ash at day 7, of phosphorus in the ash and serum calcium at day 21 were increasing linearly influenced due to vitamin D₃ levels. The other variables were not affected (p> 0.05) by different levels of vitamin D₃. In **Experiment II** - in order to evaluate the vitamin D₃ metabolites (25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃ and 1 α (OH)D₃) on top associated with the best level of vitamin D₃ obtained in Experiment I on performance and bone quality, 625 one-day-old Cobb male chicks were distributed in a completely randomized experimental design with five treatments (T1-2375UI D₃ / kg); T2-1780UI / kg D₃ / kg; T3 1780 IU / kg + D₃ 100mg of 1,25(OH)₂D₃ / kg; T4 1780UI D₃ / kg + 0,069 μ g 25(OH)D₃ / kg and T5-1780UI D₃ / kg + 500 mg of 1 α (OH)D₃ / kg), with five replicates and 25 birds each. There was no effect (P>0.05) of vitamin D₃ metabolites on performance variables, bone and serum. The supplementation of vitamin D₃ level of 1,772.39 IU/kg of diet, regardless the metabolite for broilers in the initial phase, enabled maximize weight gain of birds and increased bone strength. However, the administration of various metabolites of vitamin D₃ on top did not improve the use of vitamin D₃.

Keywords: calcitriol, cholecalciferol, bone quality

INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de frangos de corte tem se destacado nos últimos anos devido ao preço acessível e a alta qualidade nutricional da carne de frango. Contudo, existe uma grande preocupação quanto ao aumento de problemas locomotores, visto que o sistema locomotor não acompanhou o aumento de peso dos animais.

Com o intuito de evitar perdas no setor avícola, pesquisadores têm buscado alternativas nutricionais, dentre as quais, encontra-se a vitamina D₃ e seus metabólitos devido a sua importante atividade biológica no organismo. Essa vitamina participa na regulação da homeostase de cálcio e fósforo aumentando a captação intestinal, diminuindo as perdas renais e ainda estimulando a remodelação óssea. Isso ocorre, porque a vitamina D₃ controla os níveis de cálcio e fósforo promovendo a mineralização óssea, de maneira que a ausência de 1,25(OH)₂D₃ diminui a absorção de cálcio no intestino, ossos e túbulos renais (McDowell, 1989). Esses fatores, conseqüentemente, podem refletir em melhor desempenho dos animais.

A absorção da vitamina D₃ pela mucosa intestinal ocorre, principalmente, na porção final do duodeno juntamente com lipídios e outros compostos lipossolúveis, pela ação de ácidos, sais biliares e das lipases (Brito et al., 2010) e é incorporada aos quilomicrons, os quais se encaminham via linfática ao fígado, em que é metabolicamente ativada, através da primeira hidroxilação, formando 25(OH)D₃, que é a forma predominante da vitamina D no plasma, uma importante forma de armazenamento da vitamina D. O 25(OH)D₃, posteriormente é hidroxilado nos rins, na posição 1 pela enzima denominada 1- α -hidroxilase específica, formando 1,25-dihidroxicolecalciferol ou calcitriol (Aslam et al., 1998, Aburto et al., 1998).

Em virtude da importância no metabolismo, os metabólitos formados a partir da vitamina D se encontram disponíveis para utilização na alimentação animal. Esses têm o intuito de disponibilizar aos animais a vitamina na forma ativa, diminuindo os gastos com metabolização da vitamina D₃, aumentando, assim, sua eficiência no organismo e diminuindo gastos energéticos. Garcia et al. (2013) avaliaram a utilização de metabólitos da vitamina D₃ em substituição a vitamina D₃ na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho em nível de 2000 e 1600UI de vitamina D/kg e encontraram diferença apenas com a utilização do 1 α (OH)D₃.

A utilização de outros metabólitos da vitamina D₃, além das exigências, “*on top*” podem proporcionar um melhor desempenho produtivo e qualidade óssea, uma vez que existe uma diferença na disponibilidade destas fontes, sendo uma armazenada e outra em uma forma mais ativada que pode ser prontamente utilizada pelo organismo.

Assim, o trabalho teve como objetivo a avaliação dos efeitos da utilização de metabólitos de vitamina D de acordo com a exigência e *on top* sobre o desempenho, variáveis ósseas e morfometria intestinal de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos no setor de avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, sob aprovação do Comitê de Ética de animais em experimentação – CEEA/UEM (Registro N°034/2011).

Experimento I

Com objetivo de avaliar dos efeitos da utilização de diferentes metabólitos de vitamina D₃ em diferentes níveis nas rações de frangos de corte, foram utilizados 1.344 pintos machos de um dia, da linhagem Cobb, distribuídos em um esquema fatorial 2x4, sendo dois diferentes metabólitos da vitamina D₃ (colecalfiferol (Vitamina D₃) e 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D₃)) e quatro níveis (200, 950, 1.700 e 2.400 UI de vitamina D₃), com seis repetições e 28 aves por unidade experimental, no período de 1 a 21 dias.

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, em cada fase, segundo Rostagno et al., (2011). A composição percentual e calculada das rações experimentais encontram-se na Tabela 1.

A mortalidade e as sobras de ração foram registradas para determinação do consumo de ração pelas aves.

Para avaliação de desempenho (ganho de peso, peso médio, consumo de ração, conversão alimentar), as aves e a ração foram pesadas semanalmente durante o experimento.

Tabela 1: Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 7 dias e 8 a 21 dias de idade.

Ingredientes (%)	1-7 Dias	8-21 Dias
Milho	55,21	58,09
F. Soja	36,64	34,41
Fosfato Bicálcico	1,90	1,49
Calcário	0,85	0,88
Óleo de soja	2,94	2,98
Sal comum	0,500	0,482
Dl-metionina 99%	0,373	0,278
L-lisina 78%	0,356	0,226
L-treonina 99%	0,140	0,067
Supl. Min e Vitam. ^{1,2}	0,400	0,400
Inerte ³	0,700	0,700
TOTAL	100,00	100,00
Energia Met. (kcal/kg)	2950	3000
Proteína bruta (%)	21,80	20,80
Lisina digestível (%)	1,330	1,174
Met + Cis digestível (%)	0,954	0,846
Triptofano digestível (%)	0,238	0,228
Treonina digestível (%)	0,862	0,763
Valina digestível (%)	0,900	0,870
Arginina digestível (%)	1,371	1,310
Cálcio (%)	0,920	0,819
Fósforo disponível (%)	0,470	0,391
Sódio (%)	0,217	0,210
Potássio (%)	0,825	0,792
Cloro (%)	0,412	0,377

¹ Suplemento Vitamínico Inicial (Conteúdo por kg de mistura): Vit. A 2.916.667,00 UI; Vit. E 8.750,00 mg; Vit. K3 433,333 mg; Vit. B1 408,333 mg; Vit. B2 1.333,334 mg; Vit. B12 4.166,667 mcg; Niacina 8.983,333 mg; Ácido Pantotênico 3.166,666 mg; Ácido Fólico 200,00 mg; Antioxidante 1450,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

Suplemento Vitamínico de Crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 2.250.000,00 UI; Vit. E 7.000,0000 mg; Vit. K3 455,00 mg; Vit. B1 343,000 mg; Vit. B2 1.000,00 mg; Vit. B12 7.000,00 mcg; Niacina 7.105,00 mg; Ácido Pantotênico 2.612,50 mg; Ácido Fólico 160,00 mg; Antioxidante 1.200,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

² Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 12.600,000 mg; Cobre 3.072,000 mg; Iodo 248,00 mg; Zinco 12.600,000 mg; Manganês 15.004,0000 mg; Selênio 61,2000 mg; Cobalto 50,400 mg; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

³ As vitaminas D₃, 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ e 1-Alpha-D₃ foram incluídas em substituição ao inerte: 2000 UI e 1600 UI, para fase inicial e de crescimento, respectivamente.

Aos 7 e 21 dias de idade, 6 aves por tratamento foram sacrificadas e foram coletadas as pernas esquerdas de duas aves por unidade experimental, aos 7 e 21 dias, as quais permaneceram congeladas em -20°C até o início das análises.

Após o descongelamento das pernas, o tecido muscular aderido foi retirado com o auxílio de tesouras e pinças, separando as tíbias. Posteriormente, os ossos foram pesados em balança analítica (0,0001g) e o comprimento e diâmetro foram medidos na

porção media usando paquímetro eletrônico digital (mm) para calculo do índice de Seedor (Sedoor et al., 1991).

A análise de resistência óssea foi realizada utilizando-se ossos descongelados *in natura*, com o auxílio de aparelho de texturômetro CT3 (Brookfield). O mecanismo consistiu em uma base que apoia as regiões das epífises ósseas e com a força aplicada na região central do osso. Os valores foram expressos em quilograma força (kgf).

Após o ensaio de resistência, os ossos foram preparados para a determinação do teor de minerais, no Laboratório de Análises de Alimentos – LANA, da UEM. Para tanto, os ossos foram desengordurados em éter petróleo, secos em estufa de ventilação forçada, triturados e pesados em balança analítica (0,001g). Posteriormente foram secos em estufa a 105°C por 12 horas, pesados após resfriamento e calcinados em mufla a 600°C, para obtenção das cinzas, segundo a metodologia de Oliveira et al. (2012).

Após a queima, foram pesadas as cinzas e obteve-se a porcentagem de cinzas com base na matéria seca. A cinza resultante da queima dos ossos foi utilizada para o preparo das soluções minerais, por via seca, através do método descrito por Silva e Queiroz, (2003). As determinações de fósforo foram realizadas pelo método colorimétrico, com utilização de solução mineral e as determinações de Cálcio foram analisadas por espectrofotometria.

Aos 21 dias de idade, foram coletadas amostras de sangue da veia jugular, utilizando-se seis aves por tratamento, para analisar as concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina mediante processo enzimático-colorimétrico, onde a absorbância produzida no complexo foi diretamente proporcional à concentração do substrato na amostra.

Para determinação do peso relativo dos órgãos foram obtidos o peso vivo individual e o peso de cada órgãos após dissecação: intestino delgado e grosso, fígado e pâncreas. O peso dos órgãos foi obtido em balança de precisão (0,001g) e o peso relativo de cada órgão foi obtido pela fórmula: **Peso relativo** = (peso órgão/peso vivo) x 100.

A análise morfométrica da mucosa intestinal foi realizada aos 7 e 21 dias. Foram obtidos fragmentos de jejuno. As amostras foram lavadas em solução salina fisiologica, fixados em formol 10% por 24h, desidratadas em uma série de concentrações crescentes de alcoóis, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram feitos cortes histológicos transversais e semisseriados dos segmentos do intestino, com sete micrômetros de espessura e corados pelo método de Hematoxilina-Eosina. Imagens

digitais obtidas em microscópio de luz foram utilizadas para as mensurações em software IMAGE PROPLUS 4.1, da Mídia Cibertecnicos. De cada ave e de cada segmento intestinal foram medidos 20 vilos e 20 criptas intestinais. A relação vilos:cripta foi determinada pela fórmula: Altura de vilos/ profundidade de cripta.

Experimento II

Com o objetivo de avaliar dos efeitos da utilização de diferentes metabólitos de vitamina D₃ *on top* para frangos de corte, foi utilizado o melhor nível definido no experimento I de vitamina D₃ associado à concentração utilizada comercialmente de cada metabólito. Assim, o intuito foi avaliar o efeito da administração de uma segunda fonte de vitamina D₃ com uma base de vitamina já suprindo as exigências dos animais de forma a maximizar a eficiência da vitamina D₃. Foram utilizados 625 pintos machos de um dia, da linhagem Cobb, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos, com cinco repetições e 25 aves por unidade experimental. Os níveis foram determinados a partir da recomendação de Rostagno et al. (2011) (T1) e do nível obtido no experimento I (T2), os outros tratamentos (T3, T4 e T5) consistiram do nível determinado no experimento I e o adicional *on top* de fontes de metabólitos comerciais seguindo as recomendações dos fabricantes, sendo três diferentes metabólitos (Tabela 2).

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, em cada fase, segundo Rostagno et al. (2011) (Tabela 1). Foram avaliados os parâmetros de desempenho (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), parâmetros ósseos (Índice de Seedor, diâmetro da tíbia, porcentagem de cinzas nas tíbias e porcentagem de cálcio e fósforo nas tíbias) e parâmetros séricos (cálcio, fósforo e fosfatase alcalina). As metodologias utilizadas nas análises foram idênticas ao experimento I.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos.

Tratamentos	
T1	Ração com 2.375,00 UI de vitamina D ₃ /kg (Rostagno et al., 2011)
T2	Ração com 1.780,00 UI de vitamina D ₃ /kg (Resultado do experimento I)
T3	Ração com 1.780,00 UI de vitamina D ₃ /kg + 100mg de 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg*
T4	Ração com 1.780,00 UI de vitamina D ₃ /kg + 0,069mg de 25(OH) ₂ D ₃ /kg*
T5	Ração com 1.780,00 UI de vitamina D ₃ /kg + 500mg de 1α(OH)D ₃ /kg*

*Recomendações dos fabricantes

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do programa estatístico SAEG (2005). Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. As comparações entre as médias das variáveis estudadas para os diferentes tratamentos foram realizadas mediante o teste de comparação de médias de Tukey, considerando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação ($P > 0,05$) entre os metabólitos e os níveis de vitamina D_3 utilizados para o desempenho, variáveis ósseas e morfometria intestinal dos frangos de corte. Isto indica que os metabólitos e os níveis utilizados agiram de forma independente sobre as variáveis.

O ganho de peso e o consumo de ração no período de 1 a 21 dias apresentaram comportamento quadrático ($p < 0,05$) com níveis estimados em 1.772,39UI/kg e 1.760,14UI/kg de ração, respectivamente, indicando, deste modo, a maximização do desempenho das aves nestes níveis avaliados. Contudo, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os níveis para a conversão alimentar (Tabela 3).

Os animais alimentados com o metabólito D_3 , no período de 1 a 21 dias, apresentaram maior ($p < 0,05$) ganho de peso em relação as aves alimentadas com $1,25(OH)_2D_3$, porém, a conversão alimentar não foi afetada pelos diferentes metabólitos.

A suplementação de vitamina D_3 pode melhorar o desempenho, uma vez que está relacionada com a absorção e utilização do cálcio e fósforo da dieta e participa de inúmeras reações no organismo (Rao et al., 2006; Souza et al., 2013). A adição de diferentes metabólitos da vitamina D_3 em dietas de frangos, além da produção endógena da mesma, proporcionam um maior aproveitamento da vitamina D_3 , visto que parte será armazenada e outra parte será prontamente utilizada, maximizando o desempenho dos animais. A associação entre a vitamina D_3 e outras fontes de vitamina D_3 , permite a redução de gastos energéticos metabólicos e potencialização de resultados. Pois para a vitamina D_3 ser ativada é necessário uma conversão em $25(OH)D_3$ no fígado e posteriormente em $1,25(OH)_2D_3$ nos rins. Já ao incluir os metabólitos nas dietas, eles já estarão em sua forma ativa para utilização, ou seja, não será necessária a ativação (Garcia et al., 2013). Como a vitamina D_3 está associada a diversas funções no

metabolismo animal, a falta ou excesso de algum destes nutrientes pode provocar diminuição no desempenho (Macari et al., 2002), além disso, como o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ não é armazenado no organismo, o excesso deste será eliminado.

Tabela 3. Valores médios das variáveis de desempenho (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D_3 em diferentes níveis, nos períodos de 1 a 7 e 1 a 21 de idade (**Experimento I**).

	Ganho de peso (g)	Consumo de ração(g)	Conversão Alimentar (kg/kg)
1 a 7 dias			
Metabólitos			
D_3	150,20 \pm 1,25	159,58 \pm 1,60	1,062 \pm 0,008
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	147,07 \pm 1,07	163,34 \pm 1,68	1,111 \pm 0,008
Níveis (UI)			
200	148,47 \pm 2,28	161,57 \pm 2,26	1,089 \pm 0,011
950	149,29 \pm 1,41	160,59 \pm 2,27	1,077 \pm 0,015
1700	148,29 \pm 1,56	159,51 \pm 2,91	1,076 \pm 0,014
2400	148,30 \pm 1,60	164,16 \pm 2,00	1,107 \pm 0,006
CV (%)	4,09	5,06	3,90
Metabólitos (M)	0,08	0,12	0,02
Níveis (N)	0,98	0,57	0,63
Interação (MxN)	0,77	0,82	0,70
Regressão	Ns	Ns	Ns
1 a 21 dias			
Metabólitos			
D_3	914,13 \pm 17,93 A	1100,46 \pm 19,64	1,204 \pm 0,012
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	871,85 \pm 21,14 B	1054,63 \pm 25,00	1,215 \pm 0,016
Níveis (UI)			
200	741,96 \pm 27,42	924,02 \pm 30,66	1,200 \pm 0,031
950	933,57 \pm 11,34	1119,20 \pm 11,99	1,199 \pm 0,006
1700	950,78 \pm 10,80	1137,85 \pm 15,41	1,197 \pm 0,015
2400	945,64 \pm 12,90	1129,10 \pm 15,00	1,196 \pm 0,018
CV(%)	5,99	5,83	5,82
Metabólitos (M)	0,01	0,02	0,65
Níveis (N)	<0,01	< 0,01	0,17
Interação (MxN)	0,20	Ns	0,67
Regressão	Quadrático ¹	Quadrático ²	Ns

Teste de Tukey (P<0.05).

*CV= coeficiente de variação; *interação= Interação entre os metabólitos e níveis de vitamina D_3 . ns= Não Significativo (P>0.05); 1. Ganho de peso = $688,322+0,321712X-0,0000907568X^2$; $R^2=0,96$, Valor estimado = 1772,39 UI Vit D_3 /kg; 2. Consumo de ração = $868,461+0,331209X-0,0000940858X^2$; $R^2=0,96$, Valor estimado = 1760,14 UI Vit D_3 /kg.

Não houve interação ($p>0,05$) entre os metabólitos da vitamina D_3 e os níveis de vitamina D_3 para peso relativo dos órgãos aos 21 dias. Assim, os metabólitos e os níveis utilizados atuam de forma independente sobre o peso relativo dos órgãos aos 21 dias.

Com relação aos metabólitos, o peso do fígado aos 21 dias foi menor ($p<0,05$) nos animais alimentados com vitamina D_3 comparados ao grupo que recebeu o metabólito

1,25(OH)₂D₃. O peso relativo do fígado aos 21 dias foi influenciado de forma quadrática, com menor peso relativo no nível estimado de 1.586 0UI de vitamina D₃/kg. As demais variáveis não foram influenciadas (p>0,05) pelos níveis de vitamina D₃ (Tabela 4). Provavelmente este maior peso relativo corresponda a maior atividade, com maior produção e provavelmente maior utilização no organismo, isso porque o fígado constitui no principal órgão de armazenamento da vitamina D₃ (Tsutsumi et al. 1992) e é neste órgão também que ocorre a conversão da vitamina D₃ ingerida ou produzida no organismo em 25(OH)D₃, para posteriormente ser hidroxilada nos rins a 1,25(OH)₂D₃ e utilizada para as funções metabólicas (Lesson & Summers, 2001).

Tabela 4. Valores médios das variáveis de peso relativo dos órgãos (%) e comprimento do intestino (cm) (± erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D₃ em diferentes níveis, aos 21 dias (**Experimento I**).

