

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A EM DIETAS DE  
CODORNAS JAPONESAS

Autora: Débora Rodrigues de Aquino Machado

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simara Márcia Marcato

MARINGÁ

Estado do Paraná

Fevereiro 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A EM DIETAS DE  
CODORNAS JAPONESAS

Autora: Débora Rodrigues de Aquino Machado

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup>Simara Márcia Marcato

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

MARINGÁ

Estado do Paraná

Fevereiro - 2023

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

M149s

Machado, Débora Rodrigues de Aquino

Suplementação de vitamina A em dietas de codornas japonesas / Débora Rodrigues de Aquino Machado. -- Maringá, PR, 2023.

75 f.: il., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Simara Márcia Marcato.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2023.

1. Codornas japonesas - Nutrição. 2. Codornas japonesas - Suplementação vitamínica. 3. Codornas japonesas - Ovos. I. Marcato, Simara Márcia, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 636.6

Marinalva Aparecida Spolon Almeida - 9/1094



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A EM DIETAS DE  
CODORNAS JAPONESAS

Autora: Debora Rodrigues de Aquino Machado  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Simara Marcia Marcato

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 23 de fevereiro de 2023.

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Fernanda Losi Alves de  
Almeida

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Leilane Rocha Barros  
Dourado

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Claudete Regina Alcalde

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Taynara Prestres Perine  
Moretto Rodrigues

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Simara Marcia Marcato  
Orientadora

Dedico a Deus por seu amor, redenção e graça.

Aos meus amados avós, que me deram suporte, amor, recursos e motivação, por causa de vocês eu pude alcançar voos maiores.

Aos meus pais, por minha vida, inspiração para sempre querer ir além e acreditar em mim.

Aos meus irmãos, sobrinhos, tios, família tão preciosa que tenho o privilégio de fazer parte.

Aos meus amigos/irmãos em Cristo, em especial Ana Carolina e Letícia, que foram minha família durante esses anos.

Ao meu melhor amigo e que agora tenho a benção de ter como companheiro de vida, Hugo, obrigada por me amar.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela graça alcançada, por me dar vida, força e condições para continuar.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simara Márcia Marcato, por acreditar e continuar acreditando em mim, pelos anos de companheirismo, apoio e aprendizado, você sempre será referência e grande inspiração.

Aos funcionários e professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pelo conhecimento transmitido.

À empresa Vicami, pelo fornecimento dos animais para condução do experimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos do grupo de pesquisa: Maria Tereza, Mariani Benites, Marcos Adriano, Felipe Augusto, Karina Maia, Sabrina, Julia, Gabriela. Obrigada pela amizade e pela ajuda na condução dos experimentos, sem o grupo este trabalho não seria possível.

À Igreja Batista Sião e todos os preciosos irmãos, que recebi de presente durante esses anos em Maringá, o apoio, em todos os sentidos, que sempre recebi fazendo permanecer e ver a vida com esperança.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, minha profunda gratidão.

## BIOGRAFIA

Débora Rodrigues de Aquino Machado, filha de Iran Nazaré de Aquino e Regina Eloisa Rodrigues de Aquino, nascida em Cuiabá MT em 3 de agosto de 1993. Em 2011 ingressou no curso de graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Mato Grosso, sendo bolsista Permanência (PBP-MEC) e voluntária no Programa de Iniciação Científica durante todo o curso. Em março de 2017, ingressou no curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM, Maringá-PR, tendo como orientadora a Professora Doutora Simara Márcia Marcato e submeteu-se a banca examinadora em fevereiro de 2019.

Em março de 2019 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, na área de Concentração Produção animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Avicultura. Em abril de 2022, submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação e, em fevereiro do ano seguinte, submeteu-se à defesa da Tese.

## ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
I – INTRODUÇÃO.....	1
1. Revisão de literatura.....	2
1.1 Produção de codornas e suplementação vitamínica .....	2
1.2 Vitamina A: metabolismo e funções .....	9
1.2.1 Estrutura e propriedade da vitamina A .....	9
1.2.2 Fontes de vitamina A .....	12
1.2.3 Absorção da vitamina A .....	14
1.2.4 Rotas metabólicas da vitamina A .....	17
1.2.5 Funções metabólicas da vitamina A e deficiências .....	20
1.2.6 Toxicidade .....	23
1.2.7 Exigências em vitamina A .....	24
1.3 Referências .....	26
II – OBJETIVOS GERAIS .....	29
2.1 Objetivos específicos .....	29



<b>III – Levels of vitamin A supplementation for growing Japanese quail</b> .....	30
Abstract .....	30
INTRODUCTION .....	31
MATERIAL AND METHODS .....	32
RESULTS .....	35
DISCUSSION .....	36
CONCLUSION .....	38
REFERENCES .....	38
<b>IV – Levels of vitamin A supplementation for Japanese quail laying phase</b> .....	44
Abstract .....	45
Introduction .....	46
Material and methods .....	47
Results and discussions .....	48
Conclusions .....	51
Acknowledgments .....	51
References .....	51
<b>V – CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>I. Revisão de Literatura .....</b>	<b>2</b>
Tabela 1. Atividade de vitamina A e seus compostos .....	12
Tabela 2. Fontes alimentares de vitamina A .....	13
Tabela 3. Biopotência relativa dos compostos resinoides e provitaminas A .....	14
Tabela 4. Formas funcionais da vitamina A .....	20
Tabela 5. Trabalhos utilizando níveis de suplementação em vitamina A para codornas .....	25
<b>III. Levels of vitamin A supplementation for Japanese quail laying phase .....</b>	<b>30</b>
Table 1. Centesimal and calculated compositions of experimental rations for the growing phase. ....	40
Table 2. Average performance of Japanese quails in the growing phases a function of Vitamin A levels .....	41
Table 3. Relative weight of organs and AST and ALT enzymes of growing Japanese quails supplemented with vitamin A .....	42
Table 4. Correction of vitamin A supplementation levels in Japanese quail diets in the growing phase, considering the beta carotene content in the basal diet .....	43
<b>IV. Levels of vitamin A supplementation for Japanese quail laying phase .....</b>	<b>44</b>
Table 1. Centesimal and calculated compositions of experimental rations for quail in the laying phase .....	52

Table 2. Average performance of Japanese quails in laying phase supplemented with vitamin A .....	53
Table 3. Quality of Japanese quail eggs in the laying phase supplemented with vitamin A .....	54
Table 4. Correction of vitamin A supplementation levels in Japanese quail diets in the laying phase, considering the beta carotene content in the basal diet .....	55

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>I. Revisão de Literatura</b> .....	2
Figura 1. Estruturas químicas dos retinoides .....	10
Figura 2. Estrutura dos carotenoides .....	11
Figura 3. Bioconversão do $\beta$ -caroteno em vitamina A .....	15
Figura 4. Rotas metabólicas do retinol .....	18
Figura 5. Estruturas dos isômeros de retinol .....	19
Figura 6. Ligação do 11-cis-retinal à opsina .....	21
Figura 7. Sinais clínicos para baixos e altos consumos de vitamina A .....	23
<b>III. Levels of vitamin A supplementation for Japanese quail laying phase</b> .....	30
Figure 1. Body weight and weight gain of growing Japanese quails .....	44

## RESUMO

A vitamina A, como outras vitaminas, atua de maneira direta em processos metabólicos de grande relevância para o organismo animal, apesar de, geralmente estar presente em pequenas quantidades nas dietas, sua deficiência ou excesso pode acarretar problemas metabólicos, igualmente graves e perdas consideráveis em produção e desempenho animal. O objetivo com este estudo foi avaliar a influência da suplementação de níveis de vitamina A em dietas de codornas japonesas nas fases de crescimento (cria e recria) e postura. Capítulo III: o objetivo foi avaliar a influência de níveis de suplementação de vitamina A em dietas de codornas de postura nas fases de cria e recria, sobre o desempenho, morfometria de órgãos e possível lesão hepática. Foram utilizadas 1050 aves de 1 dia de idade que foram distribuídas em um delineamento inteiramente ao acaso (DIC) com sete tratamentos, cinco repetições e 30 aves/unidade experimental. Os tratamentos consistiram em níveis de suplementação de 0, utilizando Premix sem vitamina A, 650, 1650, 2650, 3650, 7300, 14600 UI/kg de ração. Foram avaliados o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar nos períodos de 1 a 14, 15 a 42 e 1 a 42 dias. O peso relativo dos órgãos e as análises de morfometria intestinal (altura de vilos, profundidade de cripta e a relação de vilo/cripta) do duodeno e jejuno foram realizadas aos 14 e 42 dias de idade. A avaliação de possível lesão hepática foi realizada por análises de AST (aspartato aminotransferase) e a ALT (alanina aminotransferase) em amostras de soro de codornas aos 42 dias de idade. Os resultados mostraram que houve efeito ( $P < 0,05$ ) sobre o peso corporal (PC) e ganho de peso (GP) na fase de 1 a 7

dias de idade, com comportamento linear crescente sendo o menor valor de peso corporal (20,51 g) observado na média das aves alimentadas com dietas sem suplementação vitamínica. Concluiu-se que o fornecimento de no mínimo 2650 UI/kg de vitamina A pode melhorar o ganho de peso e peso corporal de codornas nos primeiros 7 dias de vida. Capítulo VI: objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da suplementação de níveis de vitamina A em dietas de codornas japonesas na fase de postura, sobre os índices de desempenho, qualidade de ovos e possíveis lesões hepáticas. Foram utilizadas 336 codornas poedeiras, distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com sete tratamentos, oito repetições e 6 aves por unidade experimental. Os níveis de suplementação utilizados foram 0; 2300; 3300; 4300; 5300; 10600; 21200 UI/Kg de ração. As variáveis analisadas foram consumo de ração, taxa de produção de ovos, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia de ovos e conversão alimentar por quilo de ovos. As análises de qualidade dos ovos foram: peso do ovo, unidade Haugh, índice de gema, % gema, % albúmen e % casca, gravidade específica, peso da casca por superfície e atividade das enzimas AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) em uma possível resposta à toxicidade da vitamina A. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa para grupos alimentados com rações basais utilizando milho e farelo de soja, se comparado com grupos suplementados com até 21200 UI kg<sup>-1</sup>. O desempenho e qualidade de ovos, dessa forma, não foram influenciados pela suplementação de vitamina A nas dietas de codornas durante a fase de postura, no período observado neste estudo. Pode-se concluir, portanto, que níveis mínimos de compostos pro vitamínicos na dieta basal, como o betacaroteno, pode proporcionar o conteúdo de vitamina A suficiente para atender as funções metabólicas sem afetar o desempenho e qualidade de ovos das codornas, e que a suplementação de até 21200 UI kg<sup>-1</sup> não proporcionou quadro de hipervitaminose nas aves durante o período experimental.

Palavras chave: codornas, qualidade de ovos, crescimento, postura

## ABSTRACT

Vitamin A, like other vitamins, acts directly in metabolic processes of great relevance to the animal organism, although it is usually present in small amounts in diets, its deficiency or excess can cause equally serious metabolic problems and considerable losses in production and animal performance. The objective of this study was to evaluate the influence of vitamin A levels supplementation in diets of Japanese quails in the growth and laying phases. Chapter III: the Objective here was to evaluate the vitamin A supplementation levels influence in laying quail diets on performance, organ morphometry and possible liver damage. A total of 1050 1-day-old birds were used and distributed in a completely randomized design (CRD) with seven treatments, five replications and 30 birds/experimental unit. Treatments consisted of vitamin A supplementation levels of 0 with mineral and without vitamin A, 650, 1650, 2650, 3650, 7300, 14600 IU/kg of feed. Feed intake, weight gain and feed conversion were evaluated in the periods from 1 to 14, 15 to 42 and 1 to 42 days. Relative organ weight and intestinal morphometric analyzes (villus height, crypt depth and villus/crypt ratio) of duodenum and jejunum were performed at 14 and 42 days of age. The assessment of possible liver damage was performed by AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase) analysis in serum samples from quails at 42 days of age. The results showed that there was an effect ( $P < 0.05$ ) on body weight (BW) and weight gain (WG) in the phase from 1 to 7 days of age, with an increasing linear behavior being the

lowest value of body weight (20.51 g) observed in birds fed diets without vitamin supplementation. It is concluded that supplying at least 2650 IU/kg of vitamin A can improve quails weight gain and body weight in the first 7 days of life. Chapter VI: The objective here was to evaluate the vitamin A levels supplementation effects in Japanese quail diets in the laying phase, on performance index, egg quality and possible liver damage. A total of 336 laying quails were used, distributed in a completely randomized design (CRD) with seven treatments, eight replicates and 6 birds per experimental unit. The supplementation levels used were 0; 2300; 3300; 4300; 5300; 10600; 21200 IU/Kg of feed. The variables analyzed were feed intake, egg production rate, egg mass, feed conversion per dozen eggs and feed conversion per kilogram of eggs. Egg quality analyzes were: egg weight, Haugh unit, yolk index, % yolk, % albumen and % shell, specific gravity, shell weight per surface area and activity of AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase) enzymes activity in a possible response to vitamin A toxicity. The results showed that there was no significant difference for groups fed with basal diets using corn and soybean meal, when compared with groups supplemented with up to 21,200 IU kg<sup>-1</sup>. The performance and eggs quality, therefore, were not influenced by vitamin A supplementation in the diets of quails during the laying phase, which were the period observed in this study. It can therefore be concluded that minimal levels of provitamin compounds in the basal diet, such as beta-carotene, can provide sufficient vitamin A content to meet metabolic functions without affecting the quail performance and eggs quality, and that supplementation up to 21,200 IU kg<sup>-1</sup> did not cause hypervitaminosis in birds during the experimental period.

Keywords: quails, egg quality, growth, laying





## I. INTRODUÇÃO

As vitaminas são classificadas fisiologicamente entre lipossolúveis e hidrossolúveis, sendo a primeira categoria participante da estrutura dos compostos orgânicos e, por isso, designada de vitaminas de crescimento, enquanto as hidrossolúveis, com exceção da colina, participam do metabolismo intermediário na forma de coenzima e são eliminadas rapidamente pelo organismo. Nove vitaminas (todas do complexo B e vitamina C) são classificadas como hidrossolúveis, enquanto quatro vitaminas (vitaminas A, D, K e E) são ditas lipossolúveis (Beterchini, 2012).

As vitaminas são nutrientes que também estão classificadas no grupo dos Nutracêuticos, ou seja, são compostos bioativos que podem ser importantes para a redução da ocorrência de doenças e promoção da saúde, e no caso das dietas animais, esse pode ser um recurso amplamente utilizado visando melhorias nos índices produtivos e opção sustentável na promoção da saúde na produção animal (Wang *et al.*, 2020).

A nutrição animal, ao longo dos anos tem mostrado avanços nos conhecimentos quanto às exigências nutricionais de cada grupo animal, grande exemplo pode ser observado na produção avícola, e cada vez mais são vistas as contribuições científicas que permitem o atendimento preciso das necessidades nutricionais, visando atingir níveis ótimos de produção (Ferreira; Souza, 2021).

A estabilidade das vitaminas é questão importante ao considerar o valor nutricional dos alimentos. Perdas no processamento ou armazenamento podem variar,

dependendo de condições como pH, temperatura e umidade, além disso suas formas de ligações no alimento, estoques de vitaminas, ou ainda, síntese das mesmas pela microbiota intestinal tornam a determinação de valores absolutos de biodisponibilidade dessas substâncias dificultosa (Combs, 2008).

A vitamina A é um nutriente de grande importância e que desempenha papéis relevantes no metabolismo animal, podendo ser destacada como um suplemento dietético indispensável nas dietas humana e animal. Apesar de estar presente nas dietas animais, geralmente, em pequenas quantidades, assim como outros grupos vitamínicos, a vitamina A ou Retinol, como é cientificamente denominada, é um elemento que pode causar alterações metabólicas tanto por sua falta quanto por seu excesso (Mcdowell, 2000).

Os compostos: vitamina A álcool (retinol), vitamina A aldeído (retinal), vitamina A ácido (ácido retinoico) e alguns outros ésteres isômeros, possuem atividade de vitamina A. A ocorrência natural de retinoides pode ser referido como atividade da vitamina A, esses compostos não precisam de conversão metabólica para se tornarem biologicamente ativos, ao contrário dos carotenoides. Os carotenoides pró-vitamina A, depois de absorvidos são convertidos primeiramente em retinaldeído e depois em retinol nos enterócitos (Toledo *et al.*, 2006).

A deficiência de vitamina A pode causar pelo menos quatro lesões fisiologicamente distintas: perda de visão por falha na formação de rodopsina na retina; defeitos no crescimento ósseo; defeitos na reprodução (por falha na espermatogênese no macho e reabsorção do feto na fêmea); e defeitos no crescimento e diferenciação dos tecidos epiteliais, frequentemente resultando em queratinização. Na produção animal esses problemas ainda são traduzidos em perdas na produção e na qualidade dos produtos destinados à comercialização (Shojadoost *et al.*, 2021).

Este capítulo traz um levantamento bibliográfico sobre o uso de suplementação vitamínica na alimentação de codornas, abordando particularmente a importância da vitamina A, no que diz respeito às propriedades, funções no metabolismo e formas de uso na nutrição animal.

## **1. Revisão de literatura**

### **1.1 Produção de codornas e suplementação vitamínica**

No setor da avicultura, a produção de codornas pode ser citada como atividade de múltiplos aspectos favoráveis, tendo constante crescimento e avanços no Brasil e no mundo. É importante citar o rápido crescimento, maturidade sexual precoce (35 a 42 dias), conseqüentemente precocidade na produção e longevidade em alta produção (14 a 18 meses), aliado a possibilidade de criação em pequenos espaços, com baixo investimento e rápido retorno financeiro que contribui com o crescimento da atividade (Pastore *et al.* 2012).

Por conta das características favoráveis de produção rentável com baixo custo, o pequeno produtor tem na coturnicultura uma alternativa de integração de renda e a atividade mostra-se com potencial de utilização na agricultura familiar, por sua viabilidade econômica e baixas exigências em tecnologia (Silva *et al.*, 2018).

A criação comercial de codornas em regiões de baixa renda pode ser grande fonte de emprego e renda. Essa produção pode ser realizada por pequenos e médios agricultores, no entanto, a agricultura comercial não está tão bem estabelecida quanto a indústria de frangos de corte e galinhas de postura. Apesar disso, a codorna tem muito potencial para aumentar o status econômico da comunidade agrícola (Mayone Silva *et al.*, 2016).

Além dessas atividades alternativas a coturnicultura tem se tornado cada dia mais uma fonte primária de renda com grandes instalações e alto número de animais buscando maior lucratividade, conseqüentemente aumentando a necessidade de programas nutricionais que atendam às exigências das aves com maior exatidão visto que a nutrição representa 70% a 80% do custo de produção (Otálora, 2017).

Consoante à crescente necessidade de fontes alternativas de proteína para dieta humana, principalmente no combate à fome e desnutrição, a produção avícola possui diversidade de espécies de aves na produção de carne e ovos que podem aumentar a oferta de proteína animal e contribuir para maior provisão de nutrientes nas dietas humanas. Além disso, a variação na qualidade e sabor de ovos e carne entre as espécies de aves pode fornecer aos consumidores uma seleção mais ampla de produtos de escolha (Gredel, 2011).