Metabólitos	Fígado (%)	Rins (%)	Pâncreas(%)	Intestino Delgado(%)	Intestino Delgado(cm)
D ₃	2,71±0,08A	0,68±0,03	0,34±0,01	3,72±0,26	153,46±2,56
1,25(OH) ₂ D ₃	2,96±0,07B	0,75±0,04	0,34±0,01	4,10±0,11	147,96±3,07
Níveis(UI)					
200	3,17±0,11	0,80±0,06	0,35±0,02	4,09±0,18	141,17±3,92
950	2,67±0,08	0,65±0,04	0,35±0,01	3,73±0,37	148,50±3,42
1700	2,73±0,10	0,70±0,04	0,34±0,01	3,67±0,35	157,25±4,11
2400	2,79±0,12	0,70±0,05	0,33±0,01	4,14±0,17	155,92±3,25
CV (%)	22,11	22,11	13,01	24,77	15,09
Metabólitos (M)	0,01	0,17	0,60	0,12	0,13
Níveis (N)	0,03	0,08	0,58	0,45	0,20
MxN	0,35	0,20	0,99	0,23	0,26
Regressão	Quadrático ¹	Ns	Ns	Ns	Ns

^{A,B} médias, na coluna, seguidas de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey a 5%.

*CV= coeficiente de variação; *interação= Interação entre os metabólitos e níveis de vitamina D₃. Ns= Não Significativo (P>0,05); 1. Peso do fígado=3,30211-0,000834385X+0,000000262977X²; R²=0,93, Valor estimado = 1586 UI Vit D₃/kg .

Quando oferecemos a forma ativa da vitamina D₃ existe uma economia energética do organismo, visto que o animal não necessita realizar a conversão (Guilhou et al. 2003). Porém, a vitamina em sua forma ativa, 1,25(OH)₂D₃, não é armazenada no organismo e deve ser prontamente utilizada pelo animal (Garcia et al., 2013).

Houve efeito linear (p<0,05) para porcentagem de cinzas ósseas aos 7 e 21 dias e porcentagem de fósforo nos ossos aos 21 dias, aumentando de acordo com os níveis de vitamina D₃ nas rações. As porcentagens de cálcio nos ossos aos 7 dias e as concentrações séricas de cálcio aos 21 dias foram influenciadas (p<0,05) de forma linear crescente conforme os níveis de vitamina D₃ (Tabela 5 e 6). Como a vitamina D₃ atua sobre a absorção e mobilização destes minerais para a tibia, maiores níveis de vitamina D₃ aumentaram a absorção e deposição dos mesmos. Um dos fatores

ativadores da síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é justamente a diminuição da taxa de cálcio, que desencadeia no aumento da liberação de paratormônio e conversão da $25(\text{OH})\text{D}_3$ em $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou utilização desta que já está prontamente disponível. Por outro lado, a resistência óssea apresentou resposta quadrática ($p < 0,05$) com melhor resistência no nível estimado de 1.768,49UI de vitamina D_3/kg . Provavelmente, como a vitamina D_3 controla a absorção e modulação de cálcio e fósforo no organismo, um desequilíbrio pode levar a um aumento do turnover ósseo (Alves et al. 2013). Os demais parâmetros não foram influenciados ($p > 0,05$) pelos diferentes níveis de vitamina D_3 .

A vitamina D_3 auxilia na absorção de cálcio e fósforo no intestino, aumentando a eficiência de utilização, e conseqüentemente, o aumento das cinzas ósseas, estando sua ação relacionada com o metabolismo dos osteoblastos, ou seja, atua diretamente na formação óssea (Norman, 1985, Suda et al., 1990).

De acordo com o NRC (1994) a recomendação para frangos de corte de 1 a 21 dias é 200UI de vitamina D_3/kg de ração, este valor foi utilizado para a definição do menor nível deste experimento. Entretanto, os melhores resultados para o desempenho foram obtidos ao nível de, aproximadamente, 1.700 UI de vitamina D_3/kg de ração, este valor encontra-se mais próximo do recomendado por Rostagno et al., (2011) e das exigências utilizadas comercialmente.

A utilização de níveis abaixo do recomendado para vitamina D_3 podem, além de diminuir o desempenho, acarretar em diversos problemas ósseos. Neste sentido, no organismo animal há uma gama muito grande de receptores para vitamina D_3 (VDR) e é através destes receptores que a resposta da vitamina D_3 é modulada, sinalizando outros mensageiros, promovendo a abertura de canais de cálcio, entre outras atividades de relevante importância no organismo (Zanatta et al., 2012; Alves et al., 2013).

Tabela 5. Valores médios das variáveis ósseas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D₃ em diferentes níveis, aos 7 e 21 dias (**Experimento I**).

Metabólitos	7 dias					
	Índice de seedor	Diâmetro (mm)	Cinzas (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	
D ₃	32,34 \pm 1,61	3,30 \pm 0,05	35,48 \pm 0,57	10,24 \pm 0,24	6,31 \pm 0,21	
1,25(OH) ₂ D ₃	35,53 \pm 0,76	3,38 \pm 0,05	35,17 \pm 0,54	10,07 \pm 0,27	6,50 \pm 0,22	
Níveis (UI)						
200	34,47 \pm 0,76	3,28 \pm 0,06	33,65 \pm 0,99	9,54 \pm 0,44	6,12 \pm 0,30	
950	35,53 \pm 1,22	3,42 \pm 0,07	35,74 \pm 0,64	10,26 \pm 0,42	6,25 \pm 0,37	
1700	34,21 \pm 0,96	3,37 \pm 0,07	35,14 \pm 0,61	9,81 \pm 0,62	6,28 \pm 0,17	
2400	31,12 \pm 3,51	3,31 \pm 0,07	36,77 \pm 0,61	10,60 \pm 0,25	6,89 \pm 0,30	
CV (%)	17,19	6,10	7,34	10,48	15,11	
Metabólitos (M)	0,36	0,47	0,33	0,24	0,61	
Níveis (N)	0,08	0,27	0,01	0,34	0,23	
MxN	0,28	0,36	0,46	0,98	0,83	
Regressão	Ns	Ns	Linear ¹	Linear ²	Ns	
Metabólitos	21 dias					
	Índice de seedor	Diâmetro (mm)	Cinzas (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Resistência óssea (kgf)
D ₃	105,17 \pm 1,67	6,41 \pm 0,12	37,44 \pm 1,43	11,89 \pm 0,58	7,64 \pm 0,26A	27,55 \pm 1,37
1,25(OH) ₂ D ₃	104,29 \pm 1,70	6,49 \pm 0,09	37,61 \pm 1,00	10,58 \pm 0,78	6,03 \pm 0,44B	24,35 \pm 1,83
Níveis (UI)						
200	99,77 \pm 2,51	6,44 \pm 0,12	32,46 \pm 1,62	9,70 \pm 1,06	5,76 \pm 0,65	18,72 \pm 2,91
950	105,99 \pm 2,08	6,33 \pm 0,22	36,84 \pm 2,40	12,53 \pm 1,15	7,12 \pm 0,24	27,03 \pm 1,81
1700	106,03 \pm 2,08	6,37 \pm 0,13	40,26 \pm 0,37	11,77 \pm 0,68	7,22 \pm 0,66	29,86 \pm 1,14
2400	107,12 \pm 2,42	6,56 \pm 0,13	40,53 \pm 0,47	11,48 \pm 0,38	7,84 \pm 0,27	28,20 \pm 1,74
CV (%)	17,19	8,61	13,95	23,95	18,71	26,29
Metabólitos (M)	0,71	0,82	0,31	0,41	0,03	0,11
Níveis (N)	0,13	0,75	0,38	0,89	0,04	<0,01
MxN	0,75	0,90	0,41	0,12	0,38	0,41
Regressão	Ns	Ns	Linear ³	Ns	Linear ⁴	Quadrático ⁵

^{A,B} médias, na coluna, seguidas de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey a 5%. *CV= coeficiente de variação; *interação= Interação entre os metabólitos e níveis de vitamina D₃. ns= Não Significativo (P>0,05); 1. Cinzas=32,7624+0,00119125X; R²=0,75; 2. Cálcio=9,58061+0,000444174X; R²=0,96. 3. Cinzas=32,5588+0,00378125X; R²=0,91; 4. Fósforo=10,4507+0,00691254X; R²=0,96; 5. Resistencia ossea=15,7000+0,0161581X-0,00000456833X²; R²=1,00 Valor estimado = 1768,49 UI Vit D₃/kg.

Tabela 6. Valores médios das variáveis de níveis séricos de cálcio e fósforo (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D₃ em diferentes níveis, aos 21 de idade (**Experimento I**).

	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mg/dL)	Fosfatase Alcalina (UI/L)
Metabólitos			
D ₃	8,76 \pm 0,89	9,27 \pm 0,55	2552,41 \pm 59,64
1,25(OH) ₂ D ₃	9,20 \pm 1,19	9,38 \pm 0,39	2602,62 \pm 76,22
Níveis (UI)			
200	6,52 \pm 1,16	9,54 \pm 0,66	2565,20 \pm 105,44
950	7,99 \pm 1,35	8,93 \pm 0,89	2513,43 \pm 96,32
1700	8,84 \pm 1,34	9,12 \pm 0,58	2552,67 \pm 86,06
2400	13,85 \pm 0,86	9,84 \pm 0,44	2704,60 \pm 93,73
CV (%)	44,23	17,45	12,12
Metabólitos (M)	0,65	0,87	0,48
Níveis (N)	0,05	0,79	0,21
MxN	0,85	0,15	0,12
Regressão	Linear ¹	Ns	Ns

*CV= coeficiente de variação; *interação= Interação entre os metabólitos e níveis de vitamina D₃. ns= Não Significativo (P>0,05); 1. Cálcio=5,36808+0,029492X; R²=0,84.

A vitamina D₃ atua em inúmeros processos do organismo, através de um mecanismo de ação que modula um sistema complexo de sinalização de abertura de canais de cálcio e proteínas específicas de transporte de cálcio e fósforo, por meio de transcrição gênica e também indução da enzima anilciclase-AMPC-proteína quinase (Macari et al., 2002). Desta forma está diretamente ligada à mineralização óssea, a qual pode interferir no desempenho uma vez que prejudica o ganho de peso, devido a uma má estrutura óssea.

Não houve efeito ($p < 0,05$) dos diferentes níveis de vitamina D₃ para as variáveis de morfometria intestinal (Tabela 7) Esperava-se um efeito devido a ação da vitamina D₃ em sua forma ativada sobre a regulação do desenvolvimento da mucosa intestinal, estimulando o crescimento da mucosa e o turnover das células intestinais Guerra et al., (2014) observaram maiores alturas de vilo nos frangos alimentados com 1,25OH₂D₃ em comparação a D₃ aos 7 dias, com 2.000 UI/kg.

Tabela 7. Valores médios das variáveis de morfometria intestinal (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D₃ em diferentes níveis, aos 21 dias (**Experimento I**).

	Comprimento de vilo (μm)	Profundidade de cripta (μm)	Relação vilo:cripta
7 dias			
Metabólitos			
D ₃	700,46 \pm 48,27	105,23 \pm 3,82	6,68 \pm 0,42
1,25(OH) ₂ D ₃	642,24 \pm 46,39	108,93 \pm 3,86	6,33 \pm 0,66
Níveis			
200	737,61 \pm 48,58	105,52 \pm 5,52	7,57 \pm 0,67
950	614,04 \pm 79,15	105,26 \pm 4,88	6,08 \pm 0,74
1700	611,40 \pm 72,28	103,00 \pm 6,54	6,19 \pm 0,82
2400	703,28 \pm 73,69	116,70 \pm 3,56	6,10 \pm 0,75
Metabólitos (M)	0,42	0,35	0,81
Níveis (N)	0,85	0,47	0,54
Interação (MxN)	0,89	0,84	0,39
Regressão	Ns	Ns	Ns
21 dias			
Metabólitos			
D ₃	810,50 \pm 31,62	110,21 \pm 3,29	7,40 \pm 0,29
1,25(OH) ₂ D ₃	770,40 \pm 31,81	104,37 \pm 4,34	7,51 \pm 0,32
Níveis			
200	771,21 \pm 56,32	105,02 \pm 7,12	7,49 \pm 0,56
950	817,77 \pm 34,80	110,17 \pm 5,77	7,50 \pm 0,31
1700	787,37 \pm 51,11	100,77 \pm 4,29	7,84 \pm 0,41
2400	774,54 \pm 32,85	114,09 \pm 4,28	6,83 \pm 0,39
Metabólitos (M)	0,51	0,51	0,78
Níveis (N)	0,25	0,32	0,39
MxN	0,27	0,13	0,40
Regressão	Ns	Ns	Ns

Teste de Tukey (P>0.05).

No experimento II, ao melhor nível determinado no experimento I de 1.780,00 UI de vitamina D₃/kg de ração, foram utilizados diferentes metabólitos da vitamina D₃ (1,25OH₂D₃, 25OHD₃ e 1 α OHD₃) *on top*, com dois controles sendo um com 2.375 UI de vitamina D₃/kg (Rostagno et al., 2011) e o outro com 1.780 UI de vitamina D₃/kg de ração, sem a adição de outro metabólito. Esta utilização “*on top*” ou associada é a utilizada comercialmente no intuito de maximizar os resultados da vitamina D₃, uma vez que estes metabólitos dispensam conversão, sendo mais ativados metabolicamente.

Não houve efeito (p>0,05) dos diferentes metabólitos *on top* para o desempenho das aves (Tabela 8). Dessa forma, o nível de vitamina D₃ de 1780UI/kg, supriu as

exigências dos animais e adição dos demais metabolitos não proporcionou efeito adicional. Garcia et al., (2013), trabalhando com quatro metabólitos (D_3 , $1,25(OH)_2D_3$, $25(OH)D_3$ e $1\alpha(OH)D_3$) na concentração de 2.000UI/kg, observaram um pior desempenho com a utilização do metabolito $1\alpha(OH)D_3$, porém, neste experimento, quando utilizado “*on top*” apresentou desempenho semelhante aos demais, possivelmente por ser um metabolito que não é armazenado no organismo e sim de pronta utilização, a base de vitamina D_3 supriu qualquer deficiência que pudesse ocorrer.

Tabela 8. Valores médios das variáveis de desempenho (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D_3 , nos períodos de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade (**Experimento II**).

	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão Alimentar (kg/kg)
1 a 7 dias			
D_3 (2375 UI)	153,92 \pm 3,81	166,60 \pm 0,91	1,082 \pm 0,025
D_3 (1780 UI)	147,07 \pm 2,87	163,91 \pm 1,72	1,114 \pm 0,014
D_3 (1780 UI)+ $1,25(OH)_2D_3$	155,00 \pm 2,84	166,24 \pm 2,36	1,072 \pm 0,025
D_3 (1780 UI)+ $25(OH)D_3$	157,83 \pm 1,36	163,78 \pm 3,27	1,038 \pm 0,023
D_3 (1780 UI)+ $1,\alpha(OH)D_3$	157,02 \pm 2,84	170,09 \pm 2,57	1,084 \pm 0,024
CV(%)	3,49	2,78	4,46
1 a 21 dias			
D_3 (2375 UI)	865,31 \pm 11,67	1017,53 \pm 6,39	1,176 \pm 0,014
D_3 (1780 UI)	846,15 \pm 18,83	1021,77 \pm 10,54	1,209 \pm 0,018
D_3 (1780 UI)+ $1,25(OH)_2D_3$	834,98 \pm 17,87	994,42 \pm 8,86	1,192 \pm 0,019
D_3 (1780 UI)+ $25(OH)D_3$	857,05 \pm 12,96	1027,86 \pm 15,87	1,200 \pm 0,017
D_3 (1780 UI)+ $1,\alpha(OH)D_3$	862,55 \pm 16,28	1034,30 \pm 4,98	1,200 \pm 0,016
CV(%)	3,70	1,73	2,87

Teste de Tukey (P>0.05).

Não houve efeito ($p>0,05$) dos diferentes metabolitos *on top* para as variáveis ósseas das aves (Tabela 9). Provavelmente o nível de 1.780 UI de vitamina D_3 supriu toda a exigência e as fontes associadas não promoveram um incremento nos resultados. O $1,25(OH)_2D_3$ possui uma meia vida de 4 a 6 horas no organismo e circula na corrente sanguínea em níveis baixos comparados ao $25(OH)D_3$ e o $1\alpha(OH)D_3$ é o hidroxil-análogo do $1,25(OH)_2D_3$ (Lopes et al. 2011). O $25(OH)D_3$ é a principal forma circulante de vitamina D_3 no plasma, possui uma meia vida de 2 a 3 semanas e sua hidroxilação depende principalmente dos níveis circulantes de $1,25(OH)_2D_3$ (Bichoff-Ferrari et al. 2012).

Tabela 9. Valores médios das variáveis ósseas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D₃, nos períodos de 1 a 7 e 1 a 21 dias de idade (**Experimento II**).

	1 a 7 dias					
	Índice de seedor	Diâmetro (mm)	Cinzas (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	
	1 a 7 dias					
D ₃ (2375 UI)	35,83 \pm 1,22	3,04 \pm 0,04	33,15 \pm 0,66	9,54 \pm 0,44	5,74 \pm 0,60	
D ₃ (1780 UI)	36,49 \pm 1,63	3,11 \pm 0,09	33,66 \pm 0,29	10,26 \pm 0,42	5,37 \pm 0,67	
D ₃ (1780 UI)+ 1,25(OH) ₂ D ₃	36,35 \pm 0,51	2,97 \pm 0,13	32,49 \pm 0,77	9,81 \pm 0,62	5,83 \pm 0,13	
D ₃ (1780 UI)+ 25(OH) D ₃	36,82 \pm 1,60	3,05 \pm 0,06	37,83 \pm 4,69	10,60 \pm 0,25	6,09 \pm 0,11	
D ₃ (1780 UI)+ 1, α (OH)D ₃	37,12 \pm 0,59	3,02 \pm 0,08	34,02 \pm 0,40	10,60 \pm 0,25	6,32 \pm 0,12	
CV(%)	6,74	5,27	12,99	14,83	14,21	
	1 a 21 dias					
	Índice de seedor	Diâmetro (mm)	Resistência óssea	Cinzas (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)
D ₃ (2375 UI)	98,15 \pm 1,80	5,44 \pm 0,21	24,74 \pm 0,73	33,47 \pm 0,78	9,54 \pm 0,44	4,57 \pm 0,34
D ₃ (1780 UI)	106,18 \pm 2,65	5,77 \pm 0,13	22,23 \pm 0,59	37,51 \pm 3,71	10,26 \pm 0,42	5,27 \pm 0,21
D ₃ (1780 UI)+ 1,25(OH) ₂ D ₃	107,12 \pm 5,07	5,77 \pm 0,29	22,65 \pm 2,89	32,70 \pm 1,22	9,81 \pm 0,62	3,54 \pm 0,12
D ₃ (1780 UI)+ 25(OH)D ₃	105,44 \pm 5,24	5,62 \pm 3,01	22,54 \pm 0,57	37,09 \pm 2,89	10,60 \pm 0,25	4,73 \pm 0,22
D ₃ (1780 UI)+ 1, α (OH)D ₃	114,42 \pm 5,14	6,07 \pm 0,14	24,25 \pm 0,61	35,20 \pm 0,79	10,60 \pm 0,25	4,02 \pm 0,11
CV(%)	8,17	6,71	12,52	13,06	19,07	40,55

Em contrapartida, Brito et al., (2010) evidenciaram um maior desempenho ao utilizar a vitamina D₃ associada a 25(OH)D₃, devido a uma otimização da utilização de vitamina D₃. Possivelmente, como os animais não foram submetidos a nenhuma condição adversa que pudesse comprometer a conversão da vitamina D₃, as variáveis ósseas não foram afetadas. A quantidade de vitamina D₃ na dieta deve suprir a demanda do animal para que ocorra principalmente a formação óssea. Entretanto, existem outros fatores que podem diminuir o aproveitamento desta vitamina, como o estresse calórico, idade da ave ou relação cálcio e fósforo da ração. Isto foi comprovado por Naas et al. (2012) que ao suplementar 25(OH)D₃ houve uma diminuição na incidência de problemas de perna em situações de estresse. Dessa forma, a utilização de metabólitos da vitamina D₃ mais ativos, como o 25(OH)D₃, o 1,25(OH)₂D₃ e o 1α(OH)D₃ podem permitir um melhor aproveitamento, principalmente em situações adversas por serem mais disponíveis, de modo que exista uma reserva de vitamina D₃ e uma fonte metabolicamente mais ativa podendo ser prontamente utilizada pelo organismo.

Desta forma, esperava-se que a adição das diferentes fontes de vitamina D₃ “*on top*” proporcionasse um melhor desempenho, porém, provavelmente devido a ausência de situações adversas tais como estresse ou desbalanço nutricional, o nível basal de vitamina D₃ já existente supriu as exigências das aves.

A suplementação de vitamina D₃ dentro das exigências é comprovadamente uma solução para a diminuição de problemas locomotores uma vez que atua diretamente sobre o metabolismo de cálcio e fósforo, auxiliando desde a absorção intestinal, deposição e mobilização nos ossos e até a excreção renal desses minerais, tudo isso auxiliado principalmente por dois hormônios: hormônio da paratireóide e calcitonina (Xu et al. 1997).

As concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina não foram influenciada ($p > 0,05$) pelos diferentes metabólitos, provavelmente estes minerais estavam em equilíbrio nas rações de modo a manter a homeostase na corrente sanguínea.

Tabela 10. Valores médios das variáveis séricas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D₃ em diferentes níveis (**Experimento II**).

	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mg/dL)	Fosfatase alcalina (UI/L)
D ₃ (2375 UI)	9,40 \pm 1,25	5,21 \pm 0,37	1592,99 \pm 144,16
D ₃ (1780 UI)	10,23 \pm 1,17	6,16 \pm 0,75	1663,53 \pm 190,06
D ₃ (1780 UI)+1,25(OH) ₂ D ₃	9,62 \pm 0,22	8,04 \pm 1,87	1639,45 \pm 212,38
D ₃ (1780 UI)+25(OH)D ₃	8,44 \pm 0,75	6,40 \pm 0,77	1658,89 \pm 51,98
D ₃ (1780 UI)+1, α (OH)D ₃	9,19 \pm 0,61	7,59 \pm 0,42	1640,33 \pm 16,85
CV (%)	19,43	30,85	18,35

^{A,B} médias, na coluna, seguidas de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey a 5%

*CV= coeficiente de variação

CONCLUSÃO

Níveis variando de 1768 a 1772UI/kg de ração, seja de vitamina D₃ ou 1,25(OH)₂D₃, para frangos de corte na fase inicial, permitiram maximizar o ganho de peso das aves e aumentar a resistência óssea. A resposta à suplementação dos metabólitos *on top* (25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃ e 1 α (OH)D₃) mostrou-se similar às dietas com vitamina D₃ isolada.

REFERÊNCIAS

- Aburto, A., H.M. Edwards Junior and W.M. Britton. 1998. The Influence of vitamin A on the utilization and amelioration of toxicity of cholecalciferol, 25 hydroxycholecalciferol, and 1,25-dihydroxycholecalciferol in young broilerchickens. *Poult. Sci.* 77: 585–593.
- Alves, M, M. Bastosa, F. Leitaó, G. Marques, G. Ribeiro and F. Carrilho. 2013. Vitamina D—importância da avaliação laboratorial. *Rev. Port. Endocrinol. Diabetes Metab.* 8:32–39.
- Aslam, S.M., J.D. Garlich, J.D and M.A. Qureshi. 1998. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. *Poult. Sci.* 77: 842–849.
- Bischoff-Ferrari H. A., B. Dawson-Hughes, E. Stöcklin, E. Sidelnikov, W. C. Willett, J. O. Edel, H. B. Stähelin, S. Wolfram, A. Jetter, J. Schwager, J. Henschkowski, A. von Eckardstein, A. Egli. 2012. Oral supplementation with 25(OH)D₃ versus vitamin D₃: effects on 25(OH)D levels, lower extremity function, blood pressure, and markers of innate immunity. *J Bone Miner Res.* 27(1):160-9.
- Brito, J. A. G., A. C. Bertechini, E. J. Fassani, P. B. Rodrigues, E. M. C. Lima, and C. Meneghetti. 2010. Efeito da vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. *R Bras. Zootec.* 39:2656-2663.
- Garcia, A.F.Q.M., A. E. Murakami, C. R. A. Duarte, I. C. Ospina-Rojas, K. P. Picolli and M. M. Puzotti. 2013 Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26: 408-415.
- Guerra, A.F.Q.G., A.E. Murakami, T.C. Santos, C. Eyng, K.P. Picolli and I.C. Ospina-Rojas. 2014. Utilização da vitamina D₃ e seus metabólitos na alimentação de frangos de

- corte sobre parâmetros imunológicos e morfometria intestinal. *Pesq. Vet. Bras.* 34(5):477-484.
- Guilhou, J. J. 2003. Derivados de La vitamina D. *EMC-Dermatologia.* 37:1-9.
- Lesson, S. and J. D. Summers. 2001. *Nutrition of the chicken.* 4.ed. Guelph: University Books, 591p.
- Lopes, S. L. B., H. H. M. C. Lopes, L. Ismail, L. Y. Yaegaschi, L. P. L. Paes and V. C. Molla. Efeitos cardiovasculares da vitamina D: perspectivas atuais. *RBM.* 2011; 68:225-232.
- Macari, M., R. L. Furlan, and L. Gonzales. 2002. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte.* Jaboticabal, Editora FUNEP/UNESP, 375p.
- McDowell, L. R. 1989. *Vitamins in Animal Nutrition.* ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Nääs, I.A., M.S. Baracho, L.G.F. Bueno, D.J. Moura, R.A. Vercelino and D.D. Salgado. 2012. Use of Vitamin D to reduce lameness in broilers reared in harsh environments. *Braz. J. Poult. Sci.* 14: 159-232.
- Norman, A.W., and S. Hurwitz. 1993. The role of vitamin D endocrine system in avian bone biology. *J. Nutr.* 123:310-316.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1994. *NRC-Nutrient requirements of poultry.* 9.ed. Washington, DC: National Academic Press, 155p.
- Oliveira, A.F.G., L.D.G. Bruno, M.C. Paula, A.P.S. Ton and L. Lourençon. 2012. Efeito da densidade de criação e do grupo genético sobre o desempenho e o desenvolvimento ósseo de frangos de corte. *Sci. Agrar. Paran.* 11: 49-64.
- Rao, S.V., M. V. L. N. Raju, and A. K. Panda. 2006. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. *J. Appl. Poultry Res.* 15:493-501.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2011. *Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais.* Viçosa: UFV, 3ed. 185p. 2011.
- Schmidt, E. M. S.; R. Locatelli -Dittrich, E. Santin, A. C. Paulillo. 2007. *Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta paramonitorar a sanidade avícola – REVISÃO.* *Arch. Vet. Sci.* 12:9-20.
- Seedor, J. G., H. A. Quartuccio, and D. D. Thompson. 1991. The biophosphonate alendronate (MK – 217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *J. Bone Miner. Res.* 6:339-346.
- Silva, D.J., and A. C. Queiroz. 2002. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos).* 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235p.
- Souza, C.S.; F. M. Vieites, C. H. F. Vasconcellos, A. A. Calderano, R. V. Nunes C. M. Ferreira, T. V. S. Pereira and G. H. K. Moraes. 2013. Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65: 519-525.
- Suda, T, T. Shinki and N. Takahashi. The role of vitamin d in bone and intestinal cell differentiation. *Annu. Rev. Nutr.* v.10, p.195-211, 1990.
- Tsutsumi, C., M. Okuno, L. Tannous, R. Piantedosi, M. Allan, D. S. Goodman, and W. S. Blaner. 1992. Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 267:1805.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. 2005. *SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas.* Versão 5.0. Viçosa, MG: 150p.
- Xu T, J. H. Soares Jr, R. M. Leach, B. W. Hollis and J. M. Kerr. 1997. Evidence of increased cholecalciferol requirement in chickens with tibial dyschondroplasia. *Poult. Sci.* 76:46-53.

Zanatta, L., P.B. Goulart, R. Gonçalves, P. Piorozan, E.C. Winkelmann-Duarte, V. M. Woehl, R. Pessoa-Pereur, F. R. Silva and A. Zamoner. 2012. $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ mechanism of action: modulation of L-type calcium channels leading to calcium uptake and intermediate filament phosphorylation in cerebral cortex of young rats. *Biochim. Biophys. Acta.* 10:1708-19.

IV. VITAMINA A E VITAMINA D₃ EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS SOBRE O DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇAÇA E QUALIDADE DA CARNE

RESUMO – Objetivou-se com o experimento avaliar a interação entre vitamina A e vitamina D₃ nas dietas de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne. Foram utilizados 1.520 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em um esquema fatorial 5x4, sendo cinco níveis de vitamina A (0, 9.000, 18.000, 36.000 e 54.000 UI) e quatro de vitamina D₃ (200, 950, 1.700 e 2.450 UI) com quatro repetições e 19 aves por unidade experimental. Não houve interação ($p>0,05$) entre os níveis de vitamina A e vitamina D₃ para o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne. A suplementação de vitamina A afetou de forma linear crescente o ganho de peso e o consumo de ração no período de 1 a 21 dias, e de forma quadrática no período total (42 dias) com melhor ganho de peso e maior consumo de ração nos níveis de 35.193,58 e 37.016,72 UI, respectivamente. No entanto, não foram observadas diferenças ($p>0,05$) para conversão alimentar em nenhum dos períodos avaliados. O rendimento de carcaça não foi influenciado pelos níveis de vitamina A, entretanto o rendimento de peito, coxa e sobrecoxa apresentaram efeito quadrático ($p<0,05$), com melhores resultados estimados em 29.430,75 e 30.630,83 UI/kg. Além disso, a vitamina A apresentou influência ($p<0,05$) sobre a intensidade de amarelo da carne do peito, da coxa e sobrecoxa. A adição de vitamina D₃ nas dietas afetou o ganho de peso e consumo de ração de forma linear crescente ($p<0,05$) no período de 1 a 21 dias e apresentou comportamento quadrático no período de 1 a 42 dias, com maior ganho de peso estimado em 1.841,70 UI de Vitamina D₃/kg e maior consumo no nível de 1.900,32 UI de Vitamina D₃/kg. A conversão alimentar não foi influenciada ($p>0,05$) pelos níveis de vitamina D₃ utilizados. De modo semelhante, o rendimento de carcaça seguiu o mesmo comportamento do ganho de peso, apresentando melhores rendimentos de peito, coxa e sobrecoxa nos níveis estimados de 1.663,27 e 1.763,33 UI de vitamina D₃/kg, respectivamente. A vitamina D₃ influenciou de forma quadrática ($p<0,05$) a intensidade de vermelho da carne da coxa, com menor nível estimado em 1.559 UI/kg. Não existe interação entre vitamina A e vitamina D₃ para o desempenho, rendimento de carcaça e cortes e qualidade de carne. A suplementação de níveis independentes de vitamina A de 35.195,38UI/kg de ração no período de 1 a 42 dias e de vitamina D₃ de 1.841,70UI/kg de ração no período de 1 a 42 dias, permitem maximizar o desempenho, sem prejudicar o rendimento de carcaça e a qualidade de carne.

Palavras-chave: ácido retinoico, calcitriol, coloração da carne

VITAMIN A AND VITAMIN D₃ IN THE FEED OF BROILER CHICKENS FROM 1 TO 42 DAYS ON PERFORMANCE, CARCASS YIELD AND MEAT QUALITY

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate vitamin A and D₃ in broilers feed on performance, carcass yield and meat quality. 1,520 one-day-old Cobb male chicks were distributed in a factorial scheme 5x4, with five levels of vitamin A (0, 9,000, 18,000, 36,000 and 54,000 IU) and four different levels of vitamin D₃ (200, 950, 1,700 and 2,450 IU), with four replicates and 19 birds each. There was no interaction ($p>0.05$) among levels of vitamin A and vitamin D₃ for performance, carcass yield and meat quality. Vitamin A supplementation affected increasing linearly the weight gain and feed intake of birds from 1 to 21 days and quadratically in the total period (1-to-42 days) with better weight gain and higher feed intake at levels 35,193.58 and 37,016.72 IU Vitamin A/kg. However, there were no differences ($p>0.05$) for feed conversion in any periods evaluated. The carcass yield was not affected by vitamin A levels, however for breast and thighs + drumsticks yield (%) we observed quadratic effect ($p<0.05$), with better yields estimated at 29,430.75 and the 30,630.83IU of vitamin A/Kg. Additionally, vitamin A presented influence on yellow color intensity of breast meat and thighs + drumsticks. Vitamin D₃ addition in diets affected increasing linearly the weight gain and feed intake ($p<0.05$) from 1 to 21 days and showed quadratic effect between 1 and 42 days, with higher weight gain estimated in 1,841.70 IU of vitamin D₃/kg and higher feed intake at 1,900.32 IU of Vitamin D₃/kg. The feed conversion was not affected ($p>0.05$) by levels of vitamin D applied. Similarly, carcass yield presented the same trend of weight gain, presenting better breast yield (%) and thigh + drumstick (%) on the estimated levels of 1,663.27 and 1,763,33 IU of vitamin D₃/kg, respectively. Vitamin D₃ had a quadratic effect ($P<0.05$) on the intensity of red on thigh meat, with lower level estimated at 1,559 IU vitamin D₃/kg. Within the assessed levels there is no interaction among vitamin A and vitamin D₃ on performance, carcass yield and cuts and meat quality. Supplementation of independent vitamin A levels of 35,195.38 IU/kg from 1 to 42 days, and 1,841.70 IU/kg from 1 to 42 days allow performance improvement without harming the carcass yield and meat quality.

Keywords: retinoic acid, calcitriol, meat color

INTRODUÇÃO

A avicultura destinada ao corte, no Brasil, é um setor da economia que merece grande destaque. Devido ao melhoramento genético e nutrição, os frangos de corte alcançam altos índices de desempenho em um curto espaço de tempo. No entanto, esse rápido crescimento gera diversos problemas como aumento na deposição de gordura, doenças metabólicas e problemas locomotores, os quais, além de causar deformidades ósseas, aumentam o risco de fraturas e, conseqüentemente, infecções, retardando o crescimento, aumentando o índice de mortalidade e condenação de carcaças (Souza & Vieites, 2014).

Uma das alternativas que vem sendo proposta é entender de que forma algumas vitaminas possam se relacionar de maneira a interferir em características desejadas nos animais. Como é o caso da vitamina A e a vitamina D₃, as quais pesquisas comprovam (Aburto & Britton, 1998; Osnsrud et al., 2009) que o excesso ou deficiência de uma, podem interferir na absorção e utilização da outra.

A deficiência de vitamina A pode comprometer o desempenho do animal (Bhuiyan et al., 2004) e seu excesso pode interferir sobre a resposta da vitamina D₃, prejudicando o desempenho (Li et al., 2008).

A relação destas duas vitamina ocorre pois a vitamina D₃ para atuar sobre células ou tecidos alvos necessita se ligar ao seu receptor nuclear para vitamina D₃ (VDR), e posteriormente sofrer uma heterodimerização com o receptor retinóide X (RXR) e em seguida se liga à sequências específicas, controlando assim a transcrição de genes envolvendo a resposta. Este mesmo receptor RXR, também é o receptor para vitamina A, ocorrendo um antagonismo quando estas vitaminas estão em desbalanço (Guillot et al., 2010).

A vitamina D₃ na dieta pode melhorar o desempenho de frangos de corte (Rao et al., 2006), esta melhora pode ser associada a importância desta vitamina na absorção e metabolismo de cálcio e fósforo, e conseqüentemente em variáveis de interesse zootécnico como desempenho e rendimento de carcaça (Nahm, 2007). Além disso, a vitamina D₃ também possui ação sobre a qualidade da carne, uma vez que no processo de amaciamento da carne, sofre ação de proteases dependentes de cálcio no sistema calpaina (Mabelebele et al., 2013).

O efeito da interação entre a vitamina A e a vitamina D₃ para frangos foi relatado por Luo & Huang (1991) e Li et al. (2008) que observaram que a vitamina D₃

teve uma resposta diminuída quando em altos níveis de vitamina A, reduzindo o desempenho e a incidência de discondroplasia tibial nas aves.

Desta forma, objetivou-se avaliar a vitamina A e a vitamina D₃ na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça e cortes e qualidade de carne.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, sob aprovação do Comitê de Ética de animais em experimentação – CEEA/UEM (Registro N° 2803101215).

Foram utilizados 1520 pintos machos de um dia, da linhagem Cobb, distribuídos em esquema fatorial 4x5, sendo quatro níveis de vitamina D₃ (200, 950, 1700 e 2450UI) e cinco níveis de vitamina A (0, 9000, 18000, 36000 e 54000 UI), com quatro repetições e 19 aves por unidade experimental, no período de 1 a 42 dias de idade.

As aves foram alojadas em galpão climatizado, com ventilação negativa e placa evaporativa, comedouros modelo tubular e bebedouros tipo nipple. Água e ração foram fornecidas à vontade. Foi utilizado um programa de luz contínua durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23h de luz/dia.

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, em cada fase, segundo Rostagno et al. (2011). O suplemento mineral e vitamínico utilizado foi isento de vitamina A e D₃.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade.

Ingredientes (%)	1-21 Dias	22-42 Dias
Milho	56,50	63,87
Farelo de Soja 45%	36,88	29,38
Fosfato Bicálcico	1,70	1,15
Calcário	0,82	0,76
Óleo de soja	2,41	3,17
Sal comum	0,400	0,400
Dl-metionina 99%	0,321	0,250
L-lisina 78%	0,242	0,263
L-treonina 99%	0,078	0,047
Supl. Mineral ² e Vitamínico ¹	0,400	0,400
BHT	0,01	0,01
Inerte ³	0,30	0,30
TOTAL	100,00	100,00
Composição calculada		
Energia Met. (kcal/kg)	2980	3125
Proteína bruta (%)	21,60	18,75
Lisina digestível (%)	1,242	1,080
Met + Cis digestível (%)	0,895	0,762
Triptofano digestível (%)	0,242	0,202
Treonina digestível (%)	0,808	0,679
Valina digestível (%)	0,913	0,789
Arginina digestível (%)	1,36	1,148
Cálcio (%)	0,870	0,690
Fósforo disponível (%)	0,429	0,320
Sódio (%)	0,178	0,177
Potássio (%)	0,839	0,723
Cloro (%)	0,291	0,291
BED (mEq/kg)	209,64	179,84

¹ Suplemento Vitamínico Inicial (Conteúdo por kg de ração): Vit. E 35,000 mg; Vit. K3 1,733 mg; Vit. B1 1,633 mg; Vit. B2 5,333 mg, Vit. B12 16,667 mcg; Niacina 35,933 mg; Ácido Pantotênico 12,667 mg; Ácido Fólico 0,800 mg; Antioxidante 5,800; Veículo q.s.p. 4,00 g.