Pode-se estimar que a produção comercial mundial de ovos é pelo menos 50 vezes maior (em números) para galinhas do que para codornas, e a proporção é ainda maior quando se considera o número de frangos de corte. Além disso, a galinha tem

demonstrado sua predominância como organismo modelo, com a primeira sequência do genoma aviário e o desenvolvimento de células germinativas primordiais geneticamente modificadas (Ballantyne *et al.*, 2021).

As codornas, por sua vez, continuam conquistando espaço no meio científico por sua similaridade fisiológica e aplicabilidade dos estudos da coturnicultura na avicultura comercial de maneira geral. Usar a codorna em vez da galinha pode ser mais conveniente no âmbito da pesquisa porque a codorna é menor e tem intervalo de ciclos mais curtos. Novos conhecimentos sobre a avicultura podem vir de estudos com codornas, porém, da mesma forma, a codorna japonesa tem muitas características específicas que não são compartilhadas pelas poedeiras comerciais e precisam de pesquisa para complementar os conhecimentos gerais sobre as aves (Minvielle, 2009).

A composição das dietas para codornas consiste na combinação de ingredientes em proporções adequadas para atingir o perfil nutricional desejado, buscando o equilíbrio entre desempenho e custo e, assim a máxima rentabilidade. Entre os componentes utilizados na formulação estão os micronutrientes, entre estes as vitaminas (Marques *et al.*, 2011).

As pesquisas relacionadas a exigências nutricionais na avicultura, em especial na coturnicultura tem se concentrado nos últimos anos para estimar as exigências de proteína, aminoácidos, energia, cálcio e fósforo, mas poucos trabalhos enfatizam as exigências de vitaminas (Nepomuceno *et al.*, 2019). Os valores estimados de exigência e recomendações são, na maioria, baseados em trabalhos antigos e pouco compatíveis com a realidade das produções brasileiras, além disso, os níveis vitamínicos empregados comercialmente são geralmente superiores aos preconizados pelo NRC (1994).

No metabolismo das codornas, assim como em outras espécies de aves, as vitaminas exercem funções metabólicas diversas, atuando como precursores enzimáticos ou como coenzimas, como é o caso das vitaminas do complexo B. Podem ainda atuar como antioxidantes, como as vitaminas A, E e C tornando importantes nos processos de combate aos radicais livres gerados em situações de estresse, por exemplo (Shojadoost *et al.*, 2021).

Algumas vitaminas ainda atuam em processos específicos como a vitamina A fisiologia da visão, sendo importante na formação da rodopsina e, portanto, sua deficiência está comumente ligada a casos de cegueira noturna. É importante citar

também a participação das vitaminas no sistema imune como as vitaminas A, D E e C, desempenhando papel na resposta fagocitária e o aumento na resposta de timócitos amitógenos específicos (Gredel, 2011).

Quando se trata de estudos envolvendo vitaminas na nutrição de aves, há destaque para as vitaminas ligadas a processos antioxidantes e no sistema imune, considerando os grandes entraves da indústria avícola envolvendo o estado imunológico das aves, a constante busca por formas de minimizar os riscos sanitários e consequentemente econômicos na cadeia produtiva, é justificável o interesse em fatores nutricionais que possam participar na solução desses problemas(Mayone Silva *et al.*, 2016).

Entre todas as vitaminas, as vitaminas A, D, E e C demonstraram ter os maiores efeitos sobre a função do sistema imunológico através de uma variedade de mecanismos. Importante para manter a integridade das células epiteliais, a vitamina A contribui para muitas funções relacionadas ao sistema imunológico, como aumento da imunidade da mucosa e redução de radicais em experimentos com aves e camundongos (Yuan *et al.*, 2014).

Outra característica da vitamina A é a indução de efeitos opostos de forma dependente da dose, uma vez que demonstrou ser anti-inflamatório em altas doses e imunoestimulante em baixas doses em aves e camundongos. A vitamina D também é conhecida por seu efeito anti-inflamatório, pois reduz o nível de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina (IL)-1 $\beta$  em macrófagos em galinhas e interferon (IFN)- $\gamma$  e IL-2 em células T humanas. (Lucas; Morales; Velando, 2014; Shojadoost *et al.*, 2021a).

A vitamina E se destaca em sua ação antioxidante e por efeitos anti-inflamatórios, enquanto aumenta o número e a funcionalidade de células do sistema imunológico e estimula a liberação de anticorpos em resposta à vacinação. A vitamina C também é conhecida por seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, o que a torna benéfica em casos de estresse oxidativo, infecção e inflamação (Wan *et al.*, 2022).

Existem muitas razões para suplementar dieta dos animais com vitaminas. As vitaminas E e A, por exemplo são incluídas na alimentação animal para melhorar o desempenho, fortalecer o estado imunológico e aumentar o teor vitamínico dos alimentos de origem animal e, assim, aumentar a ingestão dessas vitaminas pelos consumidores (Sahin *et al.*, 2006). Como as aves não podem sintetizar algumas

vitaminas a concentração dessas é reduzida sob condições de estresse, as necessidades de vitamina E devem ser atendidas a partir de fontes alimentares(Lucas *et al.*, 2014).

Alguns estudos recentes demonstram a influência da suplementação vitamínica na nutrição de codornas, com objetivos voltados para efeitos antioxidantes, imunológicos, processos fisiológicos ou ainda parâmetros de desempenho de acordo com diferentes níveis de suplementação. Um desses estudos, usando níveis de colina na dieta de codornas japonesas em postura avaliou desempenho e qualidade de ovos, demonstrando que não houve efeito sobre os parâmetros observados, levando em consideração o atendimento das exigências de metionina+cistina (84%) em relação a lisina (1,12%). Dessa forma, os autores concluíram que a relação de metionina mais cistina com lisina utilizada não é necessária a suplementação de colina na dieta dessas aves (Reis *et al.*, 2012).

Nas aves, a deficiência de colina resulta em crescimento retardado, empenamento pobre, perose e fígado gorduroso pela dificuldade de mobilização da gordura para a circulação, causada pela diminuição da formação de lipoproteínas de baixa densidade. Pompeu *et al.*, (2011) constataram que o uso de 400 mg de cloreto de colina/kg de ração suplementada resultou em melhor conversão alimentar e maior rendimento de carcaça. Em outro estudo foi observado que os níveis mínimos de colina, contidos nos ingredientes utilizados nas dietas de codornas de corte foi suficiente para manter os parâmetros de desempenho e qualidade de carne (Nepomuceno *et al.*, 2019).

Para avaliar o efeito da suplementação de vitamina A na dieta de codornas japonesas de postura, Shellenberger; Lee, (1966) utilizaram níveis de 0 a 1.400 UI/Kg de rações de baixa e alta energia, considerando os parâmetros de crescimento, produção de ovos e reprodução e viabilidade das aves. Embora não houvesse correlação aparente entre o crescimento e a ingestão de vitamina A, houve relação direta entre o nível de vitamina e a sobrevivência de aves alimentadas com dietas de baixa energia. Também foi relatada a morte de várias aves dos grupos alimentados com dietas de baixa energia e sem adição de vitamina A, acarretando a queda na viabilidade das aves desse grupo, enquanto para os níveis acima de 1.100 UI/Kg a viabilidade não foi afetada.

Um fator importante a se considerar quanto às vitaminas, em especial vitaminas lipossolúveis, nas dietas de codornas, é o efeito residual proveniente do vitelo nas primeiras semanas de vida, podendo acabar afetando o desempenho inicial das aves de

maneira compensatória mesmo que as dietas fornecidas nesses primeiros dias sejam de níveis baixos ou sem suplementação de vitamina (Wang *et al.*, 2020).

O estresse é fator diretamente ligado a quedas no desempenho das aves, sendo este um dos principais desafios na produção e na promoção da adequada ambiência nos sistemas de criação. Vários estudos mostraram que a suplementação de nutrientes antioxidantes, especialmente as vitaminas C e E e o zinco são eficazes na prevenção dos efeitos deletérios do estresse térmico e esses nutrientes podem ser incluídos na dieta para aliviar os efeitos negativos do estresse ambiental (Mcdowell, 2000; Sahin *et al.*, 2006).

Considerando o efeito antioxidante da vitamina E associada ao selênio, Zancanela e colaboradores, (2017) analisaram parâmetros sanguíneos e biometria das vísceras de codornas de corte de 1 a 35 dias de idade suplementadas com níveis crescentes de vitamina E associada ao selênio. Foram observados aumentos lineares nos pesos do baço e bursa aos 14 e 35 dias de idade, respectivamente, sugerindo melhora na resposta imune das aves como resultado da suplementação de vitamina E e selênio.

Outra função de interesse em estudos recentes foi a da vitamina K na nutrição de codornas, conhecida principalmente por sua participação na coagulação sanguínea e por ser fundamental na síntese hepática dos fatores de coagulação e por estar envolvida na mineralização e na formação dos ossos por meio da relação de carboxilação da osteocalcina (Zhang *et al.*, 2019).

Para codornas de corte, foram analisadas respostas à suplementação de vitamina K de 0 a 2,5 mg/Kg de ração, sendo avaliados os parâmetros de desempenho, rendimento de carcaça e parâmetros ósseos. Foi observado que para os parâmetros de desempenho a suplementação com vitamina K não forneceu efeito significativo, porém notou-se que a vitamina K exerce influência na mineralização óssea, visto que os dois ossos longos analisados foram influenciados na concentração de cálcio pelos níveis de suplementação estudados (Stanquevis *et al.*, 2017).

Um das funções fisiológicas da vitamina A conhecida é a sua participação indireta nas rotas de mineralização óssea e desenvolvimento esquelético, que pode ser explicada por estar ligada ao estímulo da secreção de paratormônio, e sendo assim, a deficiência dessa vitamina pode acarretar, entre outros sintomas, uma pior calcificação prejudicando o desenvolvimento ósseo. Em contrapartida, o excesso de vitamina A,



pode estar ligada a depressão nos níveis de vitamina D, por conta do antagonismo entre essas vitaminas (Li *et al.*, 2008).

Para avaliar a relação entre a suplementação de vitamina A e parâmetros ósseos em codornas, (Benites *et al.*, 2020) realizaram um estudo com níveis de suplementação de vitamina A de 0 a 13.500 UI/Kg. Os autores observaram a diminuição na densidade óssea das codornas suplementadas com os níveis crescentes de vitamina A, explicada pela redução dos valores de índice de Seedor, indicando possíveis problemas de acordo com o ganho de peso das aves, como a discondroplasia tibial, reforçando a hipótese de que as elevadas concentrações de vitamina A na dieta interferem na absorção de vitamina D, no intestino, pois ambas competem pelo mesmo sítio de absorção.

Algumas vitaminas atuam diretamente no metabolismo de outros nutrientes, como minerais que tem sua absorção regulada pela ação de alguma vitamina. No caso da vitamina D, sua mais importante função está na homeostase  $\text{Ca}^{2+}$  e fosfato. Este é regulado por um sistema multi-hormonal que ocorre nos pontos de absorção intestinal, aumento ósseo e mobilização e excreção renal, envolvendo a produção de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  conforme necessário, que funciona segundo PTH e calcitonina (CT) (Broz & Ward, 2007).

A relação de vitaminas e minerais no metabolismo tem papel complexo no desenvolvimento fisiológico das codornas. A deposição de cálcio no esqueleto é maior nos estágios iniciais da vida, de forma que ao final do primeiro mês de vida, os pintinhos tenham 80% de o cálcio total de uma ave adulta. Por outro lado, as vitaminas não são sintetizadas em quantidade suficiente para atender à exigência nutricional dessas aves, sendo necessário o seu fornecimento nas dietas, geralmente em quantidades mínimas, para o desenvolvimento, manutenção, produção e reprodução dos animais (Combs, 2008).

Perine e colaboradores (2022) avaliaram a relação entre a suplementação de vitamina D e níveis de exigência de cálcio na dieta de codornas de corte de 1 a 14 dias e sua influência sobre o desempenho e desenvolvimento ósseo dessas aves. Não houve interação entre os níveis de Ca e vitamina D nas variáveis ósseas avaliadas aos 14 dias de idade, indicando que os nutrientes estudados agiram de forma independente durante esta primeira fase de produção.

Além de todas as questões de desempenho, melhores ganhos, o uso de vitaminas na produção animal tem ainda papel muito importante no incremento de nutrientes que serão passados para a dieta humana, através do enriquecimento dos produtos gerados a partir de animais alimentados com dietas suplementadas. O ovo é um produto muito frequente na mesa dos consumidores e pensar em produto rico em vitaminas é sem dúvida, uma forma de atender ao mercado cada vez mais preocupado com o que consome (Mayone Silva *et al.*, 2016).

Pensando nesses aspectos, (Marques *et al.*, 2011) avaliou o efeito da suplementação das vitaminas A, D e E em rações para codornas em níveis superiores às exigências sobre o desempenho e qualidade interna e externa dos ovos, e verificou o efeito dessa suplementação sobre a concentração dessas vitaminas na gema visando o aumento dos níveis nutricionais do ovo. Os autores puderam observar que a suplementação com essas vitaminas é eficiente para incorporação de colecalciferol, retinol e tocoferol na gema, evidenciando que o valor nutricional do ovo, relacionado às vitaminas A, D e E pode ser aumentado pela suplementação na dieta de codornas.

Pensando também na influência da suplementação vitamínica no sistema imune, outro estudo avaliou a suplementação de vitamina A na atividade imune. Os autores observaram que peso absoluto da bolsa cloacal foi influenciado e o peso absoluto do baço teve aumento linear, e a partir disso, concluíram que efeito sobre o peso dos órgãos relacionado às atividades do sistema imune demonstra indiretamente que há influência da vitamina A no desenvolvimento da função imune de codornas de corte (Stanquevis, 2022).

## **1.2 Vitamina A: metabolismo e funções.**

A vitamina A é um nutriente de importância global, comumente associada a problemas de saúde populacional, como doenças oculares (xerofthalmia) recorrente em crianças em idade pré-escolar, em grande parte dos países subdesenvolvidos da Ásia e África. Na nutrição animal essa vitamina também desempenha papel importante, embora todas as vitaminas sejam igualmente importantes na promoção da saúde animal, a vitamina A pode ser considerada a vitamina mais importante de um ponto de vista prático (Broz; Ward, 2007).

### *1.2.1 Estrutura e propriedades da vitamina A*

A vitamina A é um grupo de hidrocarbonetos insaturados, incluindo retinol e seus compostos relacionados, bem como algumas moléculas com atividade provitamina A, como os carotenoides. A atividade da vitamina A em tecidos animais é encontrada predominantemente sob a forma de retinol ou de seus ésteres, de retinal e, em menor quantidade, como ácido retinóico (El Beitune et al., 2003).

A vitamina A propriamente dita não ocorre em produtos de origem vegetal, mas seu precursor, o caroteno ocorre em várias formas. Esses compostos são comumente referidos como provitamina A porque o organismo pode transformá-los na vitamina ativa. É assim que as necessidades de vitamina A dos animais de produção são atendidas, em sua maioria, porque suas rações consistem principalmente ou inteiramente de alimentos de origem vegetal (Passotto *et al.*, 1998).

O retinol é a forma alcoólica da vitamina A (Figura 1). Substituição do grupo álcool por um grupo aldeído origina o retinal, e substituição por um grupo ácido resulta no ácido retinoico. Os ésteres de retinol são chamados também de ésteres de retinil. A vitamina A em produtos de origem animal existe em várias formas, mas, principalmente como ésteres de ácidos graxos de cadeia longa (por exemplo, palmitato de retinila) (Marques *et al.*, 2011).

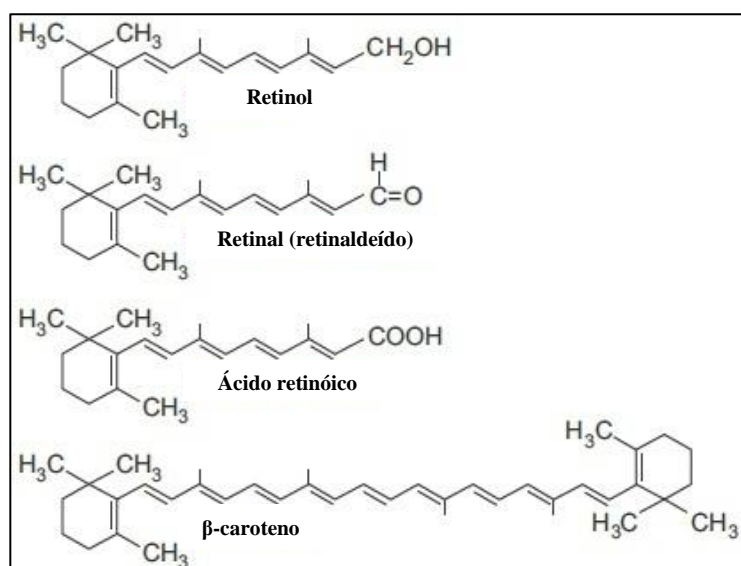


Figura 1. Estruturas químicas dos retinoides (Fonte: Adaptado de Combs, 2008).

As estruturas de alguns dos principais carotenoides e sua atividade biológica relativa estão representados na Figura 2. Quatro desses carotenoides,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno e criptoxantina (o principal carotenoide do milho) são de particular

importância por causa de atividade de provitamina A. A atividade pró-vitáminica do  $\beta$ -caroteno é substancialmente maior do que a de outros carotenoides. O licopeno é um importante carotenoide por sua ação antioxidante, mas não possui a estrutura de anel  $\beta$ -ionona e, portanto, não é um precursor da vitamina A. Em humanos o  $\beta$ -caroteno e o licopeno são os carotenoides predominantes nos tecidos (Costa *et al.*, 2002).

Os retinoides e carotenoides têm forte espectro de absorção. Vitamina A e os carotenoides pró-vitamina A são muito sensíveis às espécies reativas do oxigênio, especialmente na presença de luz e calor; portanto, o isolamento desses compostos requer ambiente anaeróbico e a presença de protetor antioxidante (por exemplo,  $\alpha$ -tocoferol) (Silva *et al.*, 2010).

Teoricamente, 1 mol de  $\beta$ -caroteno poderia ser convertido (pela clivagem da ligação C15=C15') para produzir 2 mol de retinal. No entanto, testes biológicos mostraram consistentemente que a vitamina A pura tem o dobro da potência do  $\beta$ -caroteno em relação ao peso. Assim, apenas uma molécula de vitamina A é formada a partir de uma molécula de  $\beta$ -caroteno. Dessa forma, a razão de equivalência  $\beta$ -caroteno:retinol é de 2:1 com base em estudos da década de 1970, que avaliaram as quantidades de  $\beta$ -caroteno e retinol necessárias para corrigir anormalidades visuais em indivíduos que passaram por período de depleção de vitamina A (IOM - U. S. Institute of Medicine, 2000).

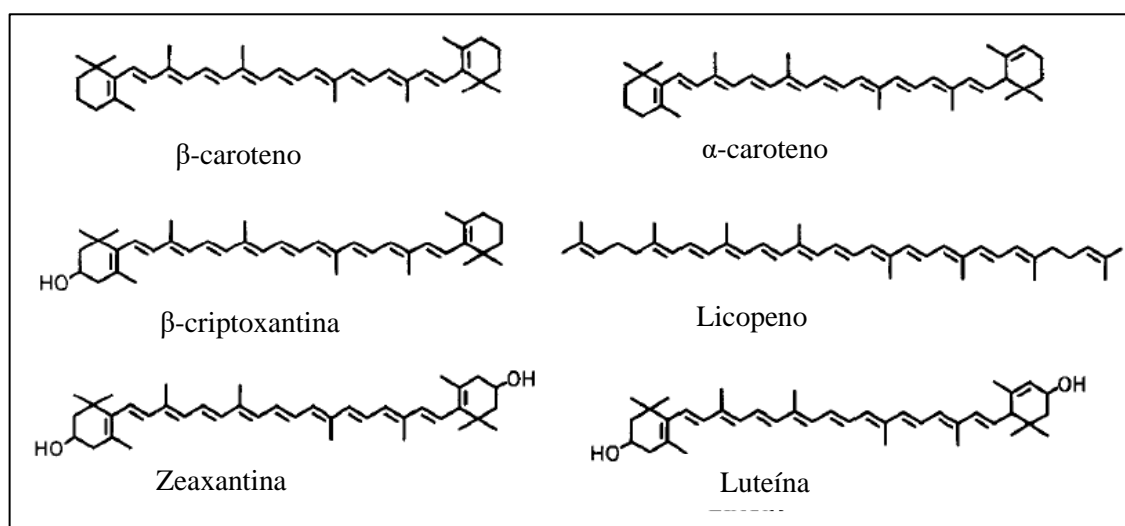


Figura 2. Estrutura dos carotenoides (Fonte: Adaptado de Combs, 2008).

A atividade da vitamina A é expressa em unidades internacionais (UI), uma UI é definida pela atividade biológica de 0,300  $\mu$ g de retinol ou 0,550  $\mu$ g de palmitato de

vitamina A. A vitamina A também pode ser expressa como equivalentes de retinol (RE) em vez de UI (Tabela 1). Por definição, 1 equivalente de retinol é igual a 1 µg de retinol, 6 µg de β-caroteno ou 12 µg de outros carotenoides provitamina A. Em termos de unidades internacionais, 1 RE é igual a 3,33 UI de retinol ou 10 UI de β-caroteno (Mcdowell, 2000).

Tabela 1. Atividade de vitamina A e seus compostos.

1 Equivalente Retinol (RE)	= 1 µgall-trans-retinol
	= 2 µgall-trans-β-caroteno (suplementos dietéticos)
	= 12 µgall-trans-β-caroteno (presente nos alimentos)
	= 24 µgoutros carotenoidesprovitamina A
Conversão em medidas	
1 IU <sup>b</sup>	= 0,3 µgall-trans-retinol
	= 0.344 µgall-trans-retinil acetato
	= 0.55 µgall-trans-retinil palmitato

<sup>b</sup> Unidades Internacionais (Fonte: Adaptado de Mcdowell, 2000).

### 1.2.2. Fontes de vitamina A

A vitamina A existe em produtos naturais em diversas formas, como retinóis pré-formados que são armazenados em tecidos animais, e como provitamina A, os carotenoides, que são sintetizados como pigmentos por muitas plantas e encontrados em tecidos vegetais verdes, laranja e amarelos. No leite, carne e ovos, a vitamina A existe em várias formas, principalmente como cadeia longa de ésteres de ácido graxo de retinol, sendo predominante o retinil palmitato (Campos & Rosado, 2005).

Os carotenoides são amplamente difundidos entre diversas espécies animais, com mais de 500 compostos estimados. Cerca de 60 deles têm atividade provitamina, ou seja, podem ser clivados no metabolismo animal para produzir pelo menos uma molécula de retinol. Na prática, porém, apenas cinco ou seis dessas provitaminas A são comumente encontrados nos alimentos. Portanto, a atividade da vitamina A e de suas várias formas nos alimentos requer alguns meios de padronização. Dois sistemas são usados para isso: unidades internacionais (UI) e equivalentes de retinol (RE) (Van Loo-Bouwman *et al.*, 2014).

A ingestão real de vitamina A, portanto, depende dos padrões de consumo de alimentos de origem animal portadores de vitamina A, produtos alimentícios e frutas

com provitamina A e particularmente em vegetais de folhas verdes. Essas fontes estão exemplificadas na Tabela 2, a partir de dados levantados pela *Food and Nutritional Board*, com objetivo de estimar os valores de RE e  $\beta$ -caroteno nos alimentos mais presentes na promoção da saúde humana (THE FAO, 2005).

Tabela 2. Fontes alimentares de vitamina A.

<b>Alimento</b>	<b>Distribuição percentual de atividade da vitamina A</b>		
	<b>Retinol</b>	<b><math>\beta</math>-caroteno</b>	<b>Carotenoides</b>
<i>Origem animal</i>			
Carne vermelha	90	10	
Carne de frango	90	10	
Peixe	90	10	
Ovos	90	10	
Leite e derivados	70	30	
Gorduras e óleos	90	10	
<i>De origem vegetal</i>			
Milho (amarelo)		40	60
Vegetais verdes <sup>a</sup>		75	25
Frutas amarelas <sup>b</sup>		85	15
Batata doce		50	50
Óleo de soja		50	50

<sup>a</sup>Por exemplo, couve ou espinafre; <sup>b</sup>Por exemplo damasco. Fonte: Leung, W., & Flores, M. (1980).

Vários alimentos contêm atividade de vitamina A, entretanto, relativamente poucos são fontes dietéticas ricas, sendo esses principalmente os vegetais verdes e amarelos, fígado, óleos de peixes e produtos enriquecidos com vitamina A, como margarina e ovos. Deve-se notar que, para a vitamina A, assim como outras vitaminas que são suscetíveis à degradação durante armazenamento e cozimento, valores dados na composição dos alimentos são estimativas provavelmente altas em relação aos valores realmente encontrados em circunstâncias práticas (de Paula *et al.*, 2006).

Um importante fator a se considerar na absorção da vitamina A é a sua biopotência. Esse termo está diretamente relacionado à influência de um composto vitamínico nos processos biológicos ou, simplesmente, à atividade biológica da vitamina, testada por meio de bioensaios. Este conceito não pode ser confundido com

bioconversão, que diz respeito a quantidade de nutriente já absorvido que é convertido em sua forma ativa no organismo; é o caso da transformação dos carotenoides provitamínicos A em retinol, e nem com bioeficácia, resultado tanto da biodisponibilidade quanto da bioconversão e se refere à eficiência com que um nutriente ingerido é absorvido e convertido na sua forma ativa (Revuelta *et al.*, 2016).

Tabela 3. Biopotência relativa dos compostos resinoides e provitaminas A.

<b>Composto</b>	<b>Biopotência relativa</b>
All-trans-retinol	100
All-trans-retinal	100
Isômeros <i>cis</i> -retinol	23-75
Ésteres retinil	10-100
3-Dehydrovitamina A	30
$\beta$ -Caroteno	50
$\alpha$ -Caroteno	26
$\gamma$ -Caroteno	21
Criptoxantina	28
Zeaxanthin	0

Adaptado de Combs, 2008

Dos estimados 600 carotenoides na natureza, cerca de 50 parecem ter atividade provitamina A, ou seja, aqueles que podem ser clivados metabolicamente para produzir pelo menos 1 molécula de retinol. Cinco ou seis deles são comuns nos alimentos. Enquanto as propriedades químicas de cada um determinam sua biopotência (Tabela 3), fatores dietéticos e fisiológicos podem afetar a utilização fisiológica determinando sua biodisponibilidade (Silva *et al.*, 2010).

### 1.2.3 Absorção da vitamina A

A maior parte da vitamina A pré-formada na dieta está na forma de ésteres de retinil. Ésteres de retinil são hidrolisados no lúmen do intestino delgado para produzir retinol; esta etapa é catalisada por hidrolases produzidas pelo pâncreas e situada na borda em escova da mucosa ou intrínseco à própria borda. Os ésteres retinol, assim como os carotenoides, são hidrofóbicos e, portanto, dependem da solubilização micelar para sua dispersão no meio aquoso no lúmen do intestino delgado. Por esta razão, a

vitamina A pode ser mal utilizada a partir de dietas com baixos teores de gordura (Menezes *et al.*, 2018).

A solubilização micelar de vitamina A facilita o acesso de enzimas hidrolíticas solúveis aos seus substratos (ou seja, os ésteres de retinil), e fornece um meio para a subsequente apresentação de retinol para a superfície da mucosa através da qual o retinol livre e  $\beta$ -caroteno intacto se difundem passivamente nas células epiteliais da mucosa. A absorção geral de retinol de ésteres de retinil parece ser bastante alto (cerca de 75%); este processo parece ser minimamente afetado pelo nível e tipo de gordura da dieta, embora a absorção seja sensivelmente menos eficiente em doses muito altas de vitamina A (Harrison, 2005).

A absorção de carotenoides também pode variar de acordo com a eficiências de dispersão e liberação de mistura de micelas. Acredita-se que liberação micelar envolva a difusão de carotenoides diretamente através das membranas plasmáticas dos enterócitos. Este processo parece ser prejudicado por fibra dietética e, provavelmente, outros fatores que interferem no contato da micela com a borda em escova da mucosa (Milagres Campos & Paixão Rosado, 2005).

Os carotenoides ingeridos na dieta são convertidos por uma enzima localizada na mucosa intestinal, a  $\beta$ caroteno-15,15'-dioxigenase, em vitamina A ativa (retinol), essa é então absorvida e armazenada, principalmente no fígado (Figura 3). Embora vários possam ser convertidos em vitamina A, o  $\beta$ -caroteno é o mais abundante nos alimentos e possui maior atividade biológica. O ácido retinoico, derivado da oxidação do retinol da dieta é intermediário na maioria das ações dos retinoides, exceto para a visão, que depende do retinal, o derivado aldeídico do retinol (Geöcze *et al.*, 2021).

A atividade da enzima caroteno dioxigenase não é altamente específica para  $\beta$ -caroteno, clivando outros carotenoides também. No caso do  $\beta$ -caroteno, os produtos dessa clivagem são duas moléculas de retinal; outros carotenoides têm atividades de provitamina A na medida em que produzem retinal pela ação da dioxigenase (isso é determinado tanto pela estrutura química do carotenoide e a eficiência de sua clivagem enzimática). A reação requer oxigênio molecular, que reage com os dois carbonos centrais (C-15 e C-15'), seguido pela clivagem da ligação C-C. É inibido pelo grupo sulfidril e por quelantes ferrosos ( $Fe^{++}$ ) (Kumar *et al.*, 2021).



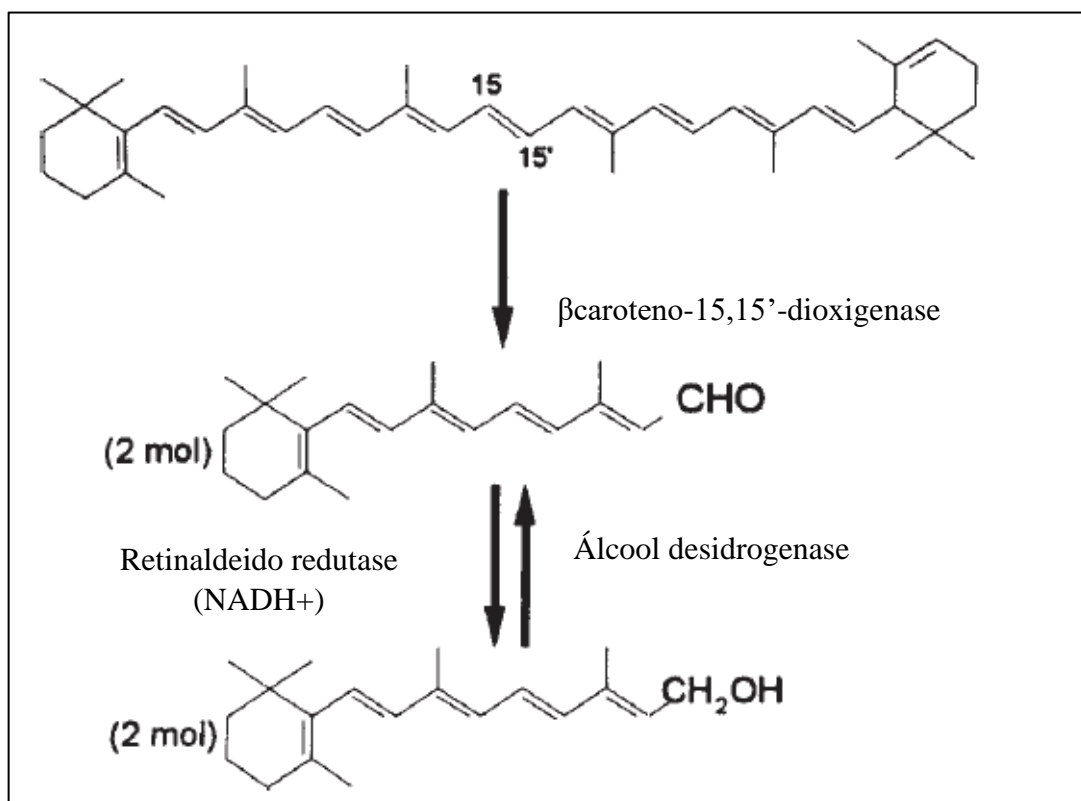


Figura 3. Bioconversão do  $\beta$ -caroteno em vitamina A (Fonte: Adaptado de Combs, 2008)

O retinol, formado a partir da hidrólise de ésteres de retinil ou da redução de retinal clivado do  $\beta$ -caroteno, é absorvido por difusão facilitada através de um transportador específico. Então, o retinol é rapidamente reesterificado com ácidos graxos de cadeia longa na mucosa intestinal. O 9-trans-retinol encontrado no plasma de seres humanos que receberam 9-cis- $\beta$ -caroteno indica que a isomerização cis-trans pode ocorrer no enterócito. Esse fenômeno mostra que o 9-cis- $\beta$ -caroteno pode ser uma fonte eficaz de vitamina A (Costa; Ortega-Flores; Pentead, 2002).

Os ésteres de retinol são secretados pelas células da mucosa intestinal nos núcleos hidrofóbicos dos quilomícrons, pelas quais a vitamina A é absorvida e transportada para o fígado através da circulação linfática. Esse transporte para o fígado através da hidrólise na mucosa intestinal, libera retinol e ácidos graxos livres. O retinol derivado dos ésteres e da redução dos carotenos é novamente esterificado a ácidos graxos de cadeia longa na mucosa e secretado como componente dos quilomícrons no sistema linfático. Os ésteres de retinol contidos nos quilomícrons remanescentes são armazenados no fígado como ésteres de retinil (Ritt, 2017).

O fígado, portanto, serve como o principal depósito de armazenamento de vitamina A, normalmente contendo mais de 90% da quantidade total da vitamina armazenada no corpo. A maior parte disso é armazenada em células estreladas (que respondem por apenas cerca de 2% do volume total do fígado), e o restante é armazenado no parênquima celular (estes dois tipos de células são os únicos hepatócitos que contêm atividades de hidrolase do éster retinílico) (Harrison, 2005).

A liberação do retinol se dá quando necessário a partir do fígado, este é liberado e transportado para os tecidos extra-hepáticos pela proteína ligadora de retinol (RBP), uma proteína plasmática, e a entrada do retinol se dá a partir do complexo RBP-retinol que se liga a receptores específicos na superfície das células dos tecidos periféricos. Muitos tecidos possuem a RBP que atua no transporte do retinol para sítios no núcleo (Neela & Fanta, 2019).

Embora não esteja claro se células estreladas do fígado também tenham atividade na síntese da RBP, elas também contêm essa proteína, embora em níveis muito mais baixos do que as células parenquimatosas. Tem sido sugerido que apo-RBP pode ser secretada de células parenquimatosas para ligar-se às células estreladas, mobilizando o retinol para a circulação. De acordo com esta visão, as células estreladas parecem ser importantes no controle do armazenamento e mobilização do retinol, um processo complexo que se pensa envolver expressão da RBP regulada pela dinâmica dos retinoides no organismo (de Paula *et al.*, 2006).

A atividade da RBP no fígado pode ser regulada em parte pelos níveis de estrogênio e pelo status de vitamina A (ou seja, reservas hepáticas de vitamina A) e status de proteína e de zinco; a deficiência de cada um pode reduzir acentuadamente a secreção da RBP reduzindo os níveis circulantes de retinol. Em casos de desnutrição energético-proteica, níveis de RBP (e assim, os níveis séricos de retinol) podem ser diminuídos até pela metade (Safarizadeh & Zakeri, 2013).

Vários estudos mostraram que o fígado pode armazenar vitamina A para proteger o animal de longos períodos de escassez alimentar. Essa grande capacidade de armazenamento deve ser considerada em estudos de exigência de vitaminas para garantir que a ingestão que pareça ser adequada para determinada função não seja complementada por reservas antes do período de observação. Medição do estoque

hepático de vitamina A no abate ou em amostras obtidas de biópsia são métodos úteis no estudo do status e necessidades de vitamina A (Mcdowell, 2000).

#### 1.2.4 Rotas metabólicas da vitamina A

O metabolismo da vitamina A (Figura 4) depende basicamente das formas de transporte do retinol, das diversas rotas de conversão possíveis, é possível dividir esse processo em: esterificação, conjugação, oxidação e isomerização (Combs, 2008).

- Esterificação: o retinol é esterificado nas células do intestino e na maioria dos outros tecidos por enzimas do retículo endoplasmático, que usam grupos acil tanto da fosfatidilcolina (lecitina-retinol aciltransferase, LRAT) quanto da coenzima A acilada (acil-CoA:retinolaciltransferase, ARAT). Esses sistemas mostram especificidades marcadas por ácidos graxos saturados, em particular, ácido palmítico; assim, o mais abundante produto é palmitato de retinol.
- Conjugação: O retinol também pode ser conjugado de duas maneiras. A primeira envolve a reação catalisada pela retinol-glucuronidase, presente no fígado e provavelmente em outros tecidos, que produz o retinilbeta-glucuronídeo, um metabólito que é excretado na bile. A segunda via de conjugação envolve a fosforilação dependente de ATP para produzir o retinol-fosfato catalisado pela retinol-fosforilase. Esse produto, na presença de guanosina difosfomanose pode

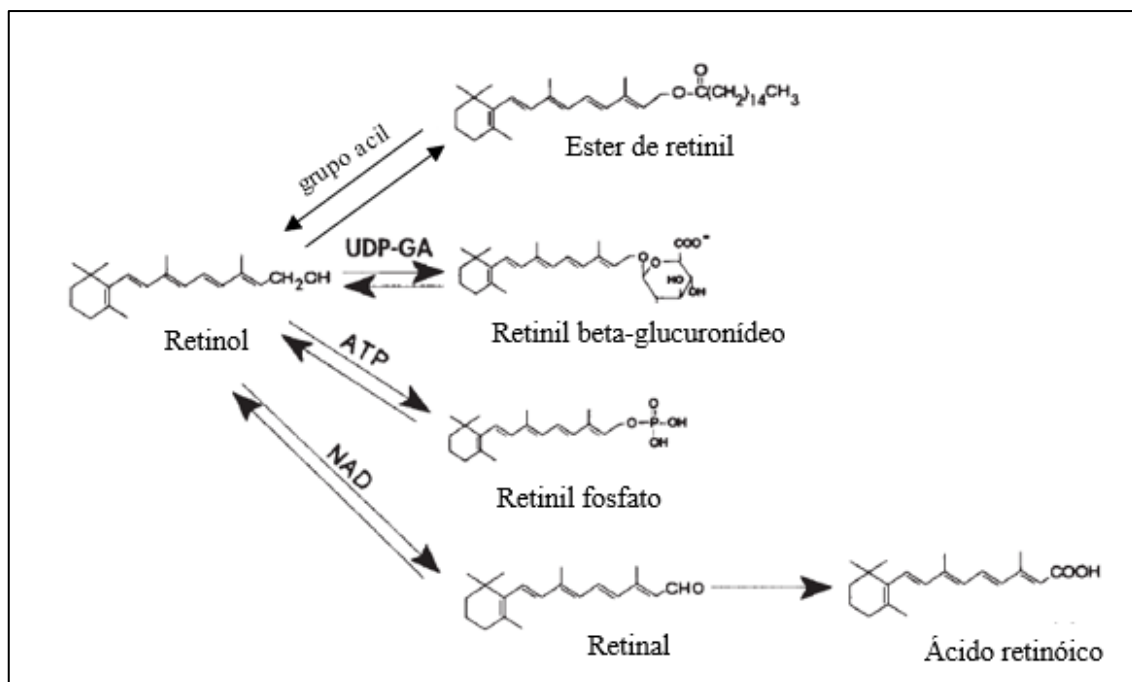


Figura 4. Rotas metabólicas do retinol (Fonte: Adaptado de Combs, 2008).

ser convertido para o glicosídeo retinil fosfomanose, que pode transferir sua porção de açúcar aos receptores de glicoproteína. No entanto, pelo fato de apenas pequena quantidade de retinol sofrer essa fosforilação *in vivo*, o processo fisiológico significativo desta via ainda não é claro.