Suplemento Vitamínico de Crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vit. E 28,000 mg; Vit. K3 1,820 mg; Vit. B1 1,372 mg; Vit. B2 4,000 mg, Vit. B12 28,000 mcg; Niacina 28,420 mg; Ácido Pantotênico 10,450 mg; Ácido Fólico 0,640 mg; Antioxidante 4,800; Veículo q.s.p. 4,000 g.

² Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 50,400 mg; Cobre 12,288 mg; Iodo 0,992 mg; Zinco 50,400 mg; Manganês 60,016 mg; Selênio 0,245 mg; Cobalto 0,202 mg; Veículo q.s.p. 4,000 g.

³ As vitaminas D₃ e A foram incluídas em substituição ao inerte.

A mortalidade e as sobras de ração foram registradas para determinação do consumo de ração pelas aves. Para avaliar o desempenho (ganho de peso, peso médio, consumo de ração, conversão alimentar), as aves e a ração foram pesadas semanalmente durante o experimento.

Aos 42 dias de idade, foram realizadas as análises de rendimento de carcaça e cortes e percentual de gordura abdominal. Após seis horas de jejum, seis aves por tratamento foram atordoadas por eletrochoque, abatidas por sangria, escaldada, depenadas e evisceradas tendo sua carcaça pesada em balança digital.

O cálculo de rendimento de carcaça foi realizado a partir do peso da carcaça sem os pés, cabeça e pescoço, em relação ao peso vivo, obtidos individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes foi considerado o peso do peito, pernas (coxa e sobrecoxa) com pele e ossos e asas, sendo calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. Considerou-se gordura abdominal a depositada na região abdominal, ao redor da moela e próxima a bolsa cloacal.

Para análise de qualidade de carne, aos 42 dias, os animais foram abatidos e o músculo do peito (*Pectoralis major*) do lado direito, de quatro aves por tratamento foi utilizado para análise de pH e coloração e o músculo do peito (*Pectoralis major*) do lado esquerdo de quatro aves por tratamento, foi utilizado para análise da capacidade de retenção de água na carcaça (CRA), determinação de perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento (FC).

O pH foi medido com auxílio de um potenciômetro de contato da marca (Testo, modelo 205), introduzido diretamente no filé do peito, 15 minutos após o abate, conforme descrito por Boulianne & King (1995) e adaptado por Olivo et al. (2001). A coloração do peito e da perna da ave foi mensurada após o abate, utilizando o colorímetro portátil CR-400 Konica Minolta, (configurações: luminosidade D65; 0° ângulo de visão e 4 auto-average). Os componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho e verde) e b* (componente amarelo e azul) foram expressos no sistema de cor CIELAB.

A CRA foi realizada utilizando o método por centrifugação proposto por Nakamura & Katok (1985). As amostras de 1g de músculo do peito (*Pectoralis major*) cru foram embrulhadas em papel filtro, centrifugadas a 1.500 rpm durante quatro minutos, pesadas, secas em estufa a 70°C por 12 horas e pesadas novamente para o cálculo da CRA, em porcentagem.

Na análise de PPC, as amostras foram pesadas, embaladas em papel laminado e assadas em chapa elétrica de modelo comercial, com aquecimento a 180 °C. Quando atingiram uma temperatura de 35 °C as amostras foram viradas e mantidas desta forma até a temperatura das mesmas atingirem 80°C, posteriormente foram retiradas e

mantidas em repouso, para estabilizar a temperatura ambiente e serem pesadas, obtendo assim o peso após o cozimento (Honikel, 1998).

As amostras utilizadas para PPC foram utilizadas para determinação da FC. Estas foram aparadas e cortadas em 4 retângulos (1,0 x 1,0 x 1,3 cm) e colocadas com as fibras orientadas no sentido perpendicular a lâmina, o equipamento utilizado foi um texturômetro TAXT2i, acoplado com a *Warner-Bratzler Shear Force* – mecânico, fornecendo a medida da força de cisalhamento da amostra, em quilograma força (kgf).

Os dados foram submetidos às análises estatísticas, utilizando-se PROC GLM do programa computacional SAS (2009). Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, considerando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação ($p < 0,05$) entre os níveis de vitamina A e D₃ para nenhuma das variáveis de desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne em nenhum dos períodos avaliados (Tabela 2), mostrando que a vitamina A e a vitamina D₃ agiram de forma independente sobre as variáveis. A vitamina D₃ pode ter uma interação com a vitamina A devido as duas estarem envolvidas nos mecanismos de liberação de hormônio da paratireoide (PHT) e conseqüentemente na síntese de 1,25(OH)₂D₃ (Douglas, 2006), além de possuir um receptor retinoico, que é importante na ligação da vitamina D₃ ao receptor de vitamina D (Barral et al., 2007).

O ganho de peso e o consumo de ração, no período de 1 a 21 dias, aumentaram linearmente ($p < 0,05$) com a inclusão de vitamina A e D₃ independente indicando que para o ganho de peso no período de 1 a 21 dias o nível de inclusão de 54000UI de vitamina A/kg e de 2400UI de vitamina D₃/kg proporcionam maior ganho de peso aos animais e maior consumo, sem afetar a conversão alimentar ($p > 0,05$). Possivelmente, como as duas vitaminas atuam sobre o crescimento e desenvolvimento ósseo, uma melhor estrutura óssea seria um indicativo de melhor desempenho, uma vez que os animais encontram-se livre de qualquer tipo de problemas locomotores (Kim et al. 2011), possibilitando um melhor acesso à ração.

Tabela 2. Médias das variáveis de desempenho (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D₃ no período de 1 a 7; 1 a 21 e 1 a 42 dias.

	1 a 7 dias			1 a 21 dias			1 a 42 dias		
	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão Alimentar (g/g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração(g)	Conversão Alimentar (g/g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão Alimentar (g/g)
Vitamina A									
0	101,98 \pm 1,80	119,94 \pm 1,04	1,179 \pm 0,014	681,24 \pm 21,32	950,62 \pm 34,70	1,395 \pm 0,026	2131,26 \pm 100,34	3510,43 \pm 178,23	1,647 \pm 0,017
9000	102,77 \pm 1,28	124,13 \pm 2,31	1,209 \pm 0,022	726,24 \pm 16,16	992,65 \pm 26,09	1,367 \pm 0,019	2429,90 \pm 97,20	3937,79 \pm 143,08	1,620 \pm 0,017
18000	105,67 \pm 1,51	121,53 \pm 1,32	1,152 \pm 0,015	765,46 \pm 15,36	1043,08 \pm 20,38	1,363 \pm 0,009	2576,79 \pm 26,89	4207,33 \pm 90,47	1,633 \pm 0,010
36000	103,17 \pm 1,57	123,72 \pm 2,24	1,202 \pm 0,024	732,26 \pm 18,65	1013,20 \pm 22,55	1,384 \pm 0,015	2498,53 \pm 74,08	4075,80 \pm 119,02	1,631 \pm 0,009
54000	107,05 \pm 1,63	125,41 \pm 1,96	1,172 \pm 0,009	770,74 \pm 20,57	1068,66 \pm 25,89	1,389 \pm 0,017	2522,14 \pm 69,80	4172,93 \pm 93,03	1,654 \pm 0,018
Vitamina D									
200	103,88 \pm 1,58	123,11 \pm 1,70	1,186 \pm 0,010	657,79 \pm 18,47	904,86 \pm 24,72	1,379 \pm 0,022	1987,95 \pm 75,98	3313,48 \pm 133,85	1,665 \pm 0,016
950	103,95 \pm 1,18	118,95 \pm 1,19	1,146 \pm 0,013	744,29 \pm 11,80	1008,41 \pm 17,78	1,355 \pm 0,011	2562,24 \pm 48,77	4154,40 \pm 79,41	1,622 \pm 0,0009
1700	102,64 \pm 1,55	123,99 \pm 2,01	1,210 \pm 0,017	759,99 \pm 14,67	1051,97 \pm 17,07	1,386 \pm 0,008	2586,12 \pm 44,68	4206,73 \pm 60,90	1,629 \pm 0,011
2450	106,20 \pm 1,30	125,87 \pm 1,42	1,189 \pm 0,021	781,64 \pm 10,20	1091,05 \pm 14,36	1,398 \pm 0,018	2609,32 \pm 30,73	4276,33 \pm 57,10	1,639 \pm 0,013
CV%	5,82	5,77	5,31	7,40	6,74	5,28	6,42	6,59	3,28
Anova	----- p-valor-----								
Vit A	0,09	0,22	0,09	0,00 ¹	0,00 ²	0,68	0,00 ⁵	0,00 ⁶	0,40
Vit D	0,26	0,08	0,33	0,00 ³	0,00 ⁴	0,32	0,00 ⁷	0,00 ⁸	0,30
Vit AxVitD	0,46	0,58	0,40	0,74	0,15	0,95	0,16	0,06	0,44

¹. Ganho de peso = 708,65 + 0,0017VitA, R²=0,51;

². Consumo de ração = 974,06 + 0,0017VitA, R²=0,68.

³. Ganho de peso = 667,52 + 0,0517VitD, R²=0,86;

⁴. Consumo de ração = 907,73 + 0,0802VitA, R²=0,94;

⁵. Ganho de peso = 2195,53 + 0,0233VitA - 3,3132x10⁻⁷VitA², R²=0,79; Valor estimado = 35195,58 UI Vit A/kg;

⁶. Consumo de ração = 3603,47 + 0,0347VitA - 4,6843x10⁻⁷VitA² + 1,4672VitD - 3,4475x10⁻⁴VitD² - 6,3461x10⁻⁶VitAVitD, R²=0,79; Valor estimado = 37016,72 UI Vit A/kg.

⁷. Ganho de peso = 1846,74 + 0,8953VitD - 0,00024 VitD², R²=0,69; Valor estimado = 1841,70 UI Vit D₃/kg.

⁸. Consumo de ração = 3109,82 + 1,2924VitD - 0,00034VitD², R²=0,73; Valor estimado = 1900,32 UI Vit D₃/kg.

No período de 1 a 42 dias, o ganho de peso e o consumo de ração apresentaram comportamento quadrático em função dos níveis de vitamina A e vitaminas D₃ independentes, com melhor ganho de peso no nível estimado de 35195,58 UI de vitamina A/kg e 1841,70 UI de vitamina D₃/kg e maior consumo de ração em 37016,72 UI de vitamina A/kg e 1900,32 UI de vitamina D₃/kg, respectivamente. Estes resultados podem indicar que existe um limite de suplementação destas vitaminas no período total (1 a 42 dias) de forma a garantir melhor desempenho, enquanto que no período inicial (1 a 21 dias) o desempenho melhorou com os maiores níveis de vitamina. Segundo Genaro e Martini, (2004), a vitamina A pode interferir diretamente sobre o desempenho tanto em deficiência quanto em excesso, sendo que o excesso é bastante preocupante porque pode resultar em uma sobrecarga no fígado, desencadeando em anomalias e afetando enzimas deste órgão.

De acordo com o NRC (1994), os níveis de exigências para vitamina A e D₃ são de 1500UI e 200UI de vitamina/kg, respectivamente. Estes níveis estão abaixo dos níveis recomendados por Rostagno et al. (2011) e os utilizados em rações comerciais, o que se deve aos avanços genéticos, com possibilidade de ganho de peso bastante elevada. Assim, o melhor nível encontrados para vitamina D₃ neste trabalho, 1841,70UI/kg para fase de crescimento (1 a 42 dias) está próximo às recomendações de Rostagno et al., (2011) que está em uma média de 2230UI para a fase inicial e 1662,50UI, para a fase de crescimento.

Uma melhoria no desempenho com a adição de vitamina A e D₃ foi obtida por Bhuiyan et al., (2004) e Li et al., (2008). Moghaddam et al., (2010) observaram um menor peso médio dos frangos aos 14 dias de idade, alimentados com dietas a base de milho e soja isentas de vitamina A, comparada a dietas com até 11000UI de vitamina A/kg. Esse menor ganho de peso foi atribuído a uma melhoria na absorção dos nutrientes da dieta com a inclusão de vitamina A.

A toxicidade por vitamina A altera os níveis circulantes de vitamina D₃ devido à interrelação entre as duas, sendo que um excesso de vitamina A interfere na absorção de vitamina D₃ (Frankel et al. 1986). Níveis de vitamina D₃ (3000UI/kg de ração) e A (15000UI/kg de ração) melhoraram o ganho de peso de frangos de corte aos 16 dias de idade (Aburto & Britton, 1998). Apesar de existir um nível sem a suplementação de vitamina A, não é possível dizer que o grupo de animais que recebeu esta dieta era

isento de vitamina A, uma vez que a vitamina A pode ser sintetizada a partir de carotenóides presentes no alimento.

Para porcentagem de peito, coxa e sobrecoxa, asa e gordura abdominal observou-se efeito quadrático ($p < 0,05$) pela suplementação de ambas as vitaminas (Tabela 3), com melhor rendimento em níveis estimados de 29430,75, 30620,83, 30829,41 e 33054,13 UI de vitamina A/kg e 1663,27; 1733,96; 1847,89 e 1881,19 UI de vitamina D₃/kg, respectivamente.

Existem poucas pesquisas a respeito da influência da vitamina D e A sobre a qualidade da carne de frangos de corte. Porém há evidências que a vitamina D pode melhorar a qualidade das carcaças, reduzindo as perdas nos abatedouros devido ao seu efeito sobre a melhoria na qualidade óssea (Brito et al. 2010).

Tabela 3. Médias das variáveis de rendimento (\pm erro padrão) de carcaça e cortes de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D₃ aos 42 dias.

	Carcaça (%)	Peito (%)	Coxa+Sobrecoxa (%)	Asa(%)	Gordura abdominal (%)
Vitamina A					
0	71,65 \pm 0,42	33,80 \pm 1,45	26,67 \pm 0,91	8,74 \pm 0,25	1,29 \pm 0,13
9000	71,51 \pm 0,98	39,10 \pm 1,35	29,56 \pm 0,80	9,98 \pm 0,24	2,05 \pm 0,11
18000	72,15 \pm 0,32	40,08 \pm 0,93	31,57 \pm 0,59	10,34 \pm 0,17	2,54 \pm 0,14
36000	71,43 \pm 0,22	37,25 \pm 1,78	30,02 \pm 0,80	9,99 \pm 0,24	2,27 \pm 0,13
54000	71,91 \pm 0,36	37,31 \pm 1,52	29,30 \pm 1,04	9,84 \pm 0,30	2,20 \pm 0,16
Vitamina D					
200	70,89 \pm 0,76	29,73 \pm 0,79	23,93 \pm 0,59	8,70 \pm 0,28	1,44 \pm 0,10
950	71,56 \pm 0,74	40,35 \pm 1,03	31,29 \pm 0,67	10,08 \pm 0,23	2,22 \pm 0,15
1700	72,42 \pm 0,27	40,96 \pm 0,87	31,29 \pm 0,46	10,13 \pm 0,16	2,29 \pm 0,13
2450	72,07 \pm 0,36	38,99 \pm 1,36	31,19 \pm 0,44	10,21 \pm 0,14	2,33 \pm 0,13
CV%	4,35	14,05	8,40	9,74	27,36
Anova					
	----- p – valor -----				
Vit A	0,94	0,01 ¹	0,00 ²	0,00 ³	0,00 ⁴
Vit D	0,26	0,00 ⁵	0,00 ⁶	0,00 ⁷	0,00 ⁸
Vit AxVitD	0,14	0,31	0,06	0,07	0,80

¹ Peito (%)=35,1901+3,009x10⁻⁴VitA-5,112x10⁻⁹VitA², R²=0,52 Valor estimado= 29430,75 UI Vit A/kg;

² Coxa+Sobecoxa (%)=27,1818+2,6949x10⁻⁴VitA-4,3999x10⁻⁹VitA², R²=0,78; Valor estimado = 30630,83 UI Vit A/kg,

³ Asa (%)=9,0041+8,6384x10⁻⁵VitA-1,401x10⁻⁹VitA², R²=0,75; Valor estimado = 30829,41 UI Vit A/kg,

⁴ Gordura Abdominal (%)=1,4251+6,827x10⁻⁵VitA-1,0327x10⁻⁹VitA², R²=0,82; Valor estimado = 33054,13 UI Vit A/kg

⁵ Peito (%)=26,6072+0,018961VitD-5,5938x10⁻⁶VitD², R²=0,97; Valor estimado = 1663,27 UI Vit D₃/kg

⁶ Coxa+Sobecoxa (%)=22,0896+0,01169VitD-3,31475x10⁻⁶VitD², R²=0,93; Valor estimado = 1763,33 UI Vit D₃/kg

⁷ Asa (%)=8,3685+0,00214793VitD-0,000000581183VitD², R²=0,66; Valor estimado = 1937,48 UI Vit D₃/kg

⁸ Gordura Abdominal (%)=1,23419+0,00124317VitD-0,000000330422VitD², R²=0,70; Valor estimado = 1881,19 UI Vit D₃/kg

Este efeito sobre o rendimento pode ser parcialmente explicado pelos menores ganhos de peso, apresentado nos níveis mais baixos e mais altos de ambas as vitaminas, o que interferiu de maneira proporcional sobre o rendimento de cortes. Possivelmente, a vitamina A possui uma atuação sobre a formação e proteção de mucosas e ectoderme,

com importante função no crescimento e regulação do metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, podendo afetar a integridade muscular interferindo sobre a carcaça e a qualidade da carne. Além disso, também pode atuar sobre a composição e a deposição de gordura, afetando a diferenciação de adipocitos e metabolismo de lipídios.

Níveis crescentes de vitamina A diminuíram linearmente ($P < 0,05$) a intensidade de amarelo (b^*) da carne do peito e da coxa e sobrecoxa, indicando carnes mais pálidas a medida que aumentou os níveis de vitamina A. A pigmentação da carne do frango pode ser modulada por diversos fatores, entre eles a nutrição, além disso, valores de b^* mais baixos podem estar associados a um menor estresse, visto que em situações de estresse ocorre uma rápida taxa de glicólise no post mortem que leva a um declínio do pH em menor tempo e consequente redução de cor (Babji et al. 1982). A vitamina A é capaz de interferir na qualidade da carne e consequentemente na coloração, uma vez que possui relação com a regulação do metabolismo dos carboidratos, atuando no controle de enzimas importantes para a glicogenese, gliconeogenese e glicólise (Chen and Chen, 2014). Além disso, a vitamina A em excesso pode interferir sobre as reservas de vitamina E e vitamina K podendo influenciar sobre a oxidação do tocoferol.

Tabela 4. Médias das variáveis de qualidade de carne (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D₃ aos 42 dias.