- Oxidação: O retinol também pode ser oxidado reversivelmente a retinal pela retinol-desidrogenase dependente de NADH ou NADPH, que também é dependente de zinco. Essas atividades citosólicas e microsossomais são encontradas em muitos tecidos. Uma desidrogenase de cadeia curta pode oxidar 9-cis- e 11-cis-retinol para o correspondente aldeído. Esta atividade tem sido identificada em vários tecidos, incluindo o epitélio pigmentar da retina, fígado, glândula mamária e rim. O 9-cis-retinol pode ser convertido em ácido 9-cis-retinóico e isso é evidenciado pela atividade da 9-cis-retinol desidrogenase. Essa enzima em humanos e camundongos é inibida pelo ácido 13-cis-retinoico, sugerindo que a presença deste pode desempenhar importante papel na regulação do metabolismo dos retinoides. O retinal pode ser irreversivelmente oxidado em ácido retinoico. Como o ácido retinóico é o ligante ativo para os receptores nucleares dos retinoides, é muito provável que esse metabolismo seja fortemente regulado. A velocidade dessa reação é maior do que a da retinol-desidrogenase; isso, mais o fato de que a taxa de redução do retinal de volta ao retinol é também relativamente grande, resulta na presença de retinal em concentrações muito baixas nos tecidos.
- Isomerização: a interconversão das formas all-trans mais comuns da vitamina A e várias formas cis ocorre no olho e é um aspecto chave da função visual da vitamina, assim como a mudança conformacional causada pela isomerização altera a afinidade de ligação da retina para a proteína opsina do pigmento visual. No olho, a luz induz a conversão de 11-cis-retinal em all-transretinal (Figura 5). A conversão de volta para a forma 11-cisé catalisada pela enzima retinal isomerase, que também catalisa a isomerização análoga (em ambas as direções) de 11-cis- e all-trans-retinol. Alguns isômeros (por exemplo, a forma 13-cis) tendem a ser isomerizados para a forma all-trans mais rapidamente do que outros (Combs, 2008)

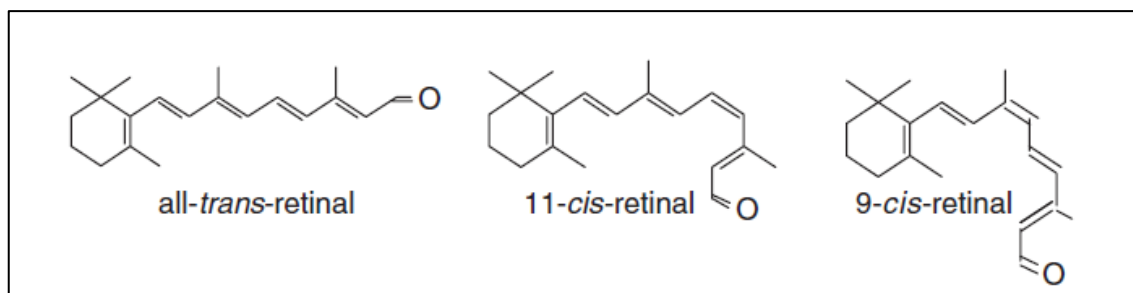


Figura 5. Estruturas dos isômeros de retinal (Fonte: Adaptado de Combs, 2008).

Derivados da vitamina A com cadeia carbônica intacta são geralmente excretados nas fezes, enquanto produtos ácidos de cadeia curta tendem a ser excretada na urina. Em estado estacionário, quantidades aproximadamente iguais dos metabólitos são excretadas nas fezes e na urina. Alguns derivados da vitamina A são secretados no lúmen intestinal através da biliar. Isso acontece para grande parte do ácido retinoico e parte do retinol. Os principais componentes da vitamina A da bile são os glucuronídeos da vitamina A. Uma porção apreciável desses glucuronídeos é reabsorvida, criando uma circulação entero-hepática para derivados de vitamina A e fornecendo a oportunidade para a conservação da vitamina no organismo. Estudos cinéticos demonstraram que a molécula de retinol circula várias vezes entre o fígado e os tecidos extra-hepáticos antes de ser degradada (Costa *et al.*, 2002).

#### 1.2.5 Funções metabólicas da vitamina A e deficiências

A alimentação com carotenoides provitamina A, ésteres de retinil, retinol, e retinal podem participar na manutenção de células epiteliais, diferenciação celular, desempenho reprodutivo normal, e função visual (Tabela 4). Cada uma dessas formas pode ser metabolizada em retinol, retinal ou ácido retinoico. Mas, ao contrário do retinol e do retinal, o ácido retinoico não pode ser reduzido a retinal ou retinol. A suplementação alimentar com o ácido retinoico pode atender apenas às funções sistêmicas da vitamina A (por exemplo, diferenciação celular epitelial). Essas observações e conhecimento do metabolismo dos retinoides levou à conclusão de que enquanto a retina descarrega as funções visuais, ácido retinóico (e, especificamente, ácido all-trans-retinoico) participa das funções sistêmicas da vitamina (Blum *et al.*, 2015).

Tabela 4. Formas funcionais da vitamina A.

Forma ativa	Função
Retinol	Transporte, reprodução
Ésteres de retinil	Armazenamento
Retinal	Visão
Ácido retinoico	Diferenciação epitelial, transcrição genica e reprodução.

Adaptado de Combs 2008.

A função mais bem elucidada da vitamina A está no processo visual e o 11-cis-retinal, serve como grupo cromóforo fotossensível dos pigmentos visuais de bastonetes e cones da retina. Células bastonetes contêm o pigmento rodopsina; células cone contêm uma das três iodopsinas existentes. Em cada caso, o 11-cis-retinal está ligado a uma apoproteína (coletivamente referidas como opsina) (Figura 6). As funções visuais da rodopsina e das iodopsinas diferem apenas em relação às propriedades de absorção da luz, que são conferidas pelas diferentes opsinas envolvidas. Em cada uma, a foto recepção é efetuada pela rápida isomerização, induzida pela luz, do 11-cis-retinal para a forma all-trans (Ball, 2004).

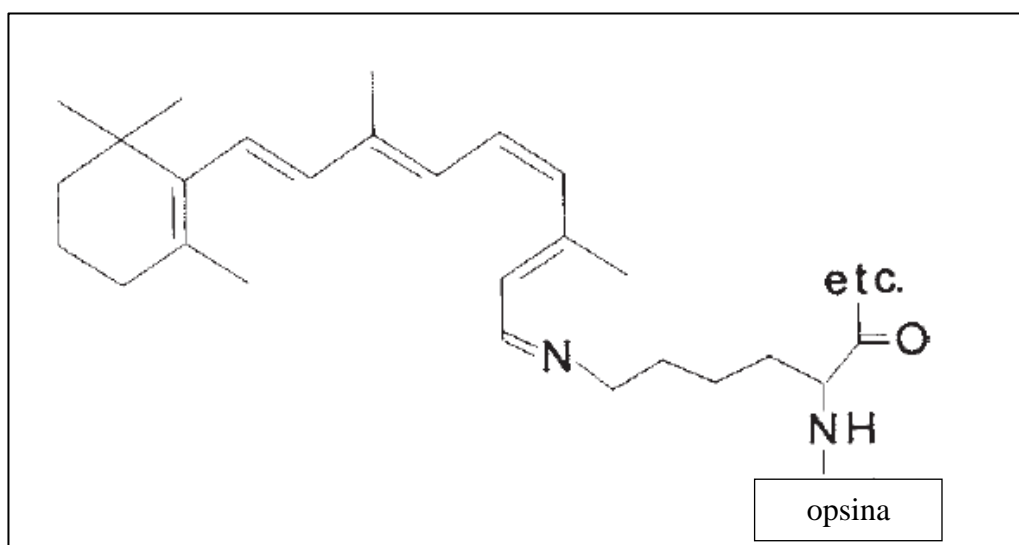


Figura 6. Ligação do 11-cis-retinal à opsina (Adaptado de Combs, 2008).

A dissociação de all-trans-retinal e opsina é acoplado à estimulação nervosa dos centros de visão do cérebro. O branqueamento da rodopsina causa o fechamento dos canais de  $\text{Na}^+$  no segmento externo do bastonete, levando à hiperpolarização da membrana. Essa mudança no potencial de membrana é transmitida como um impulso nervoso ao longo dos neurônios ópticos, e no terminal sináptico das células bastonetes e

esse processo visual se torna cíclico à medida que seus constituintes se regeneram (Gürbüz & Aktaç, 2022).

A deficiência de vitamina A, em função da necessidade de ressíntese de rodopsina, resulta em cegueira noturna, que é um sinal clínico tanto em animais quanto em humanos. Durante as reações na retina, parte da vitamina A é perdida e substituída pela vitamina A circulante no sangue, se os níveis séricos estiverem muito baixos, ocorrerá cegueira noturna funcional. A deficiência se manifesta inicialmente como uma adaptação mais lenta ao escuro e progride para a cegueira noturna total (Zile, 2010).

A vitamina A é claramente importante em sua participação na imunocompetência, em que sua deficiência afeta a imunidade em vários aspectos. Animais e humanos com deficiência de vitamina A são tipicamente mais suscetíveis a infecções do que indivíduos com nutrição adequada de vitamina A. Os animais deficientes mostram alterações na massa de órgãos linfoides, distribuição celular, histologia e características dos linfócitos. Além disso, alterações causadas pela deficiência de vitamina A fornecem ambientes propícios ao crescimento bacteriano e infecção *in loco* (Moraes, 2011).

A deficiência de vitamina A afeta a função imunológica, particularmente a resposta de anticorpos aos antígenos dependentes de células T. A expressão do mRNA do RAR- $\alpha$  e as respostas proliferativas específicas do antígeno dos linfócitos T são influenciadas pelo estado da vitamina A *in vivo* e são diretamente moduladas pelo ácido retinoico. A deficiência de vitamina A afeta várias células do sistema imunológico, e essa reposição com ácido retinoico restabelece efetivamente o número de linfócitos circulantes (Garcia, 2012).

A vitamina A participa na manutenção da integridade da epiderme e mucosas, pelo fato de seus metabólitos atuarem na manutenção e diferenciação das células epiteliais. Deficiências nutricionais causam diminuição das células de diferenciação do tecido, os queratinócitos, alterações histopatológicas na mucosa intestinal e diminuição da produção de muco no trato respiratório e gastrointestinal. Esta série de eventos também contribui na debilidade do sistema imune inespecífico facilitando a invasão por patógenos (Oriá *et al.*, 2016).

Na maioria das produções animais, a ausência de vitamina A nas dietas pode afetar, também, a capacidade reprodutiva. A eclodibilidade é significativamente reduzida em aves alimentadas com dietas deficientes em vitamina A. Em algumas

espécies a deficiência pode reduzir à atividade sexual dos machos a qualidade dos espermatozoides, enquanto para as fêmeas, acarreta quedas na viabilidade da prole, reabsorção fetal e abortos (MacLachlan *et al.*, 2020).

Uma das ações sugeridas da vitamina A e seus compostos é na promoção da saúde do revestimento cutâneo e do sistema imunológico envolvendo efeitos em sistemas que fornecem proteção contra os pró-oxidantes. No entanto, é improvável que a própria vitamina A seja fisiologicamente significativa a este respeito, uma vez que o retinol e o retinal não saciam diretamente espécies reativas do oxigênio, e têm apenas capacidade de eliminar os radicais livres (Menezes *et al.*, 2018).

Essa atividade antioxidante é devido às ligações duplas conjugadas que podem deslocar o elétron desemparelhado de um radical livre. Em baixas pressões parciais (fisiológicas) de oxigênio, os carotenoides também podem participar na redução radicais livres; xantofila (luteína, licopeno e beta-criptoxantina) também são eficazes nessa atividade. Essa ação antioxidante dos carotenoides provitamina A parece ser mais significativa, em casos de altas ingestões ou dietas enriquecidas com os compostos. É importante destacar que o redirecionamento dos carotenoides para uma ação antioxidante, de proteção contra espécies reativas, pode diminuir a atividade desses compostos como provitamina A, reduzindo os níveis vitamínicos obtidos através dessa conversão (Revuelta *et al.*, 2016).

### *1.2.6 Toxicidade*

Em geral, a possibilidade de intoxicação por vitamina A é remoto considerando as rações animais convencionais. A forma de armazenamento da vitamina tem grande influência sobre o controle dos níveis séricos e o desenvolvimento de uma intoxicação. Grandes overdoses persistentes (mais de 100 a 1000 vezes o valor nutricional necessário) podem exceder a capacidade do fígado em armazenar e catabolizar e levar à intoxicação (Mcdowell, 2000; Combs, 2008).

Esse processo é marcado pelo aparecimento no plasma de altos níveis de ésteres retinil que, por estarem associados a lipoproteínas em vez da RBP, estão fora do estrito controle normal do transporte de vitamina A para os tecidos extra-hepáticos. Alguns aspectos do metabolismo da vitamina A tendem a proteger contra hipervitaminose: eficiência de conversão relativamente baixa dos compostos provitamina A no intestino;



oxidação unidirecional da vitamina a uma forma (ácido retinoico) que é rapidamente catabolizado e excretado; catabolismo acelerado da vitamina A (BROZ; WARD, 2007).

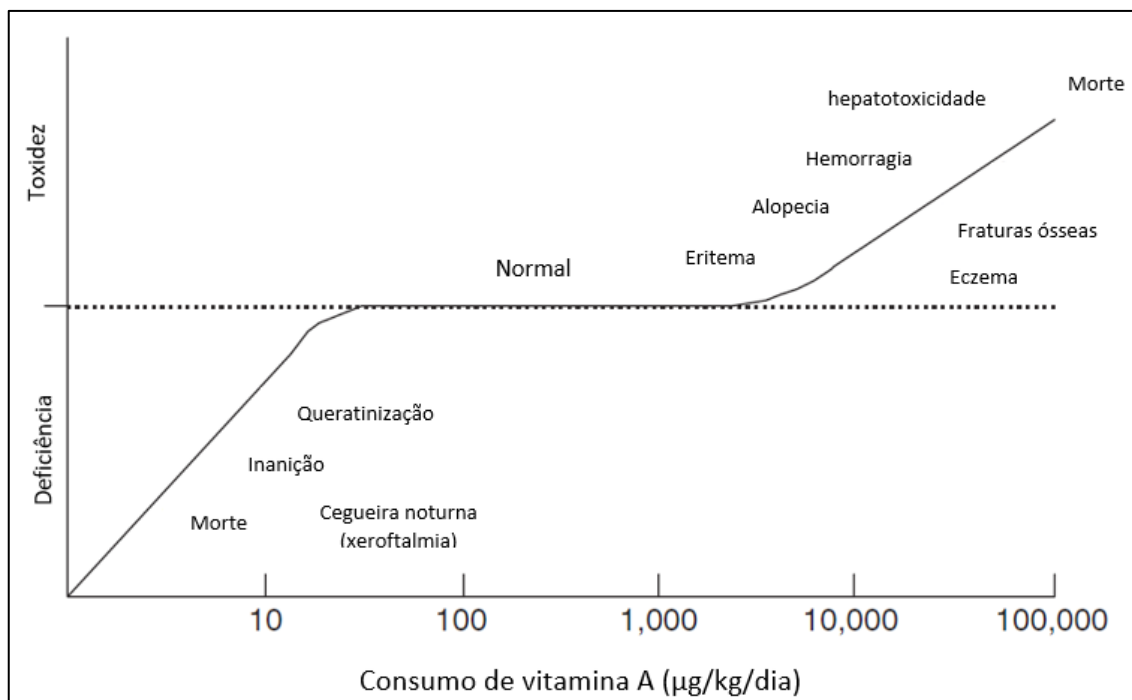


Figura 7. Sinais clínicos para baixos e altos consumos de vitamina A (Fonte: Adaptado de Combs, 2008).

Os sinais mais característicos da hipervitaminose A (Figura 7), são mal formações esqueléticas, fraturas espontâneas e hemorragia interna. Outros sinais incluem perda de apetite, crescimento lento, perda de peso, espessamento da pele, queratinização suprimida, aumento do tempo de coagulação sanguínea, contagem reduzida de eritrócitos, enterite, anormalidades congênitas e conjuntivite. Atrofia degenerativa, infiltração gordurosa e redução da função hepática e renal também são típicas (Huang *et al.*, 2018).

### 1.2.7 Exigências em vitamina A

As tabelas brasileiras de Rostagno *et al.* (2017) recomendam o valor de 2,81 mg de vitamina A/kg de ração para frangos de corte de 1 a 7 dias de idade, para codornas, não há um valor recomendado, sendo mais utilizadas as recomendações NRC (1994), utilizado como referência nas formulações, que recomenda 1650 e 3300 UI/Kg de ração para as fases de crescimento e postura respectivamente. Em um estudo considerando dietas de baixa e alta energia para codornas japonesas, (Shellenberger; Lee, 1966), observaram que as taxas de crescimento não foram aumentadas quando a vitamina A foi

usada em níveis de 550 a 4400 UI/kg de ração. A mortalidade foi maior em machos e fêmeas alimentados com dietas de baixa energia suplementadas com 550 ou 1100 UI/kg e em fêmeas alimentadas com dietas de alta energia com 550 UI/kg. A produção de ovos quase normal foi obtida em aves alimentadas com dietas de baixa energia a 2200 UI/kg e em aves alimentadas com dietas de alta energia a 1650 UI/kg. A eclodibilidade dos ovos não foi afetada usando 3300 UI/kg.