	PEITO							COXA+SOBRECOXA		
	pH	L*	a*	b*	CRA	PPC	FC	L*	a*	b*
Vitamina A										
0	6,29 \pm 0,04	44,37 \pm 1,28	4,16 \pm 0,42	6,75 \pm 0,45	70,06 \pm 0,57	28,71 \pm 1,16	4,30 \pm 0,25	48,63 \pm 0,98	7,12 \pm 0,58	7,85 \pm 0,37
9000	6,29 \pm 0,03	43,60 \pm 1,28	3,57 \pm 0,29	5,36 \pm 0,33	69,27 \pm 0,54	28,13 \pm 1,04	4,81 \pm 0,42	48,58 \pm 1,98	5,60 \pm 0,31	6,74 \pm 0,46
18000	6,32 \pm 0,04	44,04 \pm 1,27	3,79 \pm 0,32	6,10 \pm 0,33	69,93 \pm 0,61	29,20 \pm 1,00	4,53 \pm 0,30	48,15 \pm 1,02	5,65 \pm 0,40	6,59 \pm 0,32
36000	6,26 \pm 0,04	45,08 \pm 1,42	3,89 \pm 0,51	4,36 \pm 0,36	68,53 \pm 0,81	29,07 \pm 1,05	4,34 \pm 0,28	48,05 \pm 0,85	6,90 \pm 0,50	6,00 \pm 0,24
54000	6,17 \pm 0,21	45,49 \pm 1,18	4,22 \pm 0,43	4,93 \pm 0,32	70,36 \pm 0,70	29,25 \pm 1,04	4,21 \pm 0,32	48,98 \pm 1,11	6,25 \pm 0,52	5,98 \pm 0,26
Vitamina D										
200	6,29 \pm 0,02	42,54 \pm 0,85	4,37 \pm 0,32	5,13 \pm 0,34	69,91 \pm 0,47	27,78 \pm 0,69	4,72 \pm 0,30	47,53 \pm 0,83	7,62 \pm 0,33	6,98 \pm 0,32
950	6,30 \pm 0,04	44,46 \pm 1,02	3,70 \pm 0,39	5,60 \pm 0,29	69,77 \pm 0,66	29,25 \pm 1,04	4,29 \pm 0,28	48,77 \pm 0,80	5,36 \pm 0,32	6,49 \pm 0,30
1700	6,12 \pm 0,17	44,65 \pm 0,93	3,77 \pm 0,34	5,62 \pm 0,43	69,57 \pm 0,56	27,63 \pm 1,11	4,34 \pm 0,29	47,67 \pm 0,77	6,08 \pm 0,41	6,55 \pm 0,36
2450	6,36 \pm 0,03	46,41 \pm 1,37	3,86 \pm 0,37	5,64 \pm 0,41	69,26 \pm 0,67	30,82 \pm 0,89	4,39 \pm 0,27	49,95 \pm 1,11	6,16 \pm 0,51	6,50 \pm 0,36
CV%	6,43	11,27	41,86	27,02	3,78	5,66	29,61	8,81	28,20	20,14
Anova										
	----- p – valor -----									
Vit A	0,86	0,83	0,79	0,01 ¹	0,31	0,89	0,71	0,97	0,06	0,00 ³
Vit D	0,29	0,12	0,56	0,66	0,88	0,06	0,73	0,26	0,02 ²	0,60
Vit A X D	0,53	0,87	0,68	0,64	0,40	0,17	0,65	0,95	0,83	0,27

L*-Luminosidade; a*-intensidade de vermelho/verde; b*-intensidade de amarelo/azul; PPC -perda de peso por cocção; FC-força de cisalhamento e CRA-capacidade de retenção de água.

¹b* peito=6,27131-0,0000330316VitA, R²=0,71

²a* coxa+sobrecoxa =8,0417-0,0032399VitD+1,0391x10⁻⁶VitD² R²=0,76; Valor estimado = 1559,14 UI Vit D₃/kg

³b*coxa+sobrecoxa=7,3483-0,00003,0707VitA, R²=0,77.

Com a inclusão de vitamina D₃ na dieta, houve efeito quadrático ($p < 0,05$) para intensidade de vermelho (a^*) da carne da coxa+sobrecoxa, com menor intensidade de vermelho em 1559,14 UI de vitamina D/kg. De acordo com Dauncey & Ingran (1998), um menor consumo energético pode influenciar o aumento de fibras oxidativas. Considerando o principal pigmento responsável pela coloração da carne é a mioglobina, conteúdo de fibras oxidativas. Uma carne mais pálida tende a apresentar valores de intensidade de vermelho (a^*) mais baixos e luminosidade (L^*) e intensidade de amarelo (b^*) mais altos. Altos valores de L^* podem indicar uma rápida taxa de glicólise no *post mortem* com rápido declínio do pH, causando redução na intensidade da coloração. Menores teores de intensidade de vermelho (a^*) indicam uma diminuição na capacidade oxidativa e conseqüentemente menores proporções de fibras oxidativas (Oba et al., 2007). Wiegand et al. (2002) trabalhando com suínos, também observaram maiores teores de a^* com a adição de vitamina D₃.

A coloração da carne possui uma estreita relação com a aceitabilidade dos consumidores de forma que de maneira geral existe uma preferência por carnes de frangos *in-natura* bem pigmentadas associadas a frescor e qualidade. O aumento da luminosidade da carne (L^*) pode significar que ocorreu uma maior desnaturação proteica, como consequência maior liberação de líquido extracelular, porém os valores encontrados neste experimento não apresentaram valores de luminosidade fora da faixa considerada normal para carne de frango ($44 \leq L^* \leq 53$).

As variáveis pH, L^* , capacidade de retenção de água, perda de peso por cocção e força de cisalhamento não foram influenciadas ($p < 0,05$) pelos níveis de vitamina A e D₃. Com a utilização de vitamina A e vitamina D₃, esperava-se um maior aproveitamento do cálcio da dieta que parte seria depositado nos músculos (Stan et al., 2003), este aumento na concentração muscular iria agir sobre as proteases no *post mortem*. Isto porque a vitamina D₃ interfere na qualidade da carne, pois atua sobre o metabolismo de cálcio agindo sobre as proteases cálcio-dependentes, como a calpaína, no *post mortem* degradando as proteínas na linha Z, e promovendo o amaciamento da carne (Pyatt & Berger, 2005). A vitamina A regula a diferenciação e proliferação dos adipocitos, além de atuar em conjunto com a vitamina D no metabolismo do cálcio, podendo resultar em mudanças na qualidade da carne (Milan et al., 2011).

CONCLUSÃO

Níveis independentes de vitamina A de 35.195,38UI/kg de ração no período de 1 a 42 dias e de vitamina D₃ de 1.841,70UI/kg de ração, no período de 1 a 42 dias, permitem maximizar o desempenho, sem prejudicar o rendimento de carcaça e a qualidade de carne.

REFERÊNCIAS

- Aburto, A., and W. M. Britton. 1998. Effects and interactions of dietary levels of vitamin A and E and cholecalciferol in broiler chickens. *Poult. Sci.* 77: 666–673.
- Babji, A.S., G.W. Froning and D. A. Ngoda. 1982. The effect of preslaughter environmental temperature in the presence of electrolyte treatment on Turkey meat quality. *Poult. Sci.*, 61: 2385-2389.
- Barral, D., A. C. Barros, and R. P. C. Araújo, R.P.C. 2007. Vitamina D: uma abordagem molecular. *Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.* 7: 309-315.
- Bhuiyan, A. R., C. Lauridsen, A. R. Howlider, and K. Jakobsen. 2004. Importance of vitamin A supplementation for performance of Sonalichickens under smallholder farm conditions in a tropical climate. *Livestock Res. Rural Dev.* 16(10).
- Boulianne, M., and A. J. King. 1995. Biochemical and color characteristics of skinless boneless pale chicken breast. *Poult. Sci.* 74:1693-1698.
- Chen, W. and G. Chen. 2014. The Roles of Vitamin A in the Regulation of Carbohydrate, Lipid, and Protein Metabolism. *J. Clin. Med.* 3:453-479.
- Condron, K. N., R. P. Lemenager, M. C. Claeys, T. E. Lipkie, and J. P. Schoemaker. 2014. Supplemental β - carotene I: Effect on plasma vitamin A, growth, performance, and carcass characteristics of feedlot cattle. *Meat Sci.* 98:736-743.
- Dauncey, M. J. and D. L. Ingram. 1988. Influence of environmental temperature and energy intake on skeletal muscle respiratory enzymes and morphology. *European J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 58:239-244.
- Douglas, C. R. 2006. *Fisiologia Aplicada À Nutrição*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1124p.
- Frankel T. L., M. S. Seshadri, D. B. McDowall and C. J. Cornish. 1986. Hypervitaminosis A and calcium-regulating hormones in the rat. *J. Nutr.* 116:578–587.
- Garcia, A. F. Q. M., A. E. Murakami, C. R. A. Duarte, I. C. Ospina-Rojas, K. P. Picolli and M. M. Puzotti. 2013 Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26: 408-415.
- Genaro P. S. and L. A. Martini. 2004. Vitamin A supplementation and risk of skeletal fracture. *Nutr. Rev.* 62:65-67.
- Guillot, X., L. Semerani, N. Saidenberg, G. Falgarone and M. C. Boissier. 2010. Vitamin D and inflammation. *Joint Bone Spine.* 77:552-557.
- Honikel, K. O.1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 49:447-457.
- Kim, W. K., S. A. Bloomfield, and S. C. Ricke. 2011. Effects of age, vitamin D₃, and fructooligosaccharides on bone growth and skeletal integrity of broile chicks. *Poult. Sci.* 90:2425-2432.

- Li, J., D. Bi, S. Pan, Y. Zhang and D. Zhou. 2008. Effects of high dietary vitamin A supplementation on tibial dyschondroplasia, skin pigmentation and growth performance in avian broilers. *Res. Vet. Sci.* 84:409–412.
- Luo, L. and J. Huang. 1991. Effects of vitamin A and D supplementation on tibial dyschondroplasia in broilers. *Anim. Feed Sci. Tech.* 34:21-27.
- Mabelebele, M., J. W. Ng'Ambi, and D. Norris. 2013. Effect of dietary vitamin D₃ supplementation on meat quality of naked neck chickens. *Afr J Biotech.* 12: 3576-3582.
- Milan, B. Z., M. Radmila and V. Dordevic. 2011. Nutrition and meat quality. *Tehnologija mesa.* 52:154–159.
- Moghaddam, H. S., H. N. Moghaddam, H. Kermanshahi, A. H. Monssavi, and A. Raji. 2010. The Effect of Vitamin A on Mucin2 Gene Expression, Histological and Performance of Broiler Chicken. *Global Veterinaria.* 5:168-174.
- Nahm, K.H. 2007. Efficient phosphorus utilization in poultry feeding to lessen the environmental impact of excreta. *World Poultry Sci. J.* 63:625-654.
- Nakamura, M. and K. Katok. 1985 Influence of thawing method on several properties of rabbit meat. *Bulletin of Ishika Prefecture College of Agriculture.* 11:45-49.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1994. NRC-Nutrient requirements of poultry. 9.ed. Washington, DC: National Academic Press, 155p.
- Oba, A., P. A. Souza, H. B. A. Souza, F. P. Leonel, E. R. L. Pelicano, N. M. B. Zeoula, and I. C. Bolelli. 2007. Qualidade da carne de frangos de corte submetidos a dietas suplementadas com cromo, criados em diferentes temperaturas ambientais. *Acta Sci. Anim. Sci.* 29:143-149.
- Olivo, R., A. L. Soares, E. I. Ida, M. Shimokomaki. 2001. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *J Food Biochem.* 25: 271-283.
- Ørnsrud, E., E. J. Lock, and C. N. Glover. 2002. Retinoic acid cross-talk with 1,25(OH)2D₃ activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Endocrinol.* 202:473–482.
- Pyatt, N.A. and L. L. 2005. Berger.REVIEW: Potential Effects of Vitamins A and D on Marbling Deposition in Beef Cattle. *The Professional Animal Sci.* 21:174–181.
- Rao, S.V., M. V. L. N. Raju, and A. K. Panda. 2006. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. *J. Appl. Poultry Res.* 15:493-501.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 3ed. 185p. 2011.
- SAS Institute, 2009. SAS/STAT Guide for Personal Computers. Version 9.0 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Souza, C.S. and F.M. Vietes. 2014. Vitamina D₃ e seus metabolites para frangos de corte. *Arch. Zootec.* 63:11-24.
- Stan, F. J. G., I. Boulart, J. G. J. Hoenderop, and R. J. Bindels. 2003. Regulation of epithelial Ca²⁺ channels TRPV5 and TRPV6 by 1 α 25-dihydroxy vitamin D₃ and dietary Ca²⁺. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 89-90:303-308.
- Sundeen, G., J. F. Richards, and D. B. Bragg. 1980. The effect of vitamin A deficiency on some post mortem parameters of avian muscle. *Poult. Sci.* 59:2225-2236.
- Wiegand, B. R., J. C. Sparks, D. C. Beitz, F. C. Parrish, R. L. Horst, A. H. Trenkle and R. C. Ewan. 2002. Short-term feeding of vitamin D₃ improves color but does not change tenderness of pork-loin chops. *J. Anim. Sci.* 80:2116–2121.

V. VITAMINA A E VITAMINA D₃ NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 1 A 42 DIAS SOBRE A QUALIDADE ÓSSEA E SISTEMA IMUNE

RESUMO – O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a vitamina A e a vitamina D₃ nas dietas de frangos de corte sobre a qualidade óssea e sistema imune. Foram utilizados 1.520 pintos machos de um dia, Cobb, distribuídos em esquema fatorial 4x5, sendo quatro níveis de vitamina D₃ (200, 950, 1.700 e 2.450 UI) e cinco níveis de vitamina A (0, 9.000, 18.000, 36.000 e 54.000 UI), com quatro repetições e 19 aves por unidade experimental. Houve interação ($p < 0,05$) para cinzas ósseas aos 7 dias, com melhor deposição mineral no nível estimado de 36.000 UI de vitamina D₃/kg associado a 200 UI de vitamina D₃/kg. Para o diâmetro, comprimento, índice de *seedor*, resistência óssea e concentração de cálcio e fósforo não houve interação ($p > 0,05$) entre as vitaminas A e D₃. A suplementação de vitamina A influenciou de forma quadrática ($p < 0,05$) o fósforo nas tíbias aos 21 dias, com maiores teores deste mineral no nível estimado de 29.607,23 UI de vitamina A/kg e de forma linear crescente ($p < 0,05$) o fósforo sérico (21 dias) e o comprimento ósseo (42 dias). Com a suplementação dos níveis de vitamina D₃ a resistência óssea aos 7 e 21 dias apresentou comportamento quadrático ($p < 0,05$) com maiores resistências em níveis estimados de 1.937,48 e 2.011,57 UI de vitamina D₃/kg e comportamento linear decrescente ($p < 0,05$) aos 42 dias para área epifisária total e zona de cartilagem, confirmando a importância da vitamina D₃ no metabolismo ósseo e na prevenção de discondroplasia tibial. Para título de anticorpos contra a doença de *Newcastle*, a vitamina D₃ apresentou efeito linear crescente, com aumento da resposta conforme aumentou os níveis de vitamina D₃. Para vitamina A, o título de anticorpos contra a doença de *Newcastle* apresentou comportamento quadrático ($p < 0,05$), com menor resposta no nível estimado de 23.763,78 UI/kg. A suplementação de vitamina A, independente, em nível de 29.607,23 UI/kg proporcionou melhor deposição mineral nos ossos, e a de vitamina D₃ em nível de 2.011,57 UI/kg resultou em melhor resistência óssea e prevenção de discondroplasia tibial. As concentrações utilizadas de vitamina A e D₃ não interferiram sobre o sistema imune.

Palavras-chave: retinol, colecalciferol, resistência óssea

VITAMIN A AND VITAMIN D₃ IN THE FEED OF BROILER CHICKENS ON BONE QUALITY AND IMMUNE SYSTEM FROM 1 TO 42 DAYS

ABSTRACT – In order to evaluate vitamins A and D₃ in broilers feed on bone quality and immune system, 1,520 one-day-old Cobb male chicks were distributed in a factorial scheme 4x5, with four different levels of vitamin D₃ (200, 950, 1,700 and 2,450 IU) and five levels of vitamin A (0, 9,000, 18,000, 36,000 and 54,000 IU), with four replicates and 19 birds each. There was interaction ($p < 0.05$) for bone ash (%) on day 7, with the best mineral deposition at the level of 36,000 IU of vitamin D₃/kg associated with 200 IU of vitamin D₃/kg. For diameter, length, seedor index, bone strength and concentration of calcium and phosphorus, there was no interaction ($p > 0.05$) among the vitamins A and D₃. Vitamin A supplementation had a quadratic effect ($p < 0.05$) on phosphorus in the tibia (%) on the 21st day, with higher levels of this mineral in the estimated level of 29,607.23 IU of vitamin A/kg and increasing linearly ($p < 0.05$) the serum phosphorus (21 days) and the bone length (42 days). With supplementation of vitamin D₃ levels the bone strength at 7 and 21 days showed quadratic behavior ($p < 0.05$) with higher resistances at estimated levels of 1,937.48 and 2,011.57 IU of vitamin D₃/kg and decreasing linear effect ($p < 0.05$) at 42 days for total epiphyseal area and cartilage zone, confirming the importance of vitamin D₃ in bone metabolism and in the prevention of tibial dyschondroplasia. For serum antibodies against Newcastle disease, vitamin D₃ showed increasing linear effect, elevating the response as levels of vitamin D₃ increased. For vitamin A, the antibody title against Newcastle disease showed a quadratic behavior ($p < 0.05$), with lower response for estimated level of 23,763.78 IU/kg. Supplementation of vitamin A, independently, at level of 29,607.23 IU/kg resulted in better mineral deposition in the bone and vitamin D₃ supplementation in level of 2,011.57 IU/kg resulted in the best bone strength and prevention of tibial dyschondroplasia. The concentrations of vitamin A and D₃ used did not interfere the immune system.

Keywords: retinol, cholecalciferol, bone strength

INTRODUÇÃO

A produção de frango de corte vem conquistando cada vez mais espaço na economia brasileira, pois apresenta um rápido crescimento em um curto espaço de tempo, tudo isso associado ao preço acessível e a alta qualidade nutricional. Este alto desempenho se deve, principalmente, ao melhoramento genético e a seleção ao longo dos anos, contudo, existe ainda uma preocupação frente ao aumento de problemas locomotores, visto que o desenvolvimento ósseo não acompanhou o maior ganho de peso dos animais, ocasionando um desequilíbrio entre produção de carne e crescimento (Oviedo-Rondon et al., 2006)

Os problemas locomotores causam prejuízos por afetar além de prejudicar o bem estar dos animais, também causam mortalidades, menor desempenho e hematomas nas carcaças, representando uma maior condenação de carcaças nos abatedouros (Almeida Paz, 2008). A fim de diminuir estas perdas no setor avícola, existe uma busca por maiores informações dos mecanismos que desencadeiam estes problemas e alimentos e nutrientes que possam reduzi-los. Neste contexto, encontra-se a vitamina D₃ e a vitamina A, que possuem uma interrelação no metabolismo ósseo (Edwards Jr, 2000; Li et al., 2008).

A vitamina D₃ é geralmente produzida na pele pela irradiação (raios UV) da 7-deidrocolesterol desencadeando uma série de reações que atuam na produção da vitamina D ativa. Esta também pode ser fornecida pela dieta na forma de colecalciferol (D₃), o qual é absorvido juntamente com compostos lipossolúveis pelo intestino, necessitando de duas reações para ser ativada, uma no fígado, pela ação da enzima 1,25-hidroxilase, formando o 25(OH)D₃, e nos rins, pela ação da enzima 1 α -hidroxilase, gerando a forma ativa da vitamina D, 1,25(OH)₂D₃ (Guyton & Hall, 2006).

Esta forma ativa, 1,25(OH)₂D₃, irá agir nos tecidos alvos através de receptores nucleares em inúmeras funções no organismo, destacando-se sua participação na regulação da homeostase de cálcio e fósforo em um mecanismo no qual aumenta a captação intestinal destes, diminuindo as perdas renais e ainda estimulando a reabsorção óssea (Pérez-Lopez et al., 2009).

A vitamina A é uma vitamina lipossolúvel que atua em diversas funções no organismo, inclusive no metabolismo ósseo, possuindo uma relação com a vitamina D₃, sendo que a deficiência ou o excesso desta vitamina compromete o desenvolvimento ósseo (Navarro-Moreni & Alia-Ramos, 2006).

Com efeito imunomodulatório, a vitamina D₃ contribui na proliferação, diferenciação e função das células do sistema imunológico, atuando direta e indiretamente. A deficiência de vitamina A pode comprometer a imunidade inata e adaptativa, resultando em baixa atividade do sistema imunológico, perdendo a função imunorregulatória, ficando mais propensas a ataques de micro-organismos. A resposta para títulos de Newcastle é reduzida na deficiência de vitamina D₃ em aves (Rutz, 2002; Vlasova et al., 2013). Além disso, um prejuízo no sistema imunológico pode ocasionar falhas na conversão do β -caroteno em vitamina A e também na conversão da vitamina D em um metabólito ativo.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a vitamina A e a vitamina D₃ na alimentação de frangos de corte sobre variáveis ósseas e sistema imune.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, sob aprovação do Comitê de Ética de animais em experimentação – CEEA/UEM (Registro N° 2803101215).

Foram utilizados 1.520 pintos machos de um dia, da linhagem Cobb, distribuídos em um esquema fatorial 4x5, sendo quatro diferentes níveis de vitamina D₃ (200; 950; 1.700 e 2.450UI) e cinco níveis de vitamina A (0. 9.000; 18.000; 36.000 e 54.000 UI), com quatro repetições e 19 aves por unidade experimental, no período de 1 a 42 dias de idade. Foi utilizado um programa de luz contínua durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23h de luz/dia.

As rações (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, em cada fase, segundo Rostagno et al. (2011). O suplemento mineral e vitamínico utilizado foi isento de vitamina A e D₃, sendo as mesmas incluídas gradativamente nas rações, conforme os níveis.

A mortalidade e as sobras de ração foram registradas para determinação do consumo de ração pelas aves.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade.

Ingredientes (%)	1-21 Dias	22-42 Dias
Milho	56,50	63,87
F. Soja	36,88	29,38
Fosfato Bicálcico	1,70	1,15
Calcário	0,82	0,76
Óleo de soja	2,41	3,17
Sal comum	0,400	0,400
DL-metionina 99%	0,321	0,250
L-lisina 78%	0,242	0,263
L-treonina 99%	0,078	0,047
Supl. Mineral ² e Vitaminico ¹	0,400	0,400
Inerte	0,700	0,700
BHT	0,01	0,01
TOTAL	100,00	100,00
Composição calculada		
Energia Met. (kcal/kg)	2980	3125
Proteína bruta (%)	21,60	18,75
Lisina digestível (%)	1,242	1,080
Met + Cis digestível (%)	0,895	0,762
Triptofano digestível (%)	0,242	0,202
Treonina digestível (%)	0,808	0,679
Valina digestível (%)	0,913	0,789
Arginina digestível (%)	1,36	1,148
Cálcio (%)	0,870	0,690
Fósforo disponível (%)	0,429	0,320
Sódio (%)	0,178	0,177
Potássio (%)	0,839	0,723
Cloro (%)	0,291	0,291
BED (mEq/kg)	209,64	179,84

¹ Suplemento Vitaminico Inicial (Conteúdo por kg de ração): Vit. E 35,000 mg; Vit. K3 1,733 mg; Vit. B1 1,633 mg; Vit. B2 5,333 mg, Vit. B12 16,667 mcg; Niacina 35,933 mg; Ácido Pantotênico 12,667 mg; Ácido Fólico 0,800 mg; Antioxidante 5,800; Veículo q.s.p. 4,00 g.

Suplemento Vitaminico de Crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vit. E 28,000 mg; Vit. K3 1,820 mg; Vit. B1 1,372 mg; Vit. B2 4,000 mg, Vit. B12 28,000 mcg; Niacina 28,420 mg; Ácido Pantotênico 10,450 mg; Ácido Fólico 0,640 mg; Antioxidante 4,800; Veículo q.s.p. 4,000 g.

² Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 50,400 mg; Cobre 12,288 mg; Iodo 0,992 mg; Zinco 50,400 mg; Manganês 60,016 mg; Selênio 0,245 mg; Cobalto 0,202 mg; Veículo q.s.p. 4,000 g.

³ As vitaminas D₃ e A foram incluídas em substituição ao inerte.

As aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle no 8º dia de vida e aos 28 dias foi feita a colheita de amostras de sangue por punção da veia jugular de seis aves por tratamento. O sangue foi dessorado e o soro reservado para mensuração da produção de anticorpos contra a doença de Newcastle, testados através de ELISA indireto (IDEXX®) de acordo com instruções do fabricante. Os títulos avaliados foram

referentes à resposta vacinal. Para a determinação do perfil hematológico, preparou-se esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro, que foram corados pelo método de May Grunwald – Giemsa. A contagem diferencial realizada em microscópio ótico com objetiva de imersão foi classificatória para linfócitos, heterófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos, calculando a proporção de cada um em cem células contadas/ave (Charles Noriega, 2000).

Para avaliação das variáveis ósseas, as pernas esquerdas de quatro aves por tratamento foram coletadas aos 7, 21 e 42 dias de idade e permaneceram congeladas (-20° C) até o início das análises. Após o descongelamento das coxa+sobrecoxa, o tecido muscular aderido foi retirado com auxílio de tesouras e pinças, separando-se as tíbias. Posteriormente, os ossos foram pesados em balança analítica ($g \pm 0,0001$) e o comprimento e o diâmetro foram medidos na porção média usando paquímetro eletrônico digital (mm), para cálculo do índice de Seedor (Seedor et al., 1991).

A análise de resistência óssea foi realizada utilizando-se os ossos descongelados *in natura*, em um aparelho texturômetro CT3 (Brookfield). O mecanismo consistiu em uma base que apoia as regiões das epífises ósseas e com a força aplicada na região central do osso. Os valores foram expressos em quilograma força (kgf).

Após o ensaio de resistência óssea, os ossos foram preparados para a determinação do teor de minerais. Para tanto, os ossos foram desengordurados em éter de petróleo, secos em estufa de ventilação forçada, triturados e pesados em balança analítica (0,001g). Posteriormente foram secos em estufa a 105°C por 12 horas, pesados após resfriamento e calcinados em mufla a 600° C, para obtenção das cinzas (Oliveira et al., 2012). Após a queima, foram pesadas as cinzas e obteve-se a porcentagem de cinzas com base na matéria seca. A cinza resultante da queima dos ossos foi utilizada para o preparo das soluções minerais (Silva e Queiroz, 2006). As determinações de fósforo foram realizadas pelo método colorimétrico, com utilização de solução mineral e as determinações de Cálcio foram analisadas por espectrofotometria.

Para avaliar a incidência à discondroplasia tibial, quatro aves por tratamento foram sacrificadas aos 21 e 42 dias de idade, retirando-se a tíbia da perna esquerda, que foi fixada em solução de formalina 10%. A descalcificação do material foi realizada com ácido fórmico e citrato de sódio para evitar a hidrólise e o entumescimento do tecido ósseo. Após a descalcificação, o osso foi submetido à rotina histológica, para inclusão em parafina (Beçak & Paulete, 1976). Os cortes foram feitos com micrótomo rotativo a 5 µm de espessura e corados com Hematoxilina-Eosina, para mensurações das áreas

para caracterização da incidência à discondroplasia tibial. Para análise das lâminas da cartilagem epifisária tibial, foram consideradas três regiões distintas caracterizadas pela aparência morfológica: área epifisaria, placa de crescimento e zona de cartilagem, segundo Ridell (1975) e Thorp et al. (1993).

Aos 7, 28 e 42 dias de idade, foram coletadas amostras de sangue da veia jugular, utilizando-se uma ave por unidade experimental, para analisar as concentrações séricas de cálcio e fósforo mediante um processo enzimático-colorimétrico, onde a absorbância produzida no complexo foi diretamente proporcional à concentração do substrato na amostra. A dosagem de osteocalcina foi realizada, apenas na idade de 28 dias, pelo método de ELISA por meio da Leitora Stat Fax modelo 2100 da marca Awareness Technology e os cálculos realizados no programa MultiCalc.

Os dados foram submetidos às análises estatísticas, utilizando-se PROC GLM do programa computacional SAS (2009). Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, considerando $p < 0,05$, e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação ($p < 0,05$) entre os níveis de vitamina A e D₃ sobre a porcentagem de cinzas ósseas aos 7 dias (Tabela 2). Desdobrando-se a interação dos níveis de vitamina D₃ dentro dos níveis de vitamina A (Tabela 3) para cinzas ósseas no período de 1 a 7 dias, nos níveis de 0 e 54000UI de vitamina A/kg a porcentagem de cinzas ósseas apresentou comportamento quadrático ($p < 0,05$) com maiores valores estimados em 931,47 e 843,32UI de vitamina D₃/kg, respectivamente, indicando que com o nível mínimo de vitamina A associado a 931,47UI de vitamina D₃/kg são suficientes para maiores porcentagens de cinzas ósseas.

Dentro dos níveis de 9000 e 18000UI de vitamina A/kg foi observado comportamento quadrático ($p < 0,05$), com piores porcentagens de cinzas ósseas estimada nos níveis de 1251,96 e 1534,23UI de vitamina D₃/kg, respectivamente. A vitamina D₃ dentro do nível de 36000UI de vitamina A/kg apresentou comportamento linear negativo ($p < 0,05$) para porcentagem de cinzas, com maiores porcentagens nos menores níveis de vitamina D₃ utilizados, indicando que neste nível de vitamina A, a utilização de 200UI de vitamina D₃/kg, são suficientes para os melhores valores de cinzas ósseas (%). Contudo, não houve efeito da interação ($p > 0,05$) para os níveis de vitamina A, dentro de cada nível de vitamina D₃.

Tabela 2. Médias das variáveis ósseas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D₃ aos 7, 21 e 42 dias.

		Diâmetro (mm)	Índice de Seedor	Cinzas (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Resistência Óssea (kgf)
7 dias							
Vitamina A (UI/kg)	0	2,70 \pm 0,03	31,07 \pm 0,55	33,23 \pm 0,61	27,63 \pm 0,57	10,01 \pm 0,27	2,39 \pm 0,08
	9000	2,69 \pm 0,04	29,97 \pm 0,89	32,95 \pm 0,76	26,62 \pm 0,49	9,88 \pm 0,23	2,29 \pm 0,10
	18000	2,81 \pm 0,05	31,01 \pm 0,83	34,17 \pm 0,64	25,98 \pm 1,05	10,26 \pm 0,53	2,59 \pm 0,09
	36000	2,79 \pm 0,05	32,29 \pm 0,74	33,87 \pm 1,00	26,00 \pm 0,76	9,80 \pm 0,27	2,53 \pm 0,12
	54000	2,75 \pm 0,04	32,15 \pm 0,67	33,62 \pm 0,97	26,38 \pm 0,91	9,41 \pm 0,28	2,50 \pm 0,08
Vitamina D (UI/kg)	200	2,71 \pm 0,03	30,26 \pm 0,65	35,04 \pm 0,59	26,70 \pm 0,61	9,36 \pm 0,27	2,27 \pm 0,06
	950	2,73 \pm 0,04	30,90 \pm 0,63	33,62 \pm 0,78	26,74 \pm 0,36	9,76 \pm 0,16	2,46 \pm 0,08
	1700	2,80 \pm 0,04	31,58 \pm 0,73	33,18 \pm 0,61	26,16 \pm 0,68	9,97 \pm 0,27	2,58 \pm 0,09
	2450	2,75 \pm 0,04	32,45 \pm 0,62	33,18 \pm 0,61	26,16 \pm 0,68	9,97 \pm 0,27	2,58 \pm 0,09
	CV%	6,02	9,22	9,32	10,25	13,07	14,25
Anova	Vit A	0,20	0,24	0,86	0,95	0,39	0,13
	Vit D	0,40	0,14	0,33	0,58	0,13	0,04 ¹
	AXD	0,56	0,71	0,02	0,37	0,85	0,55
21 dias							
Vitamina A (UI/kg)	0	5,49 \pm 0,11	95,12 \pm 2,58	39,71 \pm 0,78	29,49 \pm 0,56	8,53 \pm 0,31	21,00 \pm 1,25
	9000	5,66 \pm 0,11	96,08 \pm 2,11	39,59 \pm 0,57	29,28 \pm 0,46	9,36 \pm 0,17	21,08 \pm 1,45
	18000	5,76 \pm 0,10	95,97 \pm 1,48	41,51 \pm 0,74	28,49 \pm 0,55	10,96 \pm 0,54	23,54 \pm 1,22
	36000	5,93 \pm 0,13	99,24 \pm 2,82	39,57 \pm 0,81	29,77 \pm 2,06	10,12 \pm 0,27	22,90 \pm 1,69
	54000	5,75 \pm 0,14	102,89 \pm 4,54	39,21 \pm 0,80	28,47 \pm 0,62	9,38 \pm 0,50	22,42 \pm 1,58
Vitamina D (UI/kg)	200	5,83 \pm 0,12	93,15 \pm 2,31	39,81 \pm 0,62	28,02 \pm 0,39	9,33 \pm 0,71	19,16 \pm 1,72
	950	5,69 \pm 0,12	99,75 \pm 3,79	40,14 \pm 0,70	28,85 \pm 0,29	9,36 \pm 0,27	23,73 \pm 1,16
	1700	5,64 \pm 0,09	97,57 \pm 1,69	39,89 \pm 0,66	29,99 \pm 0,49	9,50 \pm 0,26	22,00 \pm 0,98
	2450	5,72 \pm 0,09	100,91 \pm 1,96	39,81 \pm 0,79	29,40 \pm 1,49	9,66 \pm 0,28	23,95 \pm 0,78
	CV%	8,00	11,04	9,94	12,37	14,05	24,77
Anova	Vit A	0,15	0,26	0,90	0,67	0,00 ²	0,61
	Vit D	0,66	0,16	0,51	0,93	0,75	0,04 ³
	AXD	0,72	0,30	0,42	0,62	0,54	0,73
42 dias							
Vitamina A (UI/kg)	0	8,31 \pm 0,24	175,46 \pm 5,19	36,12 \pm 1,70	30,59 \pm 0,90	11,21 \pm 0,44	35,53 \pm 2,33
	9000	8,49 \pm 0,15	204,37 \pm 17,36	36,95 \pm 0,62	31,69 \pm 0,87	11,95 \pm 0,35	40,70 \pm 2,57
	18000	8,43 \pm 0,11	186,86 \pm 4,25	36,38 \pm 0,71	32,04 \pm 0,88	11,23 \pm 0,42	37,76 \pm 1,89
	36000	8,31 \pm 0,16	191,70 \pm 4,26	36,38 \pm 0,69	32,41 \pm 1,59	11,62 \pm 0,32	41,02 \pm 2,29
	54000	8,40 \pm 0,18	186,50 \pm 4,11	36,04 \pm 0,83	30,28 \pm 0,75	12,84 \pm 0,34	36,46 \pm 1,37
Vitamina D (UI/kg)	200	8,32 \pm 0,18	186,93 \pm 4,78	36,01 \pm 1,05	32,25 \pm 1,07	11,47 \pm 0,36	37,13 \pm 2,36
	950	8,32 \pm 0,11	180,97 \pm 3,31	36,68 \pm 0,88	31,45 \pm 1,27	11,47 \pm 0,31	38,34 \pm 1,56
	1700	8,44 \pm 0,14	185,58 \pm 3,97	36,20 \pm 0,67	31,81 \pm 0,54	12,01 \pm 0,35	39,44 \pm 1,81
	2450	8,47 \pm 0,18	202,13 \pm 14,01	36,69 \pm 0,73	30,51 \pm 0,38	12,08 \pm 0,40	38,15 \pm 1,92
	CV%	8,31	7,35	9,32	10,39	12,00	21,82
Anova	Vit A	0,94	0,24	0,48	0,37	0,11	0,30
	Vit D	0,84	0,28	0,22	0,66	0,32	0,87
	AXD	0,60	0,53	0,51	0,67	0,88	0,67

¹ Resistência óssea aos 7 dias = 2,1877+3,9637x10⁻⁴VitD-1,0229x10⁻⁷VitD², R²=0,95; Valor estimado = 1937,48 UI Vit D₃/kg.

² Fósforo (%) aos 21 dias = 18,7354+4,8837x10⁻³VitD-1,2139x10⁻⁶VitD², R²=1,00; Valor estimado = 29607,23 UI Vit A/kg.

³ Resistência óssea aos 21 dias = 8,5645+0,00014488VitA-2,4467x10⁻⁹VitD², R²=1,00; Valor estimado = 2011,57 UI Vit D₃/kg.

Tabela 3. Desdobramento da interação vitamina A x vitamina D3 nas cinzas ósseas (%), no período de 1 a 7 dias de idade.

Cinzas ósseas (%)						
Vitamina A (UI/kg)	Vitamina D ₃ (UI/kg)				Regressão	Valor estimado
	200	950	1700	2450		
0	33,47	34,59	33,40	30,94	$Y=32,8223+0,00372VitD-0,00000199VitD^2$, $R^2=1,00$	931,47 Vit D ₃ (UI/kg)
9000	34,58	30,17	32,93	34,53	$Y=35,436-0,00684VitD+0,000002734VitD^2$, $R^2=0,72$	1251,96 Vit D ₃ (UI/kg)
18000	36,40	31,62	34,45	33,56	$Y=36,8073-0,004818VitD+0,000001507VitD^2$, $R^2=0,46$	1534,23 Vit D ₃ (UI/kg)
36000	37,29	34,01	33,76	29,28	$Y=37,8175-0,00315664VitD$, $R^2=0,90$	----
54000	33,47	37,20	31,42	31,97	$Y=33,7933+0,004818VitD-0,000001528VitD^2$, $R^2=0,24$	843,32 Vit D ₃ (UI/kg)
Vitamina A (UI/kg)						
Vitamina D ₃ (UI/kg)	0	9000	18000	36000	54000	Regressão
200	33,47	34,58	36,40	37,29	33,47	Ns
950	34,59	30,17	31,62	34,01	37,20	Ns
1700	33,40	32,93	34,45	33,76	31,42	Ns
2450	30,94	34,53	33,56	29,28	31,97	Ns

Desta forma a quantidade de vitamina D₃ e a vitamina A podem influenciar no total de cinzas. Resultados semelhantes foram obtidos por Aburto & Britton (1998) avaliando a interação da vitamina A e vitamina D₃, observaram que a vitamina D₃, em altos níveis de vitamina A, diminuem a porcentagem de cinzas ósseas e aumentam a incidência de problemas de perna. Isto pode ser explicado porque a vitamina A compete pelo sítio de absorção com outras vitaminas lipossolúveis como a vitamina D₃, de modo que o aumento ou diminuição podem interferir na concentração de cinzas ósseas (Lesson & Summers, 2001), visto que as vitaminas A e D₃ possuem um papel importante na homeostase do cálcio e fósforo e no metabolismo ósseo.

Brito et al. (2010) associaram o metabolismo das vitaminas A e E à atividade e absorção da vitamina D₃. Além disso, participa na rota do desenvolvimento esquelético, que pode ser explicada em parte por estimular a secreção de PTH juntamente com outros fatores, de modo que animais com deficiência de vitamina A apresentem uma pior calcificação e conseqüentemente pior desenvolvimento ósseo (Li et al., 2008).