Avaliando a relação entre o conteúdo de colesterol e retinoides na gema de ovos de codornas suplementadas com palmitato de retinol, Ramalho *et al* (2008) obtiveram resultados que demonstraram aumento progressivo na incorporação de retinol na gema de ovo em resposta à suplementação, atingindo valores 384% superiores aos valores de controle. Ao final da suplementação houve a incorporação significativa nas concentrações de retinol da gema de ovo com suplementações de 2400 e 4800 IU/Kg, sendo os níveis mais duradouros, apresentando altos teores de retinol mesmo após 3 semanas. A suplementação aumentou o peso do ovo, mas nem a produção de ovos nem os níveis de colesterol foram significativamente alterados.

A Tabela 5 apresenta dados resumidos de trabalhos utilizando diferentes fontes da vitamina A e com foco tanto em parâmetros de desempenho como em qualidade de ovos, desempenho reprodutivo e parâmetros fisiológicos de codornas japonesas, é possível observar que a vitamina A de fato desempenha papéis diferentes na fisiologia dessas aves e sua forma de utilização também pode ser dinâmica de acordo com o interesse do estudo.

Tabela 5. Trabalhos utilizando níveis de suplementação em vitamina A para codornas japonesas.

Autores	Forma da vitamina A	Níveis utilizados (UI/Kg de ração)	Variáveis analisadas
SHELLENBERGER <i>et al.</i> , 1966	Palmitato de Retinol	1600 a 3300 <sup>a</sup>	Desempenho, produção de ovos e reprodução
NRC, 1984	Vitamina A*	1650 <sup>b</sup> / 3300 <sup>c</sup>	-
FU <i>et al.</i> , 2000	Ácido retinoico	13320	Parâmetros reprodutivos
RAMALHO <i>et al.</i> , 2008	Palmitato de Retinol	2400 a 4800	Composição da gema
MARQUES <i>et al.</i> , 2011	Vitamina A*	10000 / 30000	Desempenho e qualidade de ovos
SILVA <i>et al.</i> , 2012	Vitamina A*	850 <sup>b</sup> / 1650 <sup>c</sup>	Desempenho e produção de ovos
STANQUEVIS <i>et al.</i> , 2022	Éster de retinol	11276 <sup>b</sup> / 9420 <sup>c</sup>	Desempenho, qualidade de ovos e parâmetros fisiológicos

<sup>a</sup>Níveis recomendados pelo autor considerando uma dieta de alta energia e os resultados de eclodibilidade; <sup>b</sup>codornas japonesas em crescimento; <sup>c</sup>postura; \*não especificado.

## Referências

- Ballantyne, M., Taylor, L., Hu, T., Meunier, D., Nandi, S., Sherman, A., Flack, B., Henshall, J. M., Hawken, R. J., & McGrew, M. J. (2021). Avian Primordial Germ Cells Are Bipotent for Male or Female Gametogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.726827>
- Benites, M. I., Stanquevis, C. E., Grieser, D. O., Perine, T. P., Finco, E. M., Martins, I. O., Lipori, H. M., & Marcato, S. M. (2020). Parâmetros ósseos de codornas de corte suplementadas com diferentes níveis de vitamina A, de 15 a 35 dias de idade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 72(4), 1497–1503. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11338>
- Broz, J., & Ward, N. E. (2007). The role of vitamins and feed enzymes in combating metabolic challenges and disorders. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(1), 150–159. <https://doi.org/10.1093/japr/16.1.150>
- CAMPOS, F. M., & ROSADO, G. P. (2005). NOVOS FATORES DE CONVERSÃO DE CAROTENÓIDES PROVITAMÍNICOS A. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(3), 571–578.
- Costa, M. A. L. da, Ortega-Flores, C. I., & Penteadó, M. de V. C. (2002). Alterações estruturais in vivo dos isômeros todo-trans, 9-cis e 13-cis do beta-caroteno. *Food Science and Technology*, 22(3), 224–228. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612002000300004>
- de Paula, T. P., Peres, W. A. F., Ramalho, R. A., & Coelho, H. S. M. (2006). Vitamin A metabolic aspects and alcoholic liver disease. *Revista de Nutricao*, 19(5), 601–610. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000500008>
- De, R., Reis<sup>1</sup>, S., Luiz De Toledo Barreto<sup>1</sup>, S., de Paula<sup>1</sup>, E., Cunha, J., Muniz<sup>1</sup>, L., Da, G., Viana<sup>1</sup>, S., Mencialha<sup>1</sup>, R., Maria, L., & Barbosa<sup>1</sup>, R. (2012). NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO DE COLINA NA DIETA DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA. In *Julho*.
- el Beitune, P., Duarte, G., Nunes de Moraes, E., Quintana, S. M., & Vannucchi, H. (2003). Deficiência da vitamina a e associações clínicas: revisão. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(4), 355–363. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222003000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=pt](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=pt)
- FERREIRA, C. B., & SOUZA, R. A. P. R. (2021). *Vista do Produção de frangos de corte e tecnologias para nutrição, imunologia e melhoramento genético: uma revisão narrativa*. Revista Eletrônica Acervo Científico . <https://acervomais.com.br/index.php/cientifico/article/view/9248/5623>
- Geöcze, K. C., Barbosa, L. C. A., Lima, C. F., Ferruzzi, M. G., Fidêncio, P. H., Sant'ana, H. M. P., & Silvério, F. O. (2021). Caryocar brasiliense Camb. fruits from the Brazilian Cerrado as a rich source of carotenoids with pro-vitamin A activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 101. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2021.103943>

- Gredel, S. (2011). NUTRIÇÃO E IMUNIDADE NO HOMEM. In *ILSI EUROPE CONCISE MONOGRAPH SERIES* (2nd ed., Issue 2). International Life Sciences Institute .
- Gürbüz, M., & Aktaç, Ş. (2022). Understanding the role of vitamin A and its precursors in the immune system. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2021.10.002>
- Harrison, E. H. (2005). Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A. *Annual Review of Nutrition*, 25, 87–103. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NUTR.25.050304.092614>
- IOM - U. S. Institute of Medicine, F. and N. B. S. C. on the S. E. of D. R. Intakes. (2000). *DIETARY REFERENCE INTAKES*. NATIONAL ACADEMY PRESS. <http://www.nap.edu/catalog/10026.html>
- Justina da Silva, W., Batista Vieira Silva Gouveia, A., Eumar de Sousa, F., Ramos dos Santos, F., Silva Minafra-Rezende, C., Marixara Sousa Silva, J., & Silva Minafra, C. (2018). Turmeric and sorghum for egg-laying quails. *Italian Journal of Animal Science*, 17(2), 368–376. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1360160>
- Kumar, A., Kamboj, M., & Virender, V. (2021). A review on photometric methods for the quantitation of vitamin A. In *Microchemical Journal* (Vol. 171, p. 106791). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106791>
- Li, J., Bi, D., Pan, S., Zhang, Y., & Zhou, D. (2008). Effects of high dietary vitamin A supplementation on tibial dyschondroplasia, skin pigmentation and growth performance in avian broilers. *Research in Veterinary Science*, 84(3), 409–412. <https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2007.11.008>
- Lucas, A., Morales, J., & Velando, A. (2014). Differential effects of specific carotenoids on oxidative damage and immune response of gull chicks. *Journal of Experimental Biology*, 217(8), 1253–1262. <https://doi.org/10.1242/jeb.098004>
- MacLachlan, S. S., Ali, A. B. A., Toscano, M. J., & Siegford, J. M. (2020). Influence of later exposure to perches and nests on flock level distribution of hens in an aviary system during lay. *Poultry Science*, 99(1), 30–38. <https://doi.org/10.3382/ps/pez524>
- Marques, R. H., Gravena, R. A., da Silva, J. D. T., Roccon, J., Picarelli, J., Hada, F. H., de Queiroz, S. A., & Moraes, V. M. B. (2011). Efeito da suplementação de dieta de codornas com vitaminas A, D e E sobre o desempenho das aves e a qualidade e o enriquecimento dos ovos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(6), 1222–1232. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600010>
- Mayone Silva, G., Taty Silva, K., José Lima, W., Lima, W., Fonseca, W., Matias de, A., Matias de, N., & Syllas Monteiro, C. (2016). Evolução da avicultura brasileira. *Nucleus Animalium, ISSN-e 2175-1463, Vol. 8, Nº. 1, 2016, Págs. 49-58*, 8(1), 49–58. <https://doi.org/10.3738/21751463.1682>
- Mcdowell, L. R. (n.d.). *Vitamin nutrition of livestock animals: Overview from vitamin discovery to today*.

- Menezes, A. C. P., Pereira, A. C., Filho, M., Gonçalves De Oliveira Filho, J., Christofoli, M., Carlos, ;, De, F., & Castro, S. (2018). Atividade Antioxidante, Conteúdo de Fenólicos Totais, Carotenoides e Provitamina A em Extratos Vegetais do Cerrado Goiano. *UNICIÊNCIAS*, 22(1), 28–32. <https://doi.org/10.17921/1415-5141.2018V22N1P28-32>
- Milagres CAMPOS, F., & Paixão ROSADO, G. (2005). NOVOS FATORES DE CONVERSÃO DE CAROTENÓIDES PROVITAMÍNICOS A. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 571–578.
- Minvielle, F. (2009). What are quail good for in a chicken-focused world? In *World's Poultry Science Journal* (Vol. 65, Issue 4, pp. 601–608). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S0043933909000415>
- Moraes, M. L. (2011). *IMUNOLOGIA E NUTRIÇÃO*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Neela, S., & Fanta, S. W. (2019). Review on nutritional composition of orange-fleshed sweet potato and its role in management of vitamin A deficiency. *Food Science and Nutrition*, 7(6), 1920–1945. <https://doi.org/10.1002/FSN3.1063>
- Nepomuceno, R. C., Sá, N. L., Freitas, E. F., Lima, R. C., Aguiar, G. C., Figueiredo, C. W. S., & Silva, C. P. (2019). Suplementação de colina em dietas para codornas de corte (*Coturnix coturnix coturnix*). *Archivos de Zootecnia*, 68(264), 472–478. <https://doi.org/10.21071/AZ.V68I264.4985>
- Oriá, R. B., Brito, G. A. de C., Rodrigues, F. A. de P., Medeiros, P. H. Q. S. de, Prata, M. de M. G., & Lima, A. Â. M. (2016). Fisiologia da Barreira Epitelial Intestinal. *Sistema Digestório: Integração Básico-Clinica*, 441–478. <https://doi.org/10.5151/9788580391893-18>
- PASSOTTO, J. A., PENTEADO, M. D. V. C., & MANCINI-FILHO, J. (1998). Atividade antioxidante do beta-caroteno e da vitamina A. Estudo comparativo com antioxidante sintético. *Food Science and Technology*, 18(1), 68–72. <https://doi.org/10.1590/S0101-20611998000100015>
- Pastore, S. M., Oliveira, W. P. de, & Muniz, J. C. L. (2012). Panorama Da Coturnicultura No Brasil. *Revista Eletrônica Nutritime*, 9(6), 2041–2049.
- Pompeu, M. A., Lara, L. J. C., Baião, N. C., Ecco, R., Caçado, S. v., Rocha, J. S. R., Machado, A. L. C., & Vasconcelos, R. J. C. (2011). Levels of supplementation of choline in diets for male broilers in initial phase. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63(6), 1446–1452. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000600023>
- Revuelta, J. L., Buey, R. M., Ledesma-Amaro, R., & Vandamme, E. J. (2016). Microbial biotechnology for the synthesis of (pro)vitamins, biopigments and antioxidants: challenges and opportunities. *Microbial Biotechnology*, 9(5), 564–567. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12379>
- Ritt, L. A. (2017). *Principais deficiências vitamínicas em cães e gatos* [Revisão]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Safarizadeh, A., & Zakeri, A. (2013). The effect of vitamin A and complex of vitamin E and selenium on growth factors and Humoral immunity in broiler chickens. *European Journal of Experimental Biology*, 3(4), 99–102. <https://www.imedpub.com/articles/the-effect-of-vitamin-a-and-complex-of-vitamin-e-and-selenium-on-growth-factors-and-humoral-immunity-in-broiler-chickens.php?aid=14717>
- Sahin, K., Onderci, M., Sahin, N., Gulcu, F., Yildiz, N., Avci, M., & Kucuk, O. (2006). Responses of quail to dietary Vitamin E and zinc picolinate at different environmental temperatures. *Animal Feed Science and Technology*, 129(1–2), 39–48. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2005.11.009>
- Shellenberger, T. E., & Lee, J. M. (1966). Effect of Vitamin A on Growth, Egg Production and Reproduction of Japanese Quail. *Poultry Science*, 45(4), 708–713. <https://doi.org/10.3382/PS.0450708>
- Shojadoost, B., Yitbarek, A., Alizadeh, M., Kulkarni, R. R., Astill, J., Boodhoo, N., & Sharif, S. (2021a). Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system. *Poultry Science*, 100(4). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.027>
- Shojadoost, B., Yitbarek, A., Alizadeh, M., Kulkarni, R. R., Astill, J., Boodhoo, N., & Sharif, S. (2021b). Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system. *Poultry Science*, 100(4), 100930. <https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2020.12.027>
- Shojadoost, B., Yitbarek, A., Alizadeh, M., Kulkarni, R. R., Astill, J., Boodhoo, N., & Sharif, S. (2021c). Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system. *Poultry Science*, 100(4). <https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2020.12.027>
- Silva, M. L. C., Costa, R. S., Santana, A. dos S., & Koblitiz, M. G. B. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 669–682. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744097017>
- Silva, J. H. v., Jordão Filho, J., Costa, F. G. P., Lacerda, P. B., Vargas, D. G. v., & Lima, M. R. (2012). Exigencias nutricionais de Codornas. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* <http://www.rbspa.ufba.br>
- Stanquevis, C. E., Marcato, S. M., Furlan, A. C., Perine, T. P., Batista, E., Grieser, D. O., Zancanela, V., & Benites, M. I. (2017). Níveis de suplementação de vitamina K para codornas de corte em crescimento de 15 a 35 dias de idade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(4), 1006–1012. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9445>
- The FAO (United Nations Food and Agriculture Organization. (2005). Human Vitamin and Mineral Requirements. *Geneva : World Health Organization*, 2nd ed, 341 p. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/42716>

- Toledo, G. S. de, Kloeckner, P., Lopes, J., & Costa, P. T. (2006). Níveis das vitaminas A e E em dietas de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. *Ciência Rural*, *36*(2), 624–629. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000200041>
- van Loo-Bouwman, C. A., Naber, T. H. J., & Schaafsma, G. (2014). A review of vitamin A equivalency of  $\beta$ -carotene in various food matrices for human consumption. *British Journal of Nutrition*, *111*(12), 2153–2166. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000166>
- Wan, X. L., Zheng, X. C., Liang, J. R., Xiao, X., Yang, H. M., & Wang, Z. Y. (2022). Dietary vitamin A supplementation improves intestinal morphology and immune performance of goslings. *The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition*, *31*, 217–223. <https://doi.org/10.22358/jafs/150174/2022>
- Wang, Y., Li, L., Gou, Z., Chen, F., Fan, Q., Lin, X., Ye, J., Zhang, C., & Jiang, S. (2020). Effects of maternal and dietary vitamin A on growth performance, meat quality, antioxidant status, and immune function of offspring broilers. *Poultry Science*, *99*(8), 3930–3940. <https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2020.03.044>
- Yuan, J., Roshdy, A. R., Guo, Y., Wang, Y., & Guo, S. (2014). Effect of dietary vitamin a on reproductive performance and immune response of broiler breeders. *PLoS ONE*, *9*(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0105677>
- Zancanela, V., Furlan, A. C., Pozza, P. C., Marcato, S. M., Grieser, D. de O., Stanquevis, C. E., Finco, E., Ferreira, M. de F. Z., & de Oliveirabruxel, T. M. (2017). Biometric viscera and blood parameters of meat quails supplemented with inorganic selenium and vitamin E. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, *18*(4), 560–575. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402017000400007>
- Zhang, Z. Y., Zhang, S., Lai, C. H., Zhao, J. B., Zang, J. J., & Huang, C. F. (2019). Effects of adaptation time and inclusion level of sugar beet pulp on nutrient digestibility and evaluation of ileal amino acid digestibility in pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *32*(9), 1414–1422. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0181>
- Zile, M. H. (2010). Vitamin A-not for your eyes only: Requirement for heart formation begins early in embryogenesis. *Nutrients*, *2*(5), 532–550. <https://doi.org/10.3390/nu2050532>



## **II – OBJETIVOS GERAIS**

Verificar a influência da suplementação de vitamina A em dietas de codornas japonesas nas fases de crescimento e postura

### **2.1 Objetivos específicos**

Capítulo III: Avaliar os efeitos de diferentes níveis de suplementação da vitamina A na dieta de codornas japonesas nas fases de cria e recria sobre o desempenho animal, peso de órgãos e morfometria intestinal do duodeno e jejuno e possíveis efeitos tóxicos dos altos níveis da vitamina;

Capítulo IV: Avaliar os efeitos de diferentes níveis de suplementação da vitamina A na dieta de codornas japonesas na fase de postura sobre a produção e qualidade de ovos, desempenho animal e possíveis efeitos tóxicos dos altos níveis da vitamina.

## 1                   **Levels of vitamin A supplementation for growing Japanese quail**

2    **Abstract**1. The goal of this work was to evaluate the influence of vitamin A  
3    supplementation (retinol acetate) in Japanese quail diets from 1 to 42 days of age, on  
4    performance parameters, organ morphometry and toxic effects of high vitamin levels.

5    2. For that, 1050 1-day-old quails were used, distributed in a completely randomized  
6    design (CRD) with seven treatments, five replications and 30 birds per experimental  
7    unit. The supplementation levels used were 0; 650; 1650; 2650; 3650; 7300; 14600  
8    IU/Kg of feed.

9    3. Thus, analyzed variables were: feed intake, weight gain, and feed conversion at 7, 14,  
10   and 42 days of age. Relative organ weights and intestinal morphometry analyzes (villus  
11   height, crypt depth and villus/crypt ratio) of duodenum and jejunum were performed at  
12   42 days of age. The activity evaluation of enzymes AST (aspartate aminotransferase)  
13   and ALT (alanine aminotransferase) in a possible response to vitamin toxicity was made  
14   at 42 days of age.

15   4. The results showed that there was an effect ( $P<0.05$ ) on body weight (BW) and  
16   weight gain (WG) in the phase from 1 to 7 days of age, with an increasing linear  
17   behavior being the lowest value of body weight (20.51 g) observed in the average of  
18   birds fed diets without vitamin supplementation.

19   5. It is concluded that supplying at least 2650 IU/kg of vitamin A can improve weight  
20   gain and body weight of quails in the first 7 days of life.

21

22   Key-words: retinol, coturnix, japanese coturnix, organ morfometry, supplementation

23

24

25

26

## INTRODUCTION

27       The initial phase of quail production, which ranges from the first to 42 days of  
28 age, involves many productive aspects that can affect animal performance over the  
29 period. Although the producer does not receive immediate feedback at this stage, the  
30 concern with quality parameters nutritional, management and ambience can directly  
31 affect the productive responses of the laying phase and consequently the economic  
32 return of production (Kou et al., 2019).

33       With that said, one of the things that can occur in a production systems, regarding  
34 the nutrition of quails in initial phase, is the use of non-specific nutritional requirements  
35 for the growth phase, using data from broiler chickens or chickens as a formulations  
36 basis, leading to under or overestimation nutritional needs for these animals, as the  
37 physiology and metabolic processes involved in the growth phase are not taken into  
38 account (Corrêa et al., 2006).