Taylor et al (1968) observaram um antagonismo entre a vitamina A e a vitamina D₃, quando em altos níveis, sobre o metabolismo de cálcio, fósforo e fosfatase ácida, possivelmente, em situações de hipervitaminose A ou deficiência de vitamina D₃, o osso não é capaz de responder ao paratormônio.

Não houve interação ($p>0,05$) entre a vitamina A e D₃ sobre o diâmetro da tíbia, índice de seedor, resistência óssea e concentração de cálcio e fósforo), o que indica que as vitaminas agiram de forma independente para estas variáveis.

A resistência óssea não foi influenciada ($p>0,05$) pelos níveis de vitamina A em nenhuma das idades avaliadas. No entanto, aos 7 e 21 dias, a resistência óssea (Tabela 2) apresentou comportamento quadrático ($p<0,05$) em função dos níveis de vitamina D₃, com maiores resistências ósseas estimadas em 1.937,48 e 2.011,57UI de vitamina D₃/kg, respectivamente. Para a porcentagem de fósforo nas tíbias aos 21 dias (Tabela 2) observou-se efeito quadrático, com maior nível estimado em 29.607,23UI de vitamina A/kg.

Como o frango de corte apresenta uma alta taxa de ganho de peso, a resistência óssea é uma variável essencial, pois uma melhor estrutura óssea é importante para proporcionar um maior suporte para a maior deposição de carne na carcaça (Araujo et al. 2011). A vitamina D₃ possui efeito comprovado sobre a resistência óssea, estando intimamente relacionada ao metabolismo de absorção do cálcio e fósforo, de forma que

baixos níveis de cálcio e fósforo na corrente sanguínea estimulam a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, mediados pela ação do hormônio da paratireóide (PTH). Este hormônio irá estimular a reabsorção de cálcio nos ossos e nos rins e a secreção de calcitonina é inibida. Ao mesmo tempo, o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ irá aumentar a absorção de cálcio no intestino.

Da mesma forma, os níveis de cálcio e fósforo e outros mecanismos de retroalimentação irão determinar a inibição do PTH e a ativação da calcitonina, que irá atuar em altas concentrações de cálcio no intuito de aumentar a mobilização e excreção deste mineral, de modo a controlar a homeostase no organismo (Carrillo-Lopes et al., 2009). Assim, a regulação do metabolismo ósseo, exige que os níveis de vitaminas oferecidos na dieta estejam adequados de forma a permitir um aumento no comprimento e diâmetro dos ossos durante o crescimento das aves, principalmente na fase inicial (Silva, 2001).

De acordo com Edwards Jr. (2000), a quantidade de vitamina D_3 capaz de permitir a formação óssea de forma eficiente deve ser superior a 1.250UI/kg. Uma melhor mineralização óssea foi observada por Rao et al. (2006) com níveis de até 36.00UI/kg de vitamina D_3 , para frangos de corte. Para Rath et al. (2006) e Garcia et al. (2013), a vitamina D_3 possui influência sobre a homeostase de cálcio e fósforo.

Não foi observado efeito ($p>0,05$) das vitaminas A e D_3 para área epifisária, placa de crescimento, área de cartilagem aos 21 dias (Tabela 4). No entanto, aos 42 dias a área epifisária total e a zona de cartilagem apresentaram efeito linear decrescente ($p<0.05$), em função dos níveis de vitamina D_3 (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de variáveis do corte histológico da epífise proximal das tíbias (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D₃ aos 21 e 42 dias.

	21 dias			42 dias		
	Área epifisária (mm ²)	Placa de crescimento (mm ²)	Zona de cartilagem (mm ²)	Área epifisária (mm ²)	Placa de crescimento (mm ²)	Zona de cartilagem (mm ²)
Vitamina A						
0	80,80 \pm 5,39	14,67 \pm 0,95	34,76 \pm 5,28	197,23 \pm 25,13	23,60 \pm 1,36	112,74 \pm 23,95
9000	106,12 \pm 7,59	14,90 \pm 0,80	52,67 \pm 7,73	195,68 \pm 21,87	23,00 \pm 1,00	104,92 \pm 21,06
18000	94,92 \pm 5,32	15,55 \pm 0,73	40,78 \pm 4,44	193,69 \pm 21,52	23,24 \pm 1,02	100,68 \pm 19,56
36000	93,38 \pm 6,68	14,99 \pm 1,12	38,35 \pm 5,53	222,91 \pm 25,62	25,84 \pm 1,42	124,43 \pm 21,62
54000	80,58 \pm 6,87	13,64 \pm 0,64	33,90 \pm 5,13	203,05 \pm 16,09	24,84 \pm 1,12	107,96 \pm 16,97
Vitamina D ₃						
200	94,82 \pm 6,25	14,91 \pm 0,73	43,10 \pm 4,81	252,09 \pm 21,50	24,49 \pm 1,06	159,93 \pm 19,15
950	96,15 \pm 6,65	14,46 \pm 0,60	37,43 \pm 5,63	179,78 \pm 14,84	24,30 \pm 1,14	91,75 \pm 13,20
1700	92,52 \pm 6,83	14,37 \pm 0,82	42,25 \pm 6,28	194,18 \pm 22,30	22,96 \pm 1,12	102,01 \pm 19,89
2450	90,07 \pm 4,36	15,27 \pm 0,95	36,51 \pm 3,82	184,01 \pm 13,24	24,67 \pm 1,01	86,89 \pm 13,89
CV%	25,64	19,02	51,09	34,93	16,36	59,38
----- p – valor -----						
Vit A	0,30	0,59	0,18	0,84	0,39	0,92
Vit D	0,68	0,89	0,69	0,03 ¹	0,65	0,01 ²
AxD	0,06	0,15	0,07	0,22	0,26	0,32

¹. Área epifisária aos 42 dias=236,051-0,0253123VitD, R²=1,00;

². Zona de cartilagem aos 42 dias=147,045-0,0253123VitD, R²=1,00.

Esses resultados evidenciam que a utilização de vitamina D₃ exerceu efeito sobre a ossificação endocondral e a deposição de cálcio e fósforo nos ossos. Isto porque a vitamina D₃ atua na ligação do receptor para vitamina D (VDR), que no intestino leva a um aumento na expressão da proteína ligadora de cálcio, promovendo o transporte de cálcio do lúmen intestinal para a corrente sanguínea. Nos osteoclastos esta ligação irá estimular a expressão de RANK ligante, o qual promove a maturação de pro-osteoclastos em osteoclastos, liberando estoques de cálcio para os ossos (Guillit et al., 2010).

Existe uma importante ação sobre os condrocitos, com o VDR localizado também na placa de crescimento epifisário, sendo essenciais para a formação normal dos ossos, bem como na expressão de fosfatase alcalina, agindo na maturação de condrocitos através de genes específicos, que promovem a diferenciação celular, estimulando a expressão de colágeno e aumentando a condrogenese (Norman & Hurwitz, 1993; Farquecerson & Jefferier, 2000).

O aumento da zona de cartilagem ($p < 0,05$) mostrou efeitos sobre a ocorrência de discondroplasia tibial aos 42 dias, de maneira que a redução desta área de cartilagem indicou que com a inclusão de vitamina D₃ ocorre uma melhoria na deposição mineral nos ossos podendo diminuir a incidência de discondroplasia tibial, uma vez que esta se caracteriza como uma falha no processo de proliferação e de diferenciação dos condrócitos na ossificação endocondral. A discondroplasia tibial se constitui pela formação de uma massa cartilaginosa avascular com condrócitos pré-hipertróficos no disco epifisário aumentando a área de cartilagem (Whitehead, 2002; Dinev et al., 2012). Desta forma, aumentos na área de cartilagem podem ser caracterizados como uma maior incidência de discondroplasia.

Aos 21 dias, a concentração de fósforo sérico (Tabela 5) apresentou efeito linear negativo ($p < 0,05$) com o aumento dos níveis de vitamina A. As demais variáveis albumina, proteínas totais, cálcio total e cálcio ionizado não foram influenciadas ($p > 0,05$) pelos níveis de vitamina A e vitamina D₃. Isto pode ser explicado devido ao fato de que a vitamina A atua no metabolismo ósseo sobre a ação do PTH, absorção e mobilização de cálcio e fósforo (Rhode et al. 1999), assim, provavelmente ocorreu um pequeno desbalanço que comprometeu os níveis séricos de fósforo e por consequência a concentração de fósforo nas tíbias.

Este pequeno desbalanço de vitamina A, pode ocasionar efeitos caracterizados como osteofites ou exostoses ósseas, induzindo a lesões no esqueleto. Pode atuar inibindo a multiplicação dos condrócitos devido a uma perda de mucopolissacarídeos suprimindo a atividade de osteoblastos e alterações degenerativas nas placas epifisárias cartilaginosas (Polizopoulou et al., 2005). Esta inibição leva a formação dos osteoclastos e causa um efeito antagônico sobre a ação da vitamina D₃ em manter a homeostase dos níveis séricos de cálcio e fósforo, acelerando a mobilização óssea, o que leva a alteração também da atividade da enzima fosfatase alcalina (Genaro & Martini, 2004), porém esta interação não foi significativa ($p > 0,05$).

Tabela 5. Médias das variáveis séricas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e D₃ aos 7, 28 e 42 dias.

	Vitamina A					Vitamina D				Anova		
	0	9000	18000	36000	54000	200	950	1700	2450	Vit A	Vit D	AXD
Albumina (mg/dL)	4,77 \pm 0,36	4,01 \pm 0,24	5,51 \pm 0,68	4,66 \pm 0,28	4,64 \pm 0,22	4,31 \pm 0,28	5,26 \pm 0,45	4,81 \pm 0,44	4,53 \pm 0,23	0,23	0,31	0,77
Proteínas Totais (mg/dL)	2,66 \pm 0,08	2,54 \pm 0,08	2,77 \pm 0,11	2,84 \pm 0,08	2,78 \pm 0,09	2,64 \pm 0,06	2,66 \pm 0,07	2,83 \pm 0,11	2,75 \pm 0,09	0,18	0,32	0,23
Cálcio Total (mg/dL)	7,06 \pm 0,30	6,05 \pm 0,40	7,40 \pm 0,37	7,40 \pm 0,21	6,85 \pm 0,36	7,23 \pm 0,31	7,12 \pm 0,28	7,05 \pm 0,33	6,56 \pm 0,31	0,19	0,19	0,17
Cálcio Ionizado (mg/dL)	3,37 \pm 0,13	3,06 \pm 0,19	3,61 \pm 0,27	3,82 \pm 0,16	3,52 \pm 0,22	3,87 \pm 0,21	3,31 \pm 0,14	3,54 \pm 0,19	3,29 \pm 0,19	0,42	0,14	0,24
Fósforo (mg/dL)	4,36 \pm 0,29	4,73 \pm 0,32	4,70 \pm 0,29	4,56 \pm 0,17	5,04 \pm 0,25	4,27 \pm 0,24	4,54 \pm 0,23	5,26 \pm 0,26	4,65 \pm 0,21	0,44	0,08	0,43
Albumina (mg/dL)	5,93 \pm 0,25	6,29 \pm 0,26	6,03 \pm 0,13	6,39 \pm 0,41	6,19 \pm 0,24	6,71 \pm 0,31	6,01 \pm 0,23	5,98 \pm 0,20	5,98 \pm 0,17	0,77	0,11	0,85
Proteínas Totais (mg/dL)	3,12 \pm 0,15	3,02 \pm 0,08	3,10 \pm 0,17	3,39 \pm 0,23	3,13 \pm 0,14	3,45 \pm 0,16	3,02 \pm 0,13	3,18 \pm 0,20	2,97 \pm 0,06	0,54	0,08	0,30
Cálcio Total (mg/dL)	9,49 \pm 0,52	9,72 \pm 0,71	9,28 \pm 0,36	8,69 \pm 0,40	9,77 \pm 0,40	8,98 \pm 0,43	9,39 \pm 0,52	9,78 \pm 0,54	9,37 \pm 0,29	0,80	0,54	0,48
Cálcio Ionizado (mg/dL)	4,58 \pm 0,20	4,67 \pm 0,38	4,57 \pm 0,32	3,85 \pm 0,23	4,64 \pm 0,24	4,16 \pm 0,24	4,60 \pm 0,33	4,69 \pm 0,31	4,31 \pm 0,13	0,82	0,42	0,69
Fósforo (mg/dL)	5,43 \pm 0,34	5,57 \pm 0,28	4,95 \pm 0,25	4,84 \pm 0,38	4,54 \pm 0,14	4,88 \pm 0,32	5,23 \pm 0,26	4,93 \pm 0,28	5,21 \pm 0,21	0,03 ¹	0,57	0,21
Osteocalcina (mg/mL)	3,32 \pm 0,21	2,82 \pm 0,08	3,01 \pm 0,10	3,00 \pm 0,08	3,08 \pm 0,17	3,05 \pm 0,09	3,08 \pm 0,15	3,02 \pm 0,10	3,05 \pm 0,16	0,24	0,99	0,84
Albumina (mg/dL)	4,84 \pm 0,27	5,43 \pm 0,27	5,62 \pm 0,16	5,45 \pm 0,40	5,43 \pm 0,38	5,64 \pm 0,33	5,34 \pm 0,17	5,39 \pm 0,28	4,98 \pm 0,32	0,49	0,53	0,95
Proteínas Totais (mg/dL)	3,55 \pm 0,12	3,53 \pm 0,10	3,61 \pm 0,07	3,94 \pm 0,22	3,61 \pm 0,13	3,51 \pm 0,12	3,70 \pm 0,13	3,74 \pm 0,13	3,65 \pm 0,13	0,27	0,62	0,97
Cálcio Total (mg/dL)	11,22 \pm 0,48	10,80 \pm 0,37	12,06 \pm 0,37	11,01 \pm 0,70	10,00 \pm 0,43	10,34 \pm 0,50	11,48 \pm 0,38	11,16 \pm 0,46	11,09 \pm 0,41	0,06	0,36	0,54
Cálcio Ionizado (mg/dL)	5,78 \pm 0,31	5,29 \pm 0,22	5,56 \pm 0,14	5,14 \pm 0,41	5,18 \pm 0,46	5,18 \pm 0,40	5,52 \pm 0,21	5,32 \pm 0,24	5,72 \pm 0,29	0,55	0,65	0,91
Fósforo (mg/dL)	10,14 \pm 0,81	9,98 \pm 1,01	10,40 \pm 0,59	9,51 \pm 0,75	10,12 \pm 1,27	8,45 \pm 0,73	10,33 \pm 0,66	10,23 \pm 0,83	11,18 \pm 0,88	0,93	0,09	0,33

¹ Concentração de fósforo aos 21 dias=5,49591-0,0000181665VitA, R²=0,80.

Poderia haver uma interação, uma vez que as ações genômicas dos metabólitos da vitamina A (ácido retinoico) e da vitamina D₃ (calcitriol) são mediadas por um receptor VDR (para vitamina D) e um receptor para vitamina A, que necessitam de dimerização com um receptor retinóide (RXR) para serem ativados. No tecido ósseo, a vitamina D₃ tem efeito direto sobre os osteoblastos e osteoclastos, atuando na formação e modulação óssea, induzindo a expressão de RNAm para colágeno, osteocalcina, osteoblastos e fosfatase alcalina. A vitamina A tem um efeito oposto nos ossos, podendo inibir a expressão de osteocalcina e nos osteoblastos, reduzindo a síntese de colágeno e aumentando a expressão de colagenase e degradação do colágeno. Quando em excesso, a vitamina A antagoniza a via de homeostase de cálcio e fósforo, interferindo sobre a ação da vitamina D₃ (MacDonald et al., 1993; Ornsrud et al., 2009).

No entanto, não houve efeito ($p > 0,05$) dos níveis de vitamina A e vitamina D₃ para a dosagem de osteocalcina sérica (Tabela 4). A osteocalcina é considerada um importante marcador biológico da atividade osteoblástica, por ser uma das proteínas não colagenosas mais abundantes na matriz extracelular do osso (Dôres et al. 2001). Constitui-se em uma proteína com três resíduos de γ -carboxiglutâmico, que tem o papel de fixar a hidroxiapatita e o cálcio nos ossos (Avolio et al., 2008). Esperava-se uma alteração na dosagem de osteocalcina, uma vez que esta tem sua expressão e síntese ligada ao 1,25(OH)₂D₃ e o ácido retinoico pode inibir a ação do 1,25(OH)₂D₃ na expressão de osteocalcina, devido a interação de ambas as vitaminas com o receptor retinoide RXR (Jaakelainen et al. 2003).

As vitaminas A e D₃ agiram de forma independente sobre o título de anticorpos contra a doença de Newcastle, mostrando a ação destas como imunorreguladoras. O título de anticorpos contra a doença de Newcastle foi estimulado de forma quadrática ($p < 0,05$) em função dos níveis de vitamina A, com menor resposta estimada em 23763,78UI de vitamina A/kg e aumentou linearmente ($p < 0,05$) em função dos níveis de vitamina D₃. Como se trata de uma resposta ao estímulo vacinal, quanto maior o título de anticorpos contra a doença de Newcastle, melhor a resposta imune da ave, ou seja, mais protegida estará esta ave a um vírus patogênico, ou um desafio a campo.

De acordo com Ikeda et al. (2010), existe um sinergismo entre a vitamina A e a vitamina D₃ na proteção ao sistema imune, além disso, estas vitaminas atuam no processo de ativação e proliferação de linfócitos, diferenciação de células T-helper, produção de anticorpos específicos e regulação da resposta imune, contudo não houve

interação ($p < 0,05$) (Tabela 6), entre os níveis de vitamina A e vitamina D₃, para as variáveis do sistema imune.

O 1,25(OH)₂D₃ atua em células do sistema imune através da formação de complexo com o receptor para vitamina D (VDR) e o receptor retinoide (RXR), da mesma forma, a vitamina A, também necessita deste mesmo receptor para ser ativada, podendo quando em desequilíbrio antagonizar os efeitos entre a ação das duas vitaminas (Mora et al., 2008).

A vitamina D₃ possui uma função imunomoduladora no organismo, principalmente através da expressão de seu receptor VDR resultando em efeitos anti-proliferativos, pró-diferenciadores e imunossupressivos nas células do sistema imune (Bertolini & Tzanno-Martins, 2000). A presença do VDR e da enzima 1 α -hidroxilase nas células do sistema imunológico são os principais indicadores da capacidade imunomoduladora da vitamina D₃ (Bhalla et al., 1983).

A ligação da 1,25(OH)₂D₃ ao receptor VDR induz a uma mudança conformacional que leva a uma formação do complexo hormônio-receptor. O VDR pode ser ativado por outras substâncias como o ácido aracônico e gorduras poli-insaturadas. Este complexo vitamina D-receptor modula a ativação ou repressão de genes envolvidos na sinalização, diferenciação, multiplicação ou apoptose celular, assim baixas concentrações de vitamina D₃ podem levar a uma maior síntese de interleucinas pró-inflamatórias e aumento de risco a doenças auto-imunes (Castro, 2011).

A vitamina A possui um importante papel sobre a imunidade humoral além de possuir relação com a produção de anticorpos contra antígenos específicos (Friedman & Sklan, 1989; Field et al., 2002). Ferreira (2006) utilizando vitamina A para frangos de corte sobre o sistema imunológico, encontraram melhores resultados com níveis de vitamina A de 27365UI/kg.