39       Among the components of Japanese quail diets are vitamins, compounds usually  
40 used in small amounts, but with great influence on the physiological processes and  
41 animal organism development. Vitamins are natural components of food, not  
42 synthesized by the animal. Thus, deficiencies can appear if vitamins are consumed in  
43 amounts below the required values or when not available in the diet (Broz & Ward,  
44 2007).

45       Vitamin A plays an important role in the processes of vision, reproduction,  
46 maintenance of epithelial tissue, synthesis of mucopolysaccharides, control of the  
47 structure of cell membranes, development of bone tissue. Studies, involving vitamin A's  
48 requirement on birds, show, as clinical symptoms in birds that presents deficiency in  
49 vitamin A, growth retardation, weakness in the legs and ataxia and anorexia (Rutz &  
50 Murphy, 2009; Toledo et al., 2006).

51           Within this context, the objective of this work was to estimate the correct level of  
52 vitamin A supplementation to obtain maximum productive performance and improve  
53 morphological aspects of the intestine in Japanese quails from 1 to 42 days old.

54

55

## MATERIAL AND METHODS

56           The experiment was carried out in the quail raising sector on the Experimental Farm of  
57 Iguatemi (FEI), belonging to the State University of Maringá (UEM).

58           One-day-old female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) obtained from a  
59 breeding facility in Assis-SP were used. The quails were housed in 5.0 m<sup>2</sup> boxes in a  
60 conventional shed, covered with asbestos cement tiles, a dirt floor, with rice straw bed and  
61 0.50 m high masonry side walls, completed with wire mesh to the roof and fitted with side  
62 curtains.

63           Water and food were provided *ad libitum* throughout the experimental period. The  
64 feeders used were tray-type and the drinkers, infant-type, up to 10 days of age, being replaced  
65 by tubular feeders and pendular drinkers up to 42 days of age. From 1 to 14 days of age, in  
66 each experimental unit (box), protection circles were used to avoid temperature fluctuations  
67 and the incidence of wind on birds as well as electric hoods with infrared drying lamps (250  
68 W) as a heating source up to 14 days. During the entire experimental period, only natural  
69 lighting was provided.

70           Daily, early in the morning and late afternoon, aviary thermal conditions were checked  
71 using maximum and minimum dry bulb thermo-hygrometers, located at three points in the  
72 shed, obtaining average temperature values (27.7°C), minimum (18.9°C), maximum (30.5°C)  
73 and average relative humidity of air (54.7%), minimum (42.2%), maximum (67.0%) during  
74 the entire experimental period.

75 A total of 1050 quails were distributed in a completely randomized design with seven  
76 treatments, five replications and 30 birds/experimental unit. The source of vitamin A used  
77 was Microvit® A by Adisseo. Retinol acetate was used with a composition of 1,000,000 IU of  
78 vitamin A, and the levels were 0; 650; 1650; 2650; 3650; 7300; 14600 IU/Kg of feed.

79 The birds were submitted to two stages of creation: rearing (1 to 14 days of age) and  
80 rearing (15 to 42 days). In each stage a reference diet was formulated based on corn and  
81 soybean meal, taking into account the recommendations to meet the nutritional requirements  
82 of Japanese quails in the rearing and rearing phases, as well as the values of chemical  
83 composition and energy of foods proposed by Rostagno et al. (2017) (Table 1). The analysis  
84 of beta carotene contained in the rations was done using HPLC according to Amaya (2014).

85 The quails and diets were weighed in the beginning and at the end of the experimental  
86 period to evaluate weight gain (g), feed intake (g) and feed conversion (g/g). Dead birds were  
87 counted daily to correct feed intake.

88 At 42 days of age, two birds per experimental unit were slaughtered, according to the  
89 average mass ( $\pm 5\%$ ) for weighing the organs. The heart (g), liver (g), cloacal sac (g), spleen  
90 and intestine (g) were eviscerated and weighed on a precision scale. The relative weight was  
91 obtained by the following calculation: relative organ weight = (Organ weight (g)/ Live bird  
92 weight (g)) x 100. In addition, the length of the intestine (cm) was measured using a  
93 measuring tape.

94 Subsequently, a 2 cm fragment of duodenum and jejunum of three birds per treatment  
95 was collected. A syringe and a needle were used to wash the intestinal lumen with saline  
96 solution (4°C). All samples were identified and individually placed in eppendorfs containing  
97 buffered formalin solution (10%) for tissue fixation until analysis.

98 The fragments were dehydrated in increasing concentrations of alcohol, clarified in  
99 xylene, impregnated, and embedded in paraffin. The materials underwent microtomy to obtain

100 semi-serial cuts of 5µm thick and later stained by the Hematoxylin-Eosin (HE) method,  
101 according to Luna (1968).

102 Image capture for morphometric analysis was performed using a high-resolution digital  
103 camera (Moticam 2500 – 5.0M pixel), coupled to the MOTIC BA400 microscope and the  
104 computerized image analyzer MOTIC IMAGE PLUS 2.0. Twenty measurements were  
105 performed (10 measurements for villus height and 10 for crypt depth) per segment. The  
106 heights of the villi were measured from the basal region of the villi, matching with the upper  
107 portion of the crypts, to its apex. Crypts were measured from their base to the crypt-villus  
108 transition region. The villus:crypt ratio was obtained through the ratio between villus height  
109 and crypt depth.

110 For blood analyses, two birds per experimental unit were used, at the end of the  
111 experiment, which were submitted to a 6-hour fast. Blood was collected through the ulnar  
112 vein and the samples were placed in test tubes and immediately centrifuged at 3,000 rpm for  
113 15 minutes. The obtained serum was separated and placed in identified eppendorf tubes and  
114 stored at -20°C until the analyzes were carried out. The dosage of aspartate aminotransferase  
115 (AST) and alanine aminotransferase (ALT) enzymes were performed in a spectrophotometer  
116 (model bioplus 2000) using commercial kits (Gold Analisa Diagnóstica Ltda).

117 Statistical analyzes of the obtained data were performed using the RStudio (R Core  
118 Team, 2014) software. Data were initially submitted to normality analysis using the Shapiro-  
119 Wilk test. After verifying that the residuals of the variables presented normal distribution,  
120 analysis of variance were applied, and the averages were compared using the Tukey test  
121 ( $P < 0.05$ ).

122

123

124

125

**RESULTS**

126 Table 2 presents the performance data of Japanese quails in the growing phase. There  
127 was no effect ( $P>0.05$ ) for the variables CR and CA from 1 to 7 days, GP, CR and CA from 8  
128 to 14 days and PC, GP and CR from 15 to 42 days of age.

129 There was an effect ( $P<0.05$ ) for the variables body weight (BW) and weight gain (WG)  
130 in the phase from 1 to 7 days of age, with an increasing linear behavior, with the lowest value  
131 of body weight (20.51 g) observed in the average of birds fed diets without vitamin  
132 supplementation, compared to the groups of treatments from 2600 to 14600 IU/kg, which  
133 presented stabilized average weights of up to 22.30 g, that is, there was an increase up to  
134 levels of 2650 IU/kg which was then maintained at the next levels of supplementation up to  
135 14600 IU/kg.

136 Weight gain (WG) from 1 to 7 days also showed an increasing linear effect with the  
137 lowest gain value in the treatment without vitamin supplementation (13.2 g) and these values,  
138 as well as for WP, stabilized at supplementation levels from 2650 IU/kg of vitamin A.

139 In the period from 8 to 14 days of age, there was a linear effect ( $P<0.05$ ) for the BW  
140 variable up to the level of 7300 IU/kg of vitamin A, with a decrease in the average of the  
141 group with higher supplementation (14600 IU /kg) and this group showed no difference from  
142 the control group, without vitamin supplementation.

143 For feed conversion (FC) in the period from 15 to 42 days of age, the means differed  
144 from the control at levels 650 and 3650 IU/kg, with no difference between them, and the two  
145 highest levels of supplementation, with the highest mean feed conversion was observed at the  
146 level of 7300 IU/kg of vitamin A.

147 For the variables organ weight and AST and ALT enzymes (Table 3), no differences  
148 ( $P<0.05$ ) were observed between the means of the groups supplemented or not supplemented  
149 with vitamin A.

## DISCUSSION

150

151 The birds initial growth phase, from 1 to 7 days old, represents a decisive period for the  
152 later development of the birds and, consequently, their performance in production as a whole.  
153 The data obtained in this work (Table 2) show that although feed intake (FR) and feed  
154 conversion (FC) were not directly influenced by vitamin A levels, other characteristics such  
155 as weight gain (WG) and body weight (BW) had an increasing linear effect, that is, with the  
156 increase in vitamin A levels, the values observed for these parameters also increased.

157 Data obtained by Stanquevis and collaborators (2022), also demonstrated a quadratic  
158 effect depending on the levels of vitamin A supplementation for growing quails, with  
159 influence of PC and GP, the same parameters observed in this work, using 0 to 4.05 mg kg<sup>-1</sup>  
160 of vitamin A supplementation. The same authors also observed linear effects for relative  
161 weight of important organs for the immune system such as the liver, spleen and cloacal  
162 pouch, however in this study these parameters were not influenced by vitamin  
163 supplementation during the period of bird growth.

164 Evaluating the effect of vitamin A supplementation for chickens at three levels (5000,  
165 10,000 and 15,000 IU), Toledo et al. (2006), concluded that there was no direct effect on the  
166 performance of birds in the growth phase, the same was observed by Safarizadeh & Zakeri,  
167 (2013) in comparison of groups with and without supplementation, with no difference for the  
168 variables weight gain, body weight and feed conversion for growing birds.

169 In this work, performance variables were influenced by vitamin A supplementation,  
170 corroborating Feng et al. (2019) who compared different levels of vitamin A for ducks and  
171 observed that birds fed with a basal diet without supplemental vitamin A had the lowest  
172 weight gain, feed intake, and plasma and liver retinol.

173 Table 4 demonstrates how the beta-carotene contained in the basal diet can influence the  
174 content of active vitamin A converted by the animal organism. The beta-carotene present in



175 the diets can act as vitamin compounds and also as antioxidants, in both cases the results of  
176 animal performance can be benefited by these physiological functions. In a study evaluating  
177 the performance of growing Japanese quails, using plant extracts as a source of beta-carotene,  
178 Tongdonkham et al., (2021), observed an improvement in feed conversion and subsequently  
179 in the quality of eggs of quails fed diets supplemented with sources of beta-carotene.

180 Mendes et al. (2016), studying the effect of vitamin A supplementation in rats,  
181 suggested that vitamin A deficiency can cause anorexic effects and found as results at the end  
182 of the experiment lower feed intake and lower weight gain in deficient animals, reinforcing  
183 the importance of supplementation of this vitamin. This effect was also observed in quails that  
184 did not receive supplementation with lower body weight, in addition, the group with the  
185 highest level of supplementation also showed a decrease in body weight, indicating a possible  
186 negative effect of vitamin A overdose, as can be seen in Figure 1.

187 Despite the maximum dosage used in this study, which was approximately eight times  
188 higher than recommended, the results of the serum concentration of AST and ALT enzymes,  
189 as indicators of hypervitaminosis, showed no effect between the groups with or without  
190 supplementation. Therefore, in this work, the levels evaluated were not sufficient to cause  
191 toxicity, which can be proven by the absence of an increase in these enzymes. Another factor  
192 is the short period of supplementation, as the quails were evaluated up to 42 days of age, not  
193 having enough time for the supplementation to become toxic.

194 This same effect was observed by Stanquevis and collaborators (2022), when using  
195 vitamin A supplementation in doses up to four times higher than that recommended for  
196 growing quails, the authors attributed the absence of toxic effects of high dosages to the short  
197 period in that the quails received supplementation, up to 35 days of age.

198 The importance of lymphoid organs is highlighted by Løken et al., (2020), with the  
199 cloacal bursa and thymus being considered primary lymphoid organs, and the spleen

200 classified as a secondary lymphoid organ, the cloacal bursa being cited as responsible for the  
201 development and differentiation of B lymphocytes. The effect of vitamin A supplementation  
202 in broiler chickens, observed by Ferreira et al., (2011) showed that birds treated with sorghum  
203 without vitamin A supplementation did not show significant differences in the absolute  
204 weight of the spleen at 7 days deity. These results corroborate this work in which vitamin A  
205 supplementation did not promote a difference in the weight of lymphoid organs.

206

207

### CONCLUSION

208 Considering the results of the performance parameters, it can be concluded that vitamin  
209 A should be used properly in diets given the levels of supplementation so that production is  
210 not impaired. This study showed that Vitamin A is an essential nutrient for promoting growth,  
211 development and that the correct supply of this vitamin improves the development of  
212 Japanese quails in the initial phase, being extremely important for better performance results.  
213 Therefore, the supply of at least 2650 IU/kg of vitamin A can improve weight gain and body  
214 weight of quails in the first 7 days of life, which can be decisive for the other periods of  
215 development and production. In the other phases observed, from 8 to 42 days, the same levels  
216 of supplementation used did not influence the parameters of performance and morphometry of  
217 the organs, and it can be concluded that the minimum levels of vitamin A contained in the diet  
218 can supply the nutritional needs in this period.

219

220

### REFERENCES

- 221 Amaya E; Becquet P; Carné S; Peris S; Miralles P. (2014). Carotenoids in Animal  
222 Nutrition. **Fefana**.
- 223 Broz, J., & Ward, N. E. (2007). The role of vitamins and feed enzymes in combating  
224 metabolic challenges and disorders. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(1),  
225 150–159. <https://doi.org/10.1093/japr/16.1.150>
- 226 Corrêa, G. S. S., Silva, M. A., Corrêa, A. B., Almeida, V., Fontes, D. O., Torres, R. A.,  
227 Dionello, N. J. L., Freitas, L. S., Ventura, R. v., Paulo, A. A., Silva, J. v., &

- 228 Santos, G. G. (2006). Exigência de metionina + cistina total para codornas de  
229 corte em crescimento. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*,  
230 58(3), 414–420. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000300020>
- 231 Feng, Y. L., Xie, M., Tang, J., Huang, W., Zhang, Q., & Hou, S. S. (2019). Effects of  
232 vitamin A on growth performance and tissue retinol of starter White Pekin ducks.  
233 *Poultry science*, 98(5), 2189-2192.
- 234 Ferreira, S. R., Murakami, A. E., Silveira, T. G. V., Santos, J. M. G. D., & Fernandes,  
235 J. I. M. (2011). Performance and macrophage activity of broilers fed with a  
236 sorghum meal with different yeast wall levels. *Brazilian Archives of Biology and*  
237 *Technology*, 54, 363-370.
- 238 Kou, H., Fu, Y., He, Y., Jiang, J., Gao, X., & Zhao, H. (2019). Chronic lead exposure  
239 induces histopathological damage, microbiota dysbiosis and immune disorder in the  
240 cecum of female Japanese quails (*Coturnixjaponica*). *Ecotoxicology and*  
241 *Environmental Safety*, 183(620). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109588>
- 242 Løken, O. M., Bjørgen, H., Hordvik, I., & Koppang, E. O. (2020). A  
243 teleost structural analogue to the avian bursa of Fabricius. *Journal of Anatomy*, 236(5),  
244 798–808. <https://doi.org/10.1111/joa.13147>
- 245 Mendes, J. F. R., Siqueira, E. M. D. A., de Brito e Silva, J. G. M., & Arruda, S. F.  
246 (2016). Vitamin A deficiency modulates iron metabolism independent of  
247 hemojuvelin (Hfe2) and bone morphogenetic protein 6 (Bmp6) transcript levels.  
248 *Genes & nutrition*, 11(1), 1-7.
- 249 Nair, P. P., & Luna, Z. (1968). Identification of  $\alpha$ -tocopherol from tissues by combined  
250 gas-liquid chromatography, mass spectrometry and infrared spectroscopy.  
251 *Archives of biochemistry and biophysics*, 127, 413-418.
- 252 Rutz, F., & Murphy, R. (2009). Minerais Orgânicos Para Aves E Suínos. *I Congresso*  
253 *Internacional Sobre Uso Da Levedura Na Alimentação Animal*, 21–36.
- 254 Safarizadeh A, & Zakeri A. (2013). The effect of vitamin A and complex of vitamin E and  
255 selenium on growth factors and humoral immunity in broiler chickens.  
256 *Pelagia Research Library European Journal of Experimental Biology*, 3(4), 99–  
257 102. [www.pelagiaresearchlibrary.com](http://www.pelagiaresearchlibrary.com)
- 258 Stanquevis, C. E., de Paula, V. R. C., Zancanela, V. T., Benites, M. I., Finco, E. M., de  
259 Aquino, D. R., ... & Marcato, S. M. (2022). Levels of vitamin A supplementation  
260 for growing meat-type quails. *Emerging Animal Species*, 100008.
- 261 Toledo, G. S. de, Kloeckner, P., Lopes, J., & Costa, P. T. (2006). Níveis das vitaminas  
262 A e E em dietas de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. *Ciência Rural*, 36(2),  
263 624–629. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000200041>
- 264 Tongdonkham, S., Samaae, M., Cheha, T., & Muso, N. (2021).  
265 Effect of Pandanus amaryllifolius Roxb. Supplementation on Growth Performance and  
266 Egg Quality of Japanese Quail.  
267 *International Undergraduate Conference on Agriculture & Life Science*, 1, 1–6.

268

269

270 **Table 1.** Centesimal and calculated compositions of experimental rations for the  
 271 growing phase.

Ingredients	Pre starter (%)	Starter (%)
Corn	51.00	57.20
Soybean meal (45%)	43.11	38.84
Bicalcium Phosate	2.150	1.698
Calcium	1.075	0.920
Soyoil	1.600	0.310
Mineral and vitaminsupplement <sup>1</sup>	0.400	0.400
Salt	0.469	0.496
DL-Metionina	0.077	0.095
BHT	0.010	0.010
Inert+Vitamin <sup>2</sup>	0.050	0.050
<b>Total</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>
<b>Calculated composition (%)</b>		
Metabolizable Energy (Mcal/kg)	2.900	2.900
Crude protein (%)	24.44	23.01
Calcium (%)	1.098	0.916
Available Phosphorus (%)	0.518	0.430
Sodium (%)	0.205	0.216
Potassium (%)	0.937	0.877
chlorine (%)	0.332	0.349
Digestible met + cys (%)	0.745	0.733
Digestible lysine (%)	1.224	1.125
Digestible threonine (%)	0.806	0.754

272 <sup>1</sup>Vitamin A-free mineral + vitamin supplementation (guarantee levels perkg of product): Vit. D3–0.23 mg; Vit. E–1.50 mg;  
 273 Vit. B1–625 mg; Vit. B2–1.500 mg; Vit. B6–1.250 mg; Vit. B12–5.000 mcg; Vit. K3–750 mg; Calcium pantothenate–3.000  
 274 mg; Niacin–6.000 mg; Folic acid–250 mg; Biotin–50.0 mg; Choline–75 mg; BHT–1.000 mg; Zinc–13.0 g; Iron–12.0 g;  
 275 Manganese–15.0 g; Copper–2.500 mg; Iodine–250 mg; Cobalt–50 mg; Selenium–63 mg; Vehicle q.s.p.1.000 g.<sup>2</sup>Vitamin A  
 276 Blend: Vitamin A dilutions were made to meet the experimental levels.

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286 **Table 2.** Average performance of Japanese quails in the growing phase as a function of  
 287 Vitamin A levels

Variables	Vitamin A levels (UI/kg)							SE	Effect	P-value
	0	650	1650	2650	3650	7300	14600			
1 to 7 days of age										
BW (g)	20.51 <sup>b</sup>	21.37 <sup>ab</sup>	21.67 <sup>ab</sup>	22.35 <sup>a</sup>	22.37 <sup>a</sup>	22.31 <sup>a</sup>	22.30 <sup>a</sup>	0.170	L	<.0001
WG (g)	13.2 <sup>b</sup>	14.02 <sup>ab</sup>	14.30 <sup>ab</sup>	15.12 <sup>a</sup>	15.17 <sup>a</sup>	14.99 <sup>a</sup>	15.02 <sup>a</sup>	0.174	L	<0.001
FI (g/bird)	25.83	29.29	28.80	29.82	28.79	30.36	29.67	0.706	NS	0.171
FC (g/g)	1.95	2.09	2.02	1.97	1.90	2.05	1.98	0.049	NS	0.869
8 to 14 days of age										
BW (g)	41.23 <sup>a</sup>	42.26 <sup>ab</sup>	43.06 <sup>ab</sup>	43.61 <sup>ab</sup>	45.91 <sup>b</sup>	49.10 <sup>c</sup>	43.94 <sup>ab</sup>	0.79	L	0.02
WG (g)	20.72	20.89	21.39	21.26	23.54	26.80	21.64	0.77	NS	0.12
FI (g/bird)	92.07	99.55	96.13	97.23	94.63	91.55	95.43	1.07	NS	0.828
FC (g/g)	4.55	4.71	4.29	4.70	4.79	4.33	4.07	0.08	NS	0.12
15 to 42 days of age										
BW (g)	129.50	121.00	127.79	125.07	127.11	114.16	125.79	1.84	NS	0.33
WG (g)	88.27	78.74	84.74	81.46	81.20	65.06	81.85	2.12	NS	0.09
FI (g/bird)	426.44	484.82	434.21	366.70	498.65	372.99	440.21	0.763	NS	0.601
FC (g/g)	4.84 <sup>cd</sup>	6.25 <sup>b</sup>	5.16 <sup>cd</sup>	4.52 <sup>d</sup>	6.13 <sup>b</sup>	7.55 <sup>a</sup>	5.40 <sup>c</sup>	0.42	L	0.35
Regression Equations								R <sup>2</sup> value		
BW (1 to 7) = 20.702 + 0.284x								0.31		
WG (1 to 7) = 13.366 + 0.295x								0.32		
BW (7 to 14) = 40.633 + 0.881x								0.53		
FC (15 to 42) = 0.199 - 0.006x								0.75		

288 Feed Intake (FI); Bodyweight (BW); Weight Gain (WG); Feed Conversion (FC); SE: Standard error; NS: not significant  
 289 (>0.05); L: linear effect;

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301 **Table 3.** Relative weight of organs and AST and ALT enzymes of growing Japanese  
 302 quails supplemented with vitamin A

Variables	Vitamin A levels (UI)							SE	Effect	P-value
	0	650	1650	2650	3650	7300	14600			
Intestine (g)	2.59	2.81	2.66	2.62	2.61	2.52	2.57	0.05	NS	0.30
Liver (g)	2.04	1.90	1.90	1.89	1.86	1.77	1.85	0.04	NS	0.36
Heart (g)	1.11	1.17	1.09	1.09	1.15	0.10	1.11	0.02	NS	0.26
Bursa (g)	0.12	0.12	0.16	0.12	0.17	0.14	0.11	0.08	NS	0.895
Intestine (cm)	49.16	50.96	47.14	47.33	48.57	50.24	47.91	0.64	NS	0.68
AST	163.78	155.97	159.24	176.23	165.58	190.18	174.50	6.11	NS	0.21
ALT	22.02	24.50	31.51	21.94	23.46	21.18	23.40	1.05	NS	0.55

303 Alanine Aminotransferase (ALT); Aspartate Aminotransferase (AST);Standard error; NS: not significant (>0.05);

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322 **Table 4.** Correction of vitamin A supplementation levels in Japanese quail diets in the  
 323 growing phase, considering the beta carotene content in the basal diet.

Levels (UI/kg)	0	650	1650	2650	3650	7300	14600
Levels (mg/kg)	0	0.195	0.495	0.795	1.095	2.19	4.38
<sup>a</sup> Vitamina A in Basal Feed	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<sup>a</sup> Beta carotene content (Ps) (mg/kg)	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
<sup>a</sup> Beta carotene content (S) (mg/kg)	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
<sup>b</sup> Betacarotene into vit. A (Ps) (mg/kg)	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046
<sup>b</sup> Betacarotene into vit. A (S) (mg/kg)	0.058	0.058	0.058	0.058	0.058	0.058	0.058
<sup>c</sup> Vit. A on product (mg/kg)	307.8	307.8	307.8	307.8	307.8	307.8	307.8
Corrected Levels (mg/kg)	0.000	0.200	0.508	0.816	1.123	2.247	4.494
Corrected Total (mg/kg) of vit. A (Ps)	0.046	0.246	0.554	0.862	1.169	2.293	4.540
Corrected Total (mg/kg) of vit. A (S)	0.058	0.258	0.566	0.874	1.182	2.305	4.552

324 <sup>a</sup> Detected in basal ration analysis using corn and soybean meal. <sup>b</sup>Conversion factor according to IOM, 2001  
 325 considering the conversion of 1RE (retinol equivalent) from 1 Betacarotene). <sup>c</sup>Analysis of the product used in the  
 326 supplementation (Adisseo® analysis certificate). (Ps): Pre starter phase; (S): Starter phase; nd: not detected

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

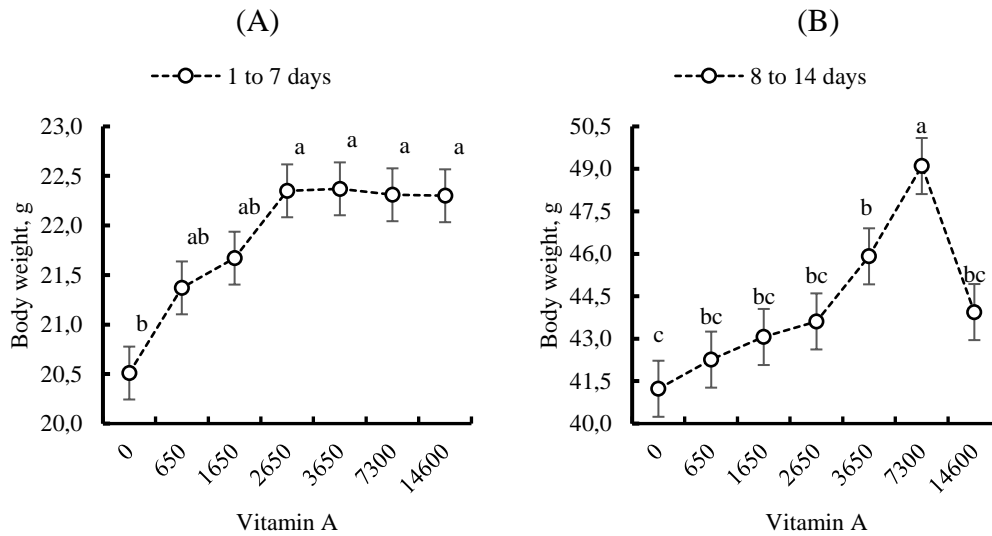
340

341

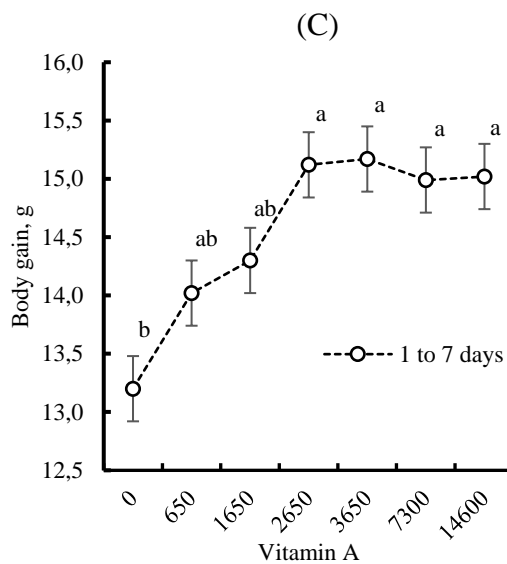
342

343

344



345



346

347 **Figure 1.** Body weight and weight gain of growing Japanese quails.

348

349

350

351

352

353

354 Normas: British Poultry Science



1                    **Levels of vitamin A supplementation for Japanese quail laying phase**  
2                    **Suplementação de vitamina A para codornas japonesas em fase de postura**

3  
4    **Highlights**

- 5                    • The content of beta carotene in diets based in maze and soybean can provide vitamin A in adequate  
6                    levels to performance of Japanese quail in laying phase.
- 7                    • The egg quality of Japanese quail is not influenced for the supplementation of vitamin A in diets  
8                    during the laying phase.
- 9                    • High levels of vitamin A supplementation on diets of Japanese quail in laying phase do not cause  
10                    alteration on AST and ALT enzymes that represents toxicity.
- 11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38

**39 Abstract**

40 The aim of this work was to evaluate the influence of vitamin A supplementation (retinol acetate) on  
41 performance parameters, egg quality and toxic effects of high vitamin levels in Japanese quail diets in the  
42 laying phase. A total of 336 laying quails were used, distributed in a completely randomized design (CRD)  
43 with seven treatments, eight replicates and 6 birds per experimental unit. The supplementation levels used  
44 were 0; 2300; 3300; 4300; 5300; 10600; 21200 IU/Kg of feed. The variables analyzed were feed intake, egg  
45 production rate, egg mass, feed conversion per dozen eggs and feed conversion per kilogram of eggs. Egg  
46 quality analyzes were: egg weight, Haugh unit, yolk index, % yolk, % albumen and % shell, specific gravity,  
47 shell weight per surface area and activity of AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine  
48 aminotransferase) enzymes in a possible response to vitamin A toxicity. The results showed there was no  
49 significant difference for groups fed with basal rations using corn and soybean meal, when compared with  
50 groups supplemented with up to 21,200 IU kg<sup>-1</sup>. The performance and quality of eggs, therefore, were not  
51 influenced by vitamin A supplementation in the diets of quails, during the laying phase, in the period  
52 observed in this study. It can be concluded that minimal levels of provitamin compounds in the basal diet,  
53 such as beta-carotene, can provide sufficient vitamin A content to meet metabolic functions without affecting  
54 the performance and quality of quail eggs, and that supplementation of up to 21,200 IU kg<sup>-1</sup> did not cause  
55 hypervitaminosis in birds during the experimental period.

56  
57 Key-words: retinol, coturnix, Japanese coturnix, egg quality, supplementation

58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76

## INTRODUCTION

The consumption of eggs, despite controversies throughout history, is already proven to be an important way to obtaining nutrients, as it is a source of nutrients of different natures and functions and, therefore, an economically viable food that presents great interest of consumers, as the last survey carried out by the Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) in 2022, which shows that egg consumption by Brazilians has doubled since 2007.

Within poultry production, raising quails continues to advance. Development of production systems, acceptance by producers, who are increasingly interested in the advantages that this production brings, due to the low investment and rapid economic return, culminated in a increase of 3 million quails from 2009 to 2021 (IBGE).

One of the focuses of development in quail farming is the nutritional requirements of these animals, which often have rations formulated based on non-specific data for the species or production phase. Vitamins are nutrients that play a major role in production processes and animal development. Their requirement is often underestimated due to outdated recommendation data or levels used in diets that do not meet the actual requirements of the birds (Marques et al., 2011).

Vitamin A is present in several physiological processes such as vision, reproduction, maintenance of epithelial tissue, control of the structure of cell membranes, and development of bone tissue. Among the symptoms of its deficiency stands outgrowth retardation and declines in animal performance. The importance of correctly incorporating this vitamin into the animal diet can be explained by studies that reported an increase in the level of retinol in egg yolks of hens fed with vitamin A supplementation at levels up to four times higher than that recommended by the 1994 NRC tables (Elder et al., 2006).

This vitamin is a long-chain unsaturated alcohol, known as retinol, biosterol or axerophthol, composed of an isoprene unit, fundamental in many substances of vegetable origin, having an oily appearance, with high viscosity. It is obtained via the diet in the form of transretinol, retinyl esters or carotene. The most important carotenoid is beta-carotene, which is a precursor of vitamin A or “provitamin A”, because its activity as vitamin A occurs only after its conversion to retinol within the body. One beta-carotene molecule can be cleaved by a specific intestinal enzyme into two vitamin A molecules (Oakley et al., 2014).

Primary vitamin A deficiency results from inadequate intake of preformed vitamin (retinol) and carotenoids that are vitamin A precursors. impaired by liver disease, protein-caloric malnutrition, or zinc deficiency (Álvarez et al., 2014).

Despite the important participation of this nutrient in animal diets (1 to 0.5% of the volume, about 3% of the total cost of the diet), its requirement and the amounts required by the animal are still not well defined. Thus, this study aimed to estimate the correct levels of vitamin A supplementation in laying Japanese quail diets, by evaluating performance parameters, egg quality and possible toxicity due to high levels of the vitamin.

## 112 **Materials and methods**

113 The experiment was carried out in the Coturniculture sector of the Experimental Farm of Iguatemi (FEI) of  
114 the State University of Maringá. Japanese laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) females in laying phase  
115 acquired from commercial breeding (Vicami® strain, Assis-SP) were used.

116 The birds were housed in a laying shed, conventional type, with clay tile roof, masonry floor and side walls  
117 0.50 m high, complete with wire mesh up to the roof and movable side curtains, containing galvanized wire cages,  
118 with nipple drinkers and a trough feeder, throughout the experimental period.

119 A light program of 17 hours per day (natural + artificial lighting) was used, being controlled with the aid of  
120 an automatic clock. The light intensity used was 21 lumens/m<sup>2</sup>. Water and food were provided ad libitum  
121 throughout the experimental period. The temperature (average: 17.5°C; minimum: 14.1°C and maximum: 25.8°C)  
122 and relative humidity (average: 74.6%; minimum: 50.5% and maximum: 82.2%) were always recorded in the  
123 morning, using maximum and minimum dry bulb thermo-hygrometers.

124 A reference diet was formulated based on corn and soybean meal, considering the recommendations to meet  
125 the nutritional requirements of Japanese quails, as well as the values of chemical composition and energy of foods  
126 proposed by Rostagno et al. (2017) (Table 1).

127 A total of 336 laying quails were distributed in a completely randomized design (CRD) with seven  
128 treatments, eight replications and 6 birds per experimental unit. The supplementation levels used were 0; 2300;  
129 3300; 4300; 5300; 10600; 21200 IU/Kg of feed. The source of vitamin A used was Microvit® A by Adisseo, the  
130 compound used being retinol acetate with a composition of 1,000,000 IU of vitamin A.

131 The birds were evaluated during three production cycles of 21 days each. Egg collection was performed daily  
132 (8h) to calculate the laying rate (%) and egg mass production (g eggs/bird/day) accounting for all eggs produced  
133 including broken, cracked, abnormal and soft-shelled eggs. Dead birds were also counted to correct feed intake.

134 The laying rate (%) was calculated using the following equation: Laying rate (%) = (number of eggs  
135 produced / number of birds housed) x 100. Egg mass was obtained according to the equation: Egg mass (g eggs per  
136 day) = (average weight of eggs (g) x number of eggs produced) / number of birds housed.

137 The rations were weighed at the end of each cycle to obtain feed intake (g), and the calculation of feed  
138 conversion per dozen eggs (FCDE) (g/dz of eggs) and feed conversion per kg of eggs (FCKG) (kg/ kg of eggs).  
139 The analysis of beta carotene contained in the rations was done using HPLC according to Amaya (2014).

140 The analyzes referring to the determination of the average weight of the eggs were carried out in the last  
141 three days of each cycle using only the viable eggs. In addition to egg weight, the following quality characteristics  
142 were evaluated: specific gravity (g/mL), yolk index, shell %, yolk %, albumen % and shell weight per surface area.

143 Specific gravity was performed on all eggs by immersing the eggs in different concentrations of saline  
144 solution (Baumé densimeter ranging from 0.005 g mL<sup>-1</sup> from 1.060 to 1.090 g mL<sup>-1</sup>) according to the  
145 methodology described by Hamilton (1982).

146 For the other quality analyses, three eggs within the average weight of the experimental unit were used,  
147 which were identified and evaluated. Subsequently, the eggs were broken on a glass plate to determine the height  
148 (mm) and diameter (mm) of the yolk and albumen using a digital caliper (Digimess brand, accurate to 0.02 mm).

149 Yolk height was measured at its highest point and albumen height was measured in the region closest to the  
150 yolk. The determination of the yolk and albumen diameter was obtained by the average of two measurements.

151 Through these data it was possible to determine the yolk index by the equation:  $YI = (\text{yolk height (mm)} /$   
152  $\text{yolk diameter (mm)}) \times 100$  and the Haugh Unit (HU) which considers the height of the albumen (A) and the egg  
153 weight (EW)  $\text{Haugh unit} = 100 \log (A + 7.57 - 1.7 \times EW^{0.37})$ .

154 Subsequently, the yolk and albumen were separated for weighing the yolk on a precision scale, and the  
155 weight of the albumen was obtained by subtracting the weight of the yolk and shell from the weight of the egg.  
156 Using the weight data, the percentages of yolk, albumen and shell were calculated in relation to the egg weight,  
157 according to the equation:  $\text{component \%} = (\text{component weight (g)} / \text{egg weight (g)}) \times 100$ .

158 The peels were washed and after drying at room temperature, the weight and thickness (mm) were  
159 determined. Thickness measurements were taken at four different points in the equatorial region, using a digital  
160 micrometer (Mitutoyo®, model 700-118 “Quick Mini”). Shell weight per surface area unit (SWSA) was calculated  
161 using the formula adapted by Rodrigues et al. (1996), where SW corresponds to shell weight (g) and EW to egg  
162 weight (g),  $(\text{SWSA} = (\text{SW} / 3.9782 * \text{EW}^{0.7056}) \times 100)$ .

163 For blood analyses, two birds per experimental unit were used, at the end of the experiment, which were  
164 subjected to a 6-hour fast. Blood was collected through the ulnar vein and the samples were placed in test tubes and  
165 immediately centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes. The obtained serum was separated and placed in identified  
166 eppendorf tubes and stored at -20°C until the analyzes were carried out. The dosage of aspartate aminotransferase  
167 (AST) and alanine aminotransferase (ALT) enzymes were performed in a spectrophotometer (bioplus 2000 model)  
168 using commercial kits (Gold Analisa Diagnóstica Ltda).

169 Statistical analyzes were performed using the RStudio statistical program (R Core Team, 2014). Data were  
170 initially submitted to analysis of normality using the Shapiro-Wilk test. After verifying that the residuals of the  
171 variables presented normal distribution, the analysis of variance was applied to evaluate the effects of the  
172 treatments and to test the factorial. Means were compared using Tukey's test ( $P < 0.05$ ).

173

174

## Results and discussions

175 Means for performance and egg quality are shown in Tables 2 and 3. The groups fed with diets containing  
176 levels of vitamin A supplementation did not differ ( $P < 0.05$ ) from the control group fed with a basal diet without  
177 added vitamin A.