A suplementação de vitamina A e vitamina D₃ não influenciaram ($p > 0,05$) as contagens de linfócitos, heterófilos, basófilos, monócitos, eosinófilos e a relação heterófilo:linfócitos. A contagem diferencial de leucócitos é importante para o monitoramento e diagnóstico do estado de saúde das aves, uma vez que permite determinar as porcentagens de cada tipo de leucócitos (Cardoso & Tessari, 2003; Carvalho et al., 2013).

A proporção entre heterófilos:linfócitos de frangos em condições normais é de aproximadamente 0,5, esta relação pode aumentar em casos de estresse (Macari &

Luquetti, 2012). Desta forma, os valores encontrados foram próximos a normalidade. É importante ressaltar que a resposta imune das aves pode ser modulada pela dieta, porém em uma criação de frangos de corte existem diversos desafios sanitários e que fatores como manejo, genética e ambiente podem interferir sobre esta resposta (Silva et al., 2013).

Tabela 6. Médias das variáveis imunológicas (\pm erro padrão) de frangos de corte alimentados com níveis de vitamina A e vitamina D₃ aos 28 dias.

	Linfócito	Heterófilo	Basófilo	Monócito	Eosinófilo	Relação H:L	Título de anticorpos (Log ₁₀)
Vitamina A							
0	63,91 \pm 0,89	26,63 \pm 0,50	4,19 \pm 0,53	1,93 \pm 0,23	3,33 \pm 0,44	0,42 \pm 0,01	2,81 \pm 0,09
9000	65,65 \pm 0,93	26,73 \pm 0,75	4,00 \pm 0,48	2,12 \pm 0,20	2,50 \pm 0,35	0,42 \pm 0,02	2,52 \pm 0,11
18000	64,05 \pm 1,13	26,15 \pm 0,67	4,46 \pm 0,54	1,80 \pm 0,26	3,53 \pm 0,49	0,41 \pm 0,02	2,19 \pm 0,12
36000	63,99 \pm 0,78	25,98 \pm 0,64	4,38 \pm 0,57	2,32 \pm 0,41	3,33 \pm 0,44	0,41 \pm 0,01	2,65 \pm 0,13
54000	63,74 \pm 0,99	26,39 \pm 0,94	4,11 \pm 0,49	2,60 \pm 0,38	3,16 \pm 0,52	0,42 \pm 0,02	2,81 \pm 0,13
Vitamina D							
200	63,55 \pm 0,80	26,73 \pm 0,41	4,62 \pm 0,48	2,21 \pm 0,28	2,89 \pm 0,45	0,42 \pm 0,01	2,32 \pm 0,14
950	64,91 \pm 0,95	25,43 \pm 0,70	4,17 \pm 0,48	2,41 \pm 0,28	3,08 \pm 0,46	0,39 \pm 0,01	2,44 \pm 0,09
1700	63,74 \pm 0,73	26,55 \pm 0,57	3,99 \pm 0,41	2,48 \pm 0,30	3,23 \pm 0,32	0,42 \pm 0,01	2,66 \pm 0,10
2450	64,11 \pm 0,88	26,77 \pm 0,77	4,14 \pm 0,47	1,55 \pm 0,19	3,44 \pm 0,41	0,42 \pm 0,02	2,85 \pm 0,12
CV(%)	6,33	11,42	51,04	56,96	61,28	15,88	13,79
----- p – valor -----							
Vit A	0,98	0,95	0,96	0,41	0,62	0,99	0,00 ¹
Vit D	0,77	0,55	0,78	0,08	0,85	0,58	0,00 ²
AxD	0,97	0,95	0,80	0,93	0,98	0,94	0,78

¹ Título de anticorpos (Log₁₀) = 2,7097 - 2,6739x10⁻⁵VITA + 5,626x10⁻¹⁰VITA²; R²=0,62; Valor estimado = 23763,78 UI Vit A/kg..

² Título de anticorpos (Log₁₀) = 2,2515 + 0,0002297VITD; R²=1,00.

CONCLUSÃO

A suplementação independente de 29.607,23UI de vitamina A/kg proporcionou melhor concentração de fósforo nos ossos, e de 2.011,57UI de vitamina D₃/kg resultou em maior resistência óssea e prevenção de discondroplasia tibial. As concentrações utilizadas de vitamina A e D₃ não interferiram nas variáveis imunológicas testadas.

REFERÊNCIAS

- Aburto A., and W. M. Britton. 1998. Effects and interactions of dietary levels of vitamin A and E and cholecalciferol in broiler chickens. *Poult. Sci.* 77: 666–673.
- Almeida Paz, I.C.L. 2008. Problemas locomotores em frangos de corte. *R. Bras. Eng. Biossist.* 2: 263-272.

- Araújo, G.M., F. M. Vieites, A. A. Barbosa, J. G. Caramori Jr. A. L. Santos, G. H. K. Moraes, J. G. Abreu, E. S. Müller, E.S. 2011. Variação aniônica da dieta sobre características ósseas de frangos de corte: resistência à quebra, composição orgânica e mineral. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 63: 954-961.
- Avolio, A.W., E. Nure, M. Pompili, R. Barbarino, S. Magalini, S. Agnes, and M. Castagneto. 2008. Liver transplantation for hepatitis B vírus patients: long term results of three therapeutic approaches. *Transplant. Proc.* 40:1961-1964.
- Beçak W.P.J. 1976. Técnicas de citologia e histologia. Rio de Janeiro: Ed. Livros Técnicos e Científicos S.A.
- Bertolini D.L, and C. Tzanno-Martins. 2000. Revisão: efeitos imunomoduladores da vitamina D. *J. Bras. Nefrol.* 22: 157-161.
- Brito, J. A. G., A. C. Bertechini, E. J. Fassani, P. B. Rodrigues, E. M. C. Lima, and C. Meneghetti. 2010. Efeito da vitamina D3 e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. *R. Bras. Zootec.* 39:2656-2663.
- Cardoso, A.L.S.P. and E. N. C. Tessari. 2003. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. *Arq. Inst. Biol.*70:419-424.
- Carrillo-Lopez, N., P. Roman-Garcia, A. Rodriguez-Rebollar, J. L. Fernandez-Martinez, M. Naves-Diaz, and J. B. Cannata-Andia. 2009. Indirect regulation of PTH by estrogens may require FGF23. *J. Am. Soc. Nephrol.* 20:2009–2017.
- Carvalho, C. C. D., J. A. C. Ramos, L. C. R. Albuquerque, M. A. Silva, E. L. Souza, D. A. P. V. Lustosa, P. C. Soares. 2013. Perfil hematológico, bioquímico sérico, proteína C reativa e cortisol de ararajubas (*Guaroba guarouba*) mantidas em cativeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 33: 394-398.
- Castro, L.C.G. 2011. O sistema endocrinológico: vitamina D. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 55:566-575.
- Charles Noriega, M.L.V.C. 2000. *Apuntes de hematología aviar*: material didático para curso de hematologia aviária. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: Aves. México, 70p.
- Clark, I and M. R. Smith. 1964. Effects of hypervitaminosis A and D on skeletal metabolism. *J. Biol. Chem.* 239:1266-1271.
- Dinev, I. 2012. Leg Weakness Pathology in Broiler Chickens. *J. Poult. Sci.*, 49: 63-67.
- Dôres, S. M. C., S. A. Paiva, and A. O. Campana. 2001. Vitamina K: metabolismo e nutrição. *Rev. Nutr.* 14: 207-218.
- Edwards Jr, H. M. 2000. Nutrition and skeletal problems in poultry. *Poult. Sci.* 79:1018–1020.
- Farquharson, C. and D. Jefferies. 2000. Chondrocytes and longitudinal bone growth: the development of tibial dyschondroplasia. *Poult. Sci.*79:994–1004.
- Ferreira, S.R.F. A.E. Murakami, T. G. V. Siqueira, J. M. G. Santos, A. Potença and T. C. Santos. 2009. Níveis crescentes de parede de levedura sobre a resposta imune celular e perfil hematológico de frangos de corte. *Pesq. Vet. Bras.* 29:725-730.
- Field, C.J., I. Johnson, and P. D. Schley. 2002. Nutrients and their role in host resistance to infection. *J. Leukoc. Biol.* 71:16-32.
- Friedman, A., and D. Sklan. 1989. Antigen specific immune response impairment in the chick as influenced by vitamin A. *J. Nutr.* 119:790–795.
- Garcia, A.F.Q.M., A. E. Murakami, C. R. A. Duarte, I. C. Ospina-Rojas, K. P. Picolli and M. M. Puzotti. 2013 Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26: 408-415.

- Genaro P.D.E.S., and L. A. Martini. 2004. Vitamin A supplementation and risk of skeletal fracture. *Nutr. Rev.* 62:65-67.
- Goff, R.D., Y. Gao, J. Mattner, D. Zhou, N. Yin, C. Cantu, L. Teyton, A. Bendelac, and P. B. Savage. 2004. Effects of Lipid Chain Lengths in α -Galactosylceramides on Cytokine Release by Natural Killer T Cells. *J. Am. Chem. Soc.* 126:13602-13603.
- Guerra, A. F. Q. G., A. E. Murakami, T. C. Santos, C. Eyng, K. P. Picoli, I. C. Ospina-Rojas. 2014. Utilização da vitamina D₃ e seus metabólitos na alimentação de frangos de corte sobre parâmetros imunológicos e morfometria intestinal. *Pesq. Vet. Bras.* 34:477-484.
- Guillot, X., L. Semerani, N. Saidenberg, G. Falgarone and M. C. Boissier. 2010. Vitamin D and inflammation. *Joint Bone Spine.* 77:552-557.
- Guyton, A.C., and A. J. E. Hall. 2006. *Tratado de Fisiologia Médica – 11^a edição*, Rio de Janeiro, Ed. Elsevier, 632p.
- Ikeda U., D. Wakita, T. Ohkuri, K. Chamoto, H. Kitamura, Y. Iwakura and T. Nishimura. Li, J., D. Bi, S. Pan, Y. Zhang and D. Zhou. 2008. Effects of high dietary vitamin A supplementation on tibial dyschondroplasia, skin pigmentation and growth performance in avian broilers. *Res. Vet. Sci.* 84:409–412.
- Jääskeläinen, T., S. Ryhanen, and P. H. Maenpaa. 2003. 9-cis retinoic acid accelerates calcitriol-induced osteocalcin production and promotes degradation of both vitamin D receptor and retinoid X receptor in human osteoblastic cells. *J. Cell. Biochem.* 89(6): 1164-1176.
- Lesson, S. and J. D. Summers. 2001. *Nutrition of the chicken*. 4.ed. Guelph: University Books, 591p.
- Li, J., D. Bi, S. Pan, Y. Zhang and D. Zhou. 2008. Effects of high dietary vitamin A supplementation on tibial dyschondroplasia, skin pigmentation and growth performance in avian broilers. *Res. Vet. Sci.* 84:409–412.
- Macari, M., R. L. Furlan, and L. Gonzales. 2002. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*. Jaboticabal, Editora FUNEP/UNESP, 375p.
- Macdonald, P. M., D. R. Dowd, S. Nakajima, M. A. Galligan, M. C. Reeder, K. Ozato, and M. R. Haussler. 1993. Retinoids X receptors stimulate and 9-cis retinoic acids inhibits 1,25-dihydroxyvitamin D₃-activates expression on the rat osteocalcin gene. *Mol. Cell Biol.* 13:5907-5917.
- Mora J.R., M. Iwata, H. H. Von Andrian. 2008. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat. Res. Immunol.* 8:685–698.
- Navarro-Moreno, M.A., and P. Alia-Ramos. 2006. Metabolismo óseo. Vitamina D y PTH. *Endocrinol. Nutr.* 53:199-208.
- Norman, A.W., and S. Hurwitz. 1993. The role of vitamin D endocrine system in avian bone biology. *J. Nutr.* 123:310-316.
- Oliveira, A.F.G., L.D.G. Bruno, M.C. Paula, A.P.S. Ton and L. Lourençon. 2012. Efeito da densidade de criação e do grupo genético sobre o desempenho e o desenvolvimento ósseo de frangos de corte. *Sci. Agrar. Paran.* 11: 49-64.
- Ørnsrud, E., E. J. Lock, and C. N. Glover. 2002. Retinoic acid cross-talk with 1,25(OH)₂D₃ activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Endocrinol.* 202:473–482.
- Oviedo-Rondon, E., P. R. Ferket, and G. B. Havenstein. 2006. Understanding long bone development in broilers and turkeys. *Avian Poult. Biol. Rev.* 17:77-88.
- Perez-Lopez, F.R., A. Cano, J. Calaf, F. Vazquez, and J. F. Barriendos. 2009. Factores reguladores del recambio óseo: estrógenos y vitamina D. *Prog. Obstet. Gynecol.* 52: 99-108.
- Polizopoulou, Z.S., Kazakos, G., Patsikas, M.N., Roubies, N. 2005. Hypervitaminosis A in the cat: a case report and review of the literature. *J. Feline Med. Surg.* 7:363-368.

- Rao, S.V., M. V. L. N. Raju, and A. K. Panda. 2006. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. *J. Appl. Poultry Res.* 15:493-501.
- Rath, N.C., L. Kannan, P. B. Pillai, W. E. Huff, G. R. Huff, R. L. Horst, and J. L. Emmert. 2007. Evaluation of the efficacy of vitamin D₃ or its metabolites on thiram-induced tibial dyschondroplasia in chickens. *Res. Vet. Sci.* 83:244–250.
- Riddel, C. 1975. Studies on the pathogenesis of tibial dyschondroplasia in chickens. I. Production of similar effects by surgical interference. *Avian Dis.* 19:483-489.
- Rohde C.M., M. Manatt, M. Clagett-Dame, and H. F. DeLuca. 1999. Vitamin A antagonizes the action of vitamin D in rats. *J. Nutr.* 129:2246-2250.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, 3ed. 185p. 2011.
- Rutz, F. 2000. Absorção de vitaminas. In: MACARI, M., FURLAN, R. L., GONZALES, E. Fisiologia aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 149-165.
- SAS Institute, 2009. SAS/STAT Guide for Personal Computers. Version 9.0 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Seedor, J. G., H. A. Quartuccio, and D. D. Thompson. 1991. The biophosphonate alendronate (MK – 217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *J. Bone Miner. Res.* 6:339-346.
- Silva, D.J., and A. C. Queiroz. 2002. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235p.
- Silva, F.A. 2001. Effects of L-Glutamic Acid and Vitamin D₃ on Femur and Tibiotarsus of Broiler Chicks. *R. Bras. Zootec.* 30:2067-2077.
- Silva, S.R.G., J. B. Lopes, S. N. O. Almendra, and E. M. S. Costa. 2013. Fundamentos da imunonutrição das aves. *Revista eletrônica nutritime*, 10:2154–2172.
- Taylor, T. G., K. M. L. Morrish, and J. Kirkley. 1968. Effects of dietary excesses of vitamins A and D on some constituents of the blood of chicks. *Br. J. Nutr.* 22:713 713.
- Thorp, B.H., S. B. Jakowlew, and C. Goddard. 1995. Avian tibial dyschondroplasia: local deficiencies in growth factors are integral to the aetiopathogenesis. *Avian Pathol.* 24:135–148, 1995.
- Vlasova, A.N., S.C. Kuldeep, K. Sukumar, C.S. Siegismund and L.J. Saif. 2013. Prenatally acquired vitamin A deficiency alters innate immune responses to human rotavirus in a gnotobiotic pig model. *J. Immunol.*190(9): 4742–4753.
- Whitehead, C.C. 1992. Bone biology and skeletal disorders in poultry. Ed. Carflax Publishing Co. Abingdon. Oxford. 374p.

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o metabólito $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ constitui uma opção de fonte para a vitamina D na dieta de frangos de corte, visto que apresentaram desempenho, qualidade óssea e morfometria intestinal semelhantes na fase inicial. A utilização dos demais metabólitos *on top*, forma que é utilizado comercialmente, nas condições realizadas, não melhoraram o desempenho e a qualidade óssea dos frangos de corte na fase inicial. Com a administração *on top* o efeito esperado era maximizar o desempenho e a qualidade óssea. Isso ocorre, principalmente em situações de estresse, onde os animais possuem uma dificuldade na conversão da enzima que ativa a vitamina D3 e utiliza as vitamina D metabolicamente mais ativas.

Outro estudo deste mesmo grupo comparou os efeitos da D3 e $1,25(\text{OH})\text{D}_3$ na expressão do gene do receptor da vitamina D, enzimas intestinais e transportadores de nutrientes em frangos na fase inicial (1 a 21 d) utilizando PCR em tempo real, concluindo que ambas as vitaminas podem influenciar de forma diferente a expressão gênica de enzimas intestinais e transportadores de nutrientes em frangos.

A vitamina D3 pode ser sintetizada no organismo através de precursores de vitamina D₃ presentes na pele, o 7-deidrocoleciferol, que pela ação dos raios ultravioletas desencadeiam uma cascata de reações enzimáticas desencadeando na produção do coleciferol e posteriormente em 25-hidroxicoleciferol no fígado, pela ação da enzima 25-hidroxilase e conforme a necessidade de utilização, este 25-hidroxicoleciferol é transportado aos rins e hidroxilado pela enzima 1 α hidroxilase a 1,25-diidroxicoleciferol, que constitui a forma ativa da vitamina D₃ para utilização no organismo. Também pode ser suplementada nas dietas de frangos de corte sendo

obrigatória sua inclusão nos suplementos minerais e vitamínicos, uma vez que a criação é realizada em galpões onde a incidência de luz solar é prejudicada e esta vitamina é de extrema importância.

A utilização de vitamina A e D₃ em níveis nas condições em que os experimentos foram conduzidos de forma geral não possuem uma inter-relação para desempenho, qualidade de carne, qualidade óssea e sistema imune no período total de criação. De forma independente, as vitaminas A e D tiveram efeito sobre o desempenho, rendimento de carcaça, qualidade de carne, qualidade óssea e sistema imune na fase total (1 a 42 dias), com melhores resultados em níveis próximos a 35000UI de vitamina A/kg, valor bastante acima dos níveis praticados nos suplementos vitamínicos e contidos nas tabelas de exigências nutricionais e 2000UI de vitamina D₃/kg, este valor semelhante as exigências nutricionais.

Sabe-se que ambas as vitaminas são essenciais ao organismo das aves e obrigatórias como constituintes nas rações de frangos de corte. Porém, o intuito deste experimento foi elucidar esta relação entre as duas, para que estudos mais aprofundados sobre a fisiologia das aves fossem realizados de forma a compreender de que modo a vitamina A pode atuar no metabolismo da vitamina D. Visto que muitas pesquisas abordam esta relação entre estas vitaminas, porém pouco se conhece para frangos de corte.

Assim, devido a este envolvimento em diversos processos fisiológicos, há uma necessidade de considerar estudar mais amplamente vários fatores, pois diante das análises e os níveis escolhidos para este experimento não foi possível visualizar o possível efeito antagônico que possa ser desencadeado quando estas vitaminas se apresentarem em algum desequilíbrio. Outro ponto é se as exigências utilizadas estão de acordo com os valores contidos nos suplementos vitamínicos comerciais utilizados a campo, sugerindo que esta exigência pode ser melhor estudada de forma a considerar esta interatividade.

Dessa forma, existem ainda várias perguntas a respeito do metabolismo destas duas vitaminas e sua atuação, principalmente a nível molecular que é a principal via de interação entre estas duas vitaminas, como, por exemplo, quando a presença ou quantidade de receptores retinoides (RXR) podem afetar o mecanismo de ação da vitamina D, principalmente sobre metabolismo de cálcio e fósforo e uma necessidade de maiores pesquisas a respeito.