178 Considering the content of beta carotene in the basal diet containing corn and soybean meal, the amount of  
179 vitamin A in the diet can be considered higher than the content, considering only the addition of retinol acetate, in  
180 view of the conversion of beta carotene into retinol in the animal body. The corrected levels are shown in Table 4.

181 The vitamin A value found in the basal diet, considering the conversion of beta carotene in the animal  
182 organism into active vitamin A, represents a lower value than those recommended in tables commonly used for  
183 formulating feeds, such as the 1994 NRC which recommends 0.99 mg kg<sup>-1</sup> for Japanese quails in the laying phase.  
184 Silva et al. (2012), propose 0.26 mg of vitamin A for European quails at all stages, and referring to other poultry  
185 species such as broiler chickens, it can be observed in the recommendation tables (Rostagno, 2017) that the levels  
186 used for broiler chickens from 1 to 7 days old is 2.81 mg kg<sup>-1</sup>, which is higher than what was found in the basal  
187 diet used in this work, which was 0.048 mg kg<sup>-1</sup>.

188 The use of carotenoids in diets for laying Japanese quails also did not influence the performance and quality  
189 of working eggs using natural and synthetic sources of carotenes that can act as provitamin compounds in the  
190 animal organism, demonstrating that the basal physiological functions can be maintained in minimum supply  
191 conditions of the vitamin or even the compounds that provide its supply from metabolism and conversion into  
192 active vitamin (Aquino et al., 2021).

193 Evaluating performance parameters, organ morphometry and AST and ALT enzymes for European quails,  
194 Stanquevis et al (2022) also observed that vitamin A supplementation levels did not differ from the control group,  
195 without adding the vitamin to the diet, demonstrating that these variables were not influenced by supplying the  
196 vitamin at levels above the minimum amount found in the basal diet using corn and soybean meal.

197 The enzymes AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase) are present in liver cells  
198 (hepatocytes) and are released into the blood because of liver injury of various natures, including possible  
199 intoxication due to high levels of vitamin A present in diets (Bityutskyy et al., 2019). Despite the highest level of  
200 supplementation used in this work being six times greater than that recommended in the NRC tables (1994), there  
201 was no significant increase in the plasmatic concentrations of these enzymes in the evaluated animal groups and,  
202 therefore, no cases of hypervitaminosis caused by the vitamins levels used.

203 For laying hens in the production phase, Chen et al., (2022) evaluated performance parameters as a function  
204 of vitamin A supplementation in two groups, 6000 and 12000 IU kg<sup>-1</sup>, and observed that supplementation of  
205 12000 IU kg<sup>-1</sup> influenced the performance of the birds, improving the results in relation to the control group that  
206 received 6000 IU kg<sup>-1</sup> in the diet, optimizing the feed conversion of the birds fed with an amount greater than that  
207 recommended by the NRC for this animal category.

208 Shellenberger & Lee, (1966) observed that growth rates were not increased when vitamin A was used at  
209 levels of 550 to 4400 IU/kg feed. Mortality was higher in males and females fed using low-energy diets  
210 supplemented with 550 or 1100 IU/kg and in females fed using high-energy diets supplemented with 550 IU/kg.  
211 Near normal egg production was obtained in birds fed using low energy diets at 2200 IU/kg and in birds fed high

212 energy diets at 1650 IU/kg. When evaluating the hatchability of the eggs, they observed that it was not affected  
213 using 3300 IU/kg.

214 As for the quality of eggs from quails supplemented with vitamin A, studies evaluating the composition of  
215 the yolk showed a progressive increase in the incorporation of retinol in the egg yolk in response to  
216 supplementation, reaching values 384% higher than the control values. At the end of the supplementation there was  
217 a significant incorporation in the egg yolk retinol concentrations with supplements of 2400 and 4800 IU/Kg, with  
218 the most lasting levels, showing high levels of retinol even after 3 weeks. Supplementation increased egg weight,  
219 but neither egg production nor cholesterol levels were significantly altered (Ramalho et al., 2008).

220 For the retinol content in egg yolk, results obtained by (Mori et al., 2003), showed that even egg quality was  
221 not affected by vitamin A levels, the concentration of retinol in the yolk increased with the addition of vitamin A,  
222 from 24.6 IU/g in eggs in the control group, to 33.6 and 37.7 IU/g in groups that were fed 15,000 and 30,000 IU/kg  
223 in the diet respectively.

224 Still regarding performance parameters, Marques et al., (2011) observed that there was no statistical  
225 difference for the values of daily feed intake, feed conversion (CA/kg and dz of eggs), egg weight and percentage  
226 of laying of quails during the trial period. As in this study, no significant differences were found between the  
227 average daily feed intake, with no differences in the intake of birds supplemented with 4,000, 12,000 and 24,000 IU  
228 of vitamin A/kg.

229 The results obtained in this study for egg weight were different from those found by Fu et al. (2000), who  
230 analyzed different levels of retinol supplementation in quail diets and observed an increase in egg weight. In  
231 another experiment with quails, Bárdos et al. (1996) did not verify differences in egg weight when feeding retinol  
232 (50,000 IU/kg) to birds.

233 The results obtained in this study may demonstrate a more direct way of using vitamin A in diets for laying  
234 quails, as it is a relatively short experimental period, this time may not have been sufficient for symptoms of  
235 deficiency to manifest in the laying phase. minimum use of the vitamin in amounts found in the basal ration and the  
236 potential for converting the beta-carotene content into active vitamin A.

237

238

239

240

241

242

243

244

## Conclusion

245 Vitamin A supplementation in laying Japanese quail diets did not influence performance and egg quality  
 246 parameters during the studied period. The minimum amount of beta-carotene found in the basal diets, which  
 247 potentially converts into active vitamin A in the animal organism, demonstrated an effect equivalent to that  
 248 observed for the groups supplemented with up to 21,200 IU kg<sup>-1</sup> in the feed. The highest level used in this study  
 249 also did not show the potential to cause Hypervitaminosis in birds during the period of consumption of the diets.  
 250 Thus, it can be concluded that a diet formulated with corn and soybean meal, even if not supplemented with a direct  
 251 source of vitamin A, can provide, through beta-carotene, sufficient vitamin content to maintain performance  
 252 parameters and egg quality.

253

254

## Acknowledgments

255 This study was financed in part by the Coordination for the improvement of higher education– Brazil  
 256 (CAPES) – Finance Code 001”. Vicami for granting the birds for this work.

257

258

259

## References

- 260 ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório anual 2022. Disponível em: <Disponível em:  
 261 <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>.
- 262 Álvarez, R., Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Alcalde, M. J. (2014). Effect of pasture and  
 263 concentrate diets on concentrations of carotenoids, vitamin A and vitamin E in plasma and adipose  
 264 tissue of lambs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 36(1-2), 59-65.
- 265 Aquino, D. R., Grieser, D. O., Rohod, R. V., Benites, M. I., Maia, K. M., Paulino, M. T. F., ... & Marcato, S.  
 266 M. (2022). Productive Performance, Egg Quality, and Pigments on Sorghum-Based Feed for Japanese  
 267 Quail. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 24.
- 268 Bityutskyy, V., Tsekhmistrenko, S., Tsekhmistrenko, O., Melnychenko, O., & Kharchyshyn, V. (2019).  
 269 Effectsofdifferentdietaryseleniumsourcesincludingprobioticsmixtureongrowth performance, feed  
 270 utilization and sérum biochemical profile ofquails. *Modern Development Paths*  
 271 *ofAgriculturalProduction: Trends and Innovations*, 623–632. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-14918-](https://doi.org/10.1007/978-3-030-14918-5_61/COVER)  
 272 [5\\_61/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-030-14918-5_61/COVER)
- 273 Chen, Q., Han, X., Zhu, H., Liu, Y., & Xu, X. (2022). A Comparison of Two Supplementary Doses  
 274 ofVitamin A on Performance, Intestine and Immune Organ Development, as well as Gene Expression of  
 275 Inflammatory Factors in Young Hy-Line Brown Laying Pullets. *Animals*, 12(10).  
 276 <https://doi.org/10.3390/ANI12101271>
- 277 Elder, S. J., Haytowitz, D. B., Howe, J., Peterson, J. W., Booth, S. L., Félix, A. P., Maiorka, A., Sorbara, J.  
 278 O. B., Arvanitoyannis, I. S., Linsley, C. M., Bauer, F. C., Bioclin, Li, J., Bi, D., Pan, S., Zhang, Y.,  
 279 Zhou, D., Michele, L., Kurnick, A. A., ... Rottinghaus, G. E. (2006). The EffectofDietaryVitamin A,  
 280 Ambient Temperature and RearingLocationon Growth, Feed Conversion and VitaminLiverStorageof  
 281 White LeghornPullets. *Poultry Science*, 346(6), 798–801. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.11.008>.
- 282 Fu, Z., Kato, H., Sugahara, K., & Kubo, T. (2000). Retinoic acid accelerates the development of reproductive  
 283 organs and egg production in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Biology of reproduction*,  
 284 63(6), 1795-1800.



- 285 IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Pecuária Municipal  
286 2021. Disponível em: <Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=destaques>.  
287
- 288 Marques, R. H., Gravena, R. A., da Silva, J. D. T., Roccon, J., Picarelli, J., Hada, F. H., de Queiroz, S. A., &  
289 Moraes, V. M. B. (2011). Efeito da suplementação de dieta de codornas com vitaminas A, D e E sobre o  
290 desempenho das aves e a qualidade e o enriquecimento dos ovos. *Revista Brasileira de Zootecnia*,  
291 *40*(6), 1222–1232. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600010>
- 292 Mori, A. v., Mendonça, C. X., Almeida, C. R. M., & Pita, M. C. G. (2003). Supplementing Hen Diets  
293 with Vitamins A and E Affects EggYolk Retinol and  $\alpha$ -Tocopherol Levels. *Journal of Applied*  
294 *Poultry Research*, *12*(2), 106–114. <https://doi.org/10.1093/JAPR/12.2.106>.
- 295 NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of poultry. 9.ed. Washington: National  
296 Academic Science, 1994. p.44-45.
- 297 Oakley, B. B., Lillehoj, H. S., Kogut, M. H., Kim, W. K., Maurer, J. J., Pedroso, A., ... & Cox, N. A. (2014).  
298 The chicken gastrointestinal microbiome. *FEMS microbiology letters*, *360*(2), 100-112.
- 299 Ramalho, H. M. M., Dias da Silva, K. H., Alves dos Santos, V. V., dos Santos Cavalcanti, J., & Dimenstein,  
300 R. (2008). Effect of retinyl palmitate supplementation on egg yolk retinol and cholesterol concentrations  
301 in quail. *British poultry science*, *49*(4), 475-481.
- 302 Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Donzele, J. L., Gomes, P. C., Oliveira, R. D., Lopes, D. C., ... & Euclides,  
303 R. F. (2011). Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais,  
304 *2*, 186.
- 305 Shellenberger, T. E., & Lee, J. M. (1966). Effect of Vitamin A on Growth, Egg Production and  
306 Reproduction of Japanese Quail. *Poultry Science*, *45*(4), 708–713. <https://doi.org/10.3382/PS.0450708>.
- 307 Silva, J. H. V., Jordão Filho, J., Costa, F. G. P., Lacerda, P. B. D., Vargas, D. G. V., & Lima, M. R. (2012).  
308 Exigências nutricionais de codornas. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, *13*, 775-790.
- 309 Stanquevis, C. E., de Paula, V. R. C., Zancanela, V. T., Benites, M. I., Finco, E. M., de Aquino, D. R., ... &  
310 Marcato, S. M. (2022). Levels of vitamin A supplementation for growing meat-type quails. *Emerging*  
311 *Animal Species*, 100008.
- 312 Thompson, B. K., & Hamilton, R. M. G. (1982). Comparison of the precision and accuracy of the flotation  
313 and Archimedes' methods for measuring the specific gravity of eggs. *Poultry Science*, *61*(8), 1599-  
314 1605.
- 315
- 316
- 317
- 318
- 319
- 320
- 321
- 322
- 323

324 **Table 1.** Centesimal and calculated compositions of experimental rations for quail in the laying  
 325 phase

Ingredients	Percent composition of the feed (%)
Corn	61.07
Soybean meal (45%)	29.35
Dicalcium phosphate	1.095
Calcium	6.973
Soybeanoil	0.065
Mineral and vitaminsupplement <sup>1</sup>	0.400
Salt	0.340
L- lysine	0.270
DL-methionine	0.428
BHT	0.010
Inert+Vitamin A <sup>2</sup>	0.100
<b>Total</b>	<b>100.00</b>
<b>Calculated composition (%)</b>	
Metabolizable energy (kJ/kg)	12,134
Crude protein (%)	18.99
Linoleic acid(%)	1.668
Calcium (%)	3.157
Available phosphorous (%)	0.326
Sodium (%)	0.155
Digestible met + cys (%)	0.908
Digestible lysine (%)	1.107
Digestible threonine (%)	0.674

326 <sup>1</sup>Vitamin A-free mineral + vitamin supplementation (guarantee levels perkg of product): Vit. D3–0.23 mg; Vit. E–1.50 mg; Vit. B1–625 mg;  
 327 Vit. B2–1.500 mg; Vit. B6–1.250 mg; Vit. B12–5.000 mcg; Vit. K3–750 mg; Calcium pantothenate–3.000 mg; Niacin–6.000 mg; Folic  
 328 acid–250 mg; Biotin–50.0 mg; Choline–75 mg; BHT–1.000 mg; Zinc–13.0 g; Iron–12.0 g; Manganese–15.0 g; Copper–2.500 mg; Iodine–  
 329 250 mg; Cobalt–50 mg; Selenium–63 mg; Vehicle q.s.p.1.000 g.<sup>2</sup>Vitamin A Blend: Vitamin A dilutions were made to meet the experimental  
 330 levels.

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340 **Table 2.** Average performance of Japanese quails in laying phase supplemented with vitamin A

Variables	Vitamin A levels (UIkg <sup>-1</sup> )							SE	Effect	P-value
	0 <sup>a</sup>	2300 <sup>a</sup>	3300 <sup>a</sup>	4300 <sup>a</sup>	5300 <sup>a</sup>	10600 <sup>a</sup>	21200 <sup>a</sup>			
PR (%)	87.64	89.20	90.48	92.66	89.15	86.89	89.15	0.91	NS	0.27
FI (gbird <sup>-1</sup> )	18.08	21.11	21.12	19.99	18.16	20.23	19.20	0.55	NS	0.60
FCdz (gdz <sup>-1</sup> )	0.30	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.04	NS	0.08
FCEM (gkg <sup>-1</sup> )	2.08	2.41	2.38	2.06	2.01	2.15	2.02	0.07	NS	0.30
EM (g)	8.84	8.91	9.07	9.91	9.27	9.41	9.69	0.17	NS	0.13
AST <sup>b</sup>	255.72	271.62	271.04	253.92	298.27	232.13	266.37	6.92	NS	0.92
ALT <sup>b</sup>	27.35	43.16	44.23	43.55	36.99	32.09	32.33	2.57	NS	0.08

341 PR: posture rate; FI: feed intake; FCdz: feed conversion per dozen eggs; FCEM: feed conversion by egg mass; EM: egg mass; Alanine

342 Aminotransferase (ALT); Aspartate Aminotransferase (AST); SE: Standard error; NS: not significant (>0.05); <sup>a</sup>n = 336 birds; <sup>b</sup>n = 70 sample.

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363 **Table 3.** Quality of Japanese quail eggs in the laying phase supplemented with vitamin A

Variáveis	Níveis de Vitamina A (UI)							SE	Efeito	P-valor
	0 <sup>b</sup>	2300 <sup>b</sup>	3300 <sup>b</sup>	4300 <sup>b</sup>	5300 <sup>b</sup>	10600 <sup>b</sup>	21200 <sup>b</sup>			
EW (g)	10.85	10.66	10.59	10.96	10.91	10.82	10.94	0.06	NS	0.29
SG (g/ml)	1.15	1.07	1.09	1.05	1.08	1.08	1.06	0.01	NS	0.14
% Yolk	30.66	30.02	29.83	29.86	30.22	30.09	29.93	0.17	NS	0.48
% Albumen	61.86	62.14	62.51	62.49	61.95	62.10	62.33	0.18	NS	0.77
% Shell	7.47	7.83	7.65	7.65	7.83	7.80	7.74	0.07	NS	0.33
YI	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.50	0.03	NS	0.434
HU	91.58	92.70	93.36	92.22	92.26	93.67	92.03	0.40	NS	0.40
SWA	3.78	3.94	3.85	3.88	3.97	3.95	3.93	0.03	NS	0.17

364 EW: egg weight; SG: specific gravity; YI: yolk index; HU: Haugh Unit; SWA: shell weight per area; NS: not significant effect at (&gt; 0.05).

365 SE: Standard error; <sup>b</sup>n = 168 eggs

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386 **Table 4.** Correction of vitamin A supplementation levels in Japanese quail diets in the laying phase, considering  
 387 the beta carotene content in the basal diet.

Levels (UI/kg)	0	2300	3300	4300	5300	10600	21200
Levels(mg/kg)	0	0.69	0.99	1.29	1.59	3.18	6.36
<sup>a</sup> Vitamina A in Basal Feed	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<sup>a</sup> Beta carotenein Basal Feed(mg/kg)	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
<sup>b</sup> Betacaroteneinto vit. A (mg/kg)	0.0475	0.0475	0.0475	0.0475	0.0475	0.0475	0.0475
<sup>c</sup> Vit. A on product (mg/kg)	307.8	307.8	307.8	307.8	307.8	307.8	307.8
Corrected Levels (mg/kg)	0.000	0.708	1.016	1.324	1.631	3.263	6.525
Corrected Total of vit. A(mg/kg)	0.048	0.755	1.063	1.371	1.679	3.310	6.573

388 Nd: not detected; <sup>a</sup> Detected in basal ration analysis using corn and soybean meal. <sup>b</sup> Conversion factor according to IOM, 2001 considering  
 389 the conversion of IRE (retinol equivalent) from 1 Betacarotene). <sup>c</sup> Analysis of the product used in the supplementation (Adisseo® analysis  
 390 certificate).

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409 Normas da Revista Semina: Ciências Agrárias

410

## V – CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, foi possível propor níveis de suplementação de vitamina A, para codornas japonesas de 1 a 7 dias de idade (2650 IU/kg), de modo que atendem aos resultados zootécnicos, proporcionando melhores índices de desempenho. Nas demais fases observadas, de 8 a 42 dias, os mesmos níveis de suplementação utilizados não influenciaram nos parâmetros de desempenho e morfometria dos órgãos, podendo concluir que os níveis mínimos de vitamina A contidos na ração podem suprir as necessidades nutricionais nesse período.

A suplementação de vitamina A não afetou o desempenho e qualidade de ovos de codornas japonesas em fase de postura, portanto, a quantidade de vitamina A presente nas rações à base de milho e farelo de soja da ração é suficiente para atender às necessidades dessas aves.

Ainda é escasso o número de trabalhos com a suplementação dessa vitamina para codornas nas fases de crescimento e postura. Pesquisas voltadas a atenderem a correta suplementação, utilizando análises mais precisas do conteúdo vitamínico nos ingredientes e no metabolismo animal, poderão estabelecer bases sólidas para nutrição dessas aves, demonstrando seus benefícios para a produção como um todo.